



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS**



**BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DEL TIBURÓN
Heterodontus francisci (Girard, 1855)
EN BAHÍA TORTUGAS, BAJA CALIFORNIA
SUR**

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

**PRESENTA
VIRIDIANA GÓMEZ VÁZQUEZ**

LA PAZ B.C.S., DICIEMBRE, 2018.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO
ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 30 del mes de Noviembre del 2018 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 titulada:

"BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DEL TIBURÓN *Heterodontus francisci* (Girard, 1855)
EN BAHÍA TORTUGAS, BAJA CALIFORNIA SUR"

Presentada por el alumno:

GÓMEZ
Apellido paterno

VÁZQUEZ
materno

VIRIDIANA
nombre(s)

Con registro:

B	1	6	0	7	9	7
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante de:

MAESTRIA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

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

LA COMISION REVISORA

Directores de Tesis

DR. AGUSTÍN HERNÁNDEZ HERRERA
Director de Tesis

DR. FELIPE GALVÁN MAGAÑA
2º. Director de Tesis

DR. ROGELIO GONZÁLEZ ARMAS

M en C. MARCIAL TRINIDAD VILLALERO FUERTE

DR. MARCIAL ARELLANO MARTÍNEZ

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

DR. SERGIO HERNÁNDEZ TRUJILLO





INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 06 del mes de Diciembre del año 2018

El (la) que suscribe BIÓL. VIRIDIANA GÓMEZ VÁZQUEZ Alumno (a) del Programa
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

con número de registro B160797 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

manifiesta que es autor(a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:

DR. AGUSTÍN HERNÁNDEZ HERRERA Y DR. FELIPE GALVÁN MAGAÑA

y cede los derechos del trabajo titulado:

"BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DEL TIBURÓN *Heterodontus francisci* (Girard, 1855) EN BAHÍA TOTRUGAS,

BAJA CALIFORNIA SUR"

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. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: virisgom@gmail.com - aherrera@ipn.mx - galvan.felipe@gmail.com

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

BIÓL. VIRIDIANA GÓMEZ VÁZQUEZ

Nombre y firma del alumno

Dedicado a:

Renata, Naty y Erikin ustedes son mi motivación para superarme y ser el mejor ejemplo.

Mis padres y hermanas por siempre estar.

Los amo 

De cuanto trabajo me tomé, cuanta dificultad hube de sufrir, cuantas veces desesperé, y cuantas otras veces desistí y empecé de nuevo, por el empeño de aprender, testigo es mi conciencia, que lo he padecido y la de los que conmigo han vivido.

Sor Juana Inés de la Cruz

Agradecimientos:

Dr. Felipe, gracias por siempre estar pendiente, aunque seamos millones, por creer en mí y seguir apoyándome y escuchándome, por dejarme ser parte de su equipo y por su confianza, de verdad es un excelente investigador y una gran persona.

Dr. Agustín, gracias por adoptarme, apoyarme siempre en todas mis dudas y ayudarme a seguir motivada para terminar esta tesis.

Dr. Rogelio, por sus comentarios para enriquecer este trabajo y por siempre ser amable y amigable conmigo, Doc. de verdad pocos investigadores como usted.

Maestro Marcial, por creer en mí, por sus consejos que siempre los tome en cuenta y por el apoyo en la compra del material para terminar mis cortes.

Dr. Marcial, por su apoyo en dejarme utilizar su laboratorio y por los comentarios y correcciones para mejorar este trabajo.

Al CICIMAR-IPN por abrirme sus puertas es un gran centro de investigación.

CONACyT, por la beca otorgada para realizar este posgrado.

Pablo Curiel, sin ti esto no hubiera sido posible gracias por compartir tu beca conmigo y estar incondicional cuando más lo necesite.

A mi madre por creer, apoyarme y por siempre estar orgullosa de mí.

Galván Team sin duda el mejor laboratorio del Cicimar, gracias a todos: los que van a campo, los que siempre están para resolver alguna duda, los que hacen que esos días de estrés sean menos horribles y los que me enseñaron algo nuevo (Hanny, Fabian, Chayo, Armando, Lalo, Isis, Angela, Juan, Julio, Katy, Diego, Pablo, Fany) ... ¡¡¡somos el mejor equipo!!!

Roomies: Diego por aceptarme todos esos días en tu casa, éramos una bonita familia; a Fanys, roomies desde el 2014 y las mejores amigas, gracias infinitas y ya sabes hasta viejitas; Abel, esos días en casa no serían lo mismo sin ti con muestras miles de platicas aunque las olvides enseguida jaja; Adri, él bebe de la casa; Marine, la mejor roomie francesa que alguien puede tener, gracias por la pintura de mi tibu para la tesis, por los desayunos y postres pero sobre todo por ser una gran gran amiga, te extrañamos en casa, y por último a Isis, aunque no eres roomie pero como si lo fueras, gracias por todo, por no dejarme sola en mis peores momentos, tienes un corazón gigante.

A la comunidad de pescadores de Bahía Tortugas que nos proporcionan las muestras para nuestros proyectos, por ser tan amables y recibirnos como si fuéramos parte de su familia.

CONTENIDO

ÍNDICE DE FIGURAS	I
ÍNDICE DE TABLAS	III
RESUMEN	IV
ABSTRACT.....	V
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	2
JUSTIFICACIÓN.....	10
OBJETIVO	11
Objetivo principal.....	11
Objetivos específicos	11
MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
Área de estudio	12
Trabajo de campo	14
Trabajo de laboratorio	16
<i>Clasificación del estado de desarrollo sexual</i>	16
<i>Análisis Histológico</i>	18
RESULTADOS.....	25
Composición de tallas	25
Descripción macroscópica	28
Hembras.....	28
<i>Capsula ovígera</i>	31
Machos.....	32
Distribución por estadio de madurez	36
Talla de primera madurez (L _{50%})	38
Descripción microscópica	40
Hembras.....	40
<i>Ovario</i>	40
<i>Glándula oviducal</i>	43
Útero	45
Machos.....	46
<i>Testículo</i>	46

DISCUSIÓN	51
CONCLUSIONES	61
RECOMENDACIONES	62
LITERATURA CITADA.....	63
ANEXO I.....	72

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de distribución de <i>H. francisci</i> .	6
Figura 2. <i>Heterodontus francisci</i> (Marine Brugès, 2018)	7
Figura 3. Área de estudio Bahía Tortugas B.C.S.	12
Figura 4. Tipo de red utilizada para este estudio tomada de Ramírez-Amaro, 2011	13
Figura 5. Medidas de longitud total y longitud precaudal en <i>H. francisci</i>	14
Figura 6. Gonopterigio (órgano copulador masculino)	15
Figura 7. a) Se observa la cavidad abdominal de un macho maduro donde se encuentran los testículos de <i>H. francisci</i> b) se observa la cavidad abdominal de una hembra madura con ovocitos grandes y señala el estómago e hígado de <i>H. francisci</i>	16
Figura 12. Aparato reproductor de hembra inmadura de <i>H. francisci</i>	28
Figura 13. Aparato reproductor de hembra de <i>H. francisci</i>	29
Figura 14. Aparato reproductor de hembra madura de <i>H. francisci</i>	30
Figura 15. Aparato reproductor de hembra madura con capsula ovígera de <i>H. francisci</i>	31
Figura 16. Capsula ovígera de <i>H. francisci</i>	32
Figura 17. Aparato reproductor de macho de <i>H. francisci</i>	33
Figura 18. Aparato reproductor de macho de <i>H. francisci</i>	34
Figura 19. Aparato reproductor de macho de <i>H. francisci</i>	35
Figura 20. Distribución por estadio de madurez de los organismos de <i>H. francisci</i>	36
Figura 21. Regresión lineal entre la longitud total (LT) con la longitud de la glándula oviducal (GO)	37
Figura 22. Regresión lineal entre la longitud total (LT) con la longitud del testículo	37
Figura 23. Talla de primera madurez L _{50%} hembras	38
Figura 24. Talla de primera madurez L _{50%} machos	39
Figura 25. Ovario de hembra madura (65 cm LT) de <i>H. francisci</i> con tinción histológica Tricrómica de Mallory (Fpr= folículo primordial, Fp= folículo primario, FpO= folículo pre-ovulatorio)	40
Figura 26. Folículo primordial (Fpr) y folículo primario (Fp) con tinción tricrómica de Mallory	41
Figura 27. Folículos preovulatorios de <i>Heterodontus francisci</i> con técnica de tinción tricrómica de Mallory a) 400x b) 100x se muestra capa granulosa (cg), zona pelúcida (Zp), gránulos de vitelo (Gv), tejido conjuntivo (Tc).	43
Figura 28. Corte longitudinal de la glándula oviducal de una hembra madura de 72cm LT de <i>H. francisci</i> con tinción histológica positiva de ácido periódico (PAS). en los recuadros amarillos se muestran las estructuras características	

de la glándula; lamelas y acinos, así como las 4 zonas: zona club (Zc), zona papillary (Zpp), zona baffle (Zb) y la zona terminal (Zt) 44

Figura 29. Corte longitudinal del útero de *H. francisci* con la tinción de Hematoxilina-Eosina a)100x b)400x epitelio estratificado cilíndrico con cilios (Eec), tejido conectivo (Tc), tejido muscular liso (Tml). 45

Figura 30. Corte transversal de testículo diamétrico de *H. francisci* maduro de 69 cm de longitud total. (aumento: 2.0x, tinción de Feulgen; zg= zona germinal, Eg1°= espermatogonia primaria, Eg2°= espermatogonia secundaria, Et1°= espermatocito primario, Et2°= espermatocito secundario, Ept= espermatida, Es= espermatozoides, Oe= órgano epigonal). la flecha indica la dirección en que avanza la maduración del testículo. 47

Figura 31. Corte de testículo de *H. francisci* aumento 100x con la tinción histológica de Feulgen. se muestran los diferentes estadios en cada uno de los espermatocistos a) espermatogonia 2° (Eg2°). espermatozoides (Es), tejido conectivo Tc b) diferentes estadios de la espermatogénesis en cada uno de los espermocistos. 50

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA 1 Estados de madurez propuestos por Tovar <i>et al.</i> (2007) para machos <i>H. portusjacksoni</i>	17
TABLA 2 Estados de madurez propuestos por Tovar <i>et al.</i> (2007) para hembras <i>H. portusjacksoni</i>	17
TABLA 3 Fases de la espermatogénesis según Parsons & Grier (1992)	20
TABLA 4 Fases de la ovogénesis según Serra-Pereira <i>et al.</i> (2011)	23
TABLA 5 Fases de la espermatogénesis de <i>H. francisci</i>	47

RESUMEN

El tiburón cornudo *Heterodontus francisci* se captura como pesca incidental en las redes de enmalle en la costa occidental de Baja California Sur (BCS); es una especie que se captura todo el año y es importante para el consumo local. Se describe la biología reproductiva de esta especie, incluyendo análisis morfométricos y descripciones histológicas de la anatomía microscópica de las gónadas, así como la estimación de la talla media de madurez sexual ($L_{50\%}$). Las muestras se obtuvieron en los campos pesqueros cercanos a Bahía Tortugas, BCS, desde el año 2012 hasta el año 2017. Se registraron 331 organismos (180 machos y 151 hembras) con una proporción sexual de 0.8M:1H y tallas desde los 45 cm a 92 cm de longitud total. Se realizaron análisis macroscópicos y microscópicos de 98 gónadas (31 hembras y 67 machos) la talla de primera madurez sexual ($L_{50\%}$) en las hembras fue de 76.7 cm y para machos de 67.4 cm de longitud total. Los análisis histológicos mostraron que los testículos de esta especie presentan una estructura de tipo diamétrico. Las hembras presentan un ovario funcional de tipo externo y cuatro zonas morfofuncionales en la glándula oviducal, sin registro de almacén de esperma. Esta información aporta resultados biológicos importantes para recomendar medidas de manejo pesquero de la especie.

ABSTRACT

The Horn Shark *Heterodontus francisci* is caught as by catch in the gill nets on the west coast of Baja California Sur (BCS). The species is caught during all year and is important for local consumption. The reproductive biology of this species, including morphometric analysis and histological descriptions of the microscopic anatomy of gonads, as well as estimation of the average size of sexual maturity ($L_{50\%}$), is described. The samples were obtained in the fishing camps around Bahía Tortugas, BCS, from 2012 to 2017. 331 organisms were registered (180 males and 151 females), with a sex ratio of 0.83M: 1H and sizes from 45 cm to 92 cm of total length. Microscopic and microscopic analyzes of 98 gonads (31 females and 67 males) were performed. The size of first sexual maturity ($L_{50\%}$) in females was 76.7 cm and for males 67.4 cm in total length. The histological analysis showed that the testes of this species have a diametric structure; the females have a functional ovary from external type and four morphofunctional zones in the oviducal gland, with no sperm storage. This information provides important biological data for fishery management of this species.

INTRODUCCIÓN

Uno de los recursos pesqueros de mayor preocupación en la actualidad son los elasmobranquios, ya que a nivel mundial se ha registrado una sobrepesca de varias especies, lo cual ha ocasionado la disminución de sus poblaciones (Bonfil, 1994; Camhi, 1998; Galván-Magaña, 2009). Una de las razones por lo que elasmobranquios han disminuido es que estos organismos tienen crecimiento lento y bajas tasas de reproducción (Walker, 1998). Esta disminución de los elasmobranquios afectaría negativamente los ecosistemas, ya que la remoción de estos depredadores puede tener efectos sobre los niveles tróficos en la cadena alimenticia o en la red trófica de un ecosistema (Stevens *et al.*, 2000; Schindler *et al.*, 2002)

México ha sido históricamente uno de los países con mayor captura de elasmobranquios a nivel mundial, siendo en 2007 la sexta nación de mayor captura de elasmobranquios, representando el 4.3% de la captura mundial con un total de aproximadamente 34 mil toneladas (Sosa-Nishizaki *et al.*, 2008; FAO, 2009). La pesca artesanal de elasmobranquios se realiza a lo largo de los dos litorales marinos con embarcaciones menores de menos de 10.5 m de eslora localmente llamadas “pangas” con motor fuera de borda.

La pesquería artesanal es de gran importancia ya que sostienen cerca del 40% de la captura total nacional y comprendió el 80% del esfuerzo pesquero dirigido a los elasmobranquios (Arreguin-Sánchez *et al.*, 2004; Bizzarro *et al.*, 2007a). Esta pesquería representa una fuente importante de empleo, además proporciona sustento e ingresos de algunos de los sectores más pobres de la sociedad mexicana (Ponce-Díaz *et al.*, 2009; Cartamil *et al.*, 2011). Este tipo de pesquería ha ido creciendo significativamente en las dos últimas décadas a nivel mundial y su rápido crecimiento ha comenzado a ejercer presión excesiva y una disminución de

capturas medias anuales. Lo cual ha causado preocupación respecto al estado de las poblaciones de elasmobranquios explotados en aguas mexicanas (DOF, 2010). Así que es necesario tomar medidas de manejo para mejores mecanismos de sustentabilidad, ya que se han reportado evidencias cualitativas en las que se sugiere que la composición de tallas y especies, pudieron ser alteradas debido a la alta explotación del recurso (Smith *et al.*, 2009).

Para la investigación de la biología reproductiva de las especies en general, se utilizan los datos morfométricos de los organismos como: las características de su anatomía externa y de la estructura interna de los órganos reproductores en ambos sexos.

ANTECEDENTES

La clase Chondrichthyes es un grupo monofilético de peces cartilaginosos que evolucionado a partir de peces sin mandíbula hace más de 400 millones de años durante el período Devónico (Compagno, 1984).

La subclase Elasmobranchii, tiburones y rayas, se compone de aproximadamente 1188 especies divididas entre 10 órdenes y 59 familias (Compagno, 2005). La subclase Holocephali (quimeras), se compone de 33 especies divididas en tres familias en un solo orden, Chimaeriformes (Compagno, 2005).

Los elasmobranquios utilizan una variedad de estrategias reproductivas que se definen por el sitio de desarrollo embrionario y la energía que necesitan para la gestación (Wourms, 1977, 1981). Se divide en dos grupos: ovíparos y vivíparos, estos últimos a su vez se dividen en vivíparos placentados o vivíparos sin placenta (Theshina *et al.*, 1971) y una fertilización interna.

La oviparidad ocurre en aproximadamente el 40% de los elasmobranquios, incluidos los Chimaeriformes, Heterodontiformes, Rajoidea y Scyliorhinidae así como algunas

especies de Orectolobiformes (Compagno, 2005) con un tipo de nutrición lecitotrofica.

La formación de la cápsula de huevo es similar para todas las especies, pero su forma final depende de la actividad y disposición de los túbulos dentro de la glándula (Smith *et al.*, 2004). La capsula del huevo puede incluir fibras, pelos y / o zarcillos para ayudar en la fijación del sustrato (Koob & Straus, 1998)

Con respecto a la viviparidad, está presente en el 60% de los tiburones y las rayas con espina del orden Myliobatiformes. Hay múltiples formas de viviparidad entre los elasmobranquios anteriormente se conocían como el nombre de ovovivíparas , pero este término es reemplazado actualmente por: viviparidad con saco vitelino o viviparidad aplacentada y dentro de esta se reconocen cuatro variantes nutricionales del matotrofismo, ya que presentan adaptaciones de tejidos especiales, embrionarios o maternos que facilitan la transferencia de nutrientes de la madre al feto: histotrofia, oofagia y adelfofagia, llamada así por la fuente primaria de nutrición durante el crecimiento y desarrollo (Musick & Ellis, 2005).

Entre las familias de tiburones que presentan alguna variante en la forma de nutrición se encuentran Carcharhinidae, Sphyrnidae, Squalidae, Triakidae y Lamnidae. Con respecto a las rayas se encuentran: Pristidae, Rhinobatidae, Narcinidae, Torpedinidae, Urolophidae, Dasyatidae entre otras (Wourms,1977; Hamlett & Koob, 1999; Bejarano-Álvarez, 2011).

En las hembras de los elasmobranquios, los ovarios en desarrollo son pareados y simétricos, pero en la mayoría de los géneros examinados (*Scylorhinus*, *Pristiophorus*, *Carcharhinus*, *Mustelus*, *Sphyrna* y *Cethorhinus*), sólo el derecho es funcional. En algunos casos, sólo el ovario izquierdo es funcional (*Urolophus*,

Dasyatis), y en otros ambos son funcionales (*Squalus acanthias*, *Scoliodon sorrahkawah*).

La morfología del ovario maduro es variable, pero las diferencias son superficiales y se atribuyen al número de ovocitos y a la cantidad de vitelo que contienen, lo cual está en función de la etapa reproductiva a la cual el ovario es examinado.

Los tiburones y rayas representan un recurso pesquero vulnerable, susceptible a la sobrepesca debido a sus características reproductivas, en las que destacan: un reducido número de crías, periodos de gestación prolongados, crecimiento individual lento y presenta periodos de baja fecundidad, lo cual repercute en el tiempo para alcanzar la madurez sexual (Salomón, 2009), en conjunto demuestran tener un potencial reproductivo menor, en comparación con otros grupos zoológicos.

El orden Heterodontiformes está constituido únicamente por la familia Heterodontidae y un solo género *Heterodontus*.

Los peces cartilaginosos de la familia Heterodontidae, denominados comúnmente tiburones dormilones cornudos, tienen ocho especies, entre ellas *Heterodontus francisci* (Kato *et al.*, 1967; Compagno. 1984), su nombre común es “tiburón cornudo”.

Clasificación taxonómica y biología de la especie. (Girard, 1855)

Filo: Chordata

Sufilo: Craniata

Superclase: Gnathostomata

Clase: Chondrichthyes

Subclase: Elasmobranchii

Orden: Heterodontiformes

Género: *Heterodontus*

Especie: ***Heterodontus francisci***

Heterodontus francisci es un tiburón ovíparo, las hembras ponen huevos cada 11 a 14 días, entre los meses de febrero y abril, aproximadamente depositan 24 huevos de 12cm por 6.4cm de color marrón, los cuales son resistentes y flexibles en forma de espiral, el embrión permanece más de 5 meses dentro del cascaron, se ha reportado que los huevos eclosionan en aguas de 13.2 m de profundidad y están firmemente implantados en las rocas (O’Gower, 1978). Estos son depositados entre las rocas y después la hembra los recoge vía oral para llevarlo a un lugar adecuado para su eclosión (Dempster & Herarld, 1961).

