

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



Biología reproductiva de la raya mariposa Gymnura marmorata (Cooper 1864), en Santa Rosalía, costa oriental de Baja California Sur, México

Tesis

PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRIA EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

Presenta:

Lic. Biol. Diana Patricia González Pernas

La Paz, Baja California Sur, 2024.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS Y DESIGNACIÓN DE DIRECTOR DE TESIS

La Paz, B.C.S., a 09 de DIC del 20242
El Colegio de Profesores de Posgrado de CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS en su Sesión
(Unidad Académica)
Extraordin No. E-302-24 celebrada el día 09 del mes DIC de 2024 conoció la solicitud
presentada por el (la) alumno (a):
Apellido Paterno: GONZÁLEZ Apellido Materno: PERNAS Nombre (s): DIANA PATRICIA
Número de registro: B 2 2 0 6 1 9
del Programa Académico de Posgrado: MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS
Referente al registro de su tema de tesis; acordando lo siguiente: 1 Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:
BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE LA RAYA MARIPOSA <i>Gymnura marmorata</i> (Cooper 1864), EN SANTA ROSALÍA, COSTA ORIENTAL DE BAJA CALIFORNIA SUR, MÉXICO
Objetivo general del trabajo de tesis:
Describir la biología reproductiva d ela raya mariposa <i>Gymnura marmorata</i> en la zona de Santa Rosalía, costa oriental de Baja California Sur
2 Se designa como Directores de Tesis a los profesores:
Director: Dr. MARCIAL TRINIDAD VILLALEJO FUERTE 2° Director: DRA. KATHERIN SOTO LÓPEZ
No aplica:
3 El Trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en:
EL CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS - IPN
que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.
4 El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente, hasta la aprobación de la versión completa de la tesis por parte de la Comisión Revisora correspondiente.
Director(a) de Tesis 2° Director de Tesis (en su caso)
Monard Villalist.
DR. MARCIAL TRINIDAD VILLALEJO FUERTE DRA. KATHERIN SOTO LÓPEZ

BIÓL. DIANA PATRICIA GONZÁLEZ PERNA

Aspirante

DR. SERGIO HERNÁNDEZ TRUJILLO

Presidente del Colegio

I.P.N. CICIMAR DIRECCIÓN





INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S.,	siendo las	12:00 horas o	del día 11 d	el mes de Diciembre	
del 2024 se reunieron los i	niembros de la Co	misión Revisor	a de la Tesis,	designada por el Colegio de	
Profesores de Posgrado de:	CENTRO INTERDISCIPLI	NARIO DE CIENCIA	S MARINAS	para examinar la tesis titulada:	
				del (la) alumno (a):	
BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE LA RAY. COSTA ORIENTAL DE BAJA CALIFORNI	_	narmorata (Cooper	1864), EN SANTA I	ROSALÍA,	
COSTA ONIENTAL DE BAGA CALIFONNI	A SON, WEXICO				
Apellido CONZÁLEZ	Apellido			DIAWA DAMBIGIA	7
Paterno: GONZÁLEZ	Materno:	ERNAS	Nombre (s):	DIANA PATRICIA	
Número de registro:	3 2 2 0 6 1	9			
Aspirante del Programa Acade	èmico de Posarado	MAESTRÍA EN	CIENCIAS EN MANEJ	IO DE RECURSOS MARINOS	
	•		ndo el softwar	re antiplagio, se encontró que e	1
trabajo de tesis tiene 08% de s					•
Después que esta Comisión	revisó exhaustivan	nente el conte	nido, estructu	ra, intención y ubicación de los	3
			umentos, con	cluyó que en el presente trabajo)
The state of the s	E UN POSIBLE P				
JUSTIFICACIÓN DE LA CON					*
bibliografía y texto citado. Por lo qu			%, principalment	e a descripción de datos, métodos,	_
			gio, y del Directo	or o Directores de tesis el análisis del %	, <u>o</u>
de similitud para establecer el riesgo					
miembros de la Comisión mar				e intercambio de opiniones, los NO APROBAR la tesis por	
UNANIMIDAD O MAYOR	, _	los motivos si	_	TO AL ROBARCE IN 10010 POL	
"SATISFACE LOS REQ	JISITOS SEÑALADOS	POR LAS DISPOS	ICIONES REGLA	MENTARIAS VIGENTES"	
	COMISIÓN	I REVISORA I	DE TESIS		
Monal Villeto F.				A	
//				122- Lulus	
DR. MARCIAL TRINIDAD VILLALEJO FUERTE Director de Tesis		IPE GALVÁN MAGAÑA ombre completo y firm		DR. ARTURO TRIPP VALDEZ Nombre completo y firma	
Nombre completo y firma		,		A. C.	CUTIVO
do		1-31		1 State	UNIDOS
	•	*145 M.		Bur Well	
DRA. KATHERIN SOTO LÓPEZ	_	USTÍN HERNÁNDEZ HEF		DR. SERGIO HERNÁNDEZ TRUJILLO	LITTIA .
Director de Tesis Nombre completo y firma	No	ombre completo y firm	a	Normbre completo y firma PRESIDENTE DEL COLEGIO DE	Exico. D.
				PROFESORES	I.P.N



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE USO DE OBRA PARA DIFUSIÓN

En la Ciudad de La Dan D.C.C.	(d/a 40 dalaasa	la Distanshus	4-1-5- 2024			
En la Ciudad de <u>La Paz, B.C.S.,</u> el	día <u>10</u> del mes d	le <u>Diciembre</u>				
El (la) que suscribe Biól. DIA!	NA PATRICIA GONZÁLEZ	PERNAS Ale	umno (a) del Programa			
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS						
MAESTRIA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS						
con número de registro B220619	adscrito al CENTRO	INTERDISCIPLINARIO	DE CIENCIAS MARINAS			
manifiesta que es autor(a) intelectual d	manifiesta que es autor(a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:					
DR. MARCIAL TRINIDAD	VILLALEJO FUERTE y	DRA. KATHERIN SOTO	LÓPEZ			
y cede los derechos del trabajo titulado:						
BIOLOGÍA REPRODUCTIVA	DE LA RAYA MARIPOSA <i>Gyr</i>	nnura marmorata (Coop	per 1864),			
EN SANTA ROSALÍA	A, COSTA ORIENTAL DE BAJA	CALIFORNIA SUR, MÉX	ICO			
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 expresado del autor y/o director(es) del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a las						
p						
. ,	lgonzalezp@alumno.ipr ksotol1200@egresado.i	할머니에 있는 그는 하나 나를 하는 이 하나 이 때문에 다른 아이라고	mx -			
Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente de este.						

BIOL. DIANA PATRICIA GONZÁLEZ PERNAS

Nombre completo y firma autógrafa del (de la) estudiante

Dedicatoria:

Dedico esta tesis a mi hija:

Mi niña Ana Grisell Arias González, por ser el motor impulsor de este largo viaje, mi motivo de desvelos y sueños.

A mis padres:

Mi mamá Lizette Pernas González por ser mi mayor ejemplo de lucha, por su apoyo en todo momento y por enseñarme a no rendirme. Mi papá Wilbert Caballero Bravo, por su paciencia, por siempre estar pendiente y por ser la mejor cabeza de familia, a mi papá biológico Aramis Faustino González Vilches, por todo el apoyo en el proceso de llegar hasta aquí

A mi hermano:

Wilbert Rafael Caballero Pernas por su carisma y chistes en todo momento.

A mi abuela:

Dra. Grisell González de la Torre, por estar siempre conmigo y ser mi ejemplo académico más grande, todas las tesis y trabajos que me toque hacer son tuyos.

Agradecimientos:

Al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas CICIMAR-IPN por ser la casa de estudios donde culmino mis estudios de maestría y donde he adquirido tanto conocimiento y experiencias profesionales y personales.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencias y Tecnologías (CONAHCYT) por hacer posible este trabajo con el programa de becas del que fui parte.

Al Proyecto Tiburones y Rayas CICIMAR, por ofrecerme un espacio en el estudio de la biología reproductiva de esta especie y por los muestreos que se han realizado y se siguen realizando para asegurar la generación de conocimiento en las diferentes líneas de investigación que lo conforman.

Al Dr. Felipe Galván Magaña por ser quien me vinculó con el tema de tesis Agradezco todo el apoyo que me ha brindado siempre y la disposición con la que comparte su conocimiento conmigo y con todos los estudiantes.

A mi director, Dr. Marcial Trinidad Villalejo Fuerte, por ser más que un director de tesis, un padre sustituto, por confiar siempre en mí, en los momentos donde yo no lo hacía, por sus enseñanzas académicas y de vida, por proporcionarme todo el material necesario para los análisis de laboratorio sin vacilar, por la confianza y el confort en todo el tiempo de la maestría.

A mi segunda directora Dra. Katherin Soto López, te agradezco infinitamente la paciencia y comprensión en todo momento, las enseñanzas y buenas críticas siempre constructivas, por ser ejemplo de talento y dedicación, el cual transmites en todo momento, sé que un día me llenaré de orgullo al decir: ¡Esa gran científica y persona dirigió mi tesis de maestría!

A los restantes miembros del comité tutorial, los doctores Arturo Tripp Valdez y Agustín Hernández Herrera. Agradezco la amabilidad con la que se han dirigido siempre hacia mí y por el conocimiento que están siempre dispuestos a compartir.

A los profes del CICIMAR que me impartieron las materias necesarias para mi titulación. A los Doctores Rosa Isabel y René Torres, por proporcionarme los conocimientos en las materias de Histología y Reproducción de animales marinos, tan necesarias para el desarrollo de este trabajo, al Dr. Enrique Navas, por su buen trato, comprensión y suavidad con todos sus alumnos.

A los doctores Humberto y César del departamento de servicios educativos, por todo el apoyo, el buen trato, la profesionalidad que siempre desbordan y sobre todo por impulsarnos a llegar a la meta

A Alan, mi director de tesis de corazón, mi sardina paciente. Le agradezco a la vida por habernos juntado, y haber vivido tan buenos y no tan buenos momentos juntos, eres el mejor amigo, caricaturista, compañero de viajes y de cubículo del mundo mundial.

A mis hermanas españolas mi Clau y mi Iree. Gracias por todos los momentos juntas durante estos años, por las mudanzas, las risas y los llantos que pasamos. Clau, gracias por las tortillas de patatas antes de los seminarios, por tu cariño y comprensión. Iree, gracias por no abandonarme, soportarme, por las galletas y el té en el cubículo.

A mi Luis, mi negrito de la suerte, gracias por levantarme siempre, por creer en mi en todo momento, por todos los momentos juntos. Gracias por ser el mejor amigo proveedor en medio de la pobreza, por la ayuda con la elaboración de este documento y por aguantarme, te agradezco eternamente por todo.

A Pablo, por todo el apoyo en esta difícil etapa, por las manzanas, por las nueces y las almendras, por el agua, por los cigarros del desvelo, por el apoyo emocional y económico, por la paciencia ante mis frustraciones, por los días, las noches sanadoras y el crecimiento personal.

A todos los compañeros y compañeras de maestría, con quienes compartí clases, proyectos, exámenes y extensas jornadas de trabajo de laboratorio. Me siento afortunado de poder ahora llamar amigos a muchos colegas de esta y de muchas otras líneas de investigación.

A los pescadores de Santa Rosalía (Cahmpú, Kalimba, Benito) y de todos los campos pesqueros con los que se trabaja en esta institución.

ÍNDICE

GLOSARIO DE TERMINOS	9
RESUMEN	13
ABSTRACT	15
1. INTRODUCCIÓN	17
2. ANTECEDENTES	19
3. OBJETIVO GENERAL	22
4. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	22
5. MATERIALES Y MÉTODOS	23
Composición de tallas	25
Proporción de sexos en embriones y adultos	26
Talla media de madurez para machos, hembras y talla media de materni	
Fecundidad uterina	
Ciclo reproductivo	
6. RESULTADOS	
Composición de tallas	
Embriones	
Proporción de sexos	
Vida libre	
Embriones	
Fecundidad uterina	
Machos	
Estadios de Madurez	
Hembras	
Estadios de Madurez	
Descripción macroscópica del aparato reproductor de <i>Gymnura marmo</i>	
Hembras	
Machos	
Ciclo reproductivo	
Desarrollo embrionario	
Descripción microscópica del aparato reproductor de Gymnura marmor	

Machos53
Testículo53
Caracterización de la espermatogénesis54
Fase I: Espermatogonias54
Fase II: Espermatocito Primario55
Fase III: Espermatocito secundario56
Fase IV: Espermátidas (Diferenciación) 57
Fase V: Espermátidas (Diferenciación) 58
Fase VI: Espermatozoides (Espermiación) 58
Ductos genitales59
Epidídimo60
Glándula de Leydig 62
Ductos deferentes65
Vesícula seminal y Glándula Alcalina67
Hembras
Ovario73
Caracterización de la Oogénesis74
Fase I: Oogonias74
Fase II: Folículos Primordiales75
Fase III: Folículos primarios76
Fase IV: Foliculo secundario (Previtelogénesis)78
Fase V: Folículo Vitelogénico79
Atresia Folicular79
Cuerpo Lúteo
Glándula Oviducal84
Útero
7. DISCUSIÓN91
Composición de tallas91
Proporción de sexos92
Fecundidad uterina93
Madurez93
Ciclo reproductivo94

Desarrollo embrionario	95
Descripción macroscópica y microscópica del aparato reproductor de Gymnura marmorata	96
Machos	96
Testículo	96
Conductos y Glándula alcalina	97
Hembras	98
Ovario	98
Glándula oviducal	99
Útero	99
8. CONCLUSIONES	100
9. RECOMENDACIONES	102
LITERATURA CITADA	103

Glosario de Términos

Atresia: Proceso de degradación mediante el cual los folículos y el vitelo se reabsorbe para reciclado (Skinner, 2018).

Almacén espermático: Región de la glándula oviducal que puede contener espacios glandulares tubulares llenos de paquetes espermáticos (Carrier et al., 2012).

Célula de Sertoli: Células somáticas alojadas en los testículos con funciones de soporte, nutrición y regulación de la espermatogénesis a través de su interacción con la Hormona Foliculoestimulante (FSH) (Griswold, 1998).

Células de la Granulosa: Capa celular que representa la lámina más basal del folículo. Tiene un papel importante en la producción de estrógenos (Pawlina, 2016).

Células de la Teca: Vaina de células de tejido conjuntivo originadas a partir de las células del estroma, encontradas en la porción más externa del folículo. Se dividen en Teca interna (presenta receptores de hormona luteinizante y externa (Pawlina, 2016).

Cloaca: Cámara de unión y salida entre el tracto urinario, reproductivo y digestivo (De Luliis & Pulera, 2007).

Ducto Deferente: Túbulo de transporte de espermatozoides desde el epidídimo hacia las vesículas seminales (Britannica, 2018).

Ducto Seminífero: Epitelio seminífero en forma de tubo estrecho que está rodeado por una membrana propia (Ross & Pawlina, 2016).

Epidídimo: Estructura compuesta de los vasos eferentes y otros conductos, donde los espermatozoides experimentan la última etapa de maduración, antes de pasar al ducto deferente (Ross & Pawlina, 2016).

Espermatocistos: Grupo de células espermatogénicas en el mismo estadio de desarrollo. Rodeadas por el citoplasma de células de Sertoli que las envuelven (Tabares et al., 2005).

Espermatocito primario: Primera fase de desarrollo en la espermatogénesis, después de la diferenciación de las espermatogonias (Ross & Pawlina, 2016).

Espermatocito secundario: Etapa de desarrollo producto de la primera división de los espermatocitos primarios (Ross & Pawlina, 2016).

Espermatogénesis: Transformación de espermatogonias hacia espermatozoides (Sadler, 2003).

Espermatogonia: Células germinales que proliferan por mitosis para dar lugar a poblaciones celulares destinadas a ser espermatocitos (Ross & Pawlina, 2016).

Eucromático: Región de la cromatina nuclear levemente compactada que permite la transcripción de genes (Skinner, 2018).

Fecundación: Fusión del citoplasma de ambos gametos sexuales, incluyendo sus núcleos, resultando en una célula diploide (Van der Bie, 2001).

Foliculogénesis: Proceso de formación de las capas celulares que envuelven al oocito (Células de la granulosa y Células de la Teca) (Skinner, 2018).

Gametogénesis: Proceso de diferenciación de células germinales hacia gametos sexuales (Van der Bie, 2001).

Glándula Oviducal: Región especializada de la porción anterior del oviducto en peces cartilaginosos. Se encargan de la producción de los componentes del envoltorio de los oocitos fertilizados (Hamlett, 2005).

Gonopterigio: Órgano copulador masculino que se presenta de forma pareada en la región central de las aletas pélvicas (Carrier et al., 2012).

Histótrofo: Material nutritivo para el desarrollo embrionario, secretado por el trofonemata (Hamlett *et al.*, 1999)

Histotrofía lipídica: Modo reproductivo en donde el útero de los batoideos presenta villis uterinos con criptas secretoras para la elaboración del material nutritivo, llamado histótrofo (Hamlett *et al.*, 1999).

Oocito: Célula germinal en el primer estadio de la oogénesis, producto de la diferenciación de las oogonias (Mc Millan, 2007).

Oogénesis: Proceso celular mediante el cual se produce la diferenciación de oogonias hacia oocitos (Van der Bie, 2001).

Oogonia: Célula germinal femenina (Gilbert, 2005).

Ostium: Abertura con forma de cono, que interviene en el desplazamiento de los oocitos desde el ovario hacia el oviducto (Carrier et al., 2012).

Ovario: Órgano sexual femenino cuyas principales funciones son la producción de oocitos y hormonas esteroides (Ross & Pawlina, 2016).

Oviducto: Túbulos de traslado de oocitos desde el ovario hasta el útero (Carrier et al., 2012).

Ovulación: Liberación de un oocito maduro, disponible para la fecundación (Skinner, 2018).

Placenta: Órgano derivado de tejidos extraembrionarios y maternos que participa en el intercambio fisiológico de sustancias entre la madre y el embrión (Pawlina, 2016).

Rifiodón: apertura distal de tejido cartilaginoso en los gonopterigios (Carrier et al., 2012).

Tejido/Órgano Epigonal: Tejido de soporte (testículos y ovarios) de elasmobranquios, compuesto de granulocitos y linfocitos. Presenta procesos hematopoyéticos (Carrier et al., 2012).

Trofonemata: Tejido uterino en forma de placas que forma vellosidades vascularizadas para la secreción del histótrofo (Hamlett *et al.*, 1999)

Villis uterinos: Tejido endometrial vascularizado en forma de vellosidades (Hamlett & Koob. 1999)

Vesícula seminal: Órgano de almacenamiento de esperma previo a la cópula (Carrier et al., 2012).

Vitelo: El contenido del ooplasma de un oocito maduro, que provee al embrión de los nutrientes esenciales para su desarrollo (Skinner, 2018).

Vitelogénesis: Proceso mediante el cual los oocitos acumulan sustancias de nutrición, indispensables para el desarrollo embrionario (Gómez, 1995).

Zona baffle: Tercer porción (Rostro-caudalmente) de la Glándula Oviducal. Se encarga de la producción de la cápsula ovígera (Hamlett, 2005).

Zona club: Primer porción (Rostro-caudalmente) de la Glándula Oviducal, encargada junto con la Zona Papilar de la producción de las capas gelatinosas que protegen al oocito y/o a los embriones. Se caracteriza por la presencia de acinos con células mucosas y ciliadas (Hamlett, 2005).

Zona Papilar: Segunda porción (Rostro-caudalmente) de la Glándula Oviducal, encargada junto con la Zona club de la producción de las capas gelatinosas que protegen al oocito y/o a los embriones. Se caracteriza por la presencia de un epitelio columnar simple ciliado, con células secretoras (Hamlett, 2005).

Zona Pelúcida: Capa extracelular formada de glicoproteínas y secretada por el oocito y las células de la granulosa (Sadler, 2003).