H. francisci comparte su distribución con *Heterodontus mexicanus*, sin confundirse, debido a que ésta última especie se caracteriza por un patrón de manchas grandes, y presenta una barra de color claro entre las crestas supraorbitales (Taylor & Castro-Aguirre, 1972).

El periodo de apareamiento es en los meses de diciembre y enero, el tiburón macho persigue a la hembra y la sostiene la aleta pectoral con los dientes y copula durante 30 a 40 minutos, entre 2 a 4 semanas después de la copula, la hembra depositará los huevos fertilizados entre las rocas donde eclosionan (Compagno, 1984).

La biología de esta especie de tiburón no es conocida. Existe información escasa sobre su estrategia de vida, dinámica poblacional y biología reproductiva. Al ser una especie ovípara, resulta vulnerable a la pesca.

Esta especie habita en las aguas templadas y cálidas del Océano Pacífico oriental, desde la parte central de California, EE. UU., toda la península de Baja California incluyendo el Golfo de California en México (Kato *et al.*, 1967). (Fig.1)



Figura 1. Mapa de distribución de *H. francisci*.

El tiburón *H. francisci* es bentónico, solitario y de hábitos nocturnos; durante el día se encuentra entre las rocas, donde descansa a menudo con la cabeza dentro de alguna grieta. Es abundante cerca de los lechos de algas a profundidades de 7 a 10 m, aunque también se le ha capturado en cuevas a más de 100 m de profundidad (Dempster & Herald, 1961). Se asume que emigran de aguas someras a profundas en ciertas épocas, según la estación del año (Roedel, 1953).

Es llamado tiburón cornudo debido a que tiene en la cabeza dos crestas altas por encima de los ojos, mide de 97 cm a 120 cm, es de color marrón cubierto de manchas negras (Fig. 2) y su vientre muestra un tinte amarillento. Esta especie se reproduce desde la zona intermareal hasta una profundidad de 1.52 m, la especie presenta un alto grado de segregación correspondiente a su historia de vida, tiene

una gran fidelidad al sitio (Castro, 1988). Los tiburones juveniles (entre 35 y 48 cm de longitud total) tienden a permanecer en aguas más profundas, por lo general entre 40-150 m, y a medida que maduran migran de nuevo hacia aguas relativamente someras. Esta segregación del hábitat por el tamaño y la etapa de madurez reducen la competencia por alimento y hábitat entre tiburones más jóvenes y los adultos (Roedel & Ripley, 1950), en general los cuales se alimentan de moluscos, cangrejos y otros invertebrados de caparazón duro (Finstad & Nelson, 1975).

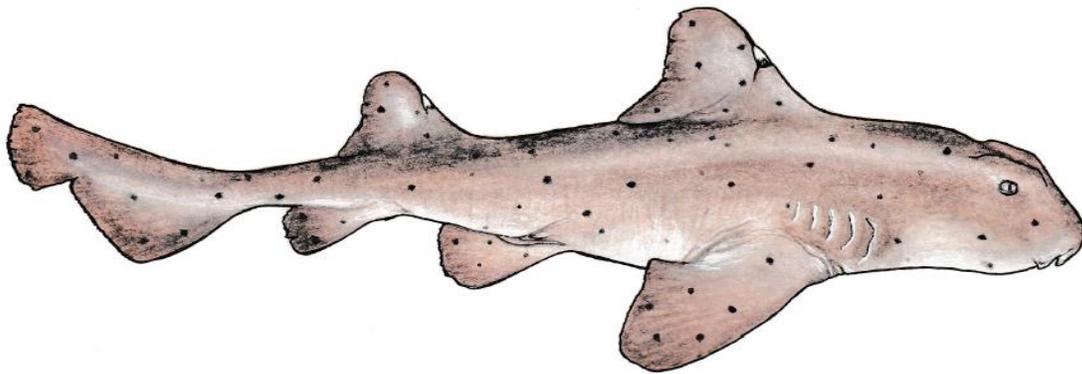


Figura 2. *Heterodontus francisci* (Marine Brugès, 2018)

Los trabajos publicados con respecto a la familia Heterodontidae han sido pocos, y en particular, reducidos para el tiburón *H. francisci*.

En el Pacífico central mexicano, Galván-Magaña *et al.* (1989) realizaron un estudio de la especie *H. mexicanus*, la cual, registra sus mayores abundancias en el bajo Golfo de California durante las estaciones de invierno y primavera.

Con respecto a trabajos previos que estén relacionados con la reproducción, destaca el de Powter & Gladstone (2008), acerca de la biología reproductiva de *Heterodontus portusjacksoni*, en New South Wales, Australia, en el que señalan que, encontraron que los machos maduran a 77 cm de LT, y las hembras entre los 90

cm de LT y una fecundidad ovárica promedio fue de 16 crías por hembra sin relación a la LT.

Tovar *et al.* (2007) indicaron que las hembras de *Heterodontus portusjacksoni* maduraban cuando sus ovocitos presentaban medidas por encima de los 0.3 cm; mientras que en los machos se analizaron los testículos y la longitud del gonopterigio, siendo una medida importante al determinar la madurez sexual de los machos.

Además, Jones (1982), analizó las gónadas tanto de machos como de hembras de *H. portusjacksoni* y encontró que las hembras maduraban a tallas alrededor de un 40% más grandes que los machos.

Huber *et al.* (2005) realizaron un experimento controlado, donde analizaron la biomecánica de la mordida de *H. francisci* para poder identificar cómo se comportaba al momento de cazar a su presa y concluyen que el papel que juega la fuerza de mordida es un éxito tanto ecológico y evolutivo en los tiburones.

En las costas mexicanas, Segura *et al.* (1997) realizaron un estudio de alimentación del tiburón *H. francisci* para las costas de Baja California Sur en el cual, identificaron que su alimentación consistía principalmente de: gasterópodos, crustáceos, pelecípodos, cefalópodos, así como de peces pequeños. Esta especie es bentónica, predominantemente carnívora.

Strong (1989) describió la utilización del hábitat de *H. francisci* en la Isla Catalina, California, e incluyó unas notas breves de los patrones de reproducción. La relación de la longitud del gonopterigio con la LT indicó que la primera madurez en machos ocurre cuando tienen entre 56 y 61 cm de LT. También se colectaron 21 huevos que se encontraron entre las rocas, de los que solamente cinco contenían embriones viables.

Lo más reciente, es una tesis de maestría de Castellanos-Vidal (2017), la cual describe el ciclo reproductivo de *H. francisci* en Laguna Ojo de Liebre, B.C.S. y menciona que presenta un periodo de desove que abarca al menos cinco meses (febrero a junio) y concuerda con los meses en donde la temperatura del agua en la Laguna Ojo de Liebre comienza a incrementarse.

Por esta falta de información este trabajo abordará el estudio de la biología reproductiva de esta especie, con énfasis en el estudio morfológico detallado del sistema reproductor, a nivel macroscópico y de anatomía microscópica.

JUSTIFICACIÓN

Los elasmobranquios son un recurso pesquero importante, pero sus poblaciones son susceptibles a disminuir si la pesca no se efectúa de manera ordenada, debido a sus características biológicas (número reducido de crías, crecimiento lento y bajo potencial reproductivo); condiciones que los vuelven vulnerables a la sobrepesca (Bonfil, 1994; Márquez–Farías, 2002).

Se tiene poca información sobre la biología reproductiva de *Heterodontus francisci* así como de su biología básica, por tratarse de una especie de poca importancia comercial en la zona de estudio, sin embargo es recurrente en las capturas y es consumida localmente.

Por lo tanto, este trabajo tiene como objetivo ampliar el conocimiento sobre su biología reproductiva, lo que permitirá generar conocimientos de los procesos reproductivos usando bases histológicas precisas para su descripción y así proporcionar herramientas que ayuden a proponer medidas regulatorias para un mejor manejo de las poblaciones de este recurso pesquero.

OBJETIVO

Objetivo principal

Describir la biología reproductiva de *Heterodontus francisci*, por medio del análisis microscópico y macroscópico de los órganos reproductores de ambos sexos.

Objetivos específicos

- Determinar la composición de tallas y la proporción de sexual en la población muestreada durante el periodo de estudio.
- Estimar la talla de primera madurez sexual de cada sexo.
- Caracterizar la morfología macroscópica del aparato reproductor.
- Describir la anatomía microscópica de los órganos reproductores para ambos sexos.
- Identificar la presencia de esperma en la glándula oviducal.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio

Bahía Tortugas se ubica en el municipio de Mulegé en la región Pacífico Norte, en Baja California Sur, México (Fig. 3), en las coordenadas geográficas 27°41' y 27°47' de Latitud Norte y 114°39' y 114°04' de Longitud Oeste.

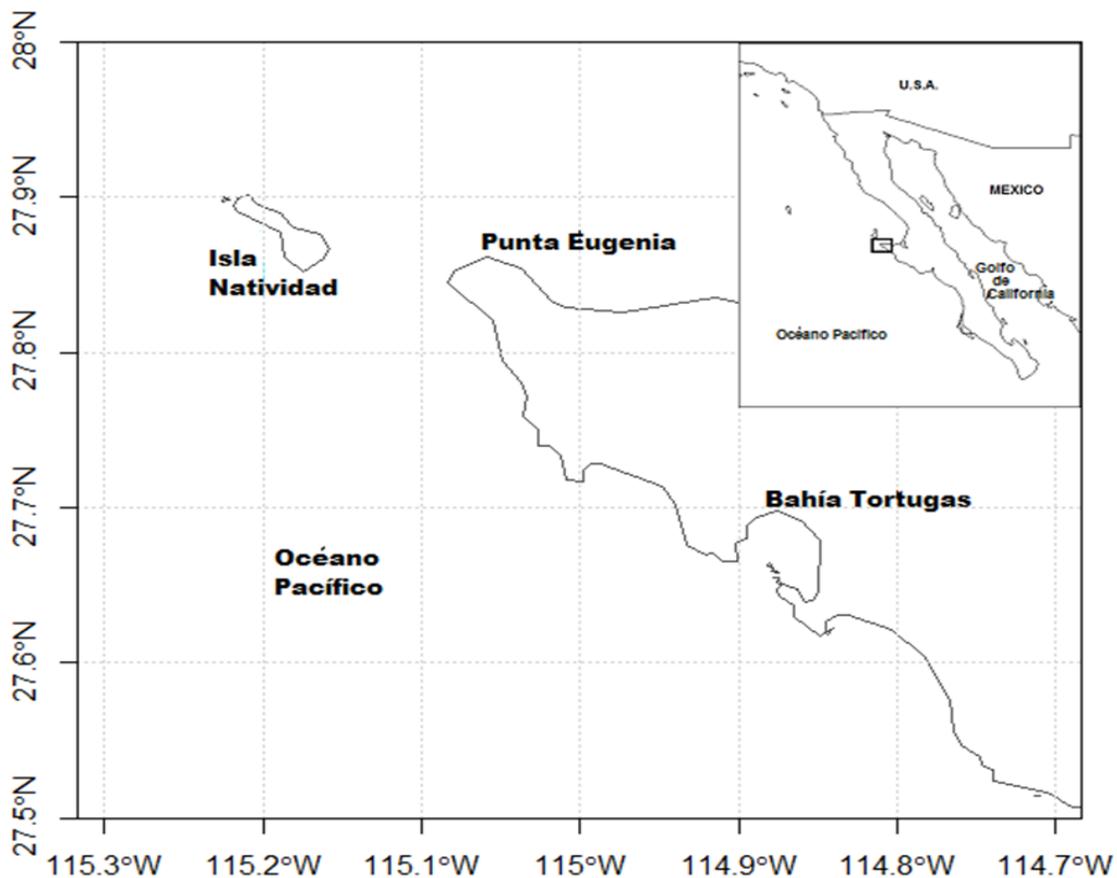


Figura 3. Área de estudio Bahía Tortugas B.C.S.

El clima es de tipo BWhs(e), que se define como muy seco, semicálido con temperatura media anual entre 18°C y 22°C (llegando hasta los 30°C), con régimen de lluvias intermedio, precipitación de 100 mm anuales, porcentaje de lluvia invernal mayor a los 36 mm, con oscilación térmica extremosa, (INEGI 1984). Esta área está

influenciada en primavera y verano por la Corriente de California, que lleva agua fría, y en otoño e invierno por la Contracorriente costera de California (Guzmán-Del Prío *et al.*, 2000). La costa del Pacífico de Baja California es una zona que se ubica dentro de la región de la Corriente de California. Los vientos predominantes del noroeste dan lugar a procesos físicos como giros y surgencias, por lo que, esta península es una región natural de alta productividad biológica la cual puede sostener poblaciones de diversos organismos (Guzmán-Del Prío *et al.*, 1991; Hernández-Rivas *et al.*, 2000).

Las capturas se realizaron entre 10 y 20 millas náuticas fuera de la costa, utilizando redes de enmalle colocadas entre 50 m y 70 m de profundidad, con dimensiones de 1.5 m de alto por 750 m de largo y luz de malla de 4 a 6 pulgadas. (Fig. 4)

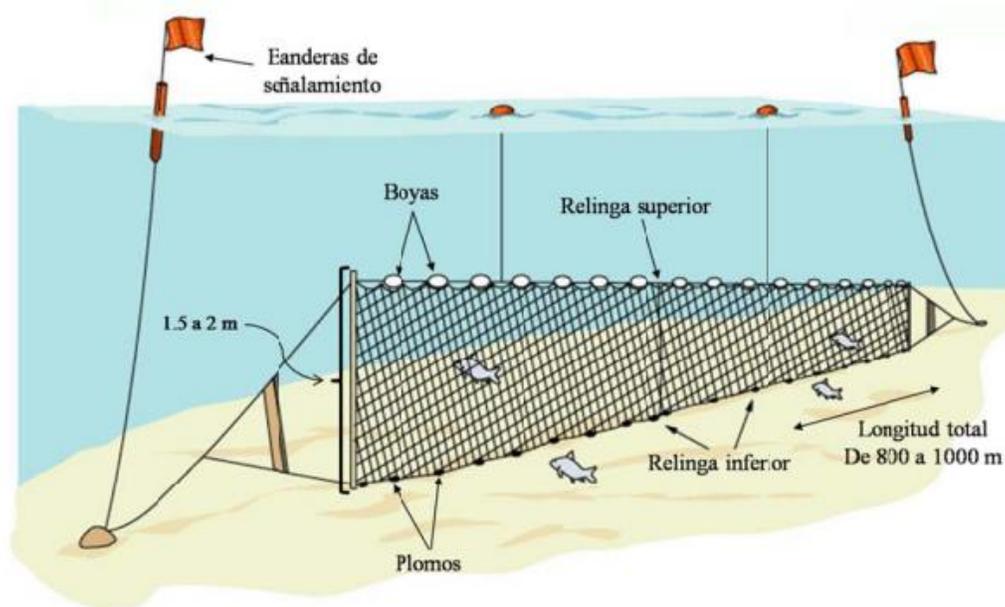


Figura 4. Tipo de red utilizada para este estudio tomada de Ramírez-Amaro, 2011

La principal actividad económica de la zona es la pesca, siendo importante la pesca de: abulón, caracol, langosta, escama, tiburones y rayas.

Trabajo de campo

Las muestras se obtuvieron a partir de la pesca artesanal de tiburones y rayas que se lleva a cabo en diferentes zonas de pesca como “Malarrimo” y “El Campito”, y se concentran en el campo pesquero de Bahía Tortugas. Estos se realizaron en el periodo del 2012 al 2017 con 3 salidas por año en los meses de marzo, agosto y noviembre. Para este trabajo se tuvo un registro de 331 tiburones y se obtuvieron muestras de órganos reproductores de 67 machos y 31 hembras.

A todos los ejemplares se les realizaron mediciones morfométricas en centímetros por medio de un flexómetro. La longitud total (LT) que va desde el morro hasta la cola y longitud pre caudal a lo largo de una línea recta de la parte frontal de la cabeza hasta la parte terminal del lóbulo superior de la aleta caudal. (Fig.5)

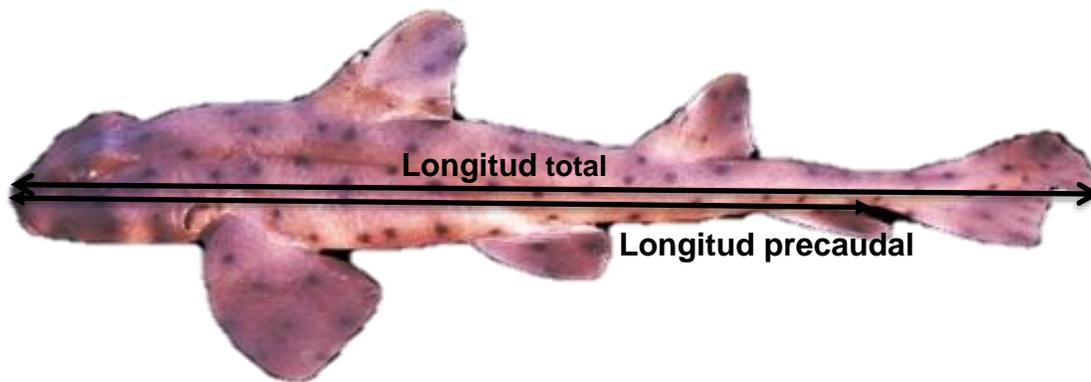


Figura 5. Medidas de longitud total y longitud precaudal en *H. francisci*

Los machos se identificaron por la presencia de gonopterigios (órgano copulador) (Fig.6), y se determinó su madurez sexual de acuerdo con el criterio de Pratt (1979); En campo se midió el largo del gonopterigio en cm, se evaluó el grado de calcificación de los gonopterigios, su capacidad de rotación, la presencia de puntos

hematosos en los gonopterigios (indicadores de cópula reciente) y la presencia o ausencia de semen en el rifiodón (Hoyos-Padilla, 2003). En seguida se realizó una incisión en la parte ventral desde el morro hasta la cloaca para extraer los testículos que se utilizaron para este estudio (Fig.7a).



Figura 6. Gonopterigio (Órgano copulador masculino)

En el caso de las hembras, la madurez sexual se determinó después de hacer una incisión en la cavidad abdominal, lo cual permite visualizar y examinar los ovarios, los ovocitos en desarrollo, los oviductos, los huevos o los embriones en el útero; úteros distendidos (evidencia de un estado de gravidez previo) (Fig.7b). Se registra la presencia de heridas en las aletas (marcas de dientes) causadas por la actividad de cortejo.

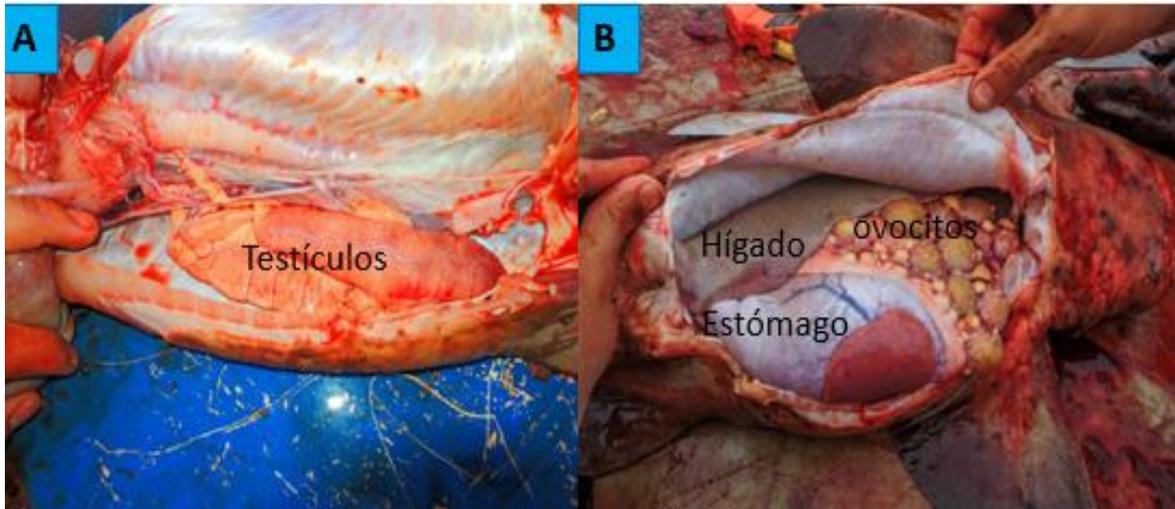


Figura 7. a) Se observa la cavidad abdominal de un macho maduro donde se encuentran los testículos de *H. francisci* b) Se observa la cavidad abdominal de una hembra madura con ovocitos grandes y señala el estómago e hígado de *H. francisci*

Después de ser extraídos los órganos reproductores de los tiburones hembras y machos, las muestras se fijaron en solución de formol al 10% y se transportaron al laboratorio, en casos necesarios se inyectaron con la misma solución para asegurar la fijación en el interior de los órganos.

Trabajo de laboratorio

Se lavaron las muestras con agua corriente para quitar el exceso de formol y se conservaron en alcohol al 70%. En los machos se registró en centímetros el ancho y largo de los testículos y para hembras largo y ancho de la glándula oviducal, útero y ovario, así como el diámetro del ovocito más grande (cm).

Clasificación del estado de desarrollo sexual

Además de los registros morfométricos, se realizaron observaciones del color y la consistencia, de las estructuras reproductivas en ambos sexos, se clasificaron en

tres fases dependiendo su estado de madurez: inmaduros, en maduración y maduros, siguiendo los índices de madurez propuestos por Tovar *et al.* (2007) para *H. portusjacksoni* que se basan en describir el estado de madurez de los órganos reproductivos. (Tabla 1 y 2)

Tabla 1 . Estados de madurez propuestos por Tovar *et al.* (2007) para machos *H. portusjacksoni*

Estado de madurez	Testículo	Gonopterigio
Inmaduros	Indiferenciados del órgano epigonal	Cortos y no calcificados
En maduración	Diferenciados del órgano epigonal, ni lobular ni vascularizado	Elongados y parcialmente calcificados
Maduros	Elongado, lobular y vascularizado	Elongados y completamente calcificados

Tabla 2 . Estados de madurez propuestos por Tovar *et al.* (2007) para hembras *H. portusjacksoni*

Estado de madurez	Ovocitos	Glándula oviducal	Útero
Inmaduras	Indiferenciado desde el órgano epigonal, sin ovocitos visibles.	Indistinta desde el oviducto anterior	Indistinto desde el oviducto anterior
En maduración	Ovocitos blancuzcos ≤ 3 mm de diámetro	Diferenciada del oviducto anterior, más larga que ancha	Úteros estrechos
Maduras	Ovocitos vitelogénicos > 3 mm de diámetro	En forma de corazón, más ancha que larga	Úteros estrechos, con huevos o paredes distendidas

Para evaluar si existe una relación lineal entre la longitud del testículo y la longitud total de los machos, se ajustó una regresión lineal. En hembras se evaluó esta relación entre la longitud de la glándula oviducal y la longitud total.

La talla de primera madurez sexual de 50% ($L_{50\%}$) se considera cuando el 50% de los organismos se encuentran sexualmente maduros, en este trabajo se incluyeron en este análisis los organismos que se obtuvieron sus medidas morfométricas ($n=98$) y se determinó mediante un análisis de regresión logística para cada sexo, con base en los índices de maduración por separado Mollet *et al.* (2000)

$$P_m = 1 / [1 + \exp^{-(b+a \cdot L_t)}]$$

Donde;

P_m = proporción sexual organismos maduros de la muestra, transformado a valores binomiales donde se asume 0 si es inmaduro y 1 si es maduro.

a = Constante de la ecuación que determina el punto de origen de la curva.

b = Constante de la ecuación que determina la inclinación de la curva.

L_T = Longitud total.

Análisis Histológico

El análisis histológico se realizó en el Laboratorio de Morfofisiología y el Laboratorio de Invertebrados marinos ambos del CICIMAR-IPN.

En machos se realizaron cortes transversales de 1.0 cm aproximadamente en parte anterior, media y posterior del testículo y en las hembras cortes transversales y longitudinales en la parte media o posterior (según la muestra) de la glándula oviducal para observar el almacén de esperma (Pratt, 1993). Se obtuvieron cortes de un 1.0 cm aproximadamente del ovario, oviducto y útero. Posteriormente se sometieron a la técnica histológica de Humason (1979). Esta técnica consiste en la deshidratación a diferentes concentraciones de alcoholes crecientes desde alcohol

etílico a alcohol al 70% mediante un procesador de tejidos lineal marca *KEDEE KD-7S3A*, los tiempos en cada uno de los alcoholes fue estandarizado para esta especie por su tamaño (Anexo 1). Después de la deshidratación viene la fase de aclaración que consiste en baños con sustancias miscibles en parafina, esto se llevó a cabo con cloroformo el cual transparenta el tejido. Por último, la pieza es impregnada con la parafina y es llevada al centro de inclusión para ser realizados los bloques y así facilitar el corte en el micrótopo.

Se realizaron cortes a 5 μm en un micrótopo rotatorio mecánico *LEICA RM2025* y el corte se extendió en un baño de flotación donde contenía agua con grenetina a 40-50°C para así hacer más fácil la colocación en el portaobjetos.

Antes de la tinción los portaobjetos con los cortes se colocaron en una mufla durante 2 horas para quitar el exceso de parafina y después se realizó la desparafinación con cambios sucesivos en “americlear” (el cual es un disolvente que solubiliza la parafina y elimina el exceso que pudiera quedar en los cortes) y pasando por alcohol a concentraciones decrecientes (lo cual retira el disolvente utilizado y prepara al corte a la técnica de tinción). Se aplicó la técnica de tinción Tricrómica de Mallory para ovario glándula oviducal y testículos, PAS para glándula oviducal; la técnica de Feulgen para testículo y glandula oviducal Hematoxilina-Eosina para los testículos y útero.

La tinción de Hematoxilina-Eosina y Tricrómica de Mallory son tinciones topográficas generales utilizadas para observar la microestructura por efectos de contraste de colorantes (componentes del tejido conjuntivo y en general). Las técnicas restantes, reacción de Feulgen y PAS se emplearon para el análisis histoquímico. La reacción del ácido peryódico-Schiff (PAS) es un método para mostrar la presencia de polisacáridos, particularmente glucógenos, mucinas, mucoproteínas, ácido hialurónico y quitina. La reacción de Feulgen es utilizada para la identificación de ADN, evidencia la cabeza de los espermatozoides de un color

magenta y los componentes del citoplasma y otras sustancias en color verde, por ello su aplicación en testículos y glándula oviducal, este último para observar si existe almacén de esperma. Las muestras después de ser teñidas se les coloca el cubreobjetos con un medio de montaje llamado “cytoseal” que es una resina que inhibe el cambio de la coloración en las muestras ya teñidas. Las preparaciones se observaron en el microscopio óptico Olympus, a diferentes aumentos, 2.0X, 2.5X, 10X, 20X, 40X y 100X. Aquellas laminillas en las cuales las estructuras se presentaron en mejores condiciones, fueron seleccionadas y fotografiadas, mismas que se utilizaron para las descripciones. Para la caracterización de las diferentes fases de la espermatogénesis se usará la clasificación de Parsons & Grier (1992) y para la ovogénesis se usará la clasificación de Serra-Pereira *et al.* (2011).

(Tabla 3 y 4)

Tabla 3. Estadios de la espermatogénesis según Parsons & Grier (1992)

<p>Estadio I</p>	<p>Espermatogonia primaria</p>	<p>Consiste en espermatogonias primarias ubicadas en la zona germinal del testículo, acompañadas de células de Sertoli. Ambas en desorden, sin organizar y otras en inicio de ser rodeadas por una membrana basal. Al ser rodeadas por la membrana basal, pasan a ser espermatogonias secundarias, con un arreglo característico: las espermatogonias se concentran en la periferia y las células de Sertoli en el lumen del espermatocisto. Están en una fase de proliferación (mitosis).</p>
------------------	--------------------------------	--

Estadio II	Espermatogonia secundaria	Durante esta etapa las células de Sertoli comienzan a migrar de la posición del lumen del espermatocisto hacia la periferia junto a la membrana basal, encontrándose en transición. Las espermatogonias incrementan en número y tamaño.
Estadio III	Espermatocito primario	Se ha completado la migración de la célula de Sertoli dentro del espermatocito, encontrándose en la periferia de este. Se da inicio a la primera división meiótica, pasando la espermatogonia a ser llamada ahora espermatocito primario. Estos contienen un núcleo grande y granular.
Estadio IV	Espermatocito secundario	Termina la primera división meiótica de los espermatocitos primarios, dando lugar a los espermatocitos secundarios los cuales presentan núcleos muy pequeños y redondeados.
Estadio V	Espermátida	Los espermatocitos secundarios presentan la segunda división meiótica, justo antes de la espermiogénesis, originando las espermátidas. Las espermátidas presentan núcleos elípticos, muestran

		el inicio de la formación de flagelos. Las espermátidas se encuentran en desorden dentro del espermatocisto.
Estadio VI	Espermatozoide inmaduro	Al término de la espermiogénesis. La cabeza del espermatozoide se dirige hacia la membrana basal y la cola se proyecta hacia el lumen. Inicio de agrupación en manojos hacia la periferia del espermatocistos. Se conocen como espermatozoides inmaduros debido a que la enzima acrosina se dispone solo en la región apical de la vesícula acrosómica.
Estadio VII	Espermatozoide maduro	Espermatozoides maduros unidos en manojos compactos, formándose paquetes de esperma en el espermatocisto. Se conoce como espermatozoides maduros debido a que la acrosina se extiende a lo largo de toda la vesícula acrosómica

Tabla 4. Estadios de la ovogénesis según Serra-Pereira *et al.* (2011)

Fase 1	Folículos primordiales	Es el ovocito primario rodeado de una capa delgada de epitelio folicular.
Fase 2	Folículos primarios	Los folículos primordiales son transformados en folículos primarios, en donde el ovocito aumenta de tamaño y la capa del epitelio folicular aumenta de grosor, formando un epitelio columnar conteniendo dos tipos de células: pequeñas y grandes (teca externa e interna respectivamente).
Fase 3	Folículos pre-vitelogénicos	Son de mayor tamaño que los folículos primarios, el epitelio folicular aumenta de grosor nuevamente, ya que además de contener células pequeñas y grandes contiene células piriformes (capa granulosa) rodeadas de células ricas en lípidos (zona pelúcida).
Fase 4	Folículos vitelogénicos	El ovocito entra en el proceso de vitelogénesis que consiste en la formación de plaquetas de vitelo, la pseudoestratificación del epitelio folicular y un incremento en la vascularización periférica entre los estratos de las

		tecas y el epitelio folicular.
Fase 5	Folículos post-ovulatorios	Se trata de folículos vacíos producidos después de la expulsión del ovocito, aquí solo es visible los epitelios foliculares. Esta fase también contiene a los cuerpos lúteos, que son folículos altamente vascularizados que surgen ya sea por atresia o por la ovulación.

RESULTADOS

Composición de tallas y proporción sexual

Se tiene registro de 331 organismos colectados de los cuales 180 fueron machos y 151 hembras con una proporción sexual de 0.8M:1H, no existiendo diferencias significativas entre el número de organismos de ambos sexos. ($X^2= 0.1;p>0.05$) (Fig. 8). Los intervalos de tallas de los organismos van desde los 45 a los 92 cm de (LT) (Fig. 9), procedentes de muestreos desde el año 2012 al 2017 (Fig. 10) durante los meses de marzo, agosto y noviembre (Fig.10), siendo más abundantes durante el 2014 y teniendo el mayor número de organismos para los meses de marzo. La mayoría de los organismos se encuentran entre los 70 a los 75 cm de LT (Fig. 11), al aplicar la prueba t-student se observaron diferencias significativas ($p<0.05$) siendo más grandes las hembras.

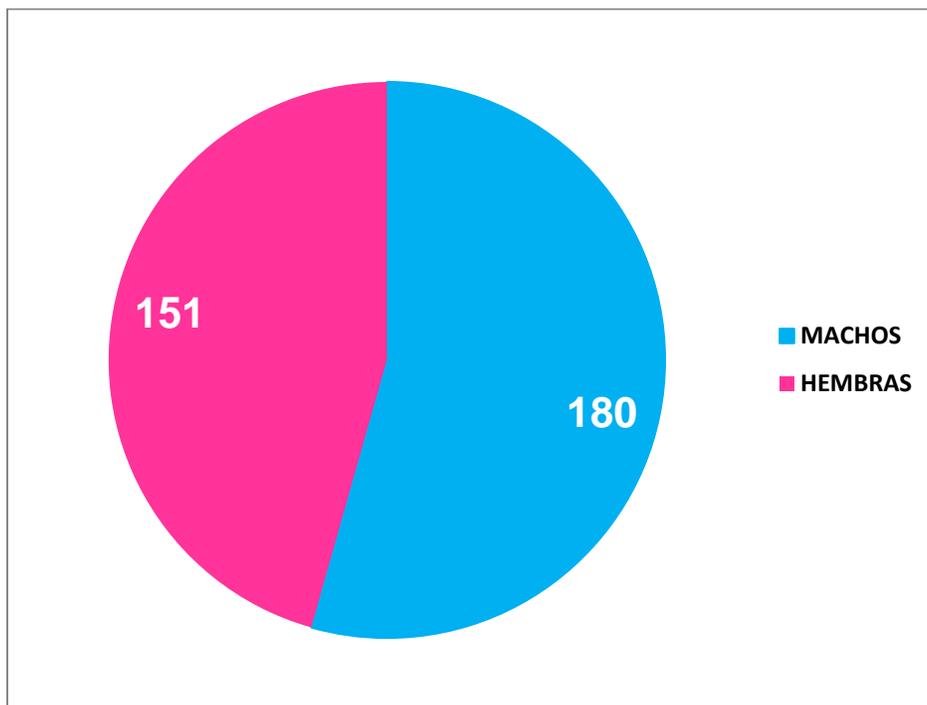


Figura 8. Proporción sexual de *H. francisci*

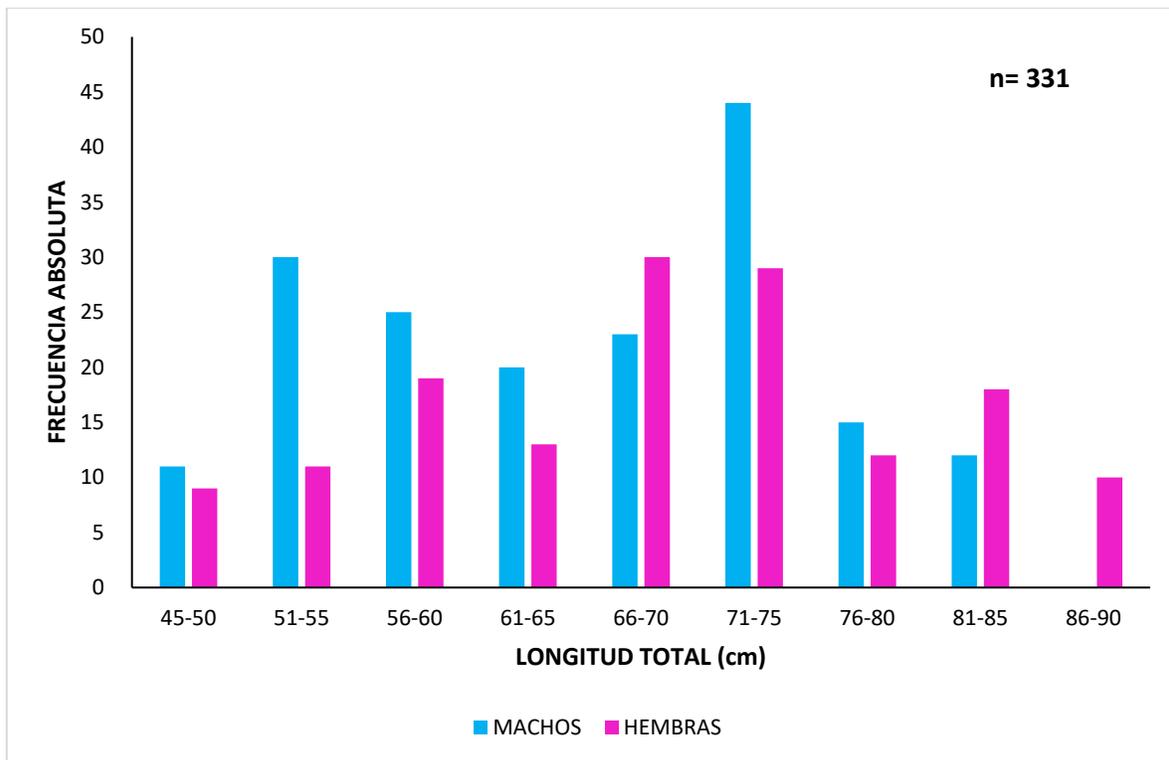


Figura 9. Composición de tallas de *Heterodontus francisci*

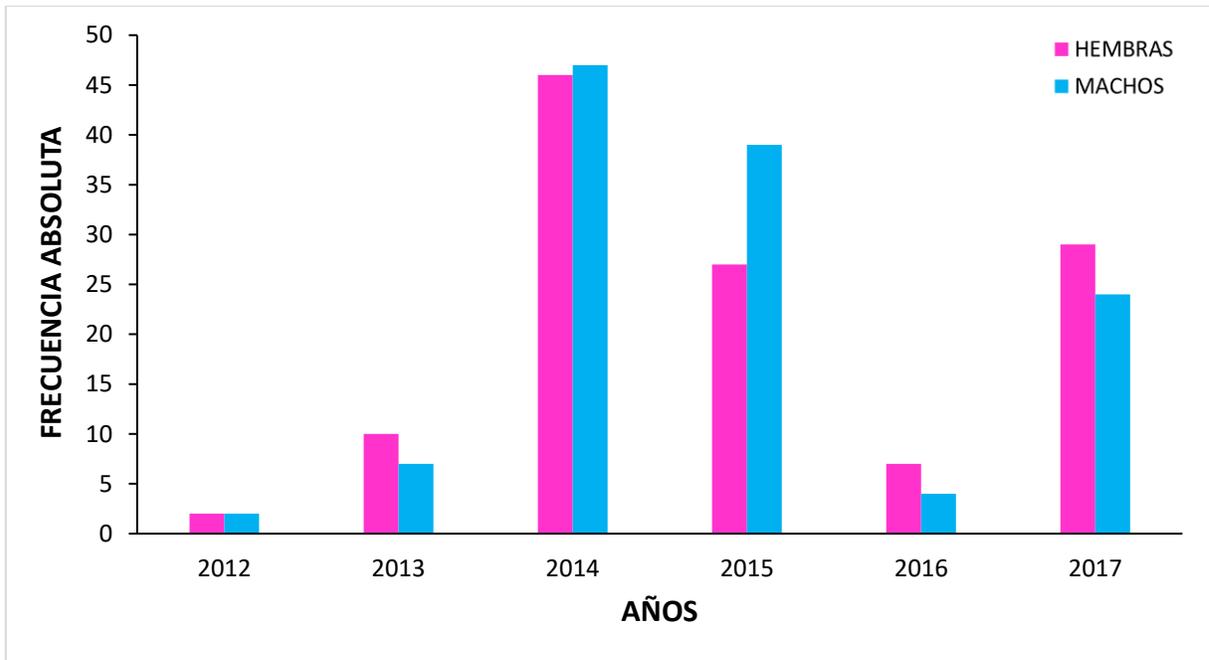


Figura 10. Frecuencia de organismos por años de muestreo

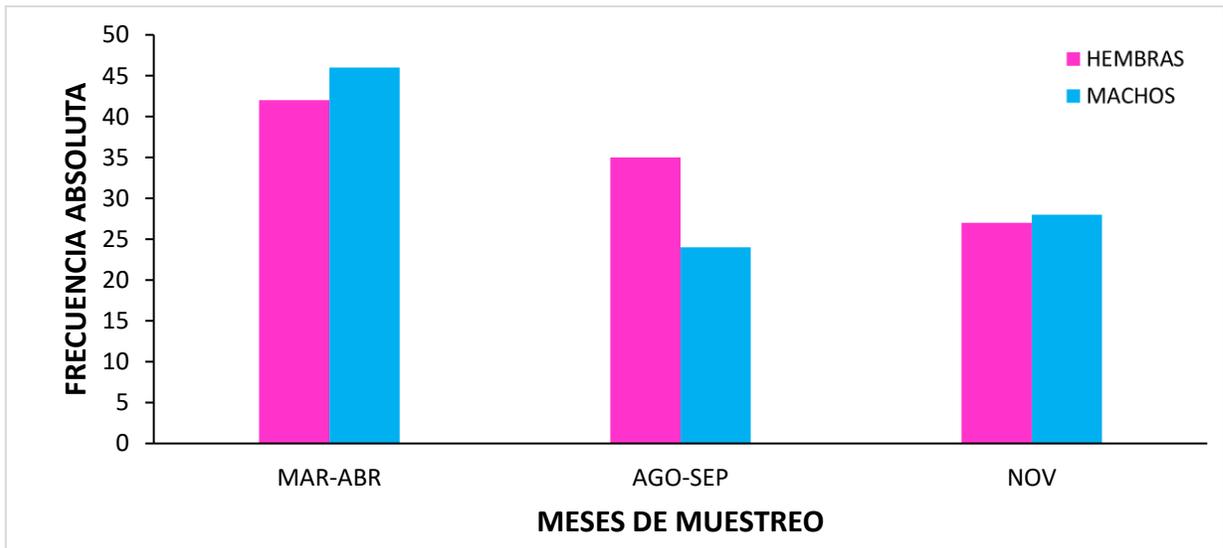


Figura 11. Frecuencias de organismos por meses de muestreo

Descripción macroscópica

Hembras

Se analizaron un total de 31 gónadas de hembras, y se establecieron tres estadios de maduración con base en el tamaño color y número de ovocitos. Se observó que solamente el ovario derecho es funcional, el izquierdo está ausente, a continuación, se presenta los oviductos que conectan con la glándula oviducal encargada de almacenar esperma y de formar la capsula ovígera y por último los úteros.