Resumen:

Gymnura marmorata, pertenece a la familia Gymnuridae, es un batoideo bentónico que se localiza desde California (Estados Unidos) hasta Mazatlán (México), incluido el Golfo de California. El género *Gymnura*, se encuentra a menudo en las capturas de la pesquería artesanal de elasmobranquios en el Pacífico norte mexicano y el Golfo de California. El objetivo del presente estudio es describir algunos parámetros de la biología reproductiva de Gymnura marmorata a partir de organismos procedente de las capturas comerciales en la zona de Santa Rosalía, Golfo de california, para aportar bases que contribuyan al manejo de las pesquerías. Este es el segundo estudio acerca de la reproducción de esta especie a lo largo de su distribución y el primero en la zona de estudio, lo que nos permite comparar algunos aspectos de la biología de dicha especie. Se analizaron 199 organismos, obtenidos de la pesca artesanal en Santa Rosalía, Baja California Sur, durante el periodo del 2017-2022. De estos, 64 fueron machos y 135 hembras, las tallas registradas van desde los 39 hasta los 121 cm de ancho de disco (AD), mostrando una proporción sexual de 2.1H:1M. Se encontró una fecundidad promedio de 9 embriones por hembra y no se observó una correlación entre el número de embriones y la talla de las hembras grávidas (R²=0.087 En los machos, la longitud del testículo y la presencia de lóbulos testiculares mostraron una correlación positiva con la talla del organismo (r=0.4 y r=0.37 respectivamente), mientras que la longitud del gonopterigio no evidenció dicha relación (r=0.08). En las hembras, el largo del útero y el largo de la glándula oviducal mostraron una correlación positiva con el crecimiento del organismo (r²=0.7 y r²=0.6 respectivamente). La talla media de madurez para los machos fue de 46.3 cm AD, coincidiendo con la reportada para la costa occidental, mientras que en las hembras dicho parámetro fue menor que el reportado en el estudio anterior (62.8 cm AD). Se describió la anatomía del aparato reproductor, y se estimó también el estado de madurez sexual. En los machos se describe un testículo izquierdo funcional de tipo radial que, al parecer, se encuentra maduro antes que los órganos copuladores, ya que en organismos inmaduros presentó todas las fases de la espermatogénesis. Los espermatozoides no presentaron acomodo en la vesícula seminal. Se describe por primera vez desde el

punto de vista histológico, la glándula alcalina. En las hembras se reporta un ovario izquierdo funcional de tipo asincrónico por el desarrollo desigual de los oocitos dentro de este, además dos glándulas oviducales y dos úteros funcionales. El ciclo reproductivo es anual con los procesos de oogénesis y gestación en sincronía La glándula oviducal se presentaron túbulos oviducales y no se encontró almacén de esperma en la zona terminal de esta.

Palabras clave: madurez, ciclo reproductivo, trofonemata, Gymnuridae

Abstract

Gymnura marmorata, a member of the Gymnuridae family, is a benthic batoid found from California (United States) to Mazatlan (Mexico), including the Gulf of California. The genus Gymnura is often found in catches from artisanal elasmobranch fisheries in the Mexican North Pacific and Gulf of California. The objective of the present study is to describe some parameters of the reproductive biology of *Gymnura marmorata* from catches in the Santa Rosalia area, Gulf of California, in order to contribute to fisheries management. This is the second study on the reproduction of this species, which allows us to compare this aspect of the biology of this species with previous work. We analyzed 199 organisms, obtained from artisanal fisheries in Santa Rosalía, Baja California Sur, during the period 2017-2022. Of these 64 were males and 135 females with sizes from 39 to 121 cm disc width (AD), showing a sex ratio of 2.1H:1M. The species showed an average fecundity of 9 embryos per female and there was no positive correlation between the number of embryos present and the size of gravid females (R=0.087). In males, the length of the testis and the presence of testicular lobes showed a positive correlation with body size (R= 0.37 and R=0.4 respectively). In females, the length of the uterus and the length of the oviductal gland show a positive relationship with the growth of the organism (r=0.7 and r=0.6 respectively). The mean length at maturity for males was 46.3 cm AD coinciding with that reported for the west coast, while in females this parameter was smaller than that reported in the previous study (62.8 cm). The anatomy of the reproductive apparatus was described macroscopically and microscopically, and the sexual maturity stage was also estimated. In the males, a functional radial left testicle was described, which seems to be mature before the copulatory organs, since it presented all the phases of spermatogenesis in immature organisms. The spermatozoa did not present accommodation in the seminal vesicle. The alkaline gland is described for the first time from the histological point of view. In females, a functional left ovary of asynchronous type is reported due to the unequal development of oocytes inside it, as well as two oviductal glands and two functional uteri. The reproductive cycle is annual with the processes of oogenesis and gestation

in synchrony. The oviductal gland did not present the zones described for it and no sperm storage was found in its terminal zone.

Key words: maturity, reproductive cycle, trophonemata, Gymnuridae.

Introducción:

La familia Gymnuridae, conocida comúnmente con el nombre de "rayas mariposa" o "tortillas" (McEachran & Notarbartolo, 1995), es un grupo de elasmobranquios cosmopolitas que se encuentran en aguas tropicales, subtropicales y templadas, asociados principalmente a fondos arenosos o fangosos en zonas costeras (McEachran & Carvalho, 2003). Esta familia comprende un único género *Gymnura* (Last *et al.*, 2016).

La raya mariposa de California *Gymnura marmorata* (Cooper 1864) (Fig. 1) se puede localizar desde los 30 hasta los 150 m de profundidad. Su distribución geográfica va desde Punta Concepción (California, E.U.) hasta Mazatlán (México) incluyendo el Golfo de California (Smith *et al.*, 2009). Presenta un cuerpo romboide y aplanado, más ancho que largo; su cola es corta, con la presencia de una espina; su coloración dorsal es café oscuro u oliváceo con manchas reticuladas y el vientre blanco (Love *et al.*, 2021). Se alimenta principalmente de peces óseos, crustáceos y cefalópodos (Santana- Morales *et al.*, 2004).



Figura 1: Morfología externa de espécimen hembra de *Gymnura marmorata* (Cooper, 1864) (foto tomada en campo pesquero, Santa Rosalía, Baja California Sur).

El modo reproductivo en esta especie es vivíparo aplacentado, y con base a la alimentación madre-embrión, es de tipo matrotrófico, donde una vez que el embrión ha consumido el saco vitelino el aporte de nutrientes es a través de la madre. En el caso de esta familia posee histotrofía lipídica, donde el material nutritivo es la leche uterina, rica en lípidos y proteínas, la cual es secretada por medio del trofonemata (vellosidades en la pared de los úteros) (Hamlett & Hysell, 1998).

La pesquería artesanal de batoideos en el Golfo de California ha estado en desarrollo desde hace varias décadas (Márquez-Farías & Blanco-Parra, 2005). La raya mariposa de California se captura principalmente utilizando redes de enmalle artesanales e incidentalmente en los arrastres de camarón y merluza (Sala *et al.*, 2004). En el periodo 2000-2010 en Baja California Sur, *G. marmorata* figuró en la cuarta posición en cuanto a número de individuos capturados (Ramírez-Amaro *et al.*, 2013). Específicamente en el Golfo de California destaca en las rayas que se capturan (del Valle González-González *et al.*, 2021). Según la UICN, se ubica en la categoría CASI AMENAZADA; no obstante, todavía se captura con frecuencia y posee una alta fecundidad, comparada con otras rayas del mismo orden, por lo que podría soportar la presión pesquera intensa y en gran medida no gestionada a la que se encuentra sometida en la mayor parte de su área de distribución (Washington *et al.*, 2019).

El conocimiento de los aspectos reproductivos (talla media de madurez, fecundidad, ciclo reproductivo, etc.) y cómo estos pueden variar ante cambios en variables ambientales como la temperatura, entre otras, contribuyen a la elaboración de planes de manejo pesquero o de conservación en las especies de batoideos sujetas a explotación comercial, (Hopkins & Cech, 2003) Walker, 2004; (Elisio *et al.*, 2019).

Antecedentes:

Los aspectos reproductivos de la familia Gymnuridae han sido ampliamente estudiada a nivel mundial (Last et al., 2016). En los océanos Atlántico e Indico las especies más estudiadas han sido: Gymnura altavela, G. poecilura y G. lesaee. En dichas investigaciones se puede observar una variación en el predominio de hembras sobre machos, así como un mayor tamaño de estas. La fecundidad y la talla media de madurez también cambian de una especie a otra. En el caso de G. altavela en la costa de Syria, Alkusairy et al., (2014), reportan una fecundidad ovárica superior a la uterina, oscilando el número de crías entre 1 y 4, en las que los machos superaron a las hembras numéricamente, esto en el caso de los embriones. Basados en la presencia de lóbulos testiculares y de semen en los gonopterigios, describen a machos juveniles entre los 35 y 59.5 cm de AD, subadultos entre los 68 a 76 cm de AD y adultos entre los 77.1 y 89.3 cm. Para las hembras se basaron en la apariencia externa de ovarios, oviducto y glándula oviducal, y reportan como juveniles hembras entre los 34 a 67 cm de AD, subadultas de 70.1 a 86.5 cm, y adultas de 96 a 134 cm. Por otra parte Espino-Ruano et al., (2023), observaron que las hembras se encuentran presentes más cerca de la costa con respecto a los machos y durante el año muestran una estacionalidad en su aparición en la zona de estudio, donde estos dos comportamientos se atribuyen a la actividad reproductiva.

En el caso de *G. poecilura*, Menon *et al.*, (2020), reportan una talla media de madurez (AD₅₀) para hembras de 50.65 cm AD y para machos de 43.59 cm AD y una fecundidad promedio de 3 embriones por hembra (con un intervalo de 1-8). En cuanto al ciclo reproductivo reportan la presencia de machos maduros y hembras preñadas durante todo el año, lo que indica actividad reproductiva constante. Sin embargo Leung *et al.* (2022) estimaron en la costa de Malasia, la AD₅₀ en hembras a partir de los 47.60 cm y en los machos de los 37 cm así como un intervalo entre 1 y 6 embriones.

A diferencia de otras especies, la raya *G. lessae* presenta un bajo riesgo de sobreexplotación en el norte del Golfo de México. Esto se debe a su rápida madurez,

alcanzada aproximadamente un año después del nacimiento, con un AD50 de 34 cm en machos y 46.14 cm en hembras. Además, su fecundidad promedio es de 8 embriones (intervalo de 2 a 14) (Jargowsky *et al.*, 2022). Por otra parte en el sur del Golfo de México Lara-Alcántara *et al.* (2023) reportan el máximo número de crías de 11 embriones (5 en el útero derecho y 6 en el útero izquierdo) en una hembra de 94 cm, e infieren que la fecundidad puede estar estrechamente relacionada con el tamaño de la hembra.

El estudio más reciente sobre la taxonomía del género Gymnura, en el Océano Pacífico Oriental indica que existen dos especies, G. crebripunctata y G. marmorata (Gales et al., 2023). En el caso de G. marmorata, los estudios de reproducción se han enfocado más en la costa occidental de la Península de Baja California. En Bahía Almejas, Dávila-Ortiz (2002) describe la biología reproductiva de esta especie por primera vez con mayor profundidad. El autor logró obtener muestras en la mayoría de los meses del año, y encontró una mayor proporción de machos en los meses de marzo, mayo y julio, mientras que en el resto predominaron las hembras. La talla media de madurez calculada fue de 41 y 68 cm de ancho de disco para machos y hembras respectivamente. Para las hembras se describió solo el ovario izquierdo funcional, mientras que los oviductos y úteros si fueron funcionales. La fecundidad varió de 4 a 16 embriones, siendo más frecuente entre 5 y 9 embriones, la relación entre la talla materna y el número de embriones fue baja (r²=0.47) según el autor, sin embargo, las observaciones constataron que sí es posible que exista esta relación. El estudio más reciente sobre la reproducción de esta especie, realizado en la zona de Punta Lobos al sur de la península de Baja California por Burgos Vázquez et al. (2019), muestran una proporción de sexos diferente al presente trabajo y únicamente el ovario izquierdo funcional en el caso de las hembras, y añaden para los machos, solo el testículo izquierdo funcional. La talla media de madurez fue de 46.8 cm de AD para los machos y 73.3 cm AD para las hembras. La fecundidad uterina fue en promedio de 8 embriones por hembra. En cuanto al ciclo reproductivo, la autora lo describe como un ciclo anual y sincrónico, en el cual el apareamiento tiene lugar de marzo a julio, y el mes del parto es junio, debido a que en ese mes se encontró el embrión de mayor talla, sin embargo, en

todos los meses de muestreo se reportan hembras grávidas con folículos maduros. Por primera vez se realiza un análisis a nivel histológico en esta especie. Para los machos de describió testículos compuestos, y se observaron las diferentes fases de la espermatogénesis. En el ovario de las hembras se observaron oocitos en diferentes fases de desarrollo, en el caso de los que presentaban vitelo (vitelogénesis) mostraron una zona pelúcida, teca externa e interna bien definidas, además se constató la presencia de folículos post ovulatorios. El análisis de la glándula oviducal arrojó la presencia de solo tres de las cuatro zonas descritas para elasmobranquios, además no se observó la presencia de esperma en la zona terminal de dicha estructura.

Existen estudios sobre la biología reproductiva de *G. marmorata* en la costa occidental de Baja California Sur (Burgos Vázquez *et al.*, 2019), sin embargo para las costas del Golfo de California no se cuenta con algún estudio a nivel reproductivo. Se han observado que en elasmobranquios las variables ambientales como la temperatura afectan los parámetros reproductivos entre poblaciones de la misma especie; la costa occidental de Baja California Sur posee diferencias con respecto al Golfo de California, en cuanto a la temperatura del mar; las aguas del Pacífico tienden a ser más frías debido a la influencia de corrientes como la Corriente de California. En verano, las temperaturas suelen estar entre 20°C y 25°C, y en invierno, entre 15°C y 20°C (NOAA).

Por otra parte, existen además evidencias genéticas que sustentan que para *G. marmorata* las poblaciones presentes en la costa del Pacifico y la del Golfo de California son diferentes (Smith *et al.*, 2009), por lo tanto, al ser áreas con características oceanográficas distintas y existir diferenciación genética entre los individuos de ambos sitios, se espera que los parámetros reproductivos de *G. marmorata* en la costa oriental de BCS, varíen respecto a los previamente registrados para la costa occidental de BCS.

Por tal motivo el presente trabajo tiene como objetivo la descripción de la biología reproductiva de esta especie para la costa oriental de Baja California Sur.

Objetivo general:

• Describir la biología reproductiva de la raya mariposa *Gymnura marmorata* en Santa Rosalía, costa oriental de Baja California Sur.

Objetivos específicos:

- 1. Determinar la composición de tallas de los organismos capturados.
- 2. Determinar la proporción de sexos para embriones y adultos.
- 3. Estimar la talla media de madurez (AD_{50}) para machos y hembras, así como la talla media de maternidad para las hembras (AD_{m50}).
- 4. Estimar la fecundidad uterina en las hembras.
- 5. Estimar el ciclo reproductivo de la especie para el área de estudio.
- 6. Describir macroscópica y microscópicamente el aparato reproductor en hembras y machos.
- 7. Caracterizar las etapas de gametogénesis presentes en los organismos estudiados.

Materiales y Métodos:

Área de estudio:

El Golfo de California es un mar marginal que se localiza entre la Península de Baja California y la costa occidental de México. Presenta una longitud aproximada de 1000 km y en promedio 150 km de ancho, con una superficie total aproximada de 210,000 km² (Roden & Emilsson 1979). Es considerado una cuenca semicerrada debido a que se encuentra en gran parte rodeado por elevaciones topográficas y su única conexión al océano abierto es en su extremo sur, además se localiza en una zona transicional templado tropical, resultando así un conjunto de características atmosféricas, oceanográficas y ecológicas únicas (Bizzarro *et al.*, 2007). Las temperaturas del agua en el Golfo de California son generalmente más altas. En verano, pueden oscilar entre 24°C y 32°C, mientras que, en invierno, las temperaturas pueden variar entre 16°C y 24°C (Bizzarro *et al.*, 2007).

Santa Rosalía se localiza en la parte central de la península de Baja California, México, frente al mar de Cortés. Es la cabecera del municipio de Mulegé en Baja California Sur, México. Se encuentra en las coordenadas de 27°20'20" N y 112° 16'01" O. Pertenece a la región desértica peninsular con escasas precipitaciones anuales (117.2 mm) (Arriaga *et al.*, 1997). El clima es muy seco, semicálido con lluvias en verano, la temperatura media anual es de 14-24°C y la precipitación total anual menor de 100 mm. La región incluye una mezcla de sedimentos marinos y depósitos volcánicos que han influido en la formación de la cuenca de Santa Rosalía. La temperatura del mar en esta área es influenciada por la interacción de corrientes marinas y variaciones estacionales, contribuyendo a un clima cálido con alta salinidad y bajo nivel de precipitación anual. La geología volcánica también afecta la calidad del agua y los ecosistemas marinos locales (Osorio-Ocampo *et al.*, 2019) Los datos fueron obtenidos en tres puntos: El Coloradito, San Bruno y La Dársena (muelle de Santa Rosalía), con base en la distribución de las cooperativas pesqueras que extraen los batoideos en el lugar (Fig. 2).

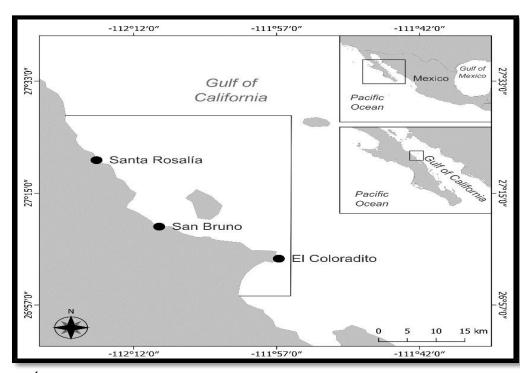


Figura 2: Área de pesca y colecta de ejemplares de *Gymnura marmorata*. Campos pesqueros: Dársena (Santa Rosalía), San Bruno, El Coloradito.

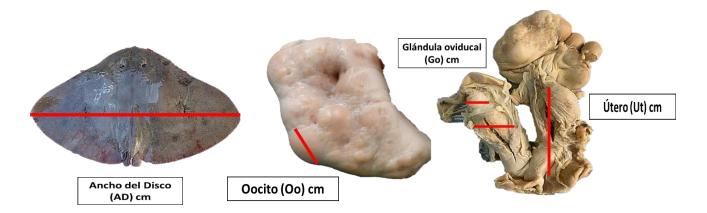
Trabajo de Campo:

Se realizaron 12 colectas en el periodo comprendido entre octubre de 2017 a noviembre 2022, fuera de la temporada de veda de tiburones y rayas del Pacífico Mexicano (NOM-029-PESC-2006). Para la captura de la raya mariposa y otros elasmobranquios, los pescadores de la flota artesanal utilizan redes con una luz de malla de 10-15 cm, extensiones de 700 m a 1 km, un ancho de red de un metro a una profundidad de entre 70-110 m. Estas son situadas a una distancia de la costa de 1 a 2 millas náuticas. La red se instala, se deja operando durante la noche y posteriormente es recogida entre las 8:00 am y las 12:00 pm del día siguiente. Se manejó una bitácora para el registro de los datos de campo. A cada organismo se le tomó las medidas de su ancho de disco (AD), distancia comprendida entre los extremos de las aletas pectorales (Hubbs & Ishiyama, 1968). Se identificó y se registró el sexo, diferenciándose los machos de las hembras por la presencia de los gonopterigios (órganos copuladores), ubicados en las aletas pélvicas (Álvarez del Villar, 1978), estos fueron medidos desde la base hasta la punta más distal, además

se registró la presencia de semen, su grado de calcificación y rotación. Una vez capturados los datos en bitácora, se realizó una incisión abdominal a cada organismo y se extrajeron todos los órganos de la cavidad visceral con énfasis en los órganos reproductores los que fueron introducidos en bolsas plásticas con formol al 10% junto con su respectiva etiqueta (fecha, localidad y número de registro del organismo). Cumplidas las 24 horas después de haber puesto en formol los órganos se realizó un cambio de formol con el objetivo de asegurar una fijación exitosa del tejido. Las muestras se conservaron por más de 15 días y se lavaron con abundante agua corriente, hasta eliminar el exceso de formol. Posteriormente, se colocaron en alcohol al 70% para el registro de datos morfométricos y su conservación.

Morfometría:

Para las medidas morfométricas se utilizó la metodología de Burgos-Vázquez, 2013. En el caso de las hembras, se midió el diámetro del oocito más grande, con el objetivo de describir el ciclo ovárico y la relación de este con el crecimiento de los embriones; el largo y ancho de ambas glándulas oviducales para relacionar el crecimiento de estas con la talla de las hembras igual con el largo y ancho de ambos úteros, que también fue registrado. En el caso de los machos se midió largo y ancho del testículo, así como el largo de los gonopterigios, con el objetivo de buscar una relación con su crecimiento. Mientras que en los embriones se midió el AD y se identificó el sexo en el caso que fuera posible.



Análisis estadísticos:

Composición de tallas

Se realizaron histogramas de frecuencia con intervalos de 9 cm, para obtener la composición de tallas de las capturas (AD cm), lo anterior se realizó para sexos combinados y para cada sexo por separado a través de los meses, en el transcurso de los años de muestreo. Para determinar si existen diferencias entre las tallas de hembras y machos se realizaron pruebas de normalidad y posteriormente se realizó una prueba U de Mann-Whitney.

Proporción de sexos en embriones y adultos

Para determinar la proporción de sexos se utilizó la prueba de χ^2 con intervalos de confianza del 95%. En este se dividió el número de hembras entre el número de machos. Las proporciones obtenidas se analizaron bajo la hipótesis nula de que existe una proporción de sexos de 1:1.

$$\chi_{calc}^2 = \sum \frac{\left(f_0 - f_e\right)^2}{f_e}$$

 f_0 : Frecuencia del valor observado.

 f_e : Frecuencia del valor esperado.

Talla media de madurez para machos, hembras y talla media de maternidad

Los criterios utilizados para evaluar el estado de madurez en hembras y machos se basaron en la escala propuesta por Burgos-Vázquez et. al., 2019 para la costa occidental de Baja California Sur (**Anexos 1 y 2**). Para el caso de las hembras se basaron en la condición anatómica del aparato reproductor (ovario izquierdo, glándula oviducal y úteros) y en la presencia de embriones en el útero. Para los machos, se tuvo en cuenta el desarrollo del testículo izquierdo, el grado de calcificación y rotación del gonopterigio, además de la presencia de semen.

La talla media de madurez (AD₅₀) se refiere a la longitud promedio del ancho de disco a la cual el 50% de una población alcanza la madurez sexual por primera vez (Hamlett, 2005) lo mismo se aplica para la talla media de maternidad (talla promedio a la cual las hembras están preñadas). Para ello se utilizó una curva logística ajustada entre la fracción de machos y hembras maduras como una función del AD utilizando el programa RStudio versión 2022.12.0, por medio del modelo siguiente (Walker, 1994):

Donde:

P_m=Proporción de organismos sexualmente maduros

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

AD= Ancho de disco

Adicionalmente se realizaron análisis de regresión para describir la relación entre el largo y ancho de la glándula oviducal y el útero con respecto al AD de las hembras, en el caso de los machos se determinó la relación larga del gonopterigio y ancho y largo del testículo con respecto al AD.

Fecundidad uterina

Este parámetro se obtuvo calculando el valor promedio del número de embriones entre el total de hembras preñadas registradas en los diferentes meses de muestreo (Pratt, 1979). La relación entre el número de embriones y el ancho de disco de la hembra se determinó mediante una correlación de Pearson.

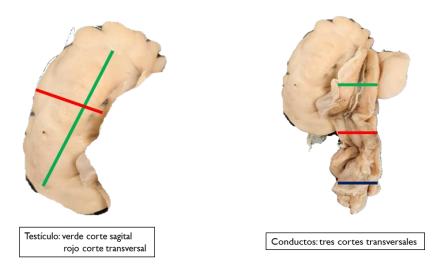
Ciclo reproductivo

Para estimar el periodo de gestación, así como la talla y mes de expulsión, se siguieron los criterios de Dávila (2022), cada mes, se midió el diámetro de los oocitos

de mayor tamaño, se obtuvo el promedio y se comparó el comportamiento de estas medidas durante el año, asumiendo que entre mayor el promedio de los oocitos mayor es el promedio de los embriones en el útero. Una vez obtenido el patrón de variación de ambas medidas, se representaron en un gráfico combinado.

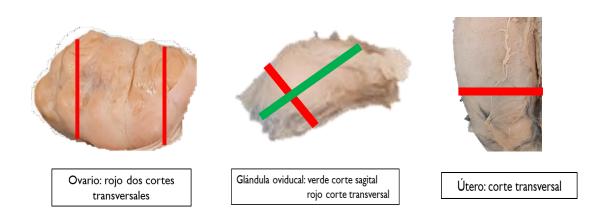
Proceso Histológico

Las estructuras objetivo fueron, en el caso de los machos, el testículo izquierdo y los conductos espermáticos, y en el caso de las hembras, el ovario, la glándula oviducal y el útero Para la selección de estas se realizaron histogramas de intervalos de tallas por estadio de madurez para machos y hembras. De cada uno se escogieron dos individuos por intervalos de talla dentro del estadio correspondiente, de esta manera se logró incluir los diferentes momentos reproductivos dentro de la muestra. Posteriormente se eligieron las zonas de corte en dichas estructuras Para identificar y describir los procesos que tienen lugar en las distintas zonas, en los machos, se realizaron dos cortes en el testículo, uno transversal y uno sagital. En los conductos se realizaron tres cortes a tres niveles (Proximal cercano al testículo, medio y apical cercano a la cloaca), con el objetivo de identificar y caracterizar las diferentes zonas (Epidídimo, Glándula de Leiding y Vesícula seminal).



Para las hembras, se realizaron dos cortes transversales en el ovario izquierdo, uno en la parte posterior (zona más alejada del oviducto) otro en la parte anterior (zona

más cercana al oviducto) con el objetivo de describir como es el desarrollo de lo oocitos dentro del ovario. Para la glándula oviducal, se realizaron dos cortes, uno sagital a toda la glándula con el objetivo de describir las diferentes zonas de esta, y uno transversal a la mitad con el objetivo de describir la zona terminal y ubicar el almacén de esperma. En el útero se realizó un corte transversal a la mitad de este, para observar el desarrollo del trofonemata y el momento donde se inicia la producción de leche uterina.



El proceso histológico inició una vez que las estructuras están completamente fijadas, se realizó con el lavado en agua corriente durante 6 a 8 horas, para eliminar el exceso de formol y urea. Posteriormente se colocaron en alcohol al 70% (Para preparar un litro de solución: 70 ml de alcohol absoluto + 30 ml de agua corriente) durante 3 días. Se prosiguió con la deshidratación, la cual consiste en cambios sucesivos de alcohol a concentraciones crecientes (80%, 96%, 100%) y luego fueron incluidas en parafina. Se realizaron cortes de 3 a 4 micras de grosor con un micrótomo tipo LEICA RM 2125 RTS. Cada una de estas laminillas se colocó en una estufa a 61°C para disolver la parafina excedente, aproximadamente durante 24 horas. Se agruparon las laminillas de acuerdo con las tinciones objetivo: Hematoxilina- Eosina, la cual se aplicó a todas las laminillas, Tricrómica de Masson (ovario, útero y glándula oviducal), Tricrómica de Mallory (ovario), Feulgen (testículo y glándula oviducal), con el objetivo de identificar la zona terminal o almacén de esperma, y PAS (útero y glándula oviducal). Finalmente, cada laminilla teñida se

montó con Citoseal. La observación para la descripción de las estructuras histológicas se realizó en el estéreo ZEISS Discovery V.12 y en el microscopio óptico AmScope. La captura de imágenes se obtuvo mediante los programas Zen 2012 blue edition en el caso del estéreo y AmScope versión 4.7. para el microscopio óptico.

Resultados

Composición de tallas

De un total de 199 organismos colectados de octubre del 2017 a noviembre del 2022 en la zona de Santa Rosalía, se encontraron 64 machos, siendo octubre (n=30) el mejor representado y abril y diciembre (n=1 para ambos meses) el de menor número de muestras. En las hembras se registraron 135, siendo noviembre el mejor representado (n=49) y diciembre el de menor número de muestras (n=5) (Fig. 3).

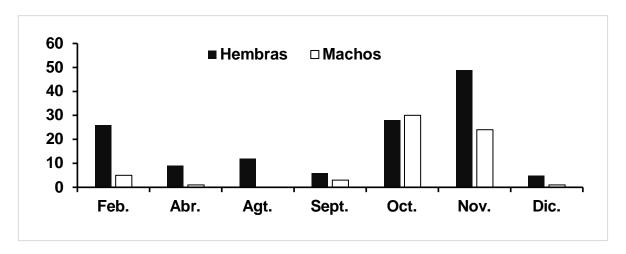


Figura. 3: Número total de organismos registrados por mes de *Gymnura marmorata* del año 2017 al 2022 en Santa Rosalía.

El intervalo de tallas del ancho de disco (AD) registrado, del total de organismos muestreados de *G. marmorata*, fue de 39 a 121 cm, con una talla media de 57.9 cm de AD. Para los machos el AD promedio fue 59.9 cm, con un intervalo entre 39 y 71 cm de AD. En las hembras el AD promedio fue 61.7 cm AD, con un intervalo entre 40 a 121 cm de AD (Fig. 4).

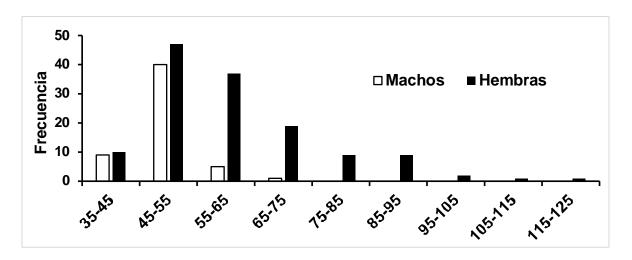


Figura 4: Intervalos de tallas AD (cm) en machos y hembras registrados de *Gymnura marmorata*.

En el caso de los machos no fue posible determinar el mes con la media de mayor y menor valor debido a la variabilidad en el número de individuos por meses muestreados, no obstante, se pudo apreciar cómo se encontraron distribuidos en función de las tallas (Fig. 5).

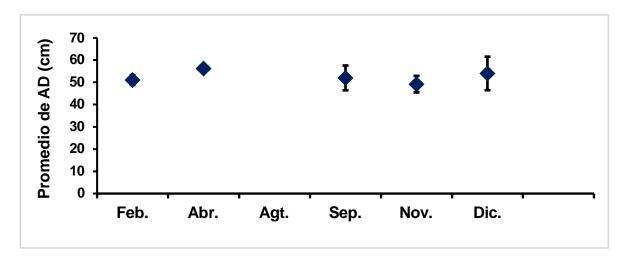


Figura 5: Promedio y error estándar del ancho de disco de machos de *Gymnura marmorata* registrados en los años 2017 al 2022.

En las hembras el mes con mayor promedio de AD fue abril (80.18 cm), mientras que en noviembre se presentó la más baja (55.15 cm) (Fig. 6).

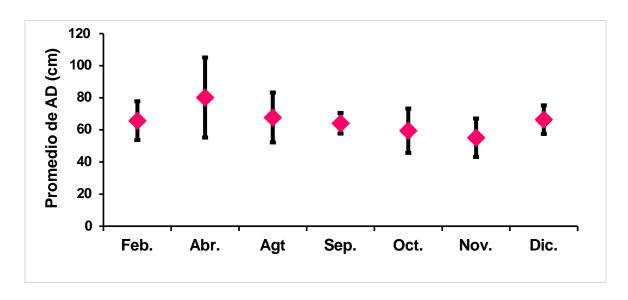


Figura 6: Promedio y error estándar del ancho de disco de las hembras de *Gymnura marmorata* registrados en los años 2017 al 2022.

La prueba U de Mann-Whitney mostró diferencias significativas entre las tallas de machos y hembras (p<0.05) (Fig. 7).

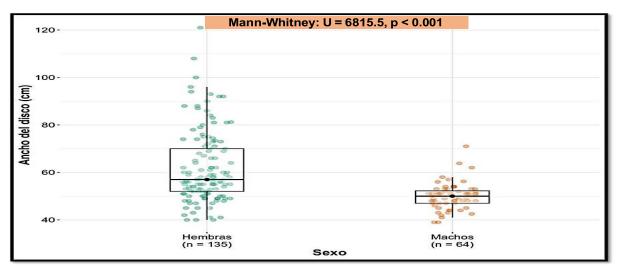


Figura 7: Prueba U de Mann-Whitney para contrastar las tallas de machos y hembras de *Gymnura marmorata*.

Embriones:

Se registraron un total de 80 embriones, solo se obtuvo el sexo y AD de un total de 78 ejemplares (38 machos y 40 hembras). El valor promedio del AD embrionario

de 12.3 AD, para ambos sexos fue cm de con un intervalo entre 1.5 a 21.5 cm de AD. En los machos el valor promedio fue de 12.2 cm de AD con un intervalo entre 5.5 a 21.5 cm de AD, mientras que las hembras registraron un valor promedio de 13.1 cm de AD con un intervalo entre 5 a 20 cm de AD. El mayor número de embriones se registró en el mes de febrero (n=38), seguido de agosto (n=36), noviembre (n=14) y abril (n=3) que en este caso fue que menos embriones presentó. Cuanto al promedio de AD por cada mes de muestreo, agosto resultó el mes que registró el menor valor (8.0 cm) y febrero el mayor (16.4 cm) (Fig. 8).

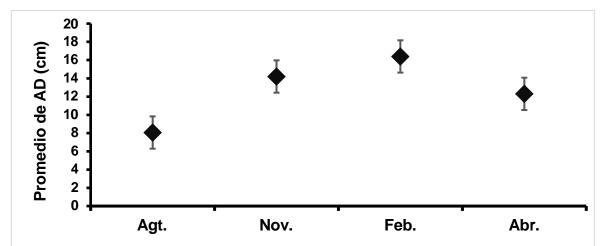


Figura 8: Promedio del ancho de disco (AD) y error estándar en embriones de *Gymnura marmorata.*

El mayor número de machos se presentó en el intervalo de talla entre 7 y 10 cm de AD, mientras que el mayor número de hembras se presentó entre los 16 y los 19 cm (Fig. 9).

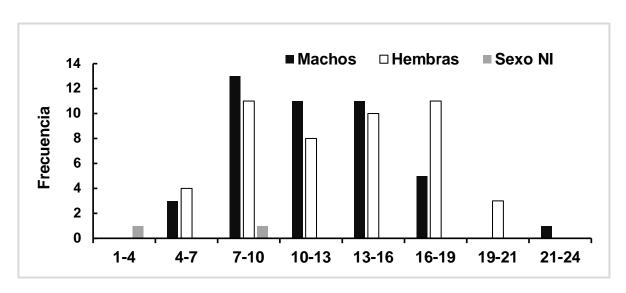


Figura 9: Histograma de frecuencia de los intervalos de tallas (AD) en los embriones de *Gymnura marmorata*.

La prueba U de Man-Whitney para las tallas de los embriones arrojó que no existieron diferencias significativas entre machos y hembras (p>0.05) (Fig. 10.)

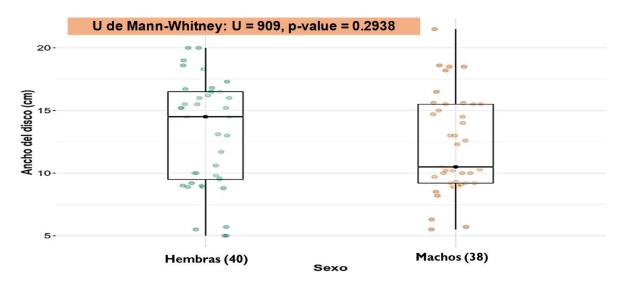


Figura 10: Comparación por sexos entre las tallas de embriones de *Gymnura marmorata*.con la prueba U de Mann-Whitney.

Proporción de sexos

Vida libre:

La proporción sexual fue de 2.1H: 1M. La prueba χ^2 indicó que, en los organismos capturados, existen diferencias significativas en la proporción sexual (χ^2 =25.33; p < 0.05).

Embriones:

La proporción sexual fue de 0.95H:1M; la cual no fue significativa (χ^2 =0.05; p=> 0.05.

Fecundidad uterina

En los años de muestreo se registraron un total de 14 hembras grávidas en los meses de febrero (n=5), abril (n=3), agosto (n=3) y noviembre(n=3), el valor promedio del AD de las madres fue 61.26 cm de AD, con un intervalo entre 45 a 71.2 cm de AD. Se estimó un valor promedio de 5.6 embriones por hembra, con un mínimo de 1 y un máximo de 16 embriones (Tabla 1).

Tabla 1: Relación mensual del número de hembras preñadas y su valor promedio de AD; así como también número de embriones y valor promedio de AD separados por sexos.

	HEMBRAS PREÑADAS		Embriones			
MESES	n	AD promedio (cm)	n (H)	AD promedio cm (H)	n (M)	AD promedio cm (M)
FEBRERO *	5	59.1	12	13.2	14	14.9
ABRIL*	3	87.5	1	12.3		
AGOSTO	3	64.6	16	8	19	8.1
NOVIEMBRE *	3	55	7	13.8	9	13.4

En el caso de la relación entre el número de embriones por hembra y la talla de esta la correlación de Pearson mostró una correlación no significativa (r= 0.087, p<0.05) (Fig. 11).

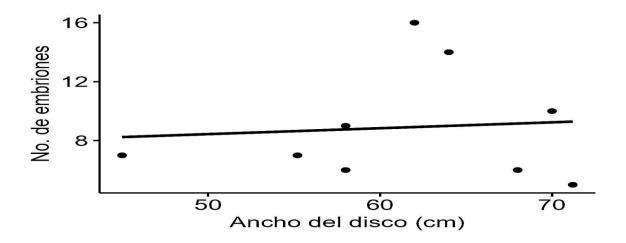


Figura 11: Relación entre AD madre y número de embriones por hembra de *Gymnura marmorata.*

Talla media de madurez:

Machos

Del total de machos registrados, 10 fueron inmaduros (15.6%) con un intervalo de tallas entre los 42 y 56.2 cm de AD y 54 maduros (84.3%) con un intervalo de tallas entre los 39 y 71 cm de AD (Fig.12).

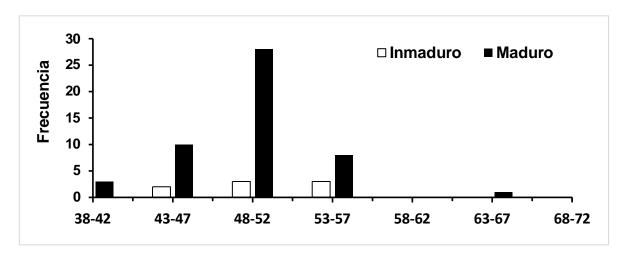


Figura 12: Distribución de tallas de machos separando por estadio de madurez sexual de *Gymnura marmorata*.

Estadios de Madurez

En los machos se definieron 3 estadios de madurez basados en la condición anatómica del testículo izquierdo, gonopterigios y presencia de semen: (1) inmaduro, (2) en desarrollo y (3) maduro

Inmaduros (1): En estos los gonopterigios no exceden el margen posterior de las aletas pélvicas y su consistencia es flácida o no calcificado y no presentan la rotación necesaria para la cópula (180°), por su parte el testículo se observó pequeño (menor de 3 cm de largo y 1 cm de ancho) y sin desarrollo de lóbulos testiculares, además los conductos espermáticos se observaron flácidos y finos (Fig. 13).

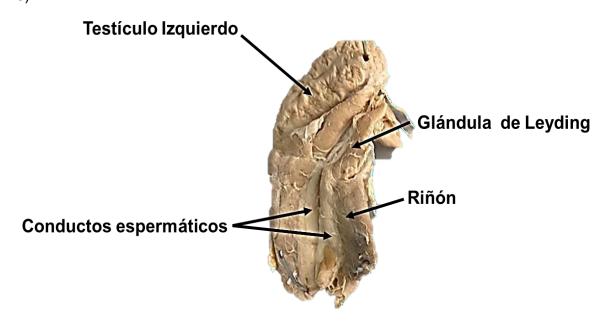


Figura 13: Anatomía de aparato reproductor interno de macho inmaduro de *Gymnura marmorata*.

En Desarrollo (2): Desde el punto de vista anatómico presentaron las mismas características que los machos inmaduros, pero en el análisis histológico se evidenciaron todos los estadios de las espermatogénesis presentes, aunque no se observó esperma en los conductos.

Maduros (3): En estos, los gonopterigios se encuentran calcificados y con rotación de 180°, y se constató la presencia de semen con apertura del rifiodón. El testículo izquierdo fue superior a los 3 cm de largo y 1 cm de ancho, y presentó un desarrollo

notable de los lóbulos testiculares. Los conductos espermáticos por su parte se presentan engrosados y ensanchados (Fig. 14).

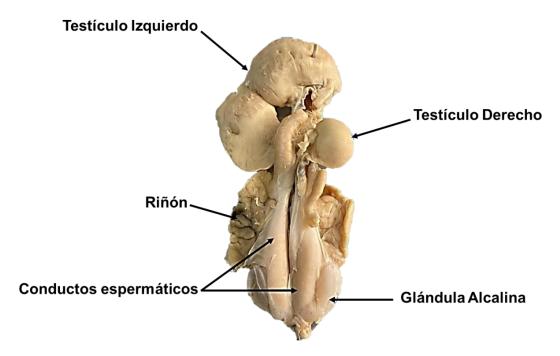


Figura 14: Anatomía de aparato reproductor interno de macho maduro de *Gymnura marmorata*.