- Inmaduras.

En esta etapa donde las hembras tenían una longitud menor a los 56 cm, se observó que los ovocitos se presentaron un tamaño menor a 1 cm con coloraciones pálidas y de consistencia acuosa, el ovario está cubierto en su mayoría por el órgano epigonal. La glándula oviducal apenas logra diferenciarse 22 mm y los úteros delgados de 4mm de ancho (Fig. 12).

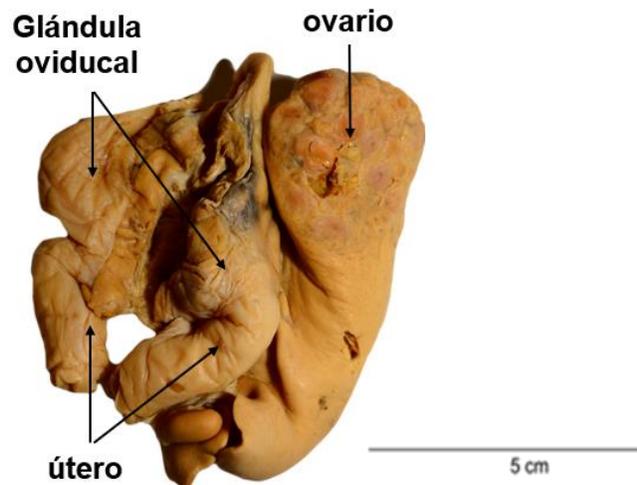


Figura 8. Aparato reproductor de hembra inmadura de *H. francisci*

- En maduración

Las hembras entre los 56 y 70 cm de longitud total presentaban el oviducto diferenciado, aunque no grueso, la glándula oviducal comienza a presentar la forma acorazonada entre los 35-40 mm. Los ovocitos presentaban diámetros mayores a 20 mm y coloraciones más oscuras los úteros empiezan a ensancharse con 15 mm de ancho (Fig.13).

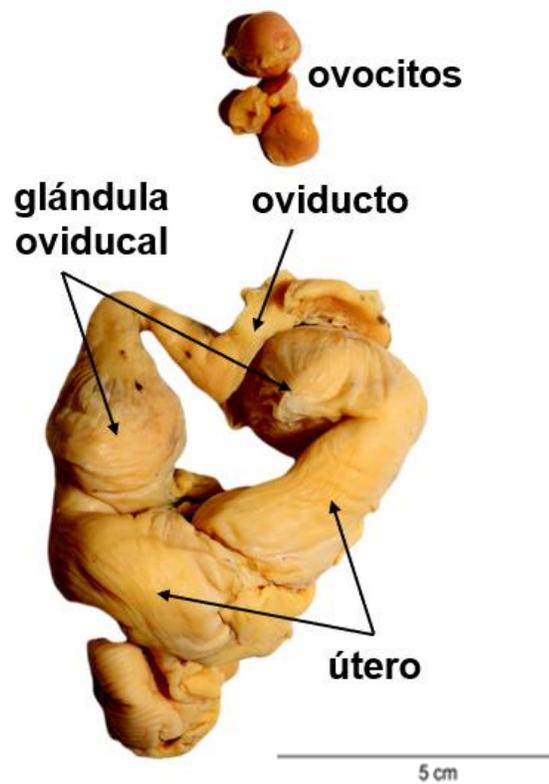


Figura 9. Aparato reproductor de hembra de *H. francisci*

- Maduración

Las hembras en esta etapa fueron las que presentaron longitudes mayores a los 65 cm, la glándula oviducal presenta forma de corazón muy distinguible de 34 mm. Ovarios grandes y con ovocitos de gran tamaño mayores a 30 mm y de coloraciones que iban de los rosas a los cafés intensos. Oviductos gruesos y bien diferenciados (Fig. 14). En esta etapa también presentaron hasta agosto del 2017, dos organismos con úteros que contenían capsula ovígera con una longitud de 11 cm. (Fig. 15)

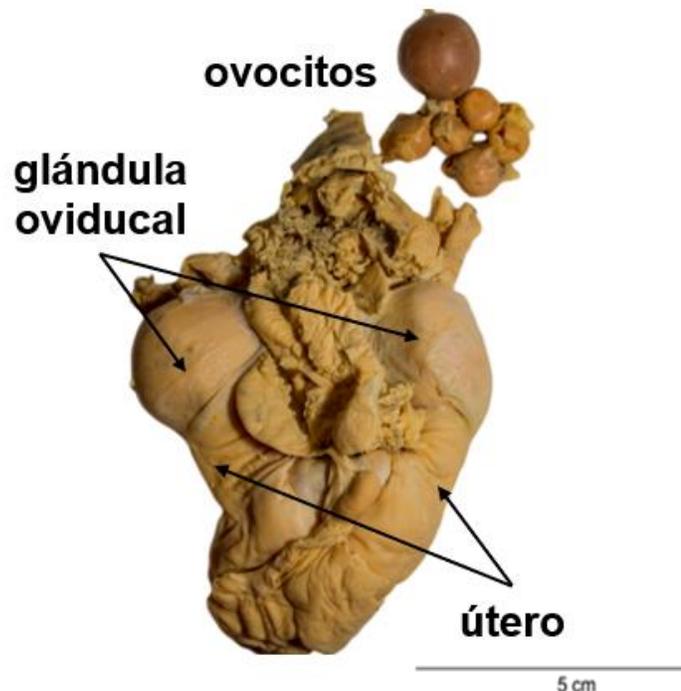


Figura 10. Aparato reproductor de hembra madura de *H. francisci*

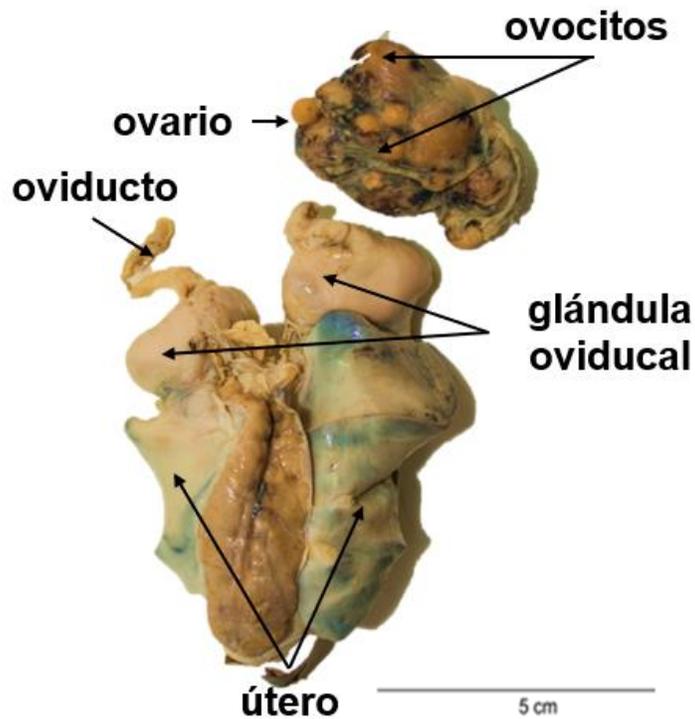


Figura 11. Aparato reproductor de hembra madura con capsula ovígera de *H. francisci*

Capsula ovígera

En este estudio solo se encontraron dos hembras con capsula ovígera en el mes de agosto del muestreo 2017 con una longitud total de 74 y 77 cm. Estas capsulas se encontraron completamente formadas a punto de desove. (Fig. 16).

Heterodontus francisci tiene oviparidad simple, es decir tiene huevos pares y los embriones con nutrición derivada solamente del vitelo. Los huevos están envueltos en una cápsula de naturaleza proteica. La mayoría del desarrollo (hasta unos 15 meses) ocurre fuera de la madre. Esta especie es de oviposición constante debido al avanzado y elevado número de ovocitos vitelogénicos además de presentarse completas las cápsulas ovígeras.



Figura 12 Capsula ovígera de *H. francisci*

Machos

El aparato reproductor de los machos consiste en un par de testículos funcionales que se encuentran en la cavidad abdominal los cuales están formados por varios lóbulos que varían de tamaño dependiendo de su estadio de madurez, se continúa con el epidídimo hasta los conductos deferentes que llegan a la vesícula seminal y esta se conecta con los gonopterigios.

Se analizaron 67 testículos de *H. francisci* a los cuales se les midió el largo y ancho, se observaron sus características morfológicas distintivas. Se logró encontrar tres grupos diferenciados: inmaduros, en maduración y maduros. Los cuales se describen enseguida.

- Inmaduros

Los individuos de esta categoría tuvieron longitudes de los 40 cm a los 50 cm. El gonopterigio presentó distintos valores y no se encuentran calcificados. Sus testículos tenían una forma más circular que elongada, no hubo presencia de lóbulos testiculares, estaban completamente lisos y se observó un color pálido rosáceo. Las medidas de estos testículos estaban entre los 1 y 1.5 cm (Fig. 17).

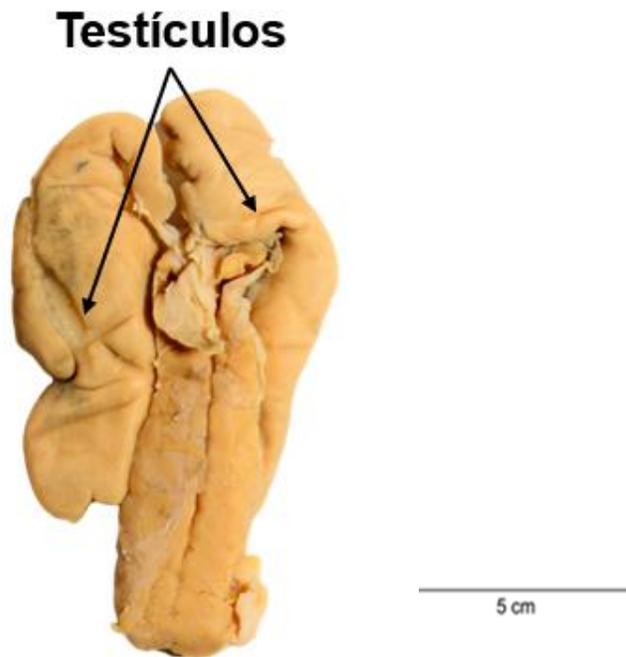


Figura 13. Aparato reproductor de macho de *H. francisci*

- En maduración

Los testículos de los individuos (56 y 65 cm LT) en esta categoría presentaron una forma más elongada, un color rosáceo más intenso y algunos lóbulos testiculares presentes. Los testículos presentaron un largo de los 3 cm hasta los 10 cm y ancho desde 1cm hasta los 3 cm. Se observó la presencia de una estructura en forma de línea de color blanco que atravesaba los testículos. También, se observan células en forma circular en la gónada que podrían sugerir la formación de los lóbulos testiculares (Fig. 18).

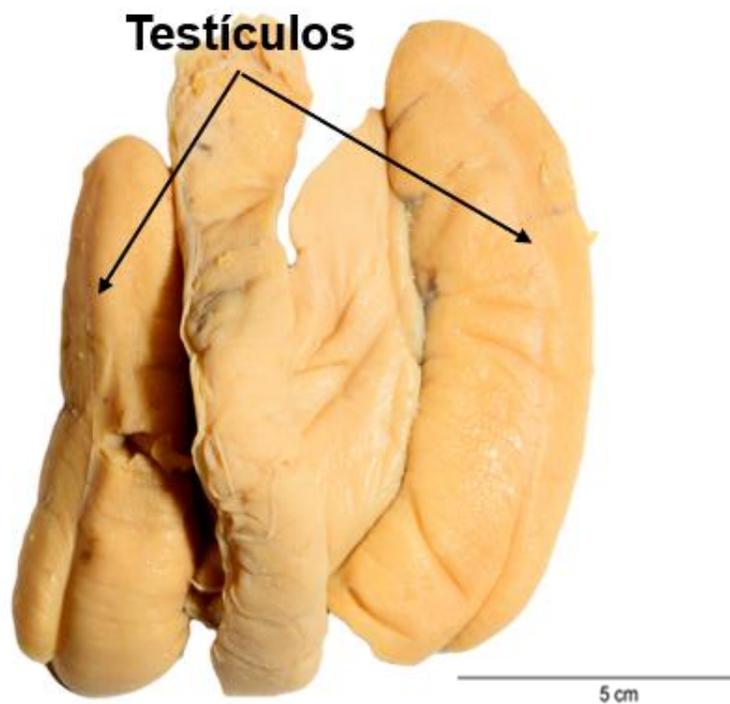


Figura 14. Aparato reproductor de macho de *H. francisci*

- Maduros

Los organismos mayores a los 67 cm de longitud total presentaron testículos bien diferenciados en lóbulos testiculares lo cual sugiere una abundante formación de esperma. El color se nota en tonalidades más intensas a comparación de los organismos inmaduros donde el color es pálido. En general, los testículos tienen una longitud mayor, de entre 5 cm hasta los 10 cm. La forma es completamente elongada. El gonopterigio está totalmente calcificado (Fig. 19).

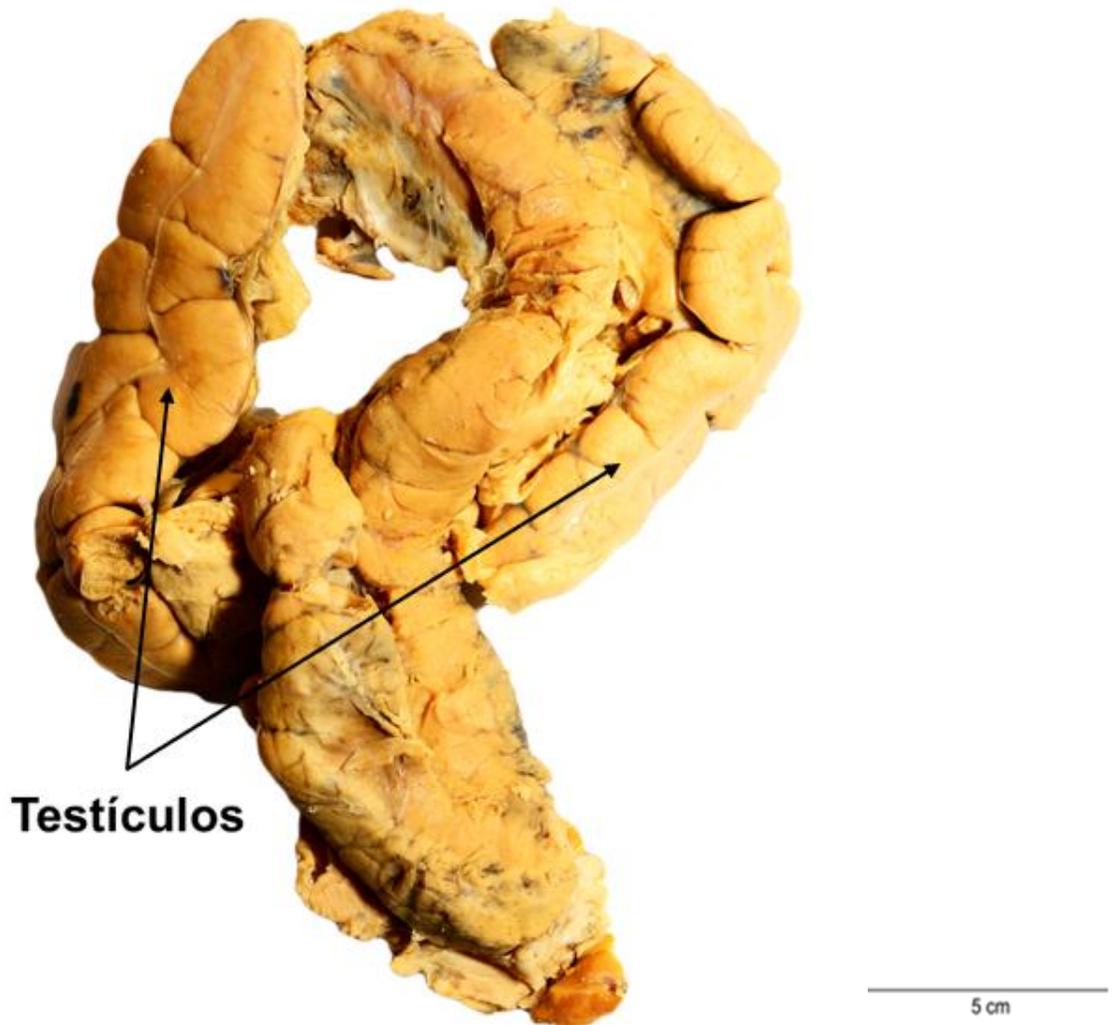


Figura 15. Aparato reproductor de macho de *H. francisci*

Distribución por estadio de madurez

Aproximadamente el 70% de los organismos de *H. francisci* estuvieron en el estadio maduro posteriormente esto se corroboró con la parte histológica (Fig. 20). La longitud total de los organismos comparada con la longitud de los órganos reproductores mostró una relación positiva, solamente en machos. Se registró una relación entre la longitud del testículo con respecto a la longitud total del organismo, ya que a medida que el organismo fue más grande, los testículos aumentaron su tamaño ($r^2= 0.5146$). (Fig. 21)

En el caso de las hembras aparentemente hubo una tendencia positiva entre el largo de la glándula oviducal (Fig. 22) con respecto a la longitud total de los organismos. Sin embargo, debido al bajo número de muestras no se observó una correlación significativa. ($r^2= 0.2707$)

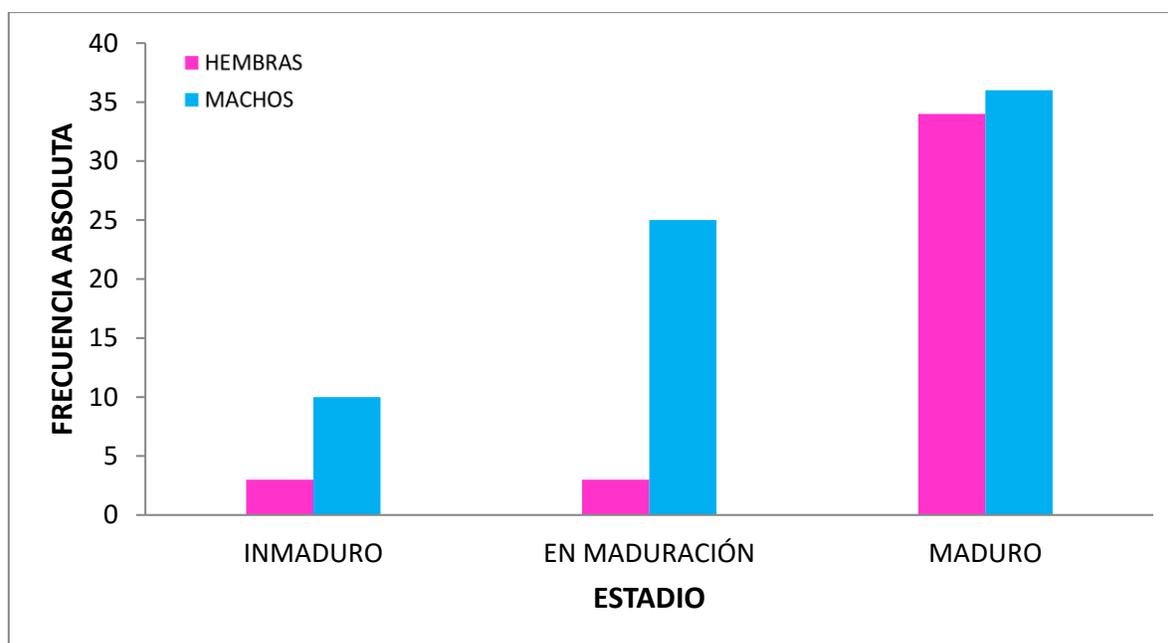


Figura 16. Distribución por estadio de madurez de los organismos de *H. francisci*