La correlación de Sperman entre el crecimiento del organismo y la longitud del testículo fue significativa (r = 0.46, p = 0.001) (Fig. 15).

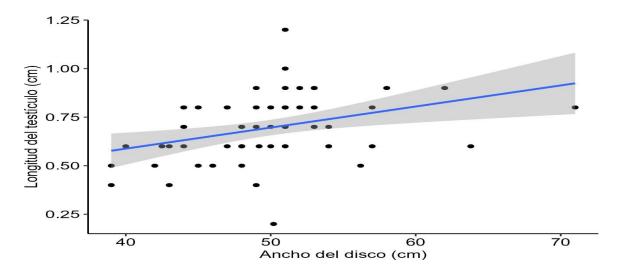


Figura. 15: Relación de la longitud del testículo con el ancho de disco (AD) de los machos de *Gymnura marmorata*.

La presencia de lóbulos testiculares desarrollados también mostró una relación estadísticamente significativa con el ancho de disco (r = 0.43, p = < .001) (Fig.16)

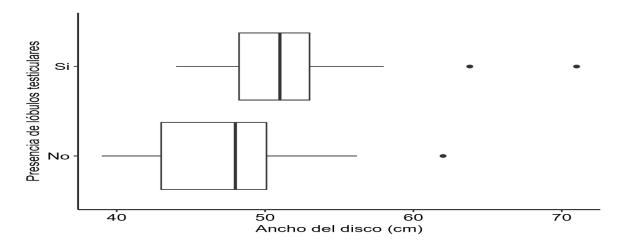


Figura. 16: Relación de la presencia de lóbulos testiculares con el ancho de disco (AD) de los machos de *Gymnura marmorata.*

La presencia de semen también presentó una relación positiva con el crecimiento del organismo (r = 0.4, p = 0.008) (Fig. 17.)

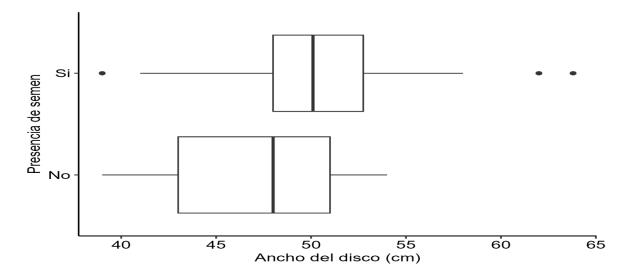


Figura 17: Relación de la presencia de semen con el Ancho de Disco (AD) en los machos de *Gymnura marmorata*.

La longitud del gonopterigio por otro lado no mostró una relación con el crecimiento del organismo (r = -0.004, p = 0.972). (Fig. 18.)

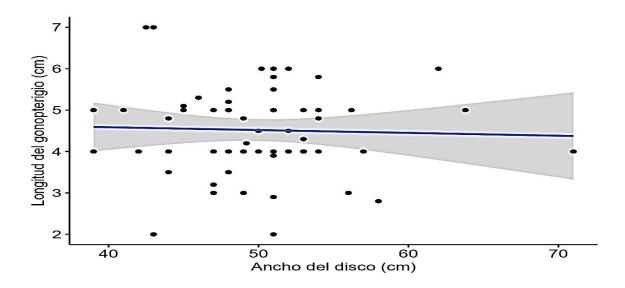


Figura 18: Relación de la longitud del gonopterigio con el ancho de disco (AD) de los machos de *Gymnura marmorata*.

Finalmente, la talla media de madurez (AD_{50}) en el caso de los machos fue de 46.34 cm, Error estándar= 1.42 (Fig. 19).

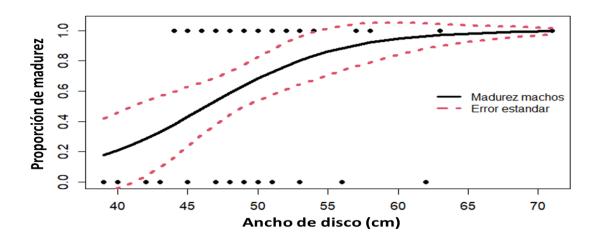


Figura 19: Talla de primera madurez AD_{50} (cm) para machos de la especie *Gymnura marmorata*.

Hembras

De las hembras analizadas, 78 fueron inmaduras (62%), con un intervalo de tallas entre los 40 y 74 cm de AD; mientras que 44 fueron maduras (38%) con un intervalo entre los 56 y 121 cm de AD (Fig. 20).

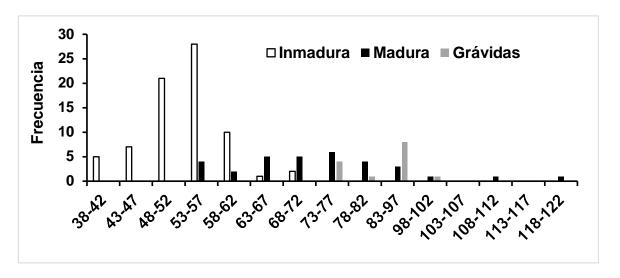


Figura 20: Distribución de tallas de acuerdo con el estadio de madurez sexual de las hembras de *Gymnura marmorata*.

Estadios de Madurez:

En las hembras se definieron 4 estadios de madurez, basándose en la condición anatómica del ovario izquierdo, las glándulas oviducales y úteros: (1) inmaduras, (2) en desarrollo, (3) madura (capaz de reproducirse), (4) madura (embarazada).

Inmaduras (1): En estas, el ovario izquierdo se observó de menor tamaño respecto al derecho, con abundante órgano epigonal. Presentó oocitos pequeños, blanquecinos o visiblemente ausentes. En el caso de las glándulas oviducales se encontraron indiferenciadas de los úteros por lo que no se identificaron visualmente. Los úteros se describen como filiformes, estrechos, de pared muy delgada y ausencia de microvellosidades en su interior (Fig. 21.).

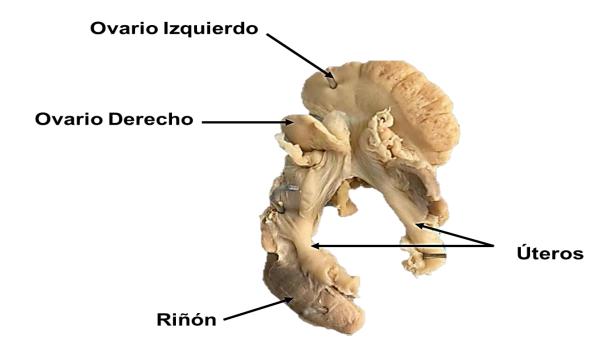


Figura 21: Aparato reproductor de hembra inmadura de *Gymnura marmorata*.

En Desarrollo (2): En este estadio se observa el ovario con oocitos visibles, amarillentos, asociados al órgano epigonal. Las glándulas oviducales (< 1cm) se encuentran diferenciadas de los úteros con flacidez al tacto. En los úteros se observó la parte alta ensanchada formando una bolsa, la pared uterina se presentó más gruesa que en las inmaduras y se presentaron microvellosidades abundantes y finas sin secreción visible en toda la pared interna (Fig. 22).

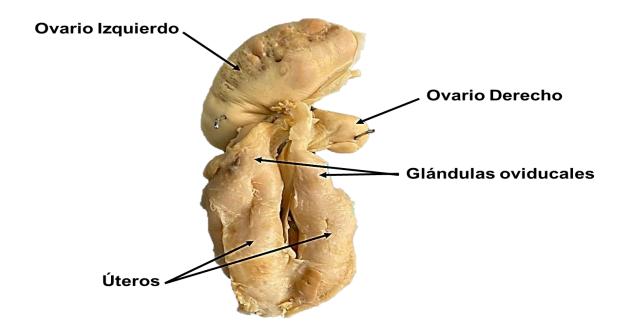


Figura 22: Aparato reproductor de hembra en desarrollo de Gymnura marmorata.

Maduras (Capaz de reproducirse): En esta fase la bolsa ovárica se observó de gran tamaño, llena de oocitos vitelogénicos y el órgano epigonal prácticamente ausente. Las glándulas oviducales (1-1,5 cm) se presentaron bien diferenciadas de oviductos anteriores y úteros, además agrandadas y duras al tacto. En los úteros se evidenciaron paredes uterinas gruesas, con presencia de microvellosidades largas con cambio de coloración de blanco a grisáceo, que evidencia presencia de secreción histotrófica (Fig. 23).

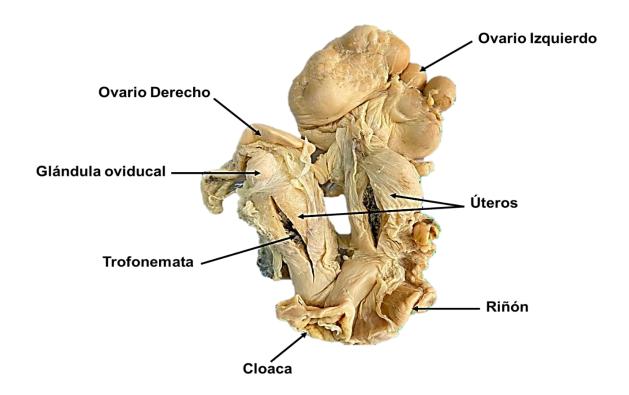


Figura 23: Aparato reproductor de hembra madura de *Gymnura marmorata*

Madura (embarazada): bolsa ovárica grande con abundantes oocitos vitelogénicos, órgano epigonal en algunas zonas. Las glándulas oviducales se presentaron bien diferenciadas de oviductos anteriores y úteros, además agrandadas y duras al tacto. Visiblemente al menos uno de los úteros muy grande y ensanchado, altamente vascularizado y la pared uterina muy gruesa, dura al tacto, presencia de embriones. Secreción histotrófica presente (Fig. 24).

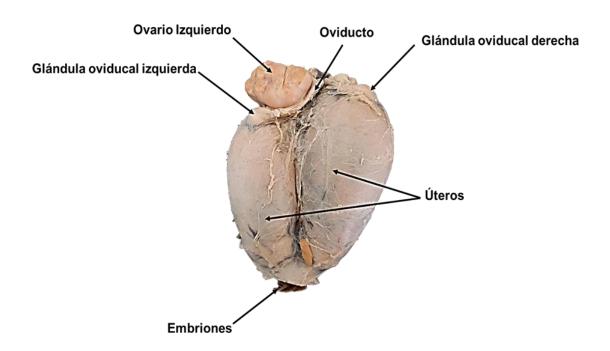


Figura 24: Aparato reproductor de hembra embarazada de Gymnura marmorata

En el caso de la longitud del útero ($r^2 = 0.7$, p = 0.001) y la glándula oviducal ($r^2 = 0.65$, p = 0.00) evidenciaron una correlación significativa con tendencia positiva respecto al AD (Fig. .25); (Fig.26); (Fig. 27).

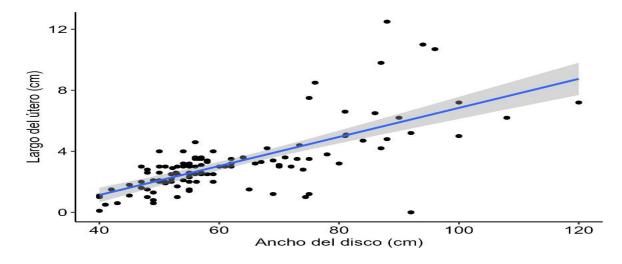


Figura 25: Relación entre el largo del útero y el ancho de disco en las hembras de *Gymnura marmorata*.

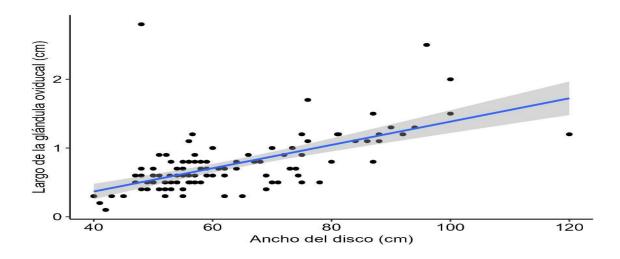


Figura 26: Relación entre el largo de la glándula oviducal y el ancho de disco en las hembras de *Gymnura marmorata*.

Finalmente, la talla media de madurez (AD_{50}) en las hembras fue de 62.89 cm AD, Error estándar= 0.82 (Fig. 26)

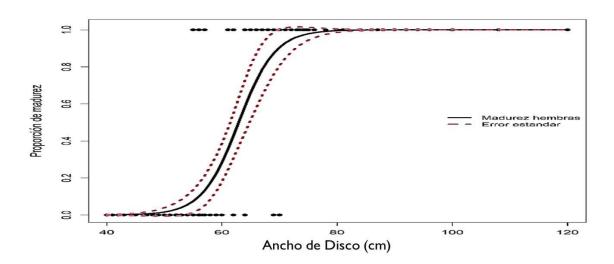


Figura 27: Talla media madurez (AD₅₀) estimada en hembras de *Gymnura marmorata* en la costa oriental de Baja California Sur.

Mientras que la talla media de maternidad fue de 86.73 cm AD, Error estándar= 4.64. (Fig. 28)

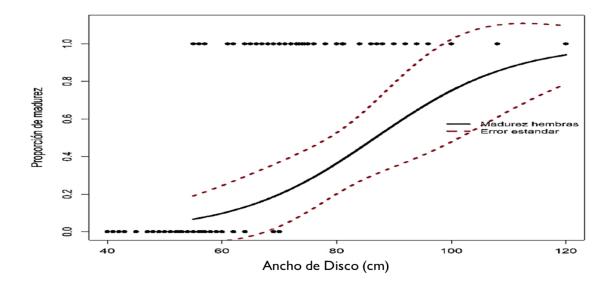


Figura 28: Talla media de maternidad (AD_{50m}) estimada en hembras de *Gymnura marmorata* en la costa oriental de Baja California Sur.

Descripción macroscópica del aparato reproductor de Gymnura marmorata.

Hembras:

El aparato reproductor de *Gymnura marmorata* se encuentra ubicado en la zona dorsal del cuerpo del organismo, en la cavidad abdominal. El mismo se encuentra fusionado a los riñones.

Se observaron dos ovarios, uno derecho de menor diámetro, sin actividad reproductiva a pesar de tener conexión al oviducto, y uno izquierdo con desarrollo de oocitos. Dicho ovario se puede clasificar como externo, el mismo se encuentra sostenido por el mesoovario y los oocitos están embebidos dentro de la masa de órgano epigonal. Este se clasificó además como asincrónico, debido a que el desarrollo se da por cohortes de oocitos, observándose diferentes etapas de la oogénesis dentro de dicho órgano (Fig. 29).



Figura 29: Ovario izquierdo asincrónico de *Gymnura marmorata*, se observan oocitos en diferentes estadios dentro del mismo.

La glándula oviducal, se observa a continuación del oviducto, en este caso se describen dos glándulas oviducales funcionales, las cuales se encuentran fusionadas con los úteros a medida que avanza la madurez (Fig. 30).

Se describen dos úteros funcionales, los cuales se unen en la cloaca o vagina (Fig.30).

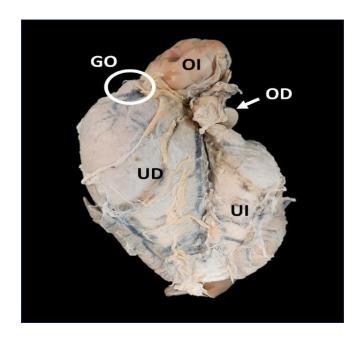


Figura 30: Aparato reproductor de una hembra preñada de *Gymnura marmorata*, UD: Útero derecho, UI: Útero Izquierdo, GO: Glándula Oviducal, OI: Ovario Izquierdo, OD: Ovario derecho.

Machos:

Se describen dos testículos, uno derecho vestigial de menor tamaño, y uno izquierdo funcional clasificado como radial. En este se observaron, en el caso de los machos maduros lóbulos testiculares, asociados con el órgano epigonal, el cual va desapareciendo a medida que crece el testículo. Se describen dos conductos desde el punto de vista macroscópico que se extienden desde los testículos hasta los gonopterigios (Fig. 31).

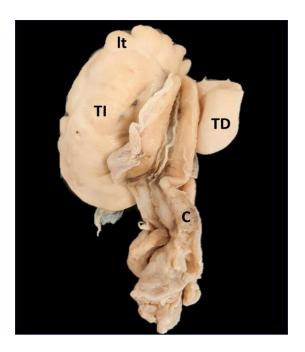


Figura 31: Anatomía interna de aparto reproductor de macho maduro de *Gymnura marmorata*. Tl: testículo izquierdo, TD: testículo derecho, lt: lóbulos testiculares, C: conducto.

Ciclo reproductivo

El ciclo reproductivo se conforma del ciclo ovárico y el periodo de gestación. En el presente estudio se encontró que ambos se dan de manera simultánea (Fig. 32). Se estimó que el ciclo reproductivo es anual con un pico en el mes de febrero. Se observaron, en los meses donde se encontraron hembras preñadas, diferentes estadios del periodo de gestación entre una hembra y otra, esto es; en un mismo mes hembras con embriones ya desarrollados y hembras con huevo uterino en uno de los úteros (Fig. 33). Se estimó la talla de los embriones al momento de la expulsión en 21 cm de AD.

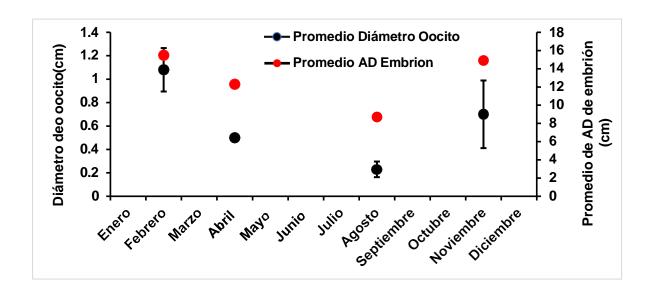


Figura 32: Relación entre el ciclo ovárico y el periodo de gestación en hembras preñadas registradas de *Gymnura marmorata*.

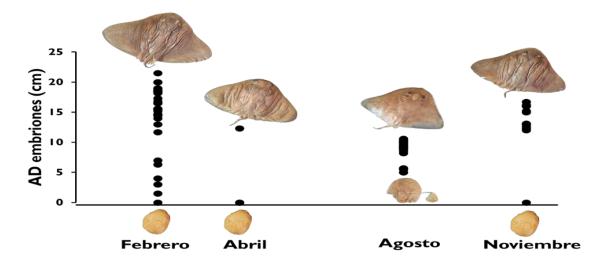


Figura 33: Distribución de tallas de los embriones de *Gymnura marmorata* en los meses donde se encontraron hembras preñadas.

Desarrollo embrionario:

En las hembras preñadas se observaron diferencias interuterinas en cuanto a la cantidad y la talla de los embriones. Esto se observó en 2 de las 14 hembras preñadas registradas. En una misma hembra se constató la presencia de un embrión de 1.5 cm en el útero derecho mientras que en el útero izquierdo se encontró un embrión de 21 cm, dichas medidas pertenecen al embrión más pequeño

y al más grande descrito en este estudio (Fig. 34). Se apreció también en los embriones más pequeños (5-10 cm) la unión al saco vitelino, el cual en los embriones de 12 a 21 cm se encontró prácticamente nulo, quedando solo la cicatriz umbilical en los individuos de mayores tallas. En estos se observó entonces el trofonemata totalmente introducido a través de las branquias y la boca (Fig. 35) Así mismo el trofonemata se encontró distribuido en toda la pared interna del útero en los primeros estadios del desarrollo embrionario mientras que en los estadios más avanzados se observó restringido a la parte alta del útero (Fig.36)

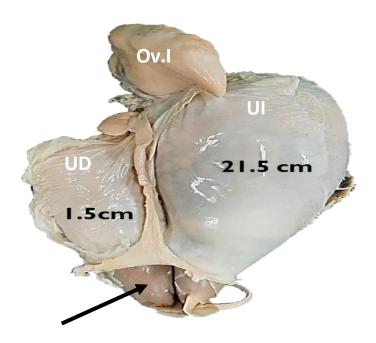


Figura 34: Vista dorsal de aparato reproductor de hembra preñada de *Gymnura marmorata*, **UI**: útero izquierdo, **UD**: útero derecho, **Ov. I**: ovario izquierdo, **Emb**: embriones.

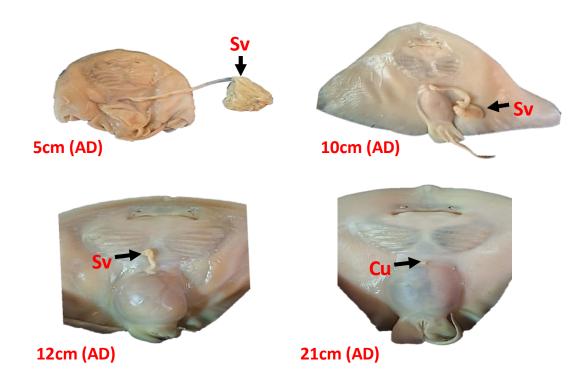


Figura 35: Vista ventral de embriones de *Gymnura marmorata* en diferentes estadios del periodo de gestación: **Sv**: Saco vitelino, **Cu**: Cicatriz umbilical.

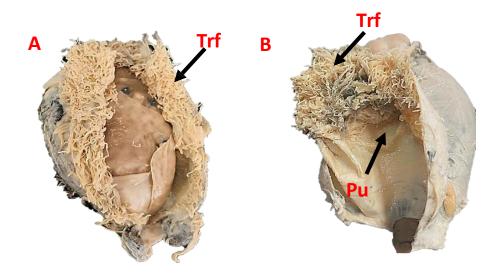


Figura 36: (A): Útero con embriones dentro, se observa el trofonemata (Trf) distribuido por toda la pared uterina (Pu). **(B):** Útero vacío donde se observa el trofonemata solo en la parte alta de este.

Descripción microscópica del aparato reproductor de Gymnura marmorata

Machos:

Testículo:

Desde el punto de vista histológico, el testículo izquierdo se describe como compuesto, debido a sus características: presencia de lóbulos testiculares, dentro de los cuales encontramos túbulos seminíferos, donde se lleva a cabo la espermatogénesis. Dentro de este encontramos la zona germinal hacia el centro del túbulo, donde tienen lugar las primeras fases de la espermatogéneis, y hacia la periferia se observan los estadios más avanzados de dicho proceso (Fig. 37).

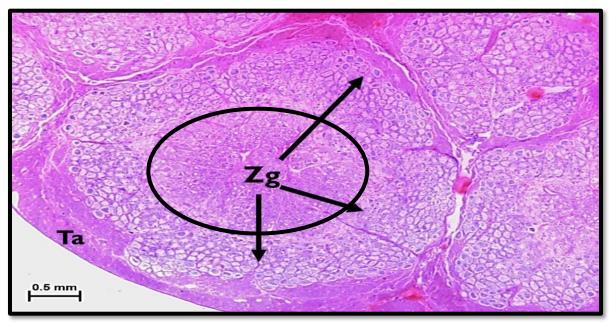


Figura 37: Vista estereoscópica de testículo en corte transversal de macho inmaduro (sin desarrollo visible de lóbulos testiculares) de *Gymnura marmorata*. Ta: Túnica albugínea, Zg: Zona Germinal hacia el centro, técnica Hematoxilina- Eosina, Barra= 0.5 mm.

Dentro del testículo los túbulos seminíferos se encuentran separados uno del otro por una capa de tejido conectivo laxo. Dentro de cada uno encontramos los espermatocistos, conformado por las células de Sertolli, ubicadas en la membrana basal que lo rodea, y las células germinales en el mismo estadío de madurez (Fig. 38).

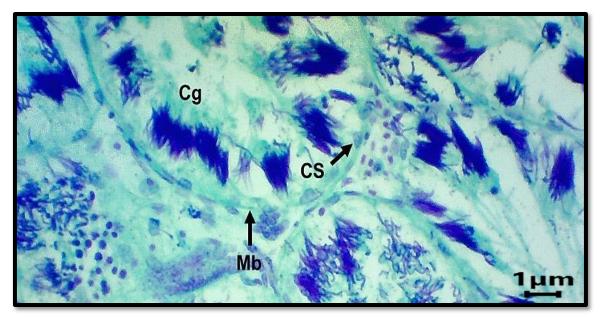


Figura 38: Microfotografía de espermatocisto maduro en el tésticulo de *G. marmorata*, se observa la membrana basal que los envuelve (Mb), sobre la que se ubican las células de Sertolli (CS), Células germinales (Cg). Hacia el interior los espermatozoides todos en la misma fase. Tinción: Feulgen. Aumento: 10X.

Caracterización de la espermatogénesis:

Fase I: Espermatogonias

Esta primera fase tiene lugar en la zona germinal del testículo Las células germinales, nombradas espermatogonias en esta fase, aún no están diferenciadas, se encuentran en proceso de proliferación y presentan un acomodo desordenado dentro del espermatocisto (Fig. 39). La forma de este es irregular, y la membrana envolvente no es claramente visible.

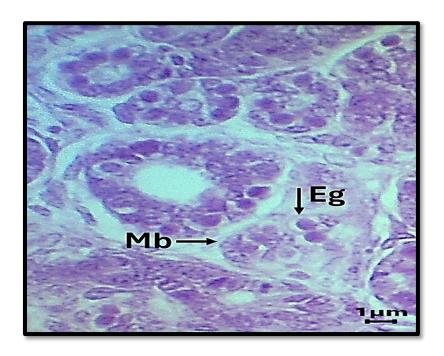


Figura 39: Microfotografía de espermatocisto con espermatogonias (Eg) sin acomodo, se observa la membrana basal (Mb), que lo delimita. Tinción Hematoxilina-Eosina, Aumento: 10 X.

Fase II: Espermatocito Primario

Los espermatocitos primarios son generalmente más grandes que las espermatogonias, con un núcleo grande y bien diferenciado del citoplasma. Adquieren ya una organización que permite observar un lumen pequeño y la membrana basal también se encuentra bien delimitada (Fig. 40). Dichas células todavía diploides, entran a la primera división meiótica, por lo que esta constituye una etapa crítica en la espermatogénesis.

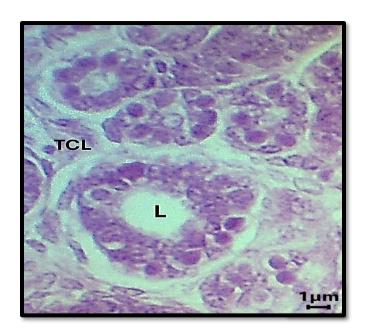


Figura 40: Microfotografía de espermatocisto en fase de Espermatocito Primario, se observan ordenados alrededor del cisto dejando al centro un Lumen (L), se observa además el tejido conectivo laxo que los separa (TCL). Tinción: Hematoxilina-Eosina. Aumento: 10X.

Fase III: Espermatocito secundario

En esta fase el cisto aumenta de tamaño debido al proceso de división meiótica que iniciaron los espermatocitos primarios, el lumen en esta fase puede o no estar presente. Los secundarios son de menor tamaño que los primarios en cuanto a su citoplasma y núcleo, estos, en esta fase, son fuertemente heterocromáticos (Fig. 41).

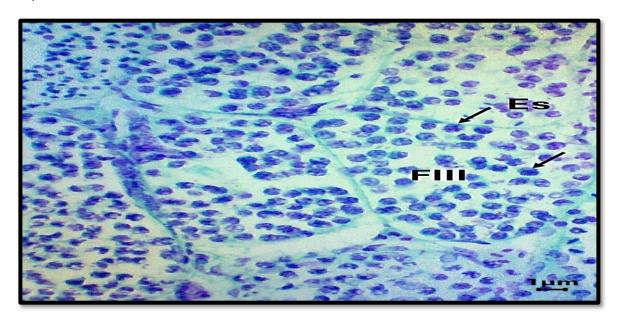


Figura 41: Microfotografía de espermatocisto en fase III (FIII), se observan los espermatocitos secundarios (Es) con núcleos heterocromáticos en color morado y la ausencia del lumen. Tinción: Feulgen. Aumento: 10X.

Fase IV: Espermátidas (Diferenciación)

En esta fase es característico el núcleo de las espermátidas en forma de medialuna, como resultado de la condensación de la cromatina, se observa también como las espermátidas se comienzan a agrupar, y ya se visualiza un flagelo incipiente (Fig. 42).

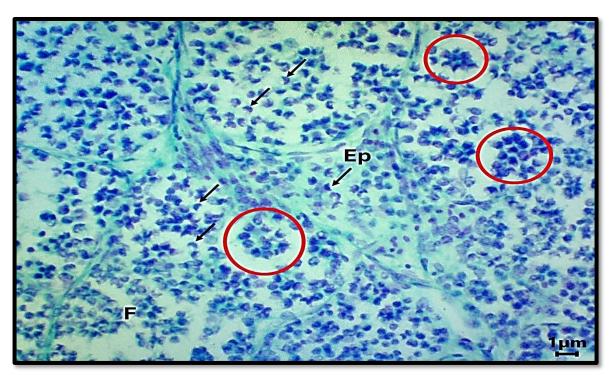


Figura 42: Microfotografía de espermatocisto en Fase IV, se observan las espermátidas (Ep), las flechas señalas los núcleos en forma de medialuna de morado intenso, dentro de los círculos rojos observamos las espermátidas agrupadas. Tinción: Feulgen, Aumento: 10X.

Fase V: Espermátidas (Diferenciación)

En esta fase ya se hace muy evidente el flagelo y la cabeza, las aun espermátidas se observan organizadas en paquetes, con las cabezas orientadas hacia la membrana basal del espermatocisto, en estrecha relación con las células de Sertolli, y las colas hacia el lumen de este. Se pueden observar también las células de

Leydig, ubicadas en el tejido intersticial y encargadas de la secreción de testosterona por parte del testículo (Fig. 43).

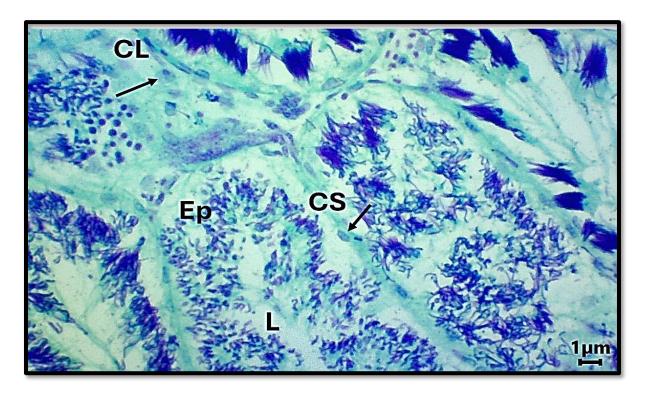


Figura 43: Microfotografía de corte transversal de testículo. Se observa espermatocisto en fase V Espermátidas (Ep), en morado fuerte se observan las cabezas en relación con las células de Sertolli (CS) indicada con la flecha y en verde claro los flagelos orientados hacia el lumen (L), en la zona intersticial observamos las células de Leydig. Tinción: Feulgen, Aumento: 10X

Fase VI: Espermatozoides (Espermiación)

En esta fase podemos observar la madurez funcional del ya espermatozoide, con una cabeza y cola bien definidas, igualmente se encuentran empaquetados y en estrecha relación con las células de Sertolli, las cuales se observan con gran claridad. El espermatocisto se aprecia de gran tamaño y con apariencia turgente (Fig. 44).

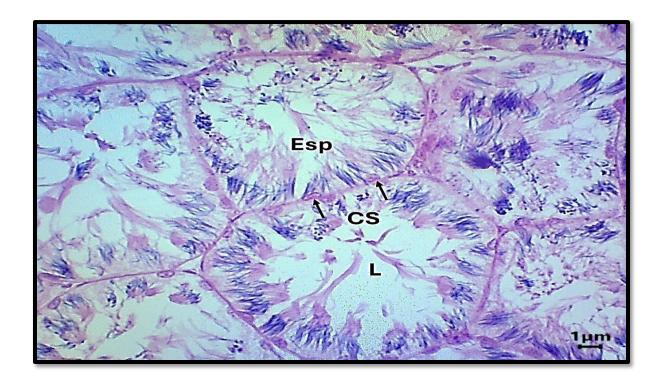


Figura 44: Microfotografía de corte transversal de testículo. Se observa espermatocisto maduro con presencia de espermatozoides acomodados en paquetes. Esperma (Esp), Células de Sertolli (CS), Lumen (L). Se observan las cabezas en morado y las colas en rosado. Tinción: Hematoxilina-Eosina. Aumento: 40X.

Ductos genitales:

En los cortes realizados en los diferentes niveles de los conductos se lograron identificar las estructuras deseadas. En la zona próxima al testículo se identificaron el epidídimo y la Glándula de Leydig, en la zona media el epidídimo y el conducto deferente y en la zona próxima a la cloaca se identificaron la Glándula alcalina y la vesícula seminal

Epidídimo:

El epidídimo se extiende a partir del ducto eferente y hasta aproximadamente la región media del conducto y se divide en epidídimo superior e inferior. Desde el punto de vista histológico se describe como un túbulo rodeado por una pared de

musculatura lisa (Fig. 45)., con presencia de elastina y altamente vascularizada (Fig. 47). Entre ambas zonas de dicho órgano se observaron diferencias en cuanto a las proyecciones de la pared. En la parte alta posee una apariencia ondulada mientras que en el inferior encontramos proyecciones más próximas entre sí y estas a su vez poseen numerosas estriaciones (Fig. 45).

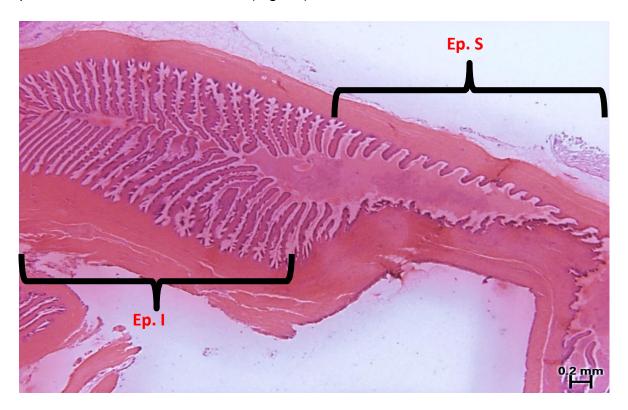


Figura 45: Vista estereoscópica de epidídimo en macho de *Gymnura marmorata*, Epidídimo superior (Ep.S), Epidídimo inferior (Ep. I). Tinción: Hematoxilina-Eosina. Aumento: 18X

El epitelio de este es del tipo cilíndrico simple, el cual muestra una fuerte actividad secretora. Se observan dos tipos celulares (células ciliadas y células secretoras) con diferente disposición, al presentar núcleos basales y otros más cercanos al lumen, en el cual se observan abundantes secreciones con gotas lipídicas de gran tamaño (Fig. 46).

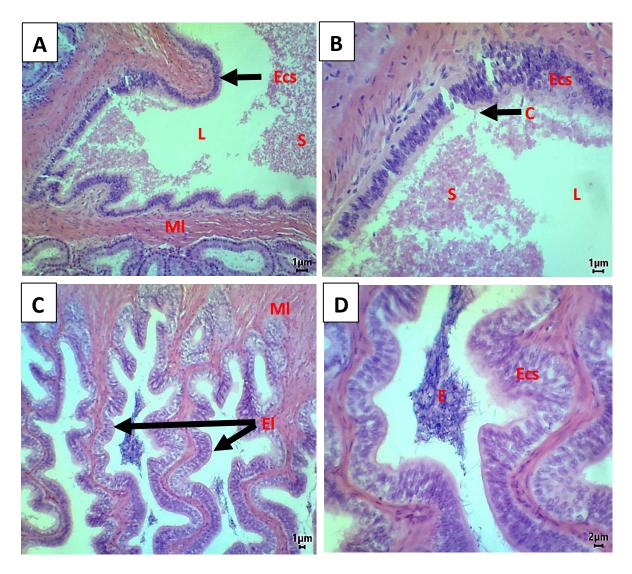


Figura 46: **(A)** Corte transversal de zona proximal del conducto espermático de *Gymnura marmorata*, epitelio cilíndrico simple (Ecs), musculatura lisa (MI), lumen (L), secreción (S), tinción: Hematoxilina-Eosina, Aumento:4X. **(B)** Detalle del epitelio (Ecs) del epidídimo superior, cilios (C), secreción (S), Lumen (L), Aumento:10x. **(C)** Corte transversal de epidídimo inferior de *Gymnura marmorata*, se observa en cambio en las elongaciones del epitelio (EI), Aumento: 4X. **(D)** Presencia de esperma (E). Aumento: 10X.

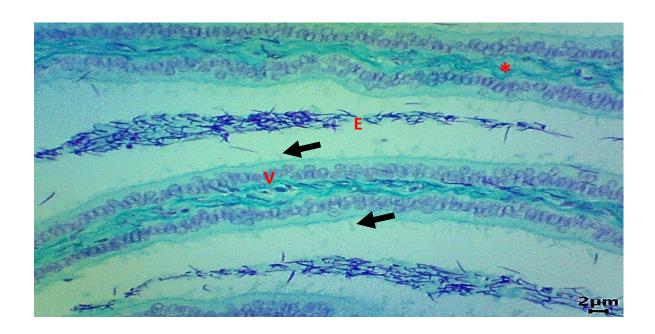


Figura 47: Corte transversal de epidídimo inferior, se observan a detalle las fibras de elastina (*), y la vascularización (V); las flechas señalan los cilios orientados hacia el lumen de dicho órgano, esperma (E). Tinción: Feulgen, aumento: 10X.

Glándula de Leydig:

La Glándula de Leydig se encuentra fusionada al epidídimo (Fig. 48). Esta se encarga de elaborar la secreción o líquido seminal en el cual se encuentran embebidos los espermatozoides y contribuye a su movilidad y mantenimiento. Desde el punto de vista histológico se encuentra conformada por acinos, los cuales se encuentras rodeados de tejido conjuntivo y presentan un aporte de sangre al presentar glóbulos rojos, el epitelio es columnar simple sostenido por la lámina basal (Fig. 49) con dos tipos de células: ciliadas con núcleos basales, dichos cilios se proyectan hacia el centro de la estructura y en ocasiones da la apariencia de entrecruzamiento con la célula cercana y otras con núcleos proximales cercanos al lumen del acino. En el centro de dicha estructura se puede apreciar el material de secreción que estos producen (Fig. 51).

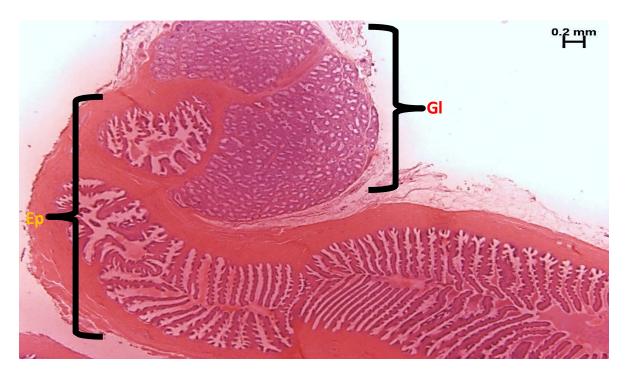


Figura 48: Vista estereoscópica de corte transversal de epidídimo (Ep) y Glándula de Leyding (GL) donde se observa la unión entre ambos órganos.



Figura 49: Corte histológico transversal de conducto espermático de *Gymnura marmorata*, donde observamos cercanos el epidídimo (Ep) y la Glándula de Leyding (GI). Encerrado en círculo rojo acino que conforma dicha glándula. Tinción: Hematoxilina- Eosina, aumento: 4X.

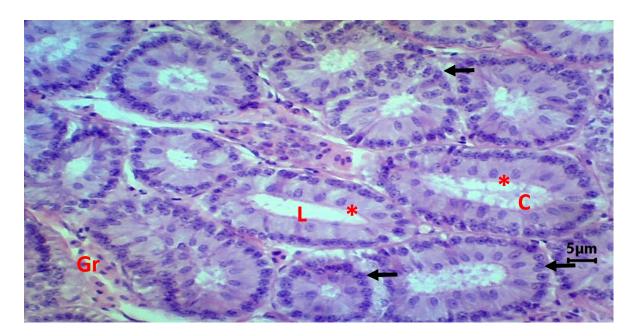


Figura 50: Microfotografía de Glándula de Leydig. Se observan los tipos de célula presente en los acinos que la conforman: Células ciliadas con núcleos basales señaladas por flechas y células con núcleos proximales (*), glóbulos rojos (Gr), cilios proyectados al centro del acino (C), Lumen (L). Tinción: Hematoxilina-Eosina.

Aumento:10X.