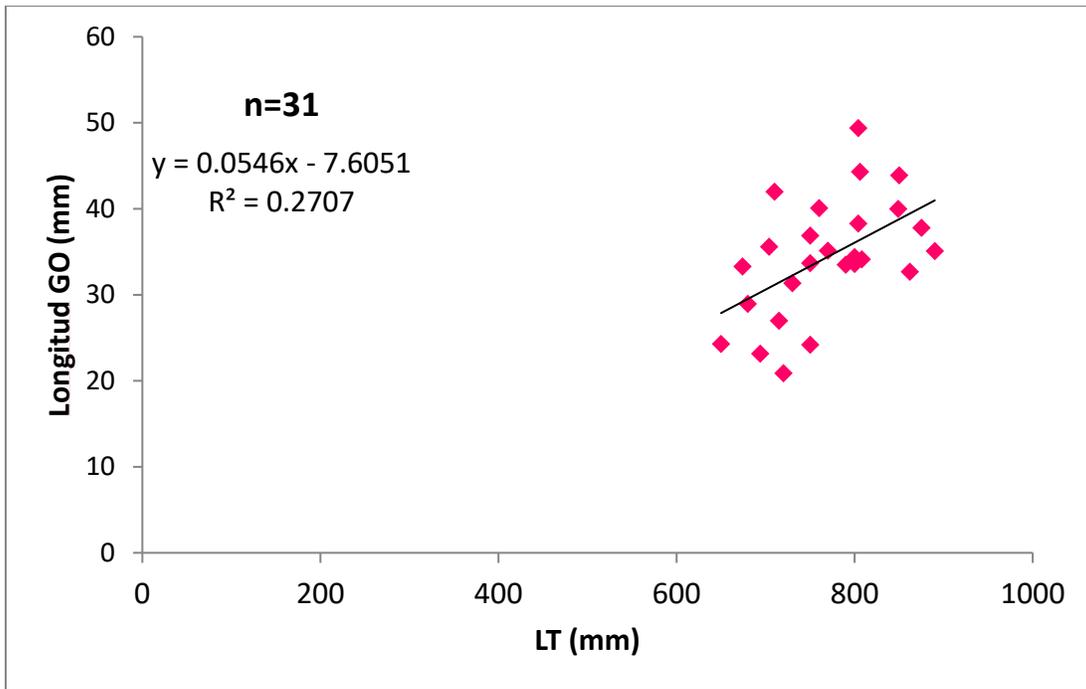


Figura 17. Regresión lineal entre la longitud total (LT) con la longitud de la glándula oviducal (GO)

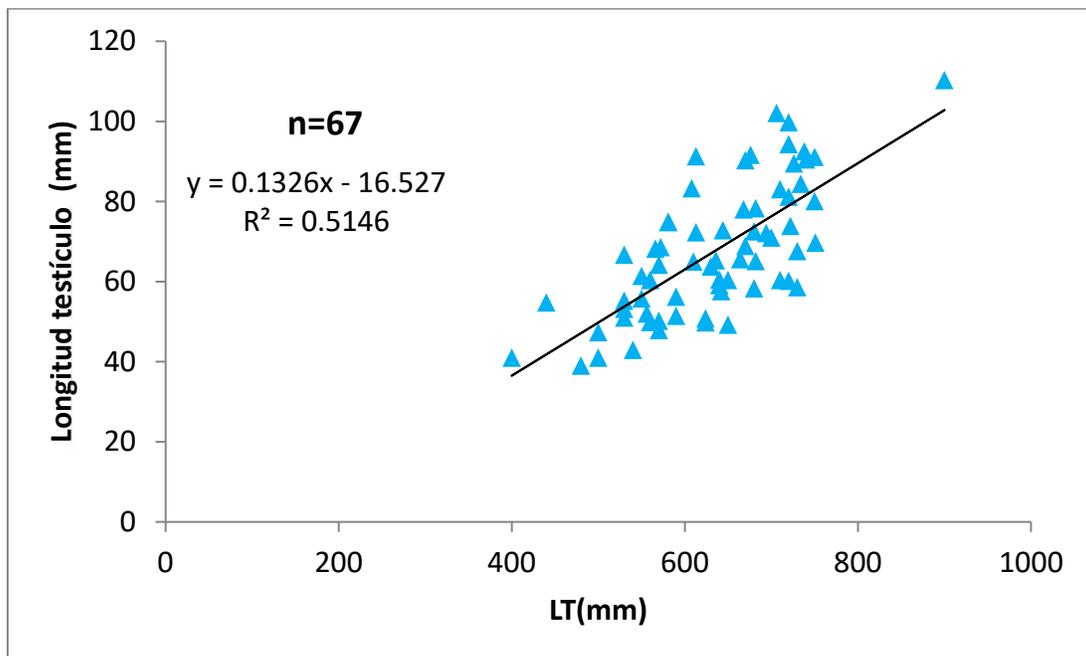


Figura 18. Regresión lineal entre la longitud total (LT) con la longitud del testículo

Talla de primera madurez ($L_{50\%}$)

Se estimó la talla de primera madurez sexual, en la cual se considera la talla a la que el 50% de los organismos está presente en la reproducción al menos una vez y se considera madura; mediante la ecuación logística de Mollet (2000); el valor obtenido de L_{50} para hembras es de 76.75 cm de LT (Fig. 23) y para machos es 67.46cm LT (Fig. 24).

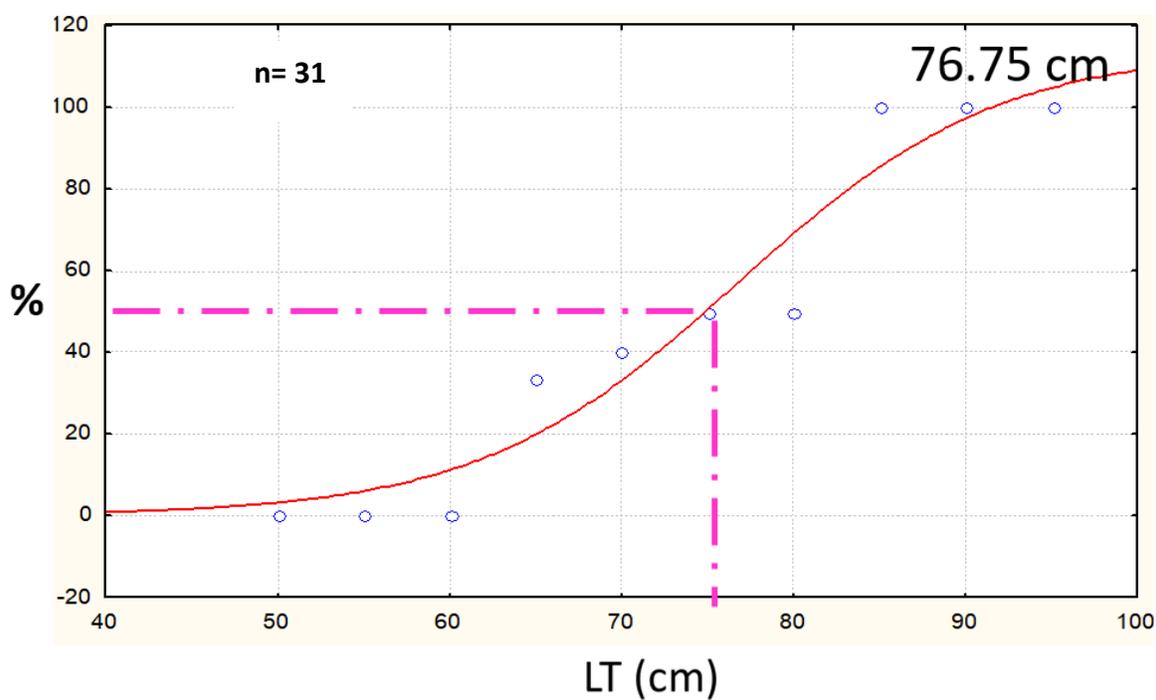


Figura 19. Talla de primera madurez $L_{50\%}$ Hembras

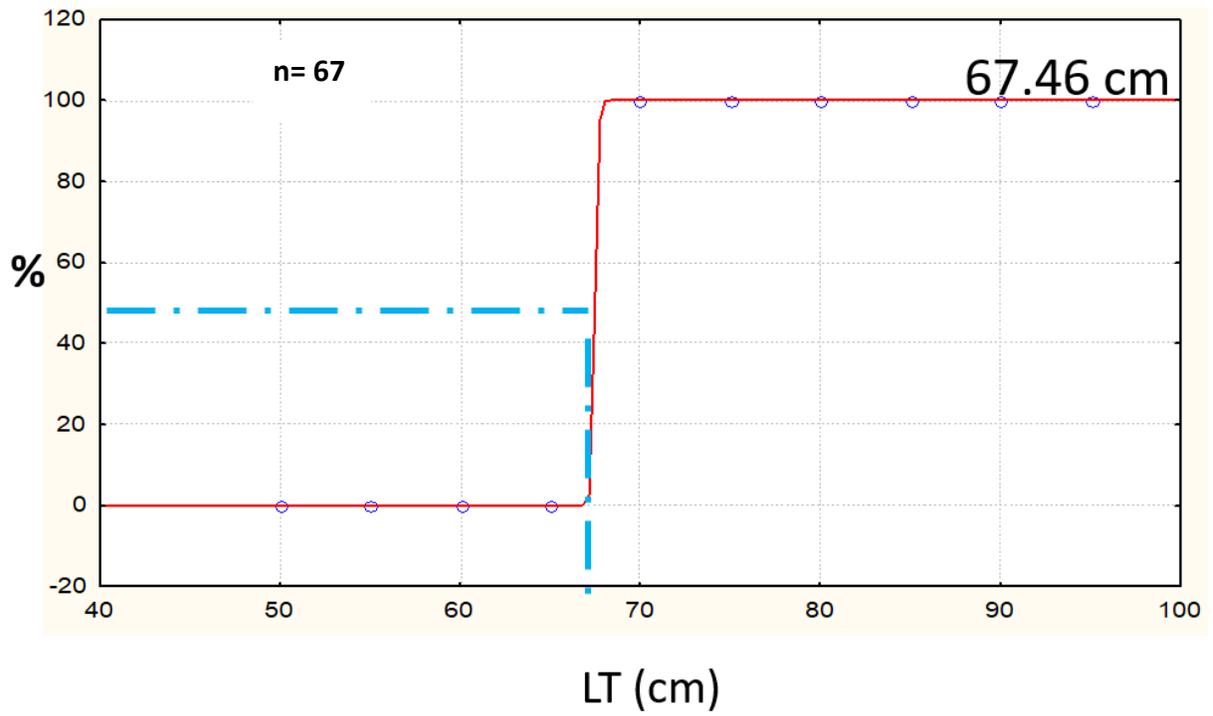


Figura 20. Talla de primera madurez L_{50%} Machos

Descripción microscópica

Hembras

Ovario

H. francisci presentó un ovario funcional de desarrollo asincrónico. Se clasificaron los cortes en maduros e inmaduros. En la figura 25, se observa un corte transversal del ovario de un organismo maduro con una longitud total de 65cm, en este se presentan folículos primordiales (FPr), folículos primarios (Fp) y folículo preovulatorio (FpO).

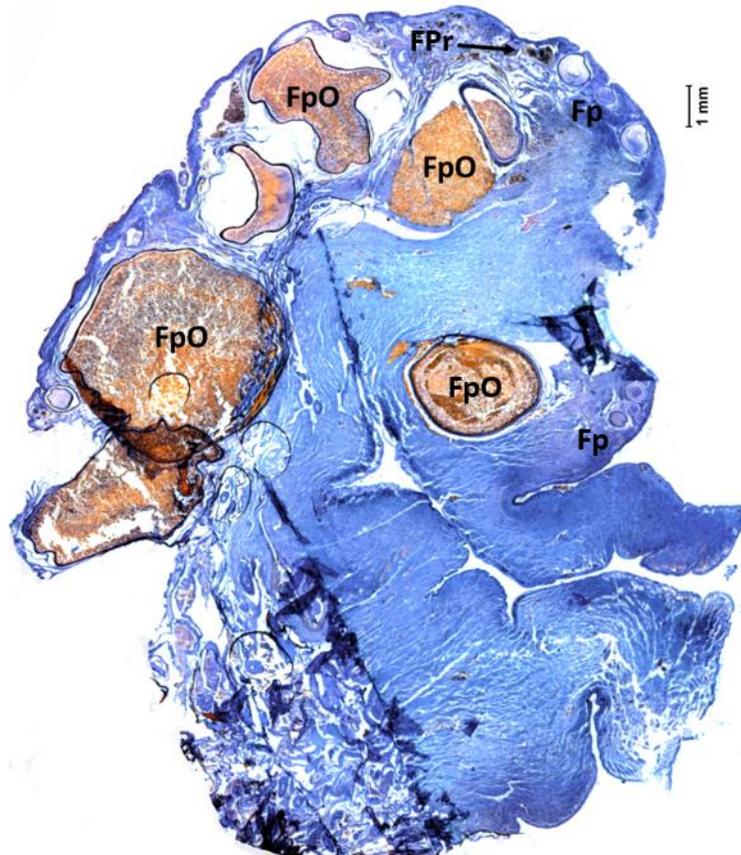


Figura 21. Ovario de Hembra madura (65 cm LT) de *H. francisci* con tinción histológica Tricrómica de Mallory (FPr= folículo primordial, Fp= folículo primario, FpO= folículo pre-ovulatorio)

La ovogénesis se analizó por medio de cortes histológicos, en este caso a 5 μm , en total se identificaron cuatro fases de la ovogénesis:

Fase 1: Folículos primordiales (FPr) El ovocito primario rodeado de una capa delgada de epitelio folicular. (Fig. 26)

Fase 2: Folículos primarios (FP) Se observan los folículos primordiales transformados en folículos primarios donde el ovocito aumenta de tamaño y la capa de epitelio folicular aumenta de grosor, formando un epitelio columnar (teca externa y teca interna). (Fig. 26)

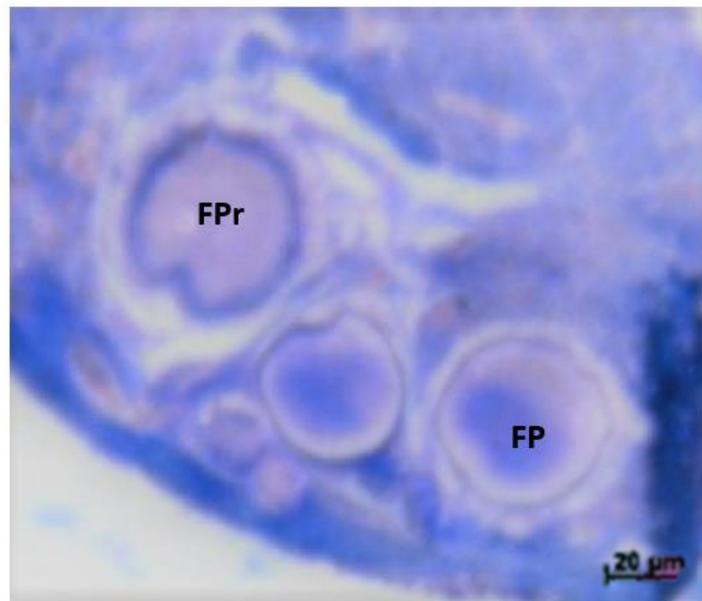
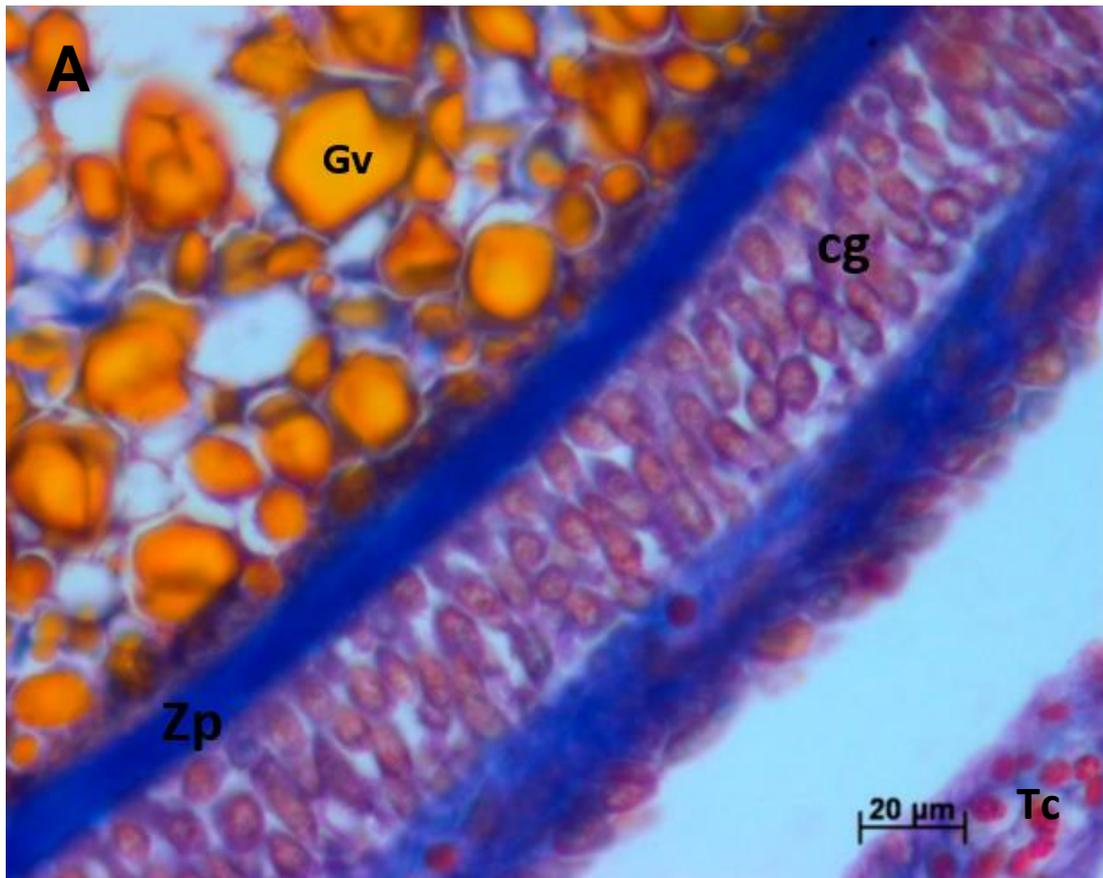


Figura 22. Folículo primordial (FPr) y folículo primario (FP) con tinción tricrómica de Mallory

Fase 3: Folículos en desarrollo o vitelo génicos (FD) El ovocito entra en proceso de vitelogénesis que consiste en la formación de plaquetas de vitelo, la pseudoestratificación del epitelio folicular y un incremento en la vascularización ente la teca y el epitelio, además la zona pelúcida alcanza un máximo grosor.

Fase 4: Folículos preovulatorios (FpO) El citoplasma presenta los gránulos de vitelo con formas esféricas ovaladas. La zona pelúcida se adelgaza, debido a la acumulación de vitelo en abundancia (Fig. 27).