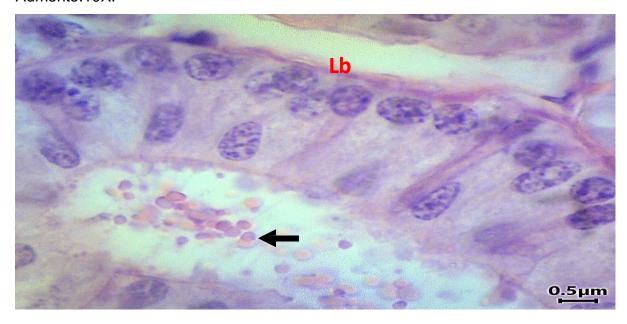


Figura 51: Microfotografía de la Glándula de Leydig. La flecha señala las secreciones en forma de gota en el centro del acino, Lámina basal (Lb). Tinción: Hematoxilina-Eosina. Aumento: 40X.

Ductos deferentes:

Esta zona del conducto espermático se caracteriza por ser más abierta y ensanchada, a diferencia del epidídimo, las proyecciones de la pared se observaron alargadas con menor número de estriaciones, y se observó también una gran cantidad de esperma casi toda presente en la luz del tubo (Fig. 52).

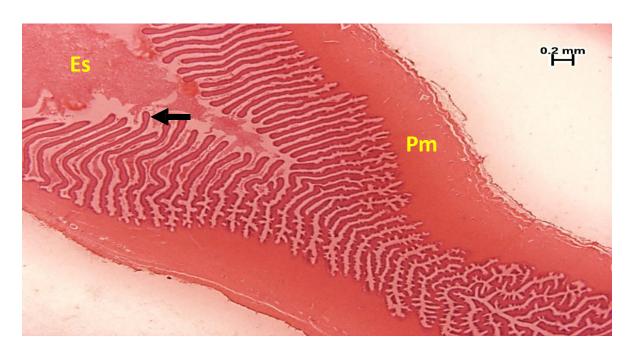


Figura 52: Vista estereoscópica de corte transversal de conducto espermático de *Gymnura marmorata*, Pared muscular (Pm), la flecha señala las elongaciones presentes en el ducto deferente, Esperma (Es). Tinción: Hematoxilina-Eosina. Aumento: 18X.

El epitelio al igual que en el resto del conducto, es cilíndrico simple, con abundantes células en forma columnar que presentan microvellosidades en su superficie apical conocidas como estereocilios. Estos se encargan de la reabsorción del exceso de fluido, concentrando el esperma y facilitando su paso por el conducto. Se observaron también células basales (Fig. 53).

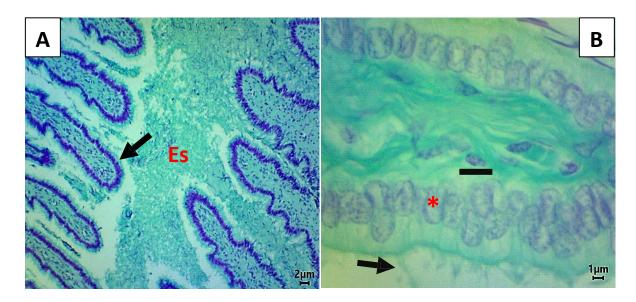


Figura 53: (A) Microfotografía de conducto deferente en macho de *Gymnura marmorata*, la flecha señala las elongaciones de la pared, dirigidas hacia el lumen del tubo en el cual se observa una gran cantidad de esperma (Es). (B) Microfotografía de zona apical de una elongación del ducto deferente de *Gymnura marmorata*, epitelio cilíndrico con células cuboidales (*), la flecha señala los estereocilios, y la línea indica las células basales embebidas en una matriz de tejido conjuntivo. Tinción: Feulgen. Aumento: (A) 4X, (B) 40X.

Vesícula seminal y Glándula Alcalina:

La Vesícula seminal se caracteriza por poseer una pared muscular más delgada que el resto del conducto, las elongaciones son más cortas y se observa una gran cantidad de esperma en el lumen de esta. Adyacente a esta, encontramos la Glándula alcalina o de Marshall, esta estructura se encuentra únicamente en batoideos (Fig. 54).

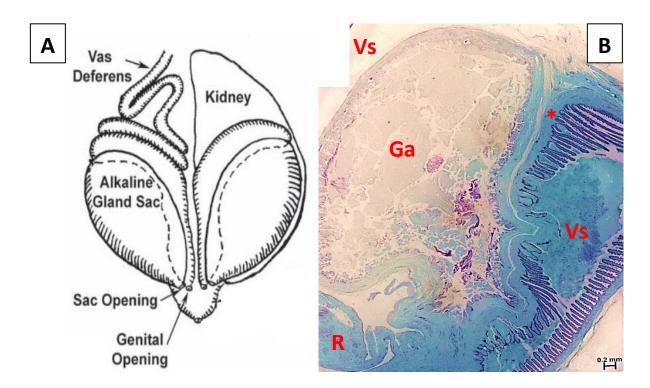


Figura 54: (A): Esquema representativo de la posición de la glándula alcalina en rayas y su relación con la vesícula seminal (Hamlett, 2005). **(B):** Vista estereoscópica de corte transversal de vesícula seminal (Vs) y glándula alcalina (Ga) en macho de *Gymnura marmorata*, pared muscular (*), Riñón (R)

El epitelio luminal de la vesícula seminal es de tipo cilíndrico simple. El lumen se observó casi completamente cubierto de esperma, donde se observaron espermatozoides y cuerpos heterogéneos embebidos en la matriz de secreción seminal. En la pared de la vesícula se observaron embebidas células semejantes a las presentes en el epitelio y cuerpos heterogéneos (Fig. 55), al parecer provenientes del esperma presente en el lumen.

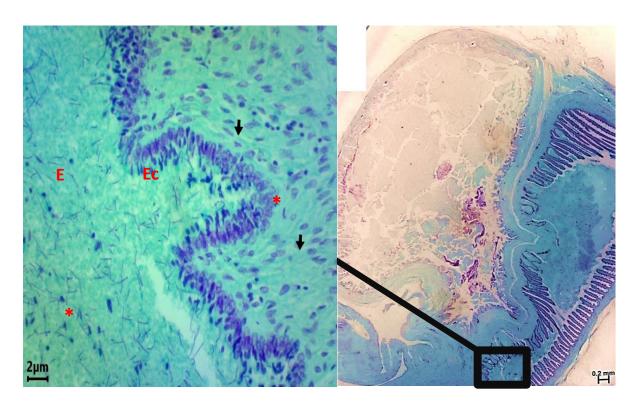


Figura 55: Corte transversal de la vesícula seminal. Esperma (Es), Epitelio cilíndrico simple (Ecs), cuerpos heterogéneos (*), con flechas células de la pared de la vesícula. Tinción: Feulgen, Aumento: 10X.

En la parte alta del epitelio, en la zona apical de las prolongaciones se observaron vesículas que contenían núcleos similares a los cuerpos heterogéneos (Fig. 56).

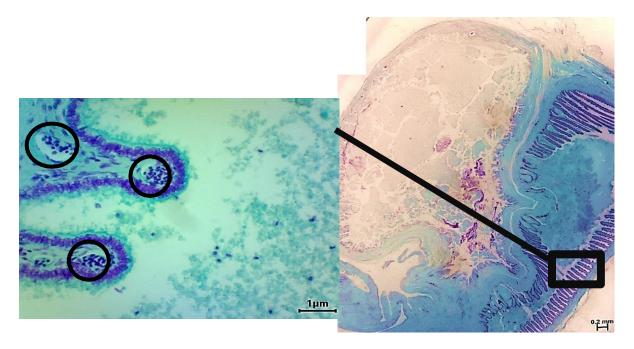


Figura 56: Corte transversal de vesícula seminal de *Gymnura marmorata*, en círculo se señalan vesículas con cuerpos heterogéneos. Tinción: Feulgen, Aumento: 40X.

Los espermatozoides no presentaron agregaciones del tipo espermatóforo o espermatozeugmata, se observaron cómo células individuales. Sin embargo, en las áreas cercanas a la pared colindante con la glándula alcalina se pudieron apreciar pequeñas agregaciones de estos (Fig. 57).

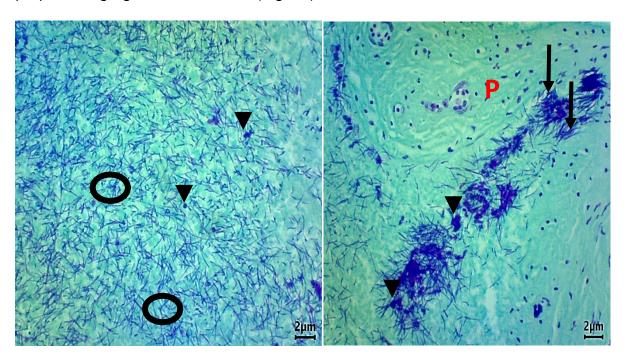


Figura 57: Microfotografía de esperma en la vesícula seminal de macho de *Gymnura marmorata*. **(A):** Esperma presente en el lumen de la vesícula, las flechas indican los cuerpos heterogéneos y los círculos los espermatozoides como puntas de lanzas. **(B):** Agrupaciones de espermatozoides, cercanos a la pared muscular (Pm, flechas largas), junto con agrupaciones de cuerpos heterogéneos (cabezas de flechas). Tinción: Feulgen. Aumento: 10X.

En la glándula alcalina se observó una pared muscular gruesa y ondulada, con presencia de fibras de elastina correspondientes a tejido conectivo denso. Se evidenció en dicha pared la formación de círculos dentro del mismo tejido (Fig. 58).

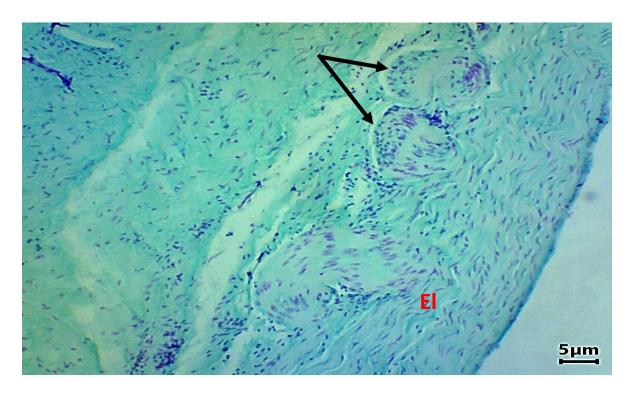


Figura 58: Microfotografía de corte longitudinal de glándula alcalina en macho de *Gymnura marmorata*. Las flechas señalas las ondulaciones semejantes a círculos de la pared conformada por fibras de elastina (EI). Tinción: Feulgen. Aumento:4X.

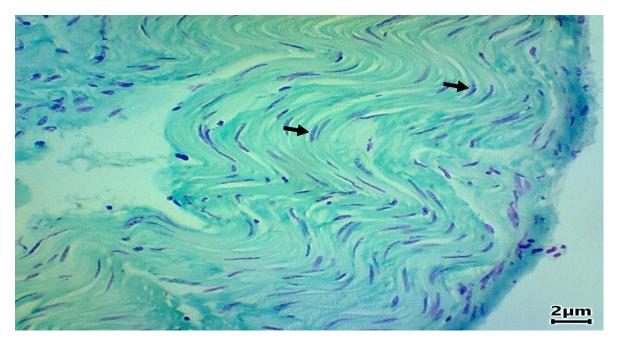


Figura 59: Detalle de fibras de elastina de la pared de la glándula alcalina en macho de *Gymnura marmorata*. Las flechas señalan núcleos presentes en dichas fibras. Tinción: Feulgen. Aumento: 10X.

Hacia el centro de la glándula se observa otra masa de tejido conectivo en la cual se encuentran vesículas con contenido que al parecer corresponde a esperma necrotizado, esto se refleja en todo el lumen de la glándula (Fig. 60).

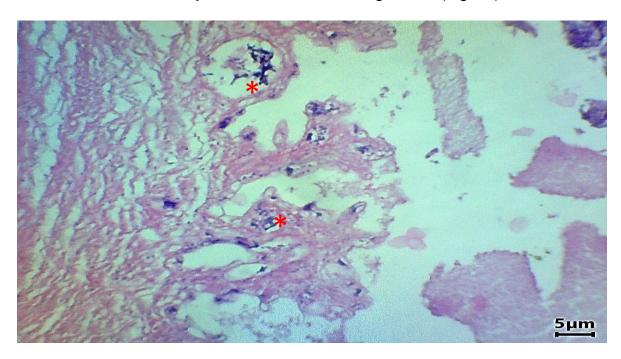


Figura 60: Microfotografía de corte longitudinal de glándula alcalina de macho de *Gymnura marmorata*. Se observan vesículas en la pared con esperma necrotizado (*). Tinción: Hematoxilina-Eosina. Aumento: 4X.

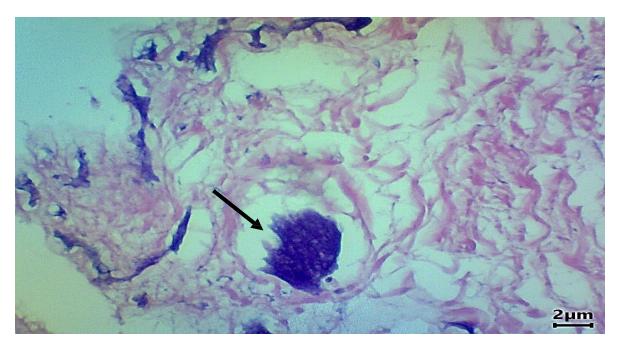


Figura 61: Detalle de esperma necrotizado contenido en las vesículas de la glándula alcalina de macho de *Gymnura marmorata*. Tinción: Hematoxilina-Eosina. Aumento: 10X.

Hembras

Ovario

En las hembras de *Gymnura marmorata*, el ovario se clasifica como externo. En este encontramos una masa de folículos ováricos enlazados con el órgano epigonal, los cuales a su vez se sostienen por un mesovario. En dicho ovario se observaron folículos ováricos en diferentes estadios de desarrollo (Fig. 62).

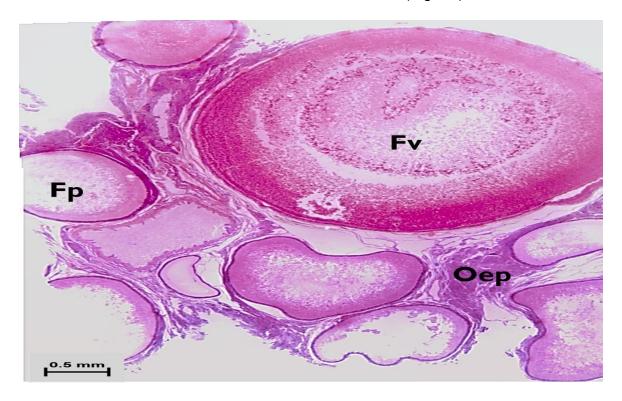


Figura 62: Vista estereoscópica de ovario izquierdo de *Gymnura marmorata*, Folículos primarios (Fp), Folículo vitelogénico (Fv), Oep (órgano epigonal). Tinción: Hematoxilina- Eosina. Aumento: 18X.

De manera externa el ovario se encuentra cubierto por un epitelio germinal con células cilíndricas alargadas, seguido de una densa capa de tejido conectivo en la cual se encuentran embebidos los folículos. Dicha capa se observa enlazada con el órgano epigonal (Fig. 63).

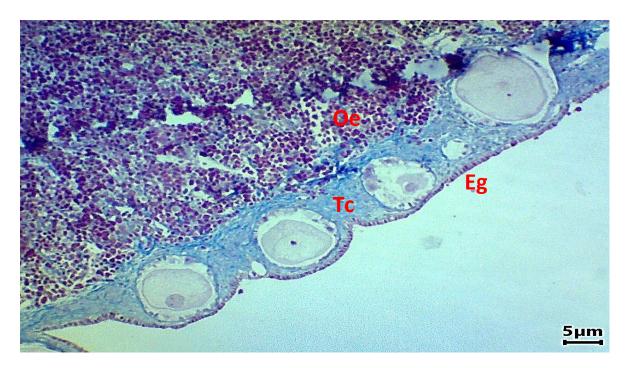


Figura 63: Microfotografía de corte transversal de ovario izquierdo de hembra de *Gymnura marmorata*. Estructuras ováricas externas, Epitelio germinal (Eg) capa más externa señalada en morado, capa te tejido conectivo (Tc) subsiguiente en azul, órgano epigonal (Oe) señalado en morado. Tinción: Tricrómica de Masson. Aumento 10X.

Caracterización de la Oogénesis:

Oogonias:

Estas se localizan en la periferia del ovario agrupadas en pequeños grupos, se originan a partir del epitelio germinal. Son células pequeñas de forma ovalada, no poseen acumulación de vitelo por lo que su citoplasma es escaso y poseen núcleos eucromáticos los cuales se observan teñidos de rosa (Fig. 64).

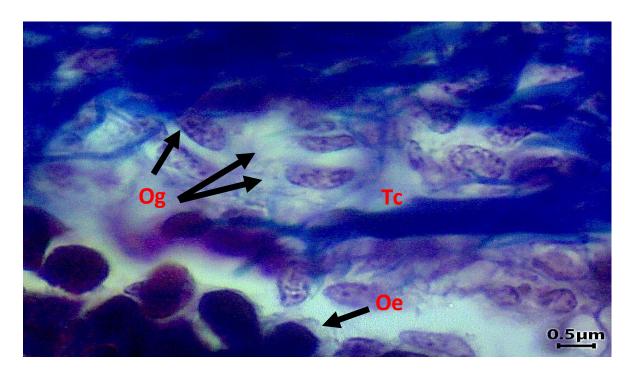


Figura 64: Grupo de oogonias en la periferia del ovario de una hembra de *Gymnura marmorata*, se observan las oogonias (Og), en azul intenso las fibras de tejido conectivo (Tc), y en morado intenso las células del órgano epigonal (Oe). Tinción: Tricrómica de Masson. Aumento: 40X.

Folículos Primordiales:

Los folículos primordiales son estructuras iniciales en la maduración del ovario. Estos se localizan en la corteza ovárica y se encuentran rodeados por tejido conectivo laxo. Están formados por el oocito primario al cual lo rodea una única capa de células foliculares con forma aplanada, ambos se encuentran separados por una membrana basal. En esta fase no existe acumulación de vitelo, el citoplasma del oocito se presenta levemente acidófilo con un núcleo eucromático de gran tamaño (Fig. 65).

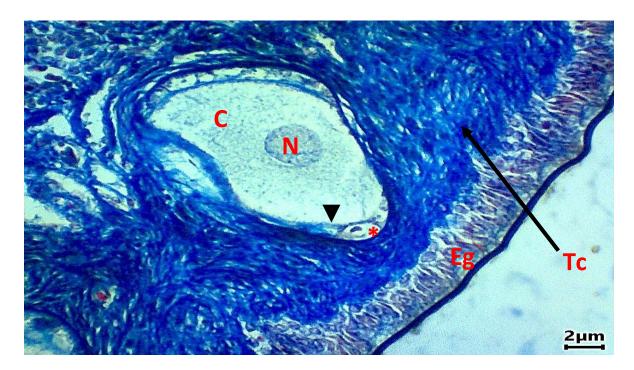


Figura 65: Microfotografía de folículo primordial en ovario de hembra de *Gymnura marmorata*, epitelio germinal (Eg), tejido conectivo (Tc), núcleo (N), citoplasma (C), células foliculares con forma aplanada (*), la saeta indica membrana basal que separa al oocito primario de la capa de células foliculares. Tinción: Tricrómica de Masson, Aumento: 10X.

Folículos primarios:

Al igual que en la fase anterior, en esta también encontramos un oocito primario rodeado de células foliculares, pero a diferencia del folículo primordial aquí encontramos una proliferación de estas y un cambio en su forma, de cilíndricas a cúbicas. Se pudo observar también la zona pelúcida, una capa acelular que rodea al oocito ubicada entre este y la capa de células foliculares. Se evidencia un crecimiento del oocito con el núcleo totalmente desplazado hacia la periferia de dicha célula (Fig. 66.).

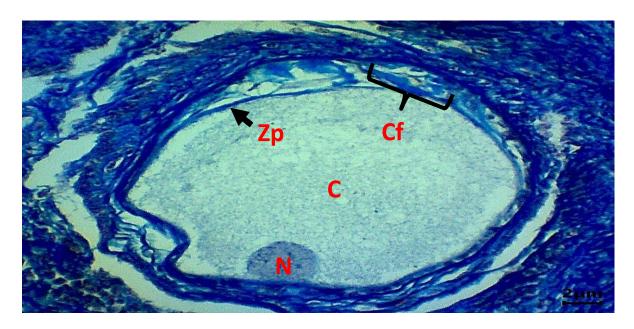


Figura 66: Microfotografía de folículo primario en ovario de hembra de *Gymnura marmorata*, núcleo (N) desplazado hacia la periferia del oocito, citoplasma (C) abarcando la mayoría del espacio celular, zona pelúcida (Zp) rodeando al oocito, capa en proliferación (señalada dentro de la llave) de células foliculares (Cf). Tinción: Tricrómica de Masson. Aumento: 10X. Barra: 2 Micras.

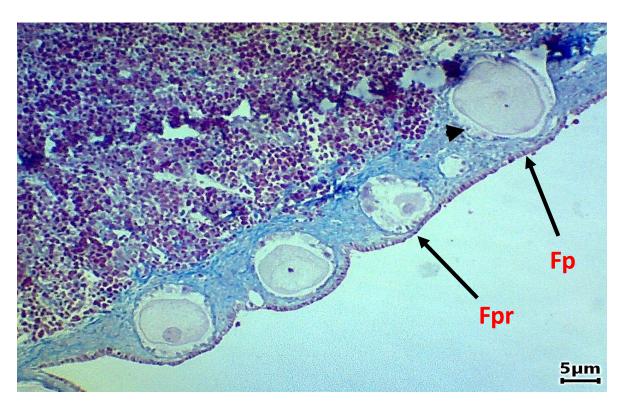


Figura 67: Microfotografía de periferia ovárica en hembra de *Gymnura marmorata*. Diferencia en cuanto al tamaño y la presencia de la zona pelúcida (señalada con saeta) entre folículo primordial (Fpr) y folículo primario (Fp). Tinción: Tricrómica de Masson. Aumento: 4X. Barra: 5 micras

Folículo secundario (Previtelogénesis)

En esta fase el oocito adquiere gran tamaño en comparación con los estadios anteriores. El núcleo se encuentra completamente ausente y se observan ya las 4 capas que rodean al oocito: Zona pelúcida (capa más interna), capa granulosa, teca interna (rica en células productoras de hormonas), y la teca externa (compuesta principalmente de tejido conectivo). Se observaron, además, unas pocas gotas de vitelo en el interior de este, lo que indica que dicho folículo se encontraba entrando en fase de vitelogénesis (Fig. 68.).

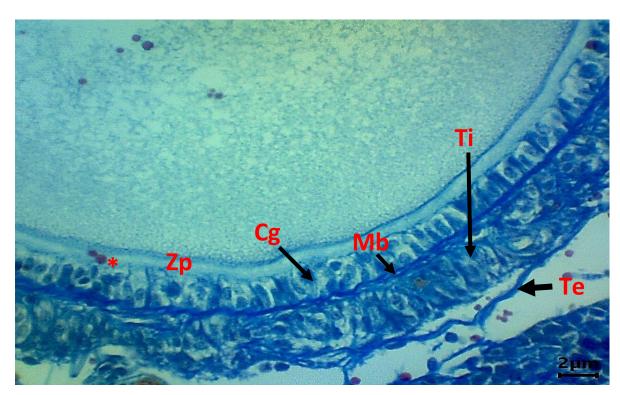


Figura 68: Microfotografía ampliada de folículo secundario en ovario de hembra de *Gymnura marmorata*. Zona pelúcida (Zp), capa granulosa (Cg), membrana basal (Mb), teca interna (Ti), Teca externa (Te), grano de vitelo (*). Tinción: Tricrómica de Mallory, Aumento:10X. Barra: 2 micras.

Folículo Vitelogénico:

En esta fase el oocito posee un gran número de gránulos de vitelo en su citoplasma. La zona pelúcida se encuentra aún más reducida que en la fase anterior. Las células de la capa granulosa adquieren un aspecto alagado y forman un epitelio cilíndrico con núcleos basales de gran tamaño. La teca interna aumenta su espesor y se observan células inmersas en una matriz de tejido conectivo, al igual que la teca externa, la cual se observa mayormente formada por fibras alargadas y una capa delgada de células encima (Fig. 69).

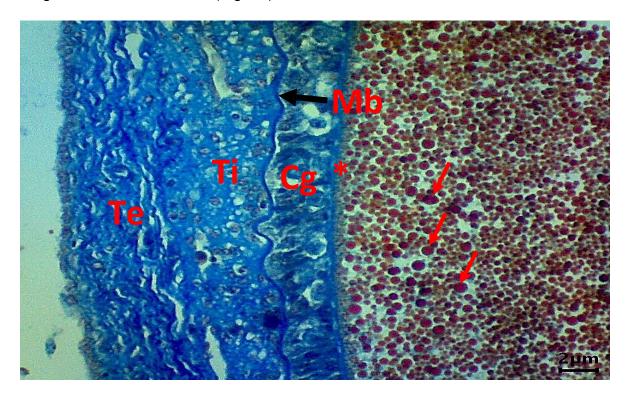


Figura 69: Folículo vitelogénico en el ovario de hembra de *Gymnura marmorata*, las flechas señalan gránulos de vitelo, zona pelúcida (*), capa granulosa (Cg), membrana basal (Mb), teca interna (Ti), teca externa (Te). Tinción: Tricrómica de Mallory. Aumento: 10X.

Atresia Folicular:

En las imágenes analizadas se observaron folículos en atresia. Este es el proceso por el cual un folículo ovárico en desarrollo se degenera y no llega a la ovulación. La capa granulosa se encontró formando pliegues (perdida de la estructura original)

(Fig. 70), y en sus células se identificaron signos de apoptosis como la presencia de núcleos pignóticos (densos y oscuros) y fragmentación celular (Fig. 71). Se observaron fragmentos de vitelo dentro del folículo indicando la degradación de este. Se identificó la presencia de macrófagos en el citoplasma fagocitando los restos celulares (Fig. 72). La zona pelúcida se observó bastante intacta pero separada por completo de la capa granulosa (Fig. 73).

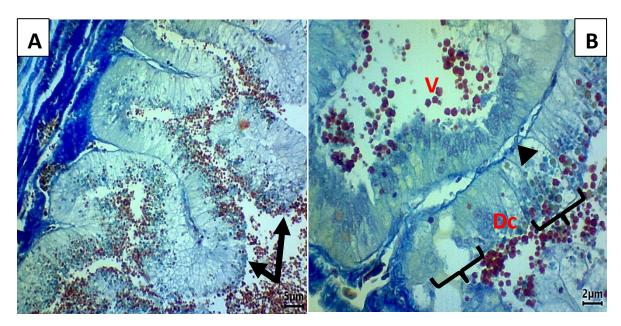


Figura 70: Microfotografía de atresia folicular en ovario de hembra de *Gymnura marmorata*. (**A**) con flechas señalados los pliegues de la capa granulosa. Tinción: Tricrómica de Mallory. Aumento 4X. (**B**): Detalle de los daños celulares en la capa granulosa, vitelo (V). En llaves se señala algunas de las zonas con daño celular (Dc), membrana basal (**◄**). Tinción: Tricrómica de Mallory. Aumento: 10X.

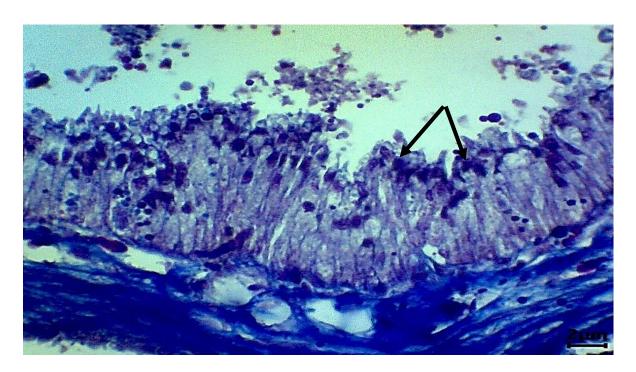


Figura 71: Microfotografía de capa granulosa en folículo atrésico en ovario de *Gymnura marmorata.* Se observan, señalados por flechas, núcleos pignóticos que evidencian la apoptosis de las células de la granulosa. Tinción: Tricrómica de Masson. Aumento 10X.

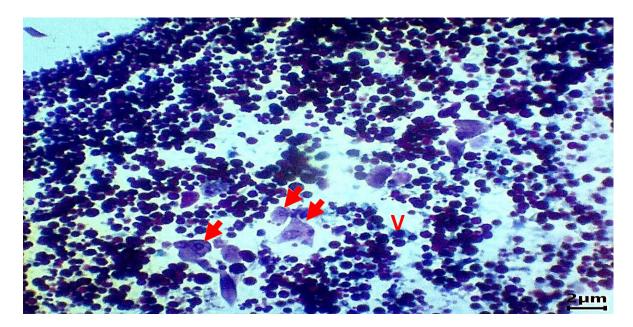


Figura 72: Microfotografía de citoplasma de folículo atrésico en ovario *de Gymnura marmorata*, macrófagos (señalados con flechas), vitelo (V). Tinción: Tricrómica de Masson. Aumento: 10X.

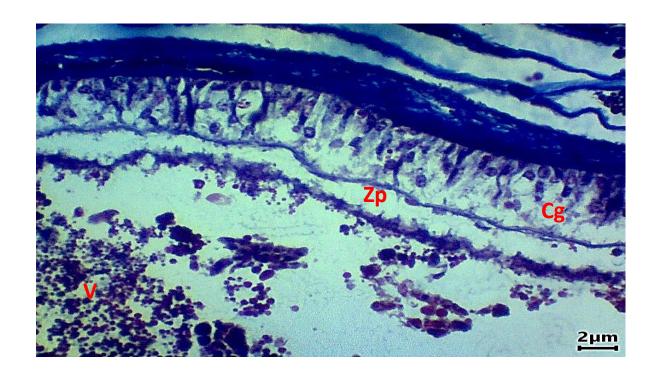


Figura 73: Microfotografía de folículo atrésico en ovario de *Gymnura marmorata*, zona pelúcida (Zp), capa granulosa (Cg), vitelo (V). Tinción: Tricrómica de Masson, Aumento: 10X.

Cuerpo Lúteo:

El cuerpo lúteo, constituye una fase del folículo luego de la ovulación. En este las células de la capa granulosa se convierten en células luteínicas (Fig. 74) secretoras de progesterona, crucial para la implantación del embrión. El mismo posee un aspecto granuloso debido a las inclusiones lipídicas (Fig. 75) que poseen dichas células, cruciales para su actividad hormonal.

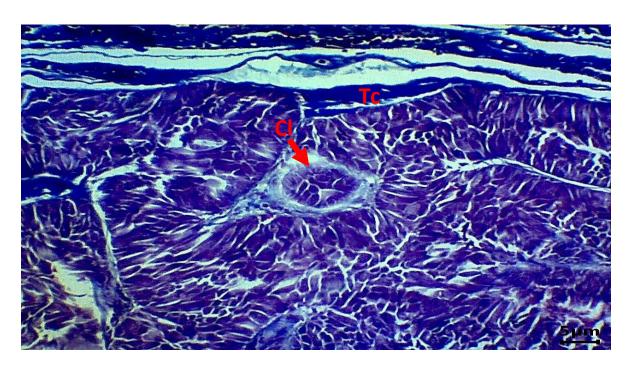


Figura 74: Microfotografía de Cuerpo Lúteo en ovario de hembra de *Gymnura marmorata*. Células luteínicas (CI), tejido conectivo (Tc). Tinción: Tricrómica de Masson. Aumento: 10x.

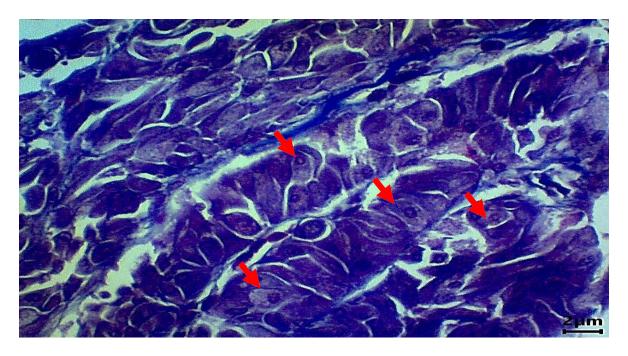


Figura 75: Detalle de cuerpo lúteo en ovario de *Gymnura marmorata*, células luteínicas (señalados por felchas). Tinción: Tricrómica de Masson. Aumento: 10X.

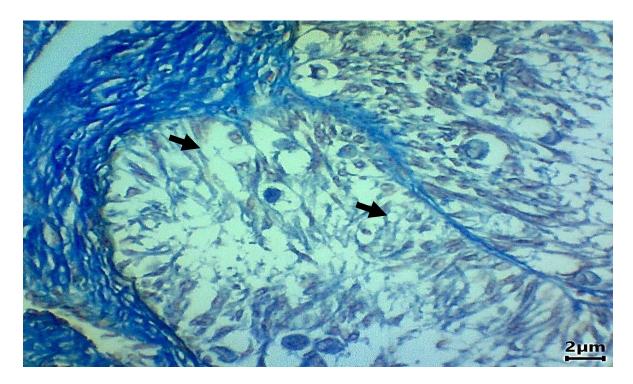


Figura 76: Cuerpo lúteo en ovario de *Gymnura marmorata*, inclusiones lipídicas (señalados por flechas). Tinción: Tricrómica de Mallory. Aumento: 10X.

Glándula Oviducal

Continuo del ovario el oviducto muestra un ensanchamiento, llamado glándula oviducal, dicha estructura desde el punto de vista histológico se encuentra rodeada por una pared de musculatura lisa, la cual esta seguida por una serie de túbulos oviducales que desembocan a un lumen central. La función de esta glándula en organismos vivíparos es la formación de la membrana terciaria del huevo una vez ocurre la fecundación. Para la misma están descritas cuatro zonas, las cuales no fue posible describir en este estudio. Sin embargo, se pudo observar la presencia de acinos como unidades funcionales de dicho órgano, los cuales se conforman de un epitelio cilíndrico simple sostenido por una lámina basal, y separados por fibras de tejido conectivo. En dichas unidades se apreciaron dos tipos celulares: secretoras y ciliadas los cuales desembocan en un lumen central en el cual vierten la secreción. Se observaron núcleos eucromáticos en posiciones distintas dentro del epitelio; unos más próximos al lumen y otros basales

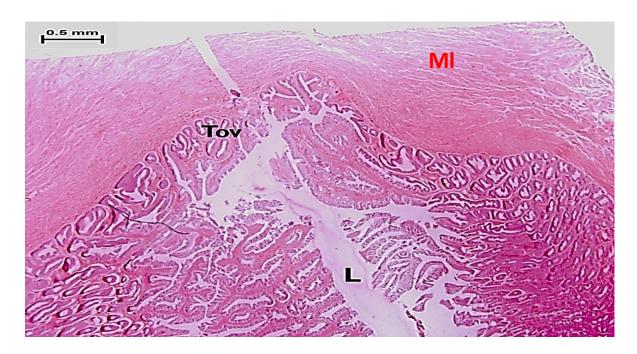


Figura 77: Vista estereoscópica de corte longitudinal de glándula oviducal de *Gymnura marmorata*, musculo liso (MI), Túbulos oviducales (Tov), lumen (L). Tinción: Hematoxilina-Eosina. Aumento: 18X.

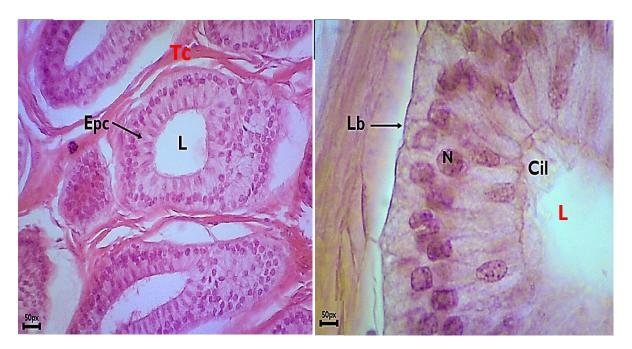


Figura 78: Microfotografía de corte longitudinal de glándula oviducal de *Gymnura marmorata*, **(A):** Acinos compuestos por epitelio cilíndrico simple (Epc), lumen central (L), tejido conectivo (Tc). Aumento: 10X. **(B):** Detalle de epitelio, núcleos

eucromáticos (N), Lamina basal (Lb), Cilios (Cil), Iumen (L). Aumento: 40X. Tinción: Hematoxilina-Eosina.

Útero

Desde el punto de vista histológico el útero de *Gymnura marmorata* se identificaron tres capas: el perimetrio formado principalmente por una delgada capa de tejido conectivo, el miometrio, una capa más compacta también formada por musculatura lisa y con presencia de fibras colágenas y el endometrio el cual en el caso de esta especie se modifica en forma de microvellosidades (trofonemata) altamente vascularizo (Fig. 79).

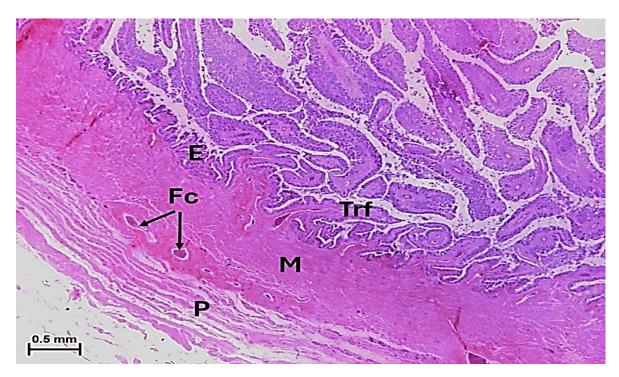


Figura 79: Vista estereoscópica de corte transversal de útero de hembra madura de *Gymnura marmorata*. Perimetrio (P), miometrio (M), endometrio (E), fibras colágenas (Fc), trofonemata (T). Tinción: Hematoxilina-Eosina. Aumento: 18X.

Se observaron cambios en la estructura del trofonemata de las hembras inmaduras a las maduras. En las primeras se describen las microvellosidades cortas, con una vena central rodeada de tejido conectivo que comienza a desarrollarse y la

presencia de glóbulos rojos cercanos a la periferia de la *villis* uterina o trofonemata. No se observó en las hembras inmaduras la presencia de leche uterina (Fig. 80).

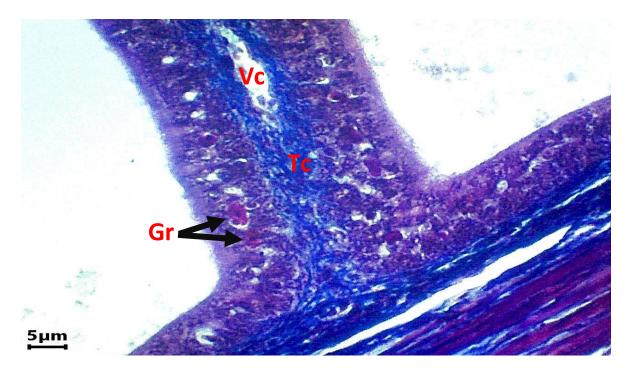


Figura 80: Microfotografía de corte transversal de útero de hembra inmadura de *Gymnura marmorata*. Tejido conectivo (Tc), vena central (Vc), Glóbulos rojos (Gr). Tinción: Tricrómica de Masson. Aumento: 10X.

En las hembras maduras se presentó una pared uterina más engrosada, las *villis* uterinas más largas y ensanchadas con una vena central altamente irrigada y de gran tamaño situada en el centro del vello, se observó también la periferia de este con presencia de varios glóbulos rojos y se evidenciaron las criptas secretoras como unidades funcionales encargadas de la secreción de leche uterina, la cual si se presentó (Fig. 81).

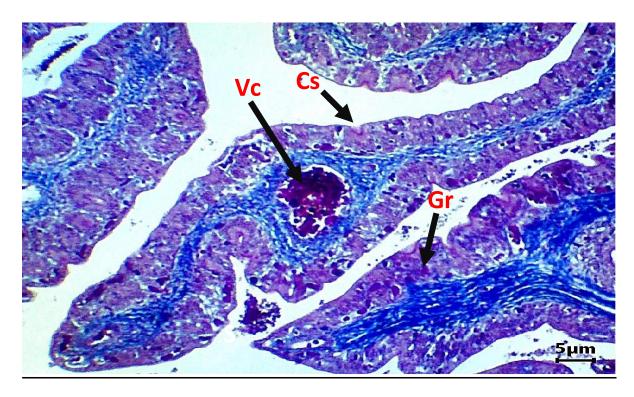


Figura 81: Microfotografía de corte transversal de útero de hembra madura de *Gymnura marmorata*. Cripta secretora (Cs), glóbulo rojo (Gr), secreción (S), tejido conectivo (Tc), vena central (Vc). Tinción: Tricrómica de Masson. Aumento: 4X.

Las criptas secretoras por su parte se describen como pequeños cúmulos similares a racimos separadas por tejido conectivo y altamente irrigadas, situados a lo largo de todo el trofonemata. La leche uterina se identificó a través de la tinción de PAS, en la cual las secreciones se tiñen de color magenta (Fig. 82).

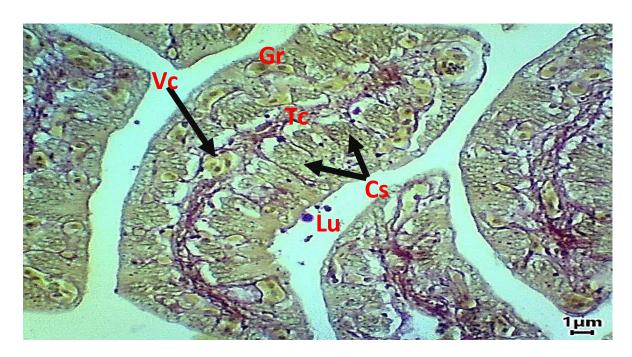


Figura 82: Microfotografía de corte transversal de útero de hembra madura de *Gymnura marmorata*, se observan una gran cantidad de glóbulos rojos (Gr), unidos a las criptas secretoras (Cs) separadas por tejido conectivo (Tc), se observa la vena central (Vc) y gotas de leche uterina (Lu) en color magenta. Tinción: PAS. Aumento: 10X.

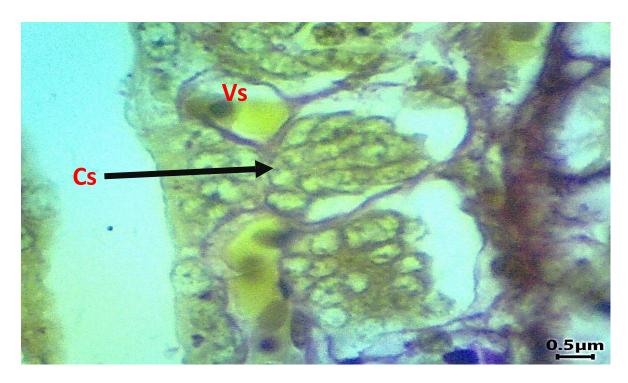


Figura 83: Microfotografía de detalle de *villi* uterino de hembra madura de *Gymnura marmorata*, se observa a detalle las criptas secretoras (Cs) como cúmulos asociados a un vaso sanguíneo (Vs). Tinción: PAS. Aumento: 40X.

Discusión:

Composición de tallas:

La composición de tallas registrada en este estudio difiere de la reportada para la costa occidental del golfo de california. En el caso de los machos el rango encontrado fue de 39-71 cm de AD, mientras que Burgos-Vázquez (2013) encuentra un rango de tallas mayor desde los 53 a los 99 cm de AD. Lo mismo ocurre en las hembras, las cuales se encontraron entre los 40 a los 121 cm de AD, mientras que para la costa occidental la autora anteriormente citada las reporta entre los 53 y los 131 cm de AD, siendo 131cm la talla máxima reportada hasta el momento para la especie. Partiendo de, que los estudios realizados en ambas costas se llevaron a cabo con organismos provenientes de la pesca artesanal, en la cual se utilizaron redes de fondo con luz de malla de 10 cm, podemos decir que; los organismos de Gymnura marmorata de la costa oriental de Baja California sur son más pequeños que los de la costa occidental. Estas diferencias de tallas pueden deberse a la mayor disponibilidad de alimentos que existe en la costa del Pacífico, ya que las especies de elasmobranquios pueden alcanzar mayores tamaños en entornos más enriquecidos (Hayata et al; 2021).

El resultado de la prueba U de Mann Whitney nos permite evidenciar que existe un dimorfismo sexual entre hembras y machos con respecto a la talla. Este resultado, coincide con lo reportado en la mayoría de los elasmobranquios y específicamente para la especie en la costa occidental de Baja California Sur (Compagno, 1984; Dávila, 2002; Soto-López et al., 2018; Burgos-Vazquez et al., 2019; Ebert et al., 2021). Los machos de *Gymnura marmorata* presentan una tasa de crecimiento mayor que las hembras en esta especie en la costa occidental de Baja California Sur, y en concordancia una talla asintótica promedio menor (Sánchez Cota, 2016).

Proporción de sexos:

De manera general, este estudio reporta una mayor proporción en el número de hembras con respecto a los machos, lo cual coincide con lo reportado para la especie por Dávila-Ortiz (2002) y Burgos-Vázquez (2013) en la costa occidental de Baja California Sur.

Estas diferencias en número entre machos y hembras reflejan la segregación sexual que se reporta en la mayoría de los elasmobranquios, en la que machos y hembras se encuentran separados espacialmente en grupos de un solo sexo debido a una serie de factores ambientales (Springer, 1967; Klimley, 1987; Sims, 2005) y sociales (Conrath, 2005). Al parecer en *Gymnura marmorata* la temperatura es un factor que pudiera condicionar esta segregación por sexo. Otros estudios en elasmobranquios han descrito este patrón de igual forma (Robins, 2007).

Las hembras mostraron una mayor presencia durante el mes de noviembre, a diferencia de lo registrado por Dávila- Ortiz (2002), quien obtuvo un mayor número en el mes de junio y Burgos-Vázquez (2013) en el mes de mayo. En los machos el mayor número de organismos se presentó en octubre, mientras que Dávila-Ortiz (2002) reporta julio como mes de mayor número y Burgos-Vazquez (2013) el mes de mayo.

Las diferencias entre la costa occidental y la costa occidental en cuanto al mes de mayor número de individuos pudieran estar asociadas a diferencias en el ciclo reproductivo que se infiere entre ambas zonas, que a su vez parecen estar asociadas a las diferencias en temperatura que existen entre ambas costas. En los meses de octubre y noviembre la temperatura superficial del mar (TSM), en el golfo de california, específicamente en la zona de Santa Rosalía, oscilan entre 24 y 25 °C (Heras-Sánchez *et al.*, 2019). Mientras que en los meses de mayo y junio en la costa occidental de BCS, la TSM, va desde los 22 a los 26 °C (SAGARPA, 2017). Lo cual sugiere que para *G. marmorata* el intervalo de temperatura que desencadena el proceso reproductivo pudiera ser consistente.

Fecundidad uterina

De manera general en los estudios de gymnúridos a nivel mundial se reporta un número pequeño de hembras preñadas (Jacobsen *et al,* 2009; Burgos-Vázquez *et al*; 2019; Gonçalves-Silva y Vianna, 2014; Alkusairy *et al.* 2014; Menon *et al*; 2020),

además, de que varios autores reportan que el aborto inducido por la captura es bastante común, lo que indica que probablemente los reportes de fecundidad media para dicho grupo estén subestimados en cierta medida (Jargowsky et al., 2022). Lo anterior dificulta el estudio de dicho parámetro reproductivo, no obstante, la fecundidad promedio encontrada en este estudio (5 embriones por hembra) es de las más alta en dicho grupo, comparada con los registros para otras especies, ejemplo: *Gymnura lesaee* (ocho embriones por hembra) (Jargowsky et al; 2022), *Gymnura altavela* (dos embriones por hembra) Alkusairy et al. 2014, *Gymnura poecilura* (tres embriones por hembra) (Menon et al; 2020), lo que la convierte en una especie que pudiera someterse satisfactoriamente a una explotación pesquera sostenible. La fecundidad promedio fue consistente con lo reportado por Dávila-Ortiz (2002) y Burgos-Vázquez (2013) para la costa occidental de Baja California Sur.

No se encontró relación significativa entre el número de embriones y el tamaño de las hembras; sin embargo, en los estudios de gymnúridos a nivel mundial (Yokota et al, 2012; Alkusairy et al. 2014; Jargowsky et al, 2022) y específicamente de esta especie (Burgos-Vázquez, et al., 2019), si se ha reportado dicha relación, lo que nos sugiere que, a mayor tamaño de la hembra, mayor capacidad tiene para portar un mayor número de embriones. El que no se haya podido encontrar dicha relación en el presente estudio pudiera estar más relacionado con el bajo número de hembras preñadas (14) a concluir que no existe esta relación.

Madurez:

Machos

La mayoría de los machos estudiados se encontraron maduros, lo cual sugiere que a pesar de que existe una segregación por sexos en la zona, es un área que utilizan para la actividad reproductiva. En cuanto a la clasificación de la madurez sexual no se obtuvieron para todos los ejemplares las variables: presencia de semen y grado de rotación del gonopterigio, las cuales según Pratt (1988) y Braccini y Chiaramonte (2002) son claves para determinar la madurez en un macho, por lo que se clasificó utilizando las variables morfométricas que mostraron una relación positiva con el

crecimiento del organismo (presencia de lóbulos testiculares Por otra parte, la talla media de madurez obtenida en los machos coincide con la propuesta por Burgos-Vázquez et al, 2019 para la costa occidental de Baja California Sur. En el caso de las hembras, la correlación positiva entre el diámetro del oocito, el largo del útero y la glándula oviducal con el crecimiento del organismo coincide con lo reportado anteriormente para la especie (Burgos-Vázquez, 2013). Se observó que dicha relación es más fuerte en la etapa inmadura de la hembra con respecto a etapa madura. Lo anterior se debe a que ecológica y evolutivamente los elasmobranquios destinan gran parte de su energía al desarrollo de sus órganos sexuales en su primera etapa de vida, asegurando así el éxito reproductivo en la vida adulta. Por otra parte, la talla media de madurez (62.89 cm) fue menor que la reportada para la costa occidental (73.3 cm). Al parecer en los machos la diferencia de hábitat no modifica la talla de primera madurez, mientras que en las hembras las diferencias de temperatura y disponibilidad de alimentos si pueden variar dicha talla. Estas variaciones pueden estar dadas por las diferencias de temperatura las cuales influyen en la tasa de crecimiento individual (Shine y Charnov, 1992).

Ciclo reproductivo:

Una de las limitantes para el estudio del ciclo reproductivo es no tener un muestreo de todos los meses del año, ya que no se puede estimar la duración del periodo de gestación y de ciclo ovárico, unido a eso los estudios anteriores de esta especie coinciden al encontrar un número bajo de hembras preñadas, no obstante, el hecho de encontrar una sincronía entre el ciclo ovárico y el periodo de gestación nos indica que estamos en presencia de un ciclo reproductivo anual y continuo (Koob y Callard, 1999) en el cual una vez que nacen los embriones la hembra esta apta para volver a quedar embarazada. Por otra parte, encontrar hembras en distintas fases del periodo de gestación dentro de un mismo mes, nos indica que la especie no sigue un ciclo reproductivo estacional estricto, lo cual les permite a las hembras concebir en distintos momentos a lo largo del año. Según Roskar *et al*, (2024), este fenómeno se observa en hábitats donde los recursos son más abundantes y estables durante todo el año, lo que les confiere a estas adaptarse individualmente al momento más

adecuado para gestar en el año. Este fenómeno lo observamos también en el ciclo ovárico, en el cual se observaron diferentes cohortes de oocitos en una misma hembra, al parecer también estos se van desarrollando, dependiendo de la disponibilidad de recursos del medio.

Desarrollo embrionario

Por primera vez para la especie se describe el desarrollo desigual de los embriones dentro de una misma hembra. Según Henningsen *et al.*, (2004), quienes describieron la biología reproductiva de especies de elasmobranquios en cautiverio, esta diferencia de tallas entre los embriones de una misma hembra puede deberse a que dicha hembra es fecundada en diferentes momentos dentro del mismo ciclo reproductivo, dando lugar a embriones en distintas etapas de desarrollo. Los mismos autores refieren que encontrar embriones de diferentes tamaños puede ser una estrategia evolutiva para maximizar la supervivencia de la descendencia. Esta variación de talla en los embriones puede aumentar la probabilidad de que al menos algunos individuos sobrevivan hasta el nacimiento y se desarrollen exitosamente reflejando así una adaptación a las condiciones ambientales.

En cuanto a la talla máxima embrionaria registrada, los trabajos anteriores reportan 25 cm (Dávila, 2002) y 23 cm (Burgos-Vázquez, 2013). En ambos trabajos se reporta la talla máxima embrionaria en el mes de junio por lo que se propone dicho mes como mes de parto para la especie, sin embargo, en este estudio la talla máxima encontrada (21 cm) se encontró en el mes de febrero, por lo que podemos inferir que aparentemente existen diferencias temporales en el ciclo reproductivo de la especie entre ambas costas. Esto debido quizás, a las diferencias de temperatura que existen entre ambas costas. Según estudios las temperaturas cálidas provocan una aceleración del metabolismo de la madre acelerando el crecimiento embrionario provocando períodos de gestación más cortos (Swider *et al.*, 2017). Dichos autores reportaron en la raya águila *Aetobatus narinari* un periodo de gestación de 180-188 días a una temperatura del agua entre 28 y 30 grados, el cual aumentó a 328-399 días con una disminución de la temperatura (23-24 grados).

Descripción macroscópica y microscópica del aparato reproductor de *Gymnura marmorata.*

Machos:

Testículo:

La asimetría testicular reportada en este estudio coincide con otros autores para el género *Gymnura* (Yokota *et al*, 2012), y específicamente para la especie (Burgos-Vazquez, *et al*; 2019).

En este estudio se clasificó el testículo funcional de *Gymnura marmorata* (izquierdo) como radial, ya que se identificó en los organismos analizados el desarrollo de los espermatozoides desde el centro del lóbulo hacia la periferia, esta descripción y las fotografías de los cortes histológicos tomadas, coinciden con las de Grijalba-Bendeck *et al*, (2008), para dos especies del orden Myliobatiformes, sin embargo, el estudio anterior realizado en esta especie reporta un tipo de testículo compuesto. Por ende, se sugiere continuar con el estudio histológico del testículo en esta especie para validar dicha clasificación.

Las fases de las espermatogénesis descritas y las células implicadas en esta coinciden con las descritas para la especie anteriormente (Burgos-Vázquez *et al.*, 2019). Se reporta por primera vez en este estudio el hecho de que existan machos con un testículo visiblemente inmaduro (sin lóbulos testiculares desarrollados) y desde el punto de vista histológico con todas las fases de las espermatogénesis presentes, por lo que podemos inferir que en esta especie el crecimiento del testículo es independiente al desarrollo de las células sexuales (espermatozoides). No obstante, el hecho de encontrar todas las fases de los espermatozoides no asegura que sea un individuo maduro, esta condición se confirma con la presencia de esperma en algunas de las zonas del conducto espermático o en la apertura del rifiodón y el desarrollo completo del gonopterigio.

Conductos y Glándula alcalina.

En cuanto a los conductos espermáticos, se pudieron identificar a simple vista en organismos maduros, la Glándula de Leyding fusionada al epidídimo y el límite entre

este y el ducto deferente se observó como un ensanchamiento a partir del cual comienza el ducto deferente. En el caso de la vesícula seminal, no se observó ninguna especialización externa. Sin embargo, desde el punto de vista histológico, si se pudieron apreciar estos cambios principalmente en la disposición y forma de las proyecciones del epitelio que revisten toda la zona. Las observaciones realizadas coinciden con lo descrito para batoideos (Pratt, 1988; Hamlett, 2005; Carrier *et al.*, 2012).

Se describe por primera vez para la especie desde el punto de vista histológico, la glándula alcalina o glándula de Marshall. Dicha estructura, únicamente presente en los machos de los batoideos, consiste en dos sacos pareados situados detrás de los riñones que desembocan en la cloaca (Hamlett, 2005). Dichos sacos almacenan líquido con un ph muy básico (8.0-9.2), de ahí que se ha descrito que la función de dicha glándula consiste en la protección de la esperma al momento de la eyaculación, ante el pH ácido de la orina del organismo. Sin embargo, a pesar de que son pocos los estudios acerca de la orina en los elasmobranquios Choe y Evans (2003) reportan que este fluido no es de naturaleza ácida. Por otra parte, Grabowski et al, (1999), estudiaron la glándula alcalina a partir de la microscopia electrónica de transmisión, y detectaron centros de esperma necrotizada, de ahí que dichos autores refirieran que dicha glándula pudiera tener la función de almacenar esperma. En este trabajo, a través de tinciones especializadas para identificar esperma, también se identificaron estas estructuras. Esto promueve la necesidad de continuar con un estudio más detallado y sistemático de la glándula alcalina.

Hembras:

Ovario:

Las características morfológicas del aparato reproductor femenino de *Gymnura marmorata* en el Golfo de California, coinciden con las reportadas por otros autores para el género *Gymunra* (Pratt, 1988; Hamlett, 2005; Carrier *et al.*, 2012) y para esta especie en específico en la costa occidental del golfo (Davila- Ortiz, 2002; Burgos *et al.*, 2019). El ovario funcional de tipo externo (Pratt, 1988) ha sido también reportado para esta especie en la costa occidental de la península (Burgos-

Vazquez, 2013), en este, la masa de oocitos se encuentra enlazada con el órgano epigonal. Galindez y Aggio (2002) refieren que dicho órgano interviene en procesos inmunológicos en el ovario, debido a la presencia de células hematopoyéticas y linfopoyeticas. Aun así, se recomienda continuar el estudio de esta estructura. Por otra parte, en cuanto a la asimetría ovárica presente, según Wourms (1977), la diferenciación de estos se da durante la ontogenia, dando lugar a un ovario derecho y un oviducto reducido en la vida adulta. A pesar de que en este estudio no se describió la histología del ovario derecho, Burgos-Vázquez *et al.*, (2019), reportan la presencia de oocitos en estadios temprano de oogénesis y vitelogénesis en hembras maduras, según la autora, es posible que estos cuerpos foliculares se atrofien y degeneren dentro del tejido ovárico, lo cual confirma que el ovario derecho en esta especie es una estructura vestigial.

Se observaron folículos atrésicos en hembras maduras (62 y 100 cm) e inmaduras (40 cm), así como presencia de cuerpos lúteos en hembras maduras. La atresia folicular es un proceso degenerativo en el cual oocitos en diferentes fases de desarrollo son reabsorbidos en el ovario Guraya (1986). Esta condición se tiene en cuenta a la hora de evaluar la fecundidad, por lo que es importante su cuantificación y monitoreo en especies de interés pesquero. En el caso de los cuerpos lúteos se observan luego de la ovulación siguiente al folículo posovulatorio, estos pueden tener una persistencia desde meses hasta años después que el ovocito es liberado, por lo que su observación es confirmante de la madurez de la hembra (Hamlett, 2005).

Glándula oviducal

La glándula oviducal en elasmobranquios tiene dos funciones principales: el almacenamiento de esperma y la producción de la cápsula del huevo en el caso de los organismos ovíparos. De manera general la literatura describe cuatro zonas para dicho órgano: Zona Club, Papillary, Baffle y Terminal, en esta última se encuentra ubicado el almacén de esperma Wourms (1993). En los cortes analizados en este estudio no fue posible delimitar dichas zonas y tampoco se evidenció la presencia de esperma. Estos hallazgos coinciden con lo reportado para la especie por Burgos-

Vázquez (2013). Al igual que la autora, solo se reportó la zona de túbulos oviducales y la zona de placas. Además, se observó la evidencia de secreción en los túbulos oviducales, lo que nos indica que al parecer la función de dicha glándula en esta especie es la formación de la membrana terciaria del huevo. Igualmente se recomienda continuar con los estudios histológicos acerca de esta estructura en *Gymnura marmorata*, haciendo énfasis en la zona terminal.

Útero:

Las características tisulares descritas en el útero de *Gymnura marmorata* en el Golfo de California, coinciden con las observadas por Burgos-Vázquez, (2013) para la costa occidental de la península. Los gymnúridos al ser organismos vivíparos aplacentados, presentan especializaciones, para poder llevar a cabo la alimentación del embrión. La secreción de leche uterina o histótrofo, se da a partir de las villis uterinas o trofonemata, las cuales penetran en el embrión luego de que este ya absorbió por completo el contenido del saco vitelino (Mossman, 1987).

Conclusiones:

- Existe un dimorfismo sexual en cuanto a la talla entre machos y hembras de Gymnura marmorata en la zona de Santa Rosalía, Golfo de California. Las hembras fueron de mayor tamaño en todos los meses de muestreo.
- 2. La diferencia de tallas entre hembras y machos en *Gymnura marmorata* se da a partir del nacimiento, mientras que en la fase embrionaria tanto machos como hembras son del mismo tamaño.
- 3. La especie presenta una talla más pequeña en la zona del Golfo de California estudiada con respecto a la costa occidental de Baja California Sur, teniendo en cuenta que el arte de pesca y la luz de malla de la red utilizada son similares.
- 4. Existe una segregación sexual entre hembras