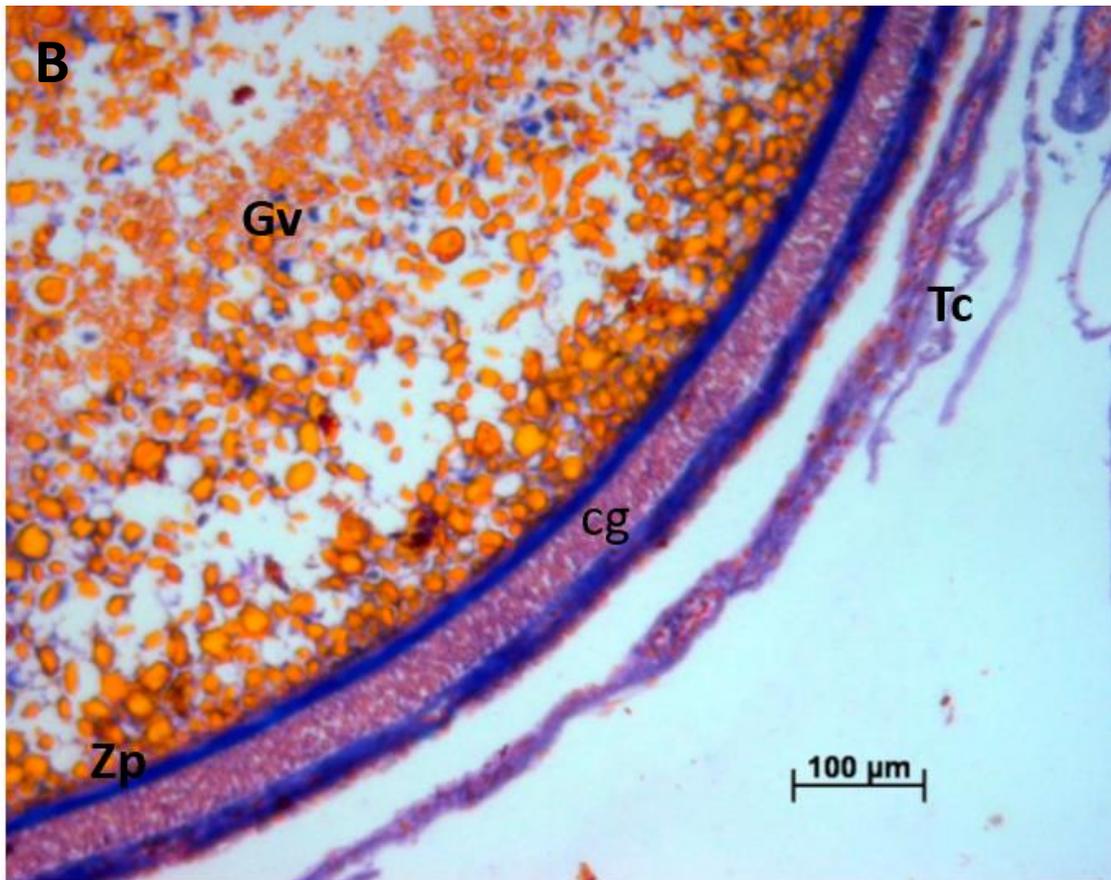


Figura 23. Folículos preovulatorios de *Heterodontus francisci* con técnica de tinción tricrómica de Mallory a)400X b)100X .Se muestra Capa granulosa (cg), Zona pelúcida (Zp), Gránulos de vitelo (Gv), Tejido conjuntivo (Tc).

Glándula oviducal

En la glándula oviducal se identificaron las cuatro zonas descritas por Hamlett (2005). Se observa la glándula oviducal completa (Fig. 28), en la cual se pueden diferenciar las 4 zonas. Comenzando por la zona “Club”: es la que continua de la desembocadura del oviducto con un epitelio columnar simple ciliado con invaginación del lumen. Las células localizadas en la base apical de la zona de pliegues reaccionaron positivamente a PAS indicando la presencia de mucopolisacáridos. Posteriormente le sigue la zona “Papillary” el lumen de la glándula oviducal permanece cerrado en este nivel y los acinos están más distantes

unos de otros, presentando una reacción positiva moderada con PAS igual a la zona club. Estas dos son las encargadas de formar la mucosa encargada del de proteger al ovulo, la zona “*Baffle*” es donde se forma el huevo y por último la zona “*Terminal*” es donde se pretende encontrar almacenado esperma. Además, se observó disminución en la cantidad de acinos al acercarse al lumen, destacándose una mayor ocupación por tejido conjuntivo.

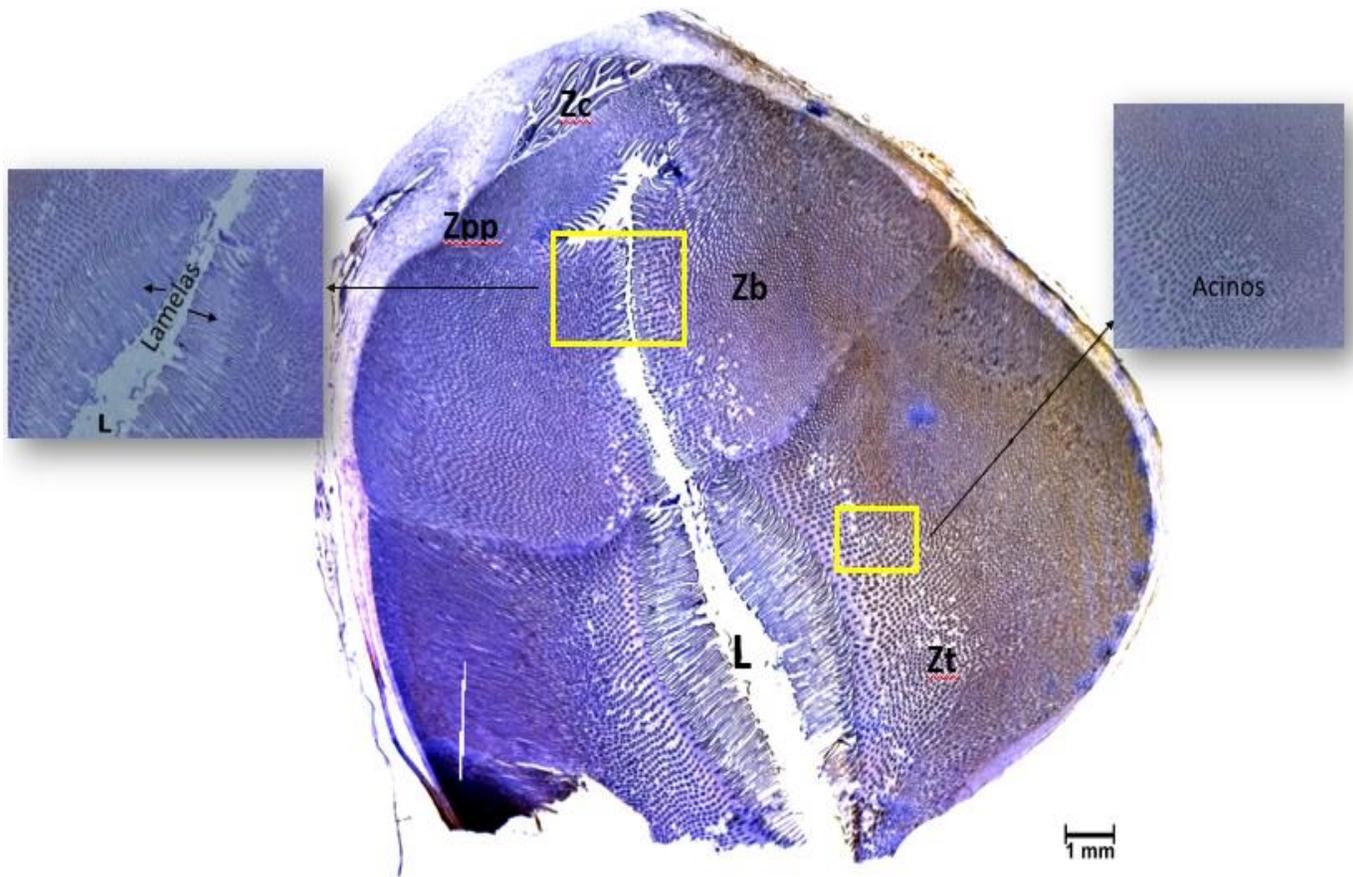


Figura 24. Corte longitudinal de la glándula oviducal de una hembra madura de 72cm LT de *H. francisci* con tinción histológica positiva de Acido Per-yódico (PAS). En los recuadros amarillos se muestran las estructuras características de la glándula; lamelas y acinos, Así como las 4 zonas: zona *Club* (Zc), zona *Papillary* (Zpp), zona *Baffle* (Zb) y la zona *Terminal* (Zt)

Útero

El útero constituye la parte terminal del oviducto en los vivíparos este se encuentra modificado para retener a los embriones dentro del cuerpo por medio del cérvix y en los ovíparos es donde los huevos van a desarrollarse. En las hembras juveniles son delgados hilos de color blanco lechoso que se encuentran entre 3 cm de largo y 1 cm de ancho mientras que para las hembras maduras son 8 cm de largo y 4 cm de ancho. En cuanto a las hembras con capsula ovígera, esta se va ensanchando conforme va desarrollándose el huevo; en este trabajo el útero más grande midió 11cm. En la imagen (Fig. 29) observamos el corte longitudinal del útero de una hembra madura de *H. francisci* presentando las fibras musculares característicos de útero.

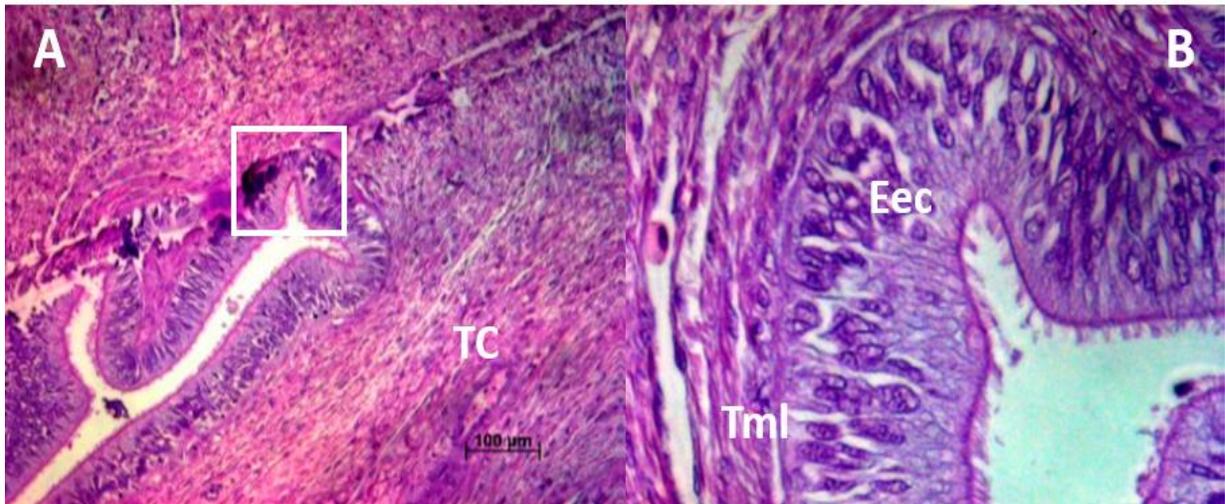


Figura 25. Corte longitudinal del útero de *H. francisci* con la tinción de Hematoxilina- Eosina A)100x B)400x epitelio estratificado cilíndrico con cilios (Eec), tejido conectivo (TC), tejido muscular liso (Tml).

Machos

Testículo

En elasmobranquios se conocen tres tipos de patrones de desarrollo testicular, por la madurez de los espermatocistos en los testículos dependiendo el número y la ubicación de la zona germinal. *Heterodontus francisci* posee testículos con desarrollo de tipo diamétrico. Los espermatocistos se originan en un extremo del testículo y se distribuyen en secuencia de maduración, al eje diametral del testículo, hasta el otro extremo de la pared del testículo. Inicia en la zona germinal, avanza en línea y termina con la formación de los cúmulos de espermatozoides completamente formados dentro del espermatocisto de la zona germinal hasta zona de espermátidas (Fig.30). Existen diferencias entre un testículo maduro y uno inmaduro y se evidencia por el porcentaje de ocupación del órgano epigonal, que es desplazado y disminuido al avanzar la maduración testicular.

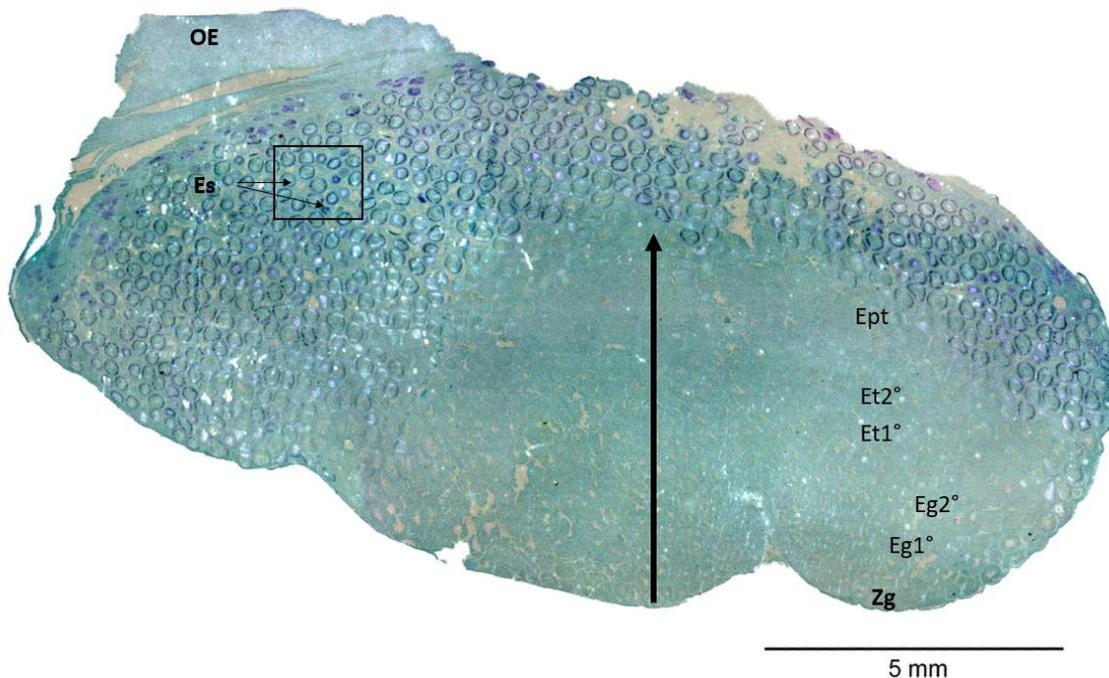


Figura 26. Corte transversal de testículo diamétrico de *H. francisci* maduro de 69 cm de longitud total. (Aumento: 2.0X, Tinción de Feulgen; Zg= zona germinal, Eg1°= espermatogonia primaria, Eg2°= espermatogonia secundaria, Et1°= espermatocito primario, Et2°= espermatocito secundario, Ept= espermátida, Es= espermatozoides, OE= órgano epigonal). La flecha indica la dirección en que avanza la maduración del testículo.

Cada zona en maduración (zona germinal, espermatogonia 1° y 2°, espermatocito 1° y 2°, espermátida, y espermatozoides) poseen espermatocistos en el mismo nivel de desarrollo. Es decir, el corte transversal pone de manifiesto la maduración de afuera hacia adentro, hasta conectarse con los epidídimos y conductos deferentes. A continuación, se describen los estadios encontrados en el testículo de *H. francisci*:

Tabla 5. Fases de la espermatogénesis de *H. francisci*

<p style="text-align: center;">Estadio I</p>	<p>Gonocitos: primera etapa de la espermatogénesis, los gonocitos se encuentran en la periferia del lóbulo testicular sin ningún acomodo</p>
<p style="text-align: center;">Estadio II</p>	<p>Espermatogonia: consiste en células de sertoli que inician su migración hacia la periferia del espermatocito y las espermatogonias están alineadas a la membrana basal, los espermatocistos aumentan de tamaño. Las espermatogonias son las células germinales masculinas en su estado diploide que se encuentra en multiplicación activa por mitosis y están</p>

	alineadas en la membrana basal (Fig. 31A).
Estadio III	Espermatocito primario: son el resultado de la primera división meiótica de la espermatogonia, y se observan núcleos más grandes ahora las células de sertoli se ordenan en la periferia (Fig. 31A y B).
Estadio IV	Espermatocito secundario: se muestran con núcleos pequeños y redondeados. estos presentan una reducción en el tamaño del núcleo y la heterocromatina se desplaza hacia la periferia (Fig. 31B).
Estadio V	Espermátidas: se forman a partir de la segunda división meiótica de los espermatocitos secundarios, se observan núcleos elípticos con la aparición de los flagelos, no se encuentran ordenados dentro de los espermatocistos (Fig. 31B).
Estadio VI	Espermatozoides inmaduros: siendo estos de forma alargada, ordenados de forma que el acrosoma está dirigido hacia la membrana basal y los flagelos dirigidos hacia el lumen (Fig. 31A y B).

Estadio VII	Espermatozoides maduros: ya organizados en manojos compactos a la periferia, con los acrosomas dirigidos hacia la membrana basal (Fig. 31A y B).
--------------------	--

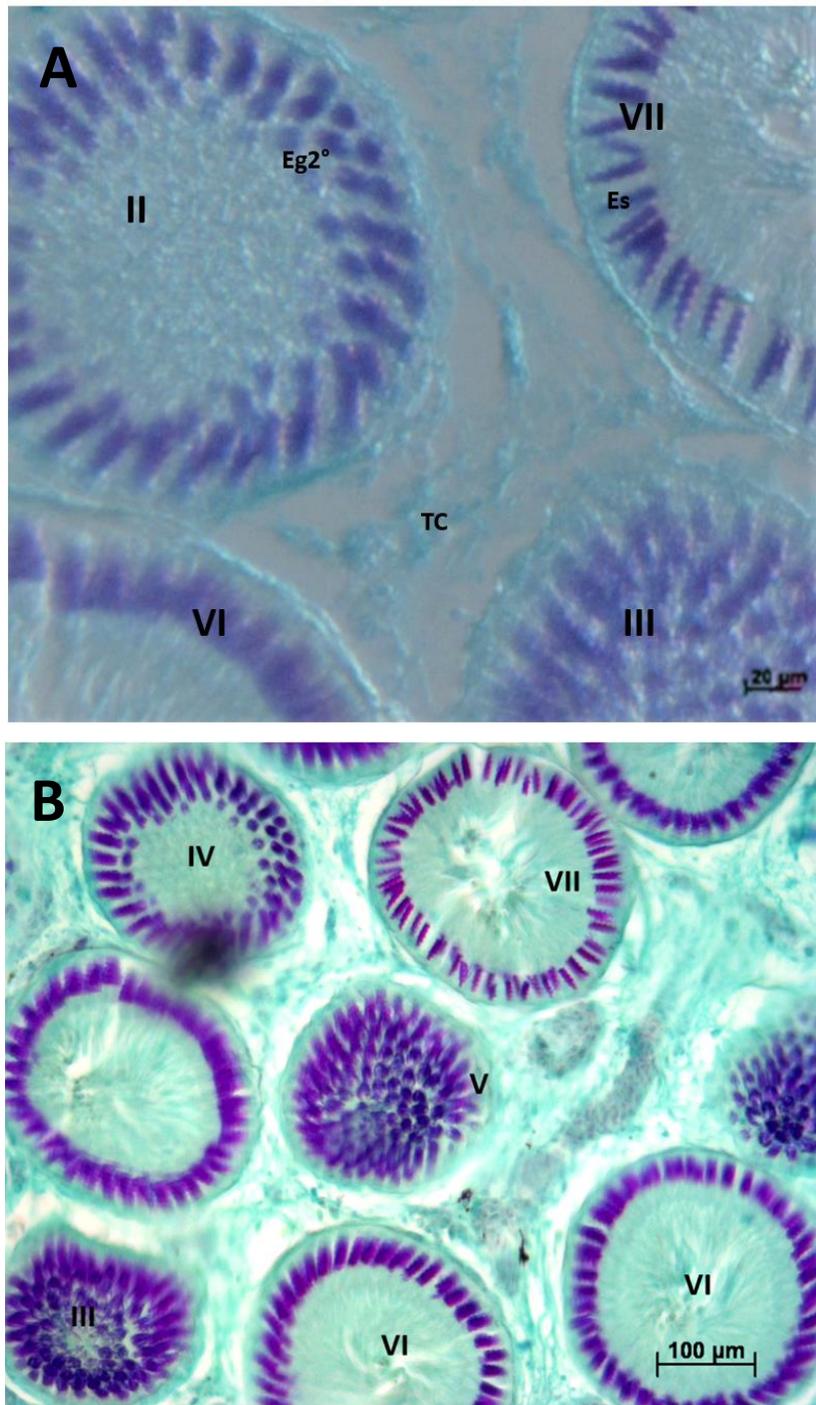


Figura 27. Corte de testículo de *H. francisci* aumento 100x con la tinción histológica de Feulgen. Se muestran los diferentes estadios en cada uno de los espermatocitos a) espermatogonia 2° (Eg2°). Espermatozoides (Es), tejido conectivo TC b) diferentes estadios de la espermatogénesis en cada uno de los espermatozoides.

DISCUSIÓN

El intervalo de longitudes de los organismos muestreados entre el periodo 2012-2017, permite estimar la talla de la captura artesanal de la zona de estudio. Estas tallas van desde los 39 cm a los 92 cm de LT y coinciden con el trabajo de Castellanos-Vidal (2017) en Laguna Ojo de Liebre con organismos que van de 25 a 89 cm LT para ambos sexos y con el trabajo de Ebert *et al.* (2013) en Isla Catalina, California con tallas máximas reportadas entre 86 y 93 cm LT. Tomando en cuenta el tamaño de los organismos de *H. francisci* esto quiere decir que las tallas se encuentran en un mismo rango de longitudes a lo largo de toda su distribución además presenta un dimorfismo sexual, donde las hembras son más grandes que los machos. Ebert *et al.* (2013) reportaron que *H. francisci* presenta esta diferencia de tamaño entre los sexos, al igual que una diferencia en la distribución entre los sexos y estadios de desarrollo. Tovar *et al.* (2007) en un estudio realizado en Victoria, Australia, reportaron diferencias entre tallas en las capturas de una especie del mismo género (*H. portusjacksoni*), siendo las hembras las que presentaron tallas mayores con respecto a los machos, lo cual coincide con lo observado en este estudio. Este cambio en las tallas podría deberse a procesos biológicos, debido a que las hembras enfocan su energía para alcanzar mayores longitudes para poder reproducirse; mientras que los machos para alcanzar la madurez sexual.

Esta condición de dimorfismo es común en varias especies de elasmobranquios, incluyendo el género *Heterodontus*, en donde las hembras alcanzan mayores longitudes (Medellín, 2006; Tovar *et al.*, 2007; Jones *et al.*, 2008). De manera general, Cortés (2000), analizó 230 poblaciones de tiburones de 164 especies y encontró que la longitud total máxima en los machos fue 10% más pequeña que la de las hembras.

En las poblaciones naturales se espera encontrar un proporción sexual de 1:1 (Piferrer, 2009); en este trabajo se obtuvo una proporción de 0.8M:1H (machos:hembras) misma que se presentó en la mayoría de los muestreos y no se encontraron diferencias significativas en la distribución temporal durante el periodo de estudio.

Bahía Tortugas podría ser una zona en donde hembras y machos, comienzan a reunirse en un punto geográfico para comenzar el apareo durante los siguientes meses. Se sabe que una estrategia reproductiva en tiburones involucra el apareo y el almacén del esperma por parte de las hembras, así que podrían aparearse y guardar el esperma en la glándula oviducal hasta el momento de la fertilización de los huevos. La proporción sexual permite inferir si la existencia de una segregación espacial por sexos puede responder a una fase del ciclo reproductivo que se esté presentando en ese momento (Grijalba-Bendeck *et al.* 2008)

En el presente trabajo los organismos de *H. francisci* tuvieron una mayor abundancia durante marzo, agosto y en el año 2014, el aumento de organismos en este periodo fue por un mayor esfuerzo de muestreo. Un 70% de los organismos se encontraron en estadio maduros con dos hembras preñadas en el mes de agosto del 2017 con la capsula ovígera totalmente desarrollada; sin embargo, los tres estadios descritos estuvieron presentes durante los meses y años de este estudio. Engel & Callard (2005) mencionan que es frecuente en diversas especies de tiburones el presentar todos los estadios durante todo el año, siendo así un desarrollo asincrónico. Esta especie de tiburón realiza pequeñas migraciones en busca de alimento o para aparearse (Compagno, 2001).

Por otro lado, las hembras que presentaron cápsulas ovígeras, fueron encontradas en el mes de agosto; comparando con lo obtenido en los registros del norte del Golfo de California, las cápsulas ovígeras estuvieron presentes en los meses de noviembre, marzo y abril (Castillo, 2007), y en las costas de Sonora en los meses

de otoño y en el estudio de Laguna Ojo de Libre se encontraron en el mes de febrero pero estas capsulas ovígeras no estaban completamente desarrolladas, solo un 40% menciona Castellanos-Vidal (2017) y en nuestro estudio las capsulas ovígeras están completamente desarrolladas. En este sentido se podría mencionar que las hembras comienzan en la ovulación y la formación del huevo en el invierno, en este estudio se sugiere que el periodo de desove ocurre en el verano cuando la temperatura del agua aumenta, es probable que la ausencia de registros de hembras con capsulas ovígeras se haya debido a que coincide con la temporada de veda (mayo a julio).

Ebert *et al.* (2013) argumentan que los machos de *H. francisci* maduran por primera vez cuando tienen una LT de 56 a 61 cm y las hembras cuando tiene una longitud mayor a 58 cm anterior concuerda con Strong (1989) quien reportó una LT de primera madurez igual para los machos en la Isla Catalina, California, utilizando el índice del gonopterigio; mientras que Castellanos-Vidal (2017) en el estudio de biología reproductiva en la Laguna Ojo de Liebre obtuvo las siguientes longitudes: 51 cm para machos y 53.7 cm para hembras. Estas longitudes de talla de primera madurez de todos estos estudios son menores a las encontradas para la zona de Bahía Tortugas que es 76.7cm para hembras y 67.4cm para machos. Se ha reportado que la $L_{50\%}$ para una misma especie, puede ser diferente debido a la variación latitudinal (Parsons, 2007). La diferencia de longitudes que presentan los organismos de Laguna Ojo de Liebre respecto a los de Bahía Tortugas puede deberse a que la zona de muestreo en Bahía Tortugas es más extensa ya que se sale a distancias más grandes y a mayores profundidades donde los organismos más grandes pueden encontrarse.

La descripción macroscópica del aparato reproductor en hembras de *Heterodontus francisci* al igual que otros tiburones está compuesto por un solo ovario en el lado derecho, sostenido por un meso ovario que llega al oviducto, pero sin continuarse con éste (Wourms, 1977). Presenta una entrada llamada ostium en la parte anterior

de la tráquea que se bifurca en dos oviductos los cuales llegan a un par de glándulas oviducal, las cuales se continúan en la parte posterior del oviducto y desembocan cada uno en un útero, la composición anterior del aparato reproductor de las hembras de esta especie también fue descrito por Compagno (2001), tanto machos como hembras poseen el llamado órgano epigonal al que se atribuye una función hematopoyética (Jezior & Hamlett, 1995).

Heterodontus francisci presentó un ovario funcional (derecho) con ovocitos visibles cubiertos por un epitelio germinal, conectado a un par de oviductos glándulas oviducal y úteros (Powter, 2008).

Este tipo de desarrollo se ha reportado en diferentes elasmobranquios ovíparos como el *Cephaloscyllium ventriosum* (Bernal-Pérez, 2017) al igual que otros elasmobranquios como *Cephaloscyllium umbratile* y *Cephaloscyllium laticeps*, el ovario funcional es el derecho (Wourms, 1977)

Esto difiere en algunas rayas que tienen dos ovarios funcionales como se reportó para *Pseudobatos productus* (Juaristi- Videgaray, 2016).

La glándula oviducal es característica por presentar una forma acorazonada, esta se presentó en los organismos maduros. Powter *et al.* (2008) reportan que se pueden diferenciar los diferentes estadios de maduración respecto a la forma y tamaño de la glándula oviducal, así como también se observó que la glándula oviducal es de mayor tamaño en los organismos ovíparos (Hamlet, 2005).

La longitud total comparada con diferentes medidas de distintas estructuras de las gónadas de hembras se observó que hay un crecimiento proporcional entre el organismo y el aparato reproductor.

El ovario presentó distintos estadios de ovocitos (Powter & Gladstone (2008) tomaron como referencia que los ovocitos a partir de 0.5 cm correspondían a una hembra en maduración según las características de la glándula oviducal y para

considerar a una hembra totalmente madura, los ovocitos deberían tener medidas mayores a 3.5 cm.

Jones *et al.*, (2008) dividieron a las hembras en inmaduras si presentaban ovocitos menores a 2.5 cm y maduras si eran 2.5 cm. En este estudio y basados en el trabajo de Tovar *et al.* (2007) se encontraron ovocitos mayores a 3.5 cm sólo en hembras totalmente maduras. Pero, tanto en hembras en maduración o inmaduras existe un amplio margen de valores en los ovocitos por lo que éstos no fueron el criterio definitivo al momento de catalogar a los organismos. Sin embargo, en ambos estudios y en el presente trabajo se encontró que a partir de los 0.5 cm los ovocitos están completamente vitelogénicos.

Después de la glándula oviducal está el útero, el cual es el ensanchamiento de los oviductos dónde los huevos van a desarrollarse (Carrier *et al.*, 2004). Estas estructuras al igual que las anteriores presentan características particulares de acuerdo con el estadio en el que se encuentran, por lo tanto el desarrollo de estos órganos coincidió con lo observado por Pérez-Jiménez (2006) y Bustamante (2007) para *Mustelus henlei*, observando que la diferencia de tamaños de los úteros en las hembras maduras, dependen del estado reproductivo en el que se encuentren.

En cuanto a la descripción macroscópica de los machos estos tienen dos testículos en los cuales no se encontró diferencias significativas respecto al tamaño, sin embargo, hay diferencias en el color y textura respecto a los diferentes estadios de maduración. En diferentes trabajos de elasmobranquios se reporta que es más viable inferir los diferentes estadios sexuales de un macho tomando en cuenta la relación del gonopterigio, grado de calcificación y la apertura del rifiodón (Powter *et al.* 2008). En este estudio no se realizaron dichas relaciones ya que no se obtuvieron suficientes medidas de los gonopterigios de los organismos capturados así que solo se utilizaron las medidas de los testículos, esto se ha reportado en diversos trabajos de tiburones que coincide con el estadio sexual que se infería solamente

observando el gonopterigio. Por lo que, analizar los testículos podría ser una buena referencia si no se cuentan con los datos del gonopterigio y rifiodón.

En su estudio, Powter & Gladstone (2008) y Tovar *et al.*, (2007) indican que a partir de los 0.5 mm y la forma lobulada de los testículos se puede considerar a un organismo como maduro, la forma lobulada es la misma que se reportó en este estudio como parte distintiva en un testículo maduro. De igual forma, no se encontraron diferencias significativas entre los testículos derecho e izquierdo. En el presente estudio tampoco se registró.

Al comparar la longitud total del organismo con la longitud del testículo, se observó cierta tendencia de proporcionalidad, sin embargo, el valor de correlación es bajo ($R^2= 0.5146$).

El 70% de los organismos se encontraron maduros esto puede ser debido a la abertura de malla utilizada para la zona (152 mm o 6 pulgadas) que cumple con las disposiciones aplicables para la pesquería ribereña artesanal de tiburones y rayas establecidas en la NOM-029-PESC-2006 (DOF, 2007). La utilización de esta abertura de malla da como resultado que el intervalo de longitudes con mayores capturas en ambos sexos (65 a 75 cm de LT) sea superior a la longitud de primera madurez sexual. Esto coincide con el trabajo de Castellanos-Vidal (2017) en Laguna Ojo de Liebre donde encontraron que los organismos más abundantes están dentro del intervalo de talla de 61 a 70 cm de LT para ambos sexos siendo igual o mayor que la longitud de primera madurez sexual.

Diversos autores sugieren que, en el caso de los elasmobranquios en particular, para determinar la madurez sexual, debe existir una combinación de la morfología externa del sistema reproductor y el análisis interno de las gónadas.

El análisis histológico de las gónadas ha sido usado para corroborar los estados de madurez determinados en varias especies (Maruska *et al.* 1996).

La ovogénesis es similar en todos los vertebrados, existe una gran diversidad de en los epitelios foliculares entre cada especie de elasmobranquios, aunque exhiben algunas particularidades (Galíndez, 2016). Para determinar la madurez sexual, debe existir una combinación de la morfología externa del sistema reproductor y el análisis interno de las gónadas. En este estudio se encontraron cuatro fases de la ovogénesis. Durante el crecimiento del ovocito, el epitelio folicular cambia progresivamente su organización y se convierte en varias capas con la presencia de tres tipos de células: células pequeñas, intermedias y piriformes. Esta organización tiene una duración hasta el final del crecimiento de los ovocitos, pero su actividad cambia significativamente (Prisco, *et al.*, 2007; Soto-López, 2014)

Además, las hembras maduras muestran numerosos folículos vitelogénicos en crecimiento y pueden mostrar cuerpos atrésicos o cuerpos lúteos embebidos en tejido conjuntivo laxo (Prisco *et al.* 2002); sin embargo, *Heterodontus francisci* no presenta atresias ni cuerpos lúteos, lo cual concuerda con algunas especies de batoideos. El no encontrar presencia de cuerpos lúteos en el ovario, se debe a que en especies ovíparas disminuye su presencia en pocas semanas; mientras que en especies vivíparas persisten durante toda la gestación (McMillan, 2007b)

El proceso de la ovogénesis es similar en todos los vertebrados, existe una gran diversidad en los epitelios foliculares entre cada especie de elasmobranquios. Al observar ovocitos en diferente grado de desarrollo se puede concluir que *H. francisci* es un desovador parcial asincrónico, esto quiere decir que la hembra libera los folículos uno por uno.

La glándula oviducal es una estructura especializada presente en los Condrictios y las funciones más importantes es el almacén de esperma y la producción de la

capsula ovígera (Hamlett, 1995). Se encarga de la transferir los huevos al útero y secretar sustancias gelatinosas que rodea y da protección al ovulo y embriones (Hamlett & Koob,1999).

Heterodontus francisci mostró las 4 zonas morfofuncionales características de esta glándula y que presentan diferencias como en *Pseudobatos productus* (Juaristi-Videgaray, 2016) y *Cephaloscyllium ventriosum* (Bernal-Pérez, 2017). Hamlett (2005) mencionó que estas zonas se distinguen inclusive en especies con diferente modo reproductivo. Cada una de las zonas es responsable de una única función, se caracterizan por su diferente organización histológica y por afinidad de tinción. Algunos elasmobranquios como *H. francisci* en este estudio presentan reacción positiva a la tinción de PAS+ y H-E (Pratt, 1994, Smith *et al.*, 2004; Moura *et al.*, 2011).

Estas cuatro zonas se distinguen en la mayoría de las especies estudiadas: una zona anterior del club, seguida por una zona papilar que produce moco que rodea el óvulo fertilizado en las primeras etapas de la embriogénesis, una zona deflectora que forma la envoltura terciaria del huevo, y una zona terminal donde se almacena el esperma (Hamlett & Koob, 1999)

Según Hamlett & Koob (1999) la función de la glándula se altera en los tiburones con placenta vivípara; en este caso, la membrana que rodea el embrión es delgada y casi transparente en relación con la cáscara de huevo generada por especies ovíparas.

No se ha reportado para *Heterodontus francisci* almacén de esperma, algunas hembras de elasmobranquios pueden almacenar esperma en la glándula oviducal durante algunos meses (Pratt, 1993; Moura *et al.*, 2011) como es el caso para *Centroscymnus coelolepis* (Moura *et al.*, 2011), *S. lewini* y *S. zygaena* (Bejarano-

Álvarez, 2011) y *C. ventriosum* (Bernal-Pérez, 2017); si el esperma no se almacena, la cópula se llevaría en repetidas ocasiones a través del año. Se ha observado en *Dasyatis americana*, la capacidad de realizar copulación en cuestión de minutos a horas después del parto (Pratt & Carrier, 2005; Powter & Gladstone, 2008).

El almacenamiento de esperma en la glándula oviducal es un mecanismo evolutivo conservado en elasmobranquios, que muy probablemente aseguró la inseminación exitosa de especies con hábitos nómadas o de aquellos con baja densidad de población (Pratt, 1993).

Para *H. francisci*, un almacenamiento de esperma por un tiempo más prologado puede ser innecesario, ya que ambos sexos se encuentran en la zona de estudio durante todo el año, por lo que no hay una separación temporal o geográfica (Storrie *et al.*, 2008). Esto contrasta con especies de tiburones pelágicos como *S. lewini* o *P. glauca*, con un estilo de vida nómada, en donde la glándula oviducal actúa como un verdadero depósito seminal que permite la fertilización tardía (Pratt, 1994).

Esto sugiere que puede existir almacenamiento de esperma en las glándulas oviducal antes del inicio de la ovulación para asegurar la fertilización de los huevos (Castellanos-Vidal, 2017). Otros autores han propuesto lo mismo para *H. portusjacksoni*, ya que se han observado apareamientos antes de la ovulación (Tovar *et al.*, 2007; Jones *et al.*, 2008).

Respecto a los machos en los elasmobranquios se han identificado tres tipos de testículos definidos por su patrón de origen y la propagación de los folículos seminíferos: radial, diamétrico y compuesto (Pratt, 1988). *H. francisci* mostró un desarrollo de la espermatogénesis del tipo diamétrico característico del orden Carchariniformes, en el cual los folículos seminíferos se distribuyen desde la zona

germinal a través del diámetro de los testículos al extremo opuesto, donde los conductos eferentes recogen los espermatozoides (Pratt, 1988).

Este arreglo también fue encontrado en *Heterodontus portusjacksoni* (Tovar *et al.*, 2007) *Centroscymnus coelolepis* y *Centrophorus squamosus* (Girard *et al.*, 2000) y en *Mustelus canis* (Conrath & Musick, 2002), y más reciente el estudio de *Cephaloscyllium ventriosum* (Bernal-Pérez, 2017) similar a lo reportado para especies del mismo género como *Cephaloscyllium laticeps* (Awruch *et al.*, 2008) y para otras especies como el tiburón *Sphyrna tiburo* (Parsons & Grier, 1992), tiburón piloto *Carcharhinus falciformis* (Hoyos-Padilla, 2003) y el tiburón azul *Prionace glauca* (Carrera-Fernández, 2004). Las fases de la espermatogénesis dentro del espermatozocito, ocurren de manera similar en los elasmobranquios, solo cambia el número y la manera de proliferación de estos espermatozocitos.

El inicio de la espermatogénesis ocurre en etapas tempranas del desarrollo sexual, es decir que en organismos inmaduros puede ser encontrado en fases avanzadas de desarrollo de la espermatogénesis, como ocurre en *Raja clavata* y en otros batoideos (Serra-Pereira *et al.* 2011). Este hecho también se ha descrito en otros elasmobranquios, tales como el tiburón portugués *Centroscymnus coelolepis* y el quelvacho negro *Centrophorus squamosus* (Girard *et al.* 2000).

H. francisci presentó tanto en organismos maduros como en inmaduros todas las etapas de la espermatogénesis. El análisis histológico mostró formación de espermatozoides maduros en testículos desde organismos inmaduros, los cuales aún presentaban gonopterigios sin calcificar. Entonces el órgano que determinará su capacidad de apareamiento y será la calcificación gonopterigio, independientemente si se encuentran espermatozoides listos en los testículos.

CONCLUSIONES

Este trabajo amplió la información sobre la biología reproductiva del tiburón *H. francisci* en la zona de Bahía Tortugas B.C.S. El intervalo de tallas para los organismos en ambos sexos osciló entre los 45cm a los 92cm de LT presentando tallas mayores las hembras. Los organismos muestreados se presentaron en un 70% en estadio maduro durante toda la temporada con una proporción sexual 0.8M:1H. La $L_{50\%}$ para machos es 67.4cm y para hembras 76.7cm de LT, fue mayor que lo reportado para otras áreas de distribución.

La descripción de las gónadas de hembras nos da como resultado una cápsula ovígera por útero esta se presentó solo en una temporada de muestreo en el año 2017. Además, tienen un ovario funcional con un desarrollo folicular de tipo asincrónico y se describieron las 4 fases de la ovogénesis. No se encontró almacén de esperma en la glándula oviducal pero esta si presenta las 4 zonas morfofuncionales características de los elasmobranquios.

En cuanto a los machos tienen un sistema reproductor pareado con los dos testículos funcionales; presentan un desarrollo del testículo diamétrico y tanto machos inmaduros y maduros presentaron todas las etapas de la espermatogénesis. El órgano que determina su estado y capacidad de apareamiento es la calcificación del gonopterigio.

Al combinar un análisis macroscópico y microscópico se obtiene información precisa acerca de las estructuras sobre el proceso de maduración que es muy importante para el manejo de las pesquerías.

RECOMENDACIONES

Debido a que *H. francisci* es cada vez más recurrente en las pesquerías es necesario seguir realizando investigación de esta especie ya que existe poca información para recomendar un manejo sustentable.

Se sugiere realizar más muestreos por años completos ya que así se podrá definir el ciclo reproductivo, realizándolo con los métodos histológicos que permiten corroborar la información de lo que se está viendo de manera macroscópica. Este análisis también se recomienda realizarlo en las glándulas oviducuales ya que aún no se ha reportado el almacén de esperma.

Se recomienda realizar un estudio de genética de poblaciones debido a la variabilidad de la longitud que presentan los organismos en otras regiones.

LITERATURA CITADA

Arreguin-Sánchez, F., A. Hernández-Herrera, M. Ramírez-Rodríguez & H. Pérez-España. 2004. Optimal management scenarios for the artisanal fisheries in the ecosystem of La Paz Bay, Baja California Sur, Mexico. *Ecol. Model.* 172: 373– 382p.

Bejarano-Álvarez O. M. 2011. Morfología funcional de los modos reproductivos en Elasmobranchios del Pacífico mexicano. Tesis Doctoral. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S. México. 160 p.

Bernal-Pérez S. 2017 Biología reproductiva del Tiburón *Cephaloscyllium ventriosum* (Carcharhiniformes: Scyliorhinidae) en Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S México. 31p.

Bizzarro, J.J., W.D. Smith, J.F. Márquez-Farías & R.E. Hueter. 2007a. Artisanal fisheries and reproductive biology of the golden cownose ray, *Rhinoptera steindachneri* Evermann and Jenkins, 1891, in the northern Mexican Pacific. *Fish. Res.* 84: 137–146p.

Bonfil, R. 1994. Overview of world elasmobranch fisheries. *FAO Fish. Tech. Pap.* 119p.

Bustamante D. C. C. 2007. Análisis histórico del recurso tiburón y bases biológico-pesqueras del Tollo vieja (Chondrichthyes Triakidae) *Mustelus henlei* (Gill, 1863) 81 capturado en la pesca camaronera y artesanal en el puerto de Buenaventura, Pacífico Colombiano. Tesis de licenciatura. Universidad Jorge Tadeo Lozano Facultades de Ciencias Marinas. Colombia. 169 p.

Callard, I. P., J. St. George & T. J. Koob. 2005. Endocrine control of the female reproductive tract. *En: Hamlett, W. C. (Ed). Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, Batoids, and Chimaeras. Science Publishers, Inc.* 3: 283-300 p.

Camhi, M. 1998. Sharks on the line: a state-by-state analysis of sharks and their fisheries. National Audubon Society, New York, 158p.

Carlisle, AB 2015. *Heterodontus francisci*. La Lista Roja de la UICN de Especies Amenazadas 2015: e.T39333A80671300. <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-4.RLTS.T39333A80671300>. Consultado el 10 de marzo del año 2016.

Carrier J. C., L. Harold, Jr. Pratt & J. I. Castro. 2004. Reproductive Biology of Elasmobranchs. In Carrier J.C., J.A. Musick & M.R. Heithaus. 2004. Biology of sharks and their relatives. CRC Press, Florida, 595 p.

Carrera, FM. 2004. Biología reproductiva del Tiburón Azul *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758) en la costa occidental de Baja California Sur, México. Tesis de Maestría. Ciencias Marinas. CICIMAR, IPN. La Paz, Baja California Sur. México.

Cartamil, D., O. Santana-Morales, M. Escobedo-Olivera, D. Kacev, L. Castillo-Géniz, J.B. Graham, R.D. Rubin & O. Sosa-Nishizaki. 2011. The artisanal elasmobranch fishery of the Pacific coast of Baja California, México. Fish. Res. 108: 393-403p.

Castillo, J. L. 2007. Historia de vida y biología pesquera de la raya, *Raja inornata* Jordan y Gilbert 1881, del norte del Golfo de California, México. Tesis de doctorado. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California, México.

Castro, JI. 1983. The sharks of North America Waters. Texas A & M University.

Castro, JI 1988. The Sharks of North America, Oxford University Press. 175 p.

Castellanos-Vidal C. 2017 Biología reproductiva del tiburón perro *Heterodontus francisci* en Laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur, México. Tesis de maestría CICESE, 40-42p.

Compagno, J. V. L. 1984. FAO Species Catalogue. Vol. 2. Sharks of the world. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Part 1 Heterodontiformes. FAO Fish. Synop. 31-51p.

Compagno, J. V. L. 2005. Checklist of Living Chondrichthyes. Pp. 503 –548. En Reproductive biology and phylogeny of chondrichthyes. Shark, Batoids and Chimeras. 2005. Hamlett W.C. Science Publisher. USA.

Cortés, E. 2000. Life history patterns and correlations in sharks. Reviews in Fisheries Science, 8(4), 299-344p.

Dempster, R. & Herald, E. 1961. Notes on the hornshark, *Heterodontus francisci*, with observations on mating activities. Occas. Pap. Calif. Acad. Sci., 33: 1-7p.

DOF, 2007. Norma Oficial Mexicana NOM-029-PESC-2006, pesca responsable de tiburones y rayas. Especificaciones para su aprovechamiento. Diario Oficial de la Federación. México. 14 de febrero de 2007.

Ebert, D.A., Fowler, S., Compagno, L. 2013. Sharks of the world. A fully illustrated guide. Wild Nature Press, Plymouth. .202-204pp.

Engel, K. B. & G. V. Callard. 2005. The Testis and Spermatogenesis. En: Hamlett, W. C. (Ed). Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, Batoids, and Chimaeras. *Science Publishers, Inc.*, 3: 171- 200 pp.

FAO (Food and Agriculture Organization). 2009. Fishstat Plus (v.2.30), capture production data base, 1950-2007. FAO, Roma, Italia.

Finstad, William O. & Nelson Donald R. 1975. "Circadian Activity Rhythm in the Horn Shark, *Heterodontus francisci*: Effect of Light Intensity," Bulletin of the Southern California Academy of Sciences: Vol. 74

Galíndez, E. J. & M. C. Aggio. 2002. The granulopoietic organs of the narrow nose smooth hound *Mustelus schmitti* (Chondrichthyes, Triakidae). A light and electron microscopic study. *Rev. Chil. Anat.*, 20(1): 49-5p.

Galván-Magaña, M. F. 2009. La pesquería de tiburones en Baja California Sur. En Urciaga, G.J., M.L.F. Beltrán & B.D. Lluch (Eds) Recursos marinos y servicios ambientales en el desarrollo regional. CIBNOR, México, 351 p.

Grijalba-Bendeck, M., A. P. Acero & E. González. 2008. Biología reproductiva de *Rhinobatos percellens* (Walbaum, 1792) (Batoidea: Rajiformes) en el Caribe colombiano. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 43(3): 469-481p.

Guzmán-Del Prío, S. A., S. R. Mille-Pagaza, R. Guadarrama-Granados, S. De la Campa-De Guzmán, J. Carrillo-Laguna, A. Pereira-Corona, J. Belmar-Pérez. M. De J. Parra-Alcocer & A. C. Luque-Guerrero. 1991. La comunidad bentónica de los bancos de abulón (*Haliotis spp.* mollusca: gastropoda) en Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. *An. Esc. nac. Cienc. biol.*, 36: 27-59p.

Hamlett, WC. & Koob, TJ. 1999. Female reproductive system. *In: Sharks, skates, and rays: the biology of elasmobranch fishes.* The Johns Hopkins Univ. Press, U.S.A. 398-443 p.

Hamlett, W. C. 2005. Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, Batoids and Chimaeras. 3ª Ed. Plymouth, UK. *Science Publishers, Inc.*, 575 p.

Hernández-Rivas, M. E., S. P. Jiménez-Rosenberg, R. Funes-Rodríguez & R. J. Saldierna-Martínez. 2000. El centro de actividad biológica de la Bahía den Sebastián Vizcaíno, una primera aproximación. *En: Lluch-Belda, D., J. Elourduy-Garay, S. E. Lluch-Cota & G. Ponce-Díaz. (Eds). BAC Centros de Actividad Biológica del Pacífico mexicano. Cicimar, Cib, CONACYT.*, 65- 85 p.

Hoyos-Padilla E. M. 2003. Biología reproductiva del tiburón piloto *Carcharhinus falciformis* (Bibron, 1839) de Baja California Sur. Tesis de Maestría. Maestría en Ciencias. CICIMAR, IPN. La Paz Baja California Sur, México.

Huber, D. R., Eason, T. G., Hueter, R. E., Motta, P. J. 2005. Analysis of the bite force and mechanical design of the feeding mechanism of the durophagous horn shark *Heterodontus francisci*. *The Journal of Experimental Biology*, 208, 3553-3571p.

Humason, I. G. 1979. Animal Tissue Technique. 4ª. Ed. H.W. Freeman and Company. U.S.A. 661p.

Jones, A. A., Hall, N. G., Potter, I. C. 2008. Size compositions and reproductive biology of an important bycatch shark species (*Heterodontus portusjacksoni*) in

south-western Australian waters. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 88, 189-197p.

Juaristi-Videgaray D. 2016. Biología reproductiva del pez guitarra *Pseudobatos productus* (Ayres, 1856), en Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. Tesis de Maestría. CICIMAR- IPN. La Paz, B.C.S. México. 26 p.

Jeziar, M & W.C. Hamlett 1995. Ultrastructural organization of the ovarian follicle in the yellow spotted ray, *Urolophus jamaicensis*. *Notre Dame Sci. Q.* 34(5) 9p.

Kato. S. Springer, S. y Wagner. MII. (1967). Field guide to castern Pacific and llawaiian sharks. *US Fish and Wildlife Scr. Circ.* 27 (1): 47 p.

Koob T. J. & J. W. Strauss. 1998. On the role of egg jelly in *Leucoraja erinacea*. *Bull Moun Desr Isd Biol Lab.*, 37:117-119p.

Lessa, R. T. 1982. Biologie et dynamiques des populations de *Rhinobatos horkelii*, du plateau continental du Río Grande de Sul (Brasil). Universidad do Bretagne Occidentale, (Brasil). Tesis Doctoral, 238 p.

Márquez-Farías, J.F. 2002. The artisanal ray fishery in the Gulf of California: development, fisheries research, and management issues. *Shark News.* 14: 1-5p.

Maruska, K. P., E.G. Cowie y T. C. Tricas. 1996. Periodic Gonadal Activity and Protracted Mating in Elasmobranch Fishes. *The Journal of Expermiental Zoology.* 276:219-232p.

McMillan, D. B. 2007b. Ovulation Pag 209-284 en. D. B. McMillan, editor. *Fish histology: female reproductive system.* Springer-Verlag, New York.

Medellín, A. 2006. Determinación de edad del tiburón dormilón búfalo (*Heterodontus mexicanus*), en la parte norte del Golfo de California por medio de vértebras y espinas dorsales. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California. 49p.

Mollet, H., J. Cliff, Jr. H. Pratt & J. Stevens. 2000. Reproductive biology of the female shortfin mako, *Isurus oxyrinchus* Rafinesque, 1810, with comments on the embryonic development of Lamnoids. *Fish. Bull.*, 98(2): 299-318p.

Moura, T., B. Serra-Pereira, L. S. Gordo & I. Figueiredo. (2011). Sperm storage in males and females of the deepwater shark Portuguese dogfish with notes on oviducal gland microscopic organization *Journal of Zoology*. 283(3): 210–219p.

Musick, J. A. & J. K. Ellis. 2005. Reproductive evolution of chondrichthyans. *En: Hamlett, W. C. (Ed). Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, Batoids, and Chimaeras. Science Publishers, Inc. 3: 45-79p*

O’Gower, A. K. & Nash, A. R., 1978. Dispersion of the port Jackson shark in Australian waters In: E.S hodyson y R.F. Mathewson. Eds. Sensory biology of shaks, skates and rays. US dept. navy, off. Naval res. Arlington: 529-544p

Parsons, G. R. & H. J. Grier. 1992. Seasonal Changes in Shark Testicular Structure and Spermatogenesis. *J. Exp. Zool.*, 261: 173-184p.

Pérez-Jiménez, J.C. & O. Sosa-Nishizaki. 2006 Reproductive biology of the Brown smoothhound shark *Mustelus henlei*, in the northern Gulf of California, México. *J. Fish Biol.* 73 (4): 782-792. 87p.

Piferrer, F. 2009. Determinación y diferenciación sexual en los peces. En: Espinosa, J. (Ed.), La reproducción de los peces: aspectos básicos y sus aplicaciones en acuicultura. Fundación Observatorio Español de Acuicultura. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Madrid. 249-336p.

Ponce-Díaz, G., L.F. Beltrán-Morales, S. Hernández-Vázquez & E. Serviere-Zaragoza. 2009. Pesca ribereña: retos y oportunidades en un entorno adverso. En Urciaga, G.J., M.L.F. Beltrán & B.D. Lluch (Eds) Recursos marinos y servicios ambientales en el desarrollo regional. CIBNOR, México, 351p.

Powter, D. M., Gladstone, W. 2008. The reproductive biology and ecology of the Port Jackson shark *Heterodontus portusjacksoni* in the coastal waters of eastern Australia. *Journal of Fish Biology*, 72, 2615–2633p.

Pratt, L. H. 1979. Reproduction in the blue shark, *Prionace glauca*. Fish.Bull. 77(2):445-470.

Pratt, H. L. Jr. & J. C. Carrier. 2005. Elasmobranch Courtship and Mating Behavior. *En: Hamlett, W. C. (Ed). Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, Batoids and Chimaeras. Science Publishers, Inc. 3: 129-169p.*

Pratt, H. L. & T. Otake. 1990. Recommendations for work needed to increase our knowledge of reproduction relative to Fishery management. 509-510 pp. *In: Elasmobranchs as Living Resources: Advances in the biology, ecology, systematics, and the status of the fisheries. NOAA Tech. Rep. NMFS 90.*

Pratt, H. L. & Tanaka, S. 1994. Sperm Storage in Male Elasmobranch: A Description and Survey. *Journal of Morphology. 219: 297-308 p.*

Ramírez-Amaro S. 2011. Caracterización de la pesquería artesanal de elasmobranquios en la costa occidental de baja california sur, México. Tesis de Maestría.CICIMAR-IPN. México. 82 p.

Roedel, PM. & Ripley WE. 1950. California shaks and rays. Calif. Dept. fish bult., 88p.

Roedel, PM. 1953. Common ocean fishes of the California coast. Calif. Dept. Fish and Game, Fish. Bull., Y1:12-13p.

Salomón-Aguilar, CA., Villavicencio-Garayzar, CJ. & Reyes-Bonilla, H. 2009. Zonas y temporadas de reproducción y crianza de tiburones en el Golfo de California: Estrategia para su conservación y manejo pesquero. *Ciencias Marinas. 35(4): 369-388p.*

Segura, J. C., Abitia, L. A., Galván, F. 1997. Observaciones sobre la alimentación del tiburón *Heterodontus francisci* Girard 1854 (Chondrichthyes: Heterodontidae), en Laguna San Ignacio, Baja California Sur, México. *Ciencias marinas, 23(1), 111-128p.*

Serra-Pereira, B., I. Figueiredo & L. G. Serrano. 2011. Maturation of the Gonads and Reproductive Tracts of the Thornback Ray *Raja clavata*, with Comments on the

Development of a Standardized Reproductive Terminology for Oviparous Elasmobranchs, Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science. 3(1):160-175p.

Simpfendorfer, CA. 1992. Reproductive strategy of the Australian sharpnose shark, *Rhizoprionodon taylori* (Elasmobranchii: Carcharhinidae), from Cleveland Bay, Northern Queensland. Aust. J. Mar. Freshwater Res., 43: 67-75p.

Schindler, D.E., T.E. Essington, J.F. Kitchell, C. Boggs, & R. Hilborn. 2002. Sharks and tunas: Fisheries impacts on predators with contrasting life histories. Ecol. Appl. 12 (3): 735-748p.

Smith, R. M., T. I. Walker & W. C. Hamlett. (2004). Microscopic organization of the oviducal gland of the holocephalan elephant fish, *Callorhynchus millii*. Mar. Freshwater Res. 55(2):155-164p.

Smith, W.D., J.J. Bizzarro & G.M. Cailliet. 2009. The artisanal elasmobranch fishery of Baja California, México: characteristics and management considerations. Cienc. Mar. 35(2): 209–236p.

Sosa-Nishizaki, O., J.F. Márquez-Farias & C.J. Villavincencio-Garayzar. 2008. Case study: pelagic shark fisheries along the west coast of Mexico. En Camhi, M.D., E.K. Pikitch & E.A. Babcock (Eds) Sharks of the open ocean: Biology, fisheries and conservation. Blackwell Science, Ames, IA. E.U.A., 502 p.

Soto-López K. 2014. Biología reproductiva de la raya *Raja velezi* en el suroeste de la Costa Occidental de Baja California Sur. Tesis de Maestría. UNAM. Distrito Federal. México. 100 p.

Stevens, J.D., R. Bonfil, N.K. Dulvy & P.A. Walker. 2000. The effects of fishing on sharks, rays, and chimaeras (Chondrichthyans), and the implications for marine ecosystems. ICES J. Mar. Sci. 57 (3): 476–494p.

Strong, W. L. 1989. Behavioral ecology of horn sharks, *Heterodontus francisci*, at Santa Catalina Island, California, with emphasis on patterns of space utilization. Tesis de Maestría en Ciencias. University of North Carolina Wilmington. 252p.

Taylor Jr., LR & J. L. Castro-Aguirre. 1972. *Heterodontus mexicanus*, a new horn shark from the Golfo de California. An. Esc. Nac.Cienc. Boil., Méx. 19:123–143p.

Teshima, K., Yoshimura, H. y Mizue, K. 1971. Studies on the Sharks—II On the Reproduction of Japanese Dogfish *Mustelus manazo*, Bleeker. 32: 41-50p.

Tovar, J., Walker, T. I., Day, R. W. 2007. Reproduction of *Heterodontus portusjacksoni* in Victoria, Australia: evidence of two populations and reproductive parameters for the eastern population. Marine and Freshwater Research, 58, 956-965p.

Turrubiates-Morales. 1990. Edad, crecimiento y reproducción de *Haliotis fulgens* (Philippi, 1845) (Mollusca; Gastropoda), en Bahía Tortugas B.C.S. México. Manuscrito sin publicar. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. Instituto Politécnico Nacional. 56 p.

Walker, T.I. 1998. Can shark resources be harvested sustainably? A question revisited with a review of shark fisheries. Mar. freshwater Res. 49: 553-572

Wourms, J. P. 1977. Reproduction and development in chondrichthyan fishes. *Amer. Zool.*, 17: 379-410.

Wourms, J. P. 1981. Viviparity: The Maternal-Fetal Relationship in Fishes. *Amer. Zool.*, 21: 473-515p.

Wourms JP & Demsky L. 1990. The reproduction and development of sharks, skates, rays and rattfishes. Introduction, history, overview and future prospects. Symposium on the reproduction and development of cartilaginous fishes. American Elasmobranch Society, South Carolina, 21 p.

ANEXO I

Tiempos de deshidratación e inclusión

Alcoholes	1cm	2cm
80°	60 min	165 min
96°	60 min	165 min
96°	60 min	165 min
96°	60 min	165 min
100°	60 min	165 min
100°	60 min	165 min
100°	60 min	165 min
100°+ Cloroformo	15 min	20 min
cloroformo	7 min	10 min
Cloroformo+ parafina	30 min	40 min
Parafina 1	2 hr.	2 hr.
Parafina 2	2 hr.	3 hr.
Parafina 3	3 hr.	3 hr.
Inclusión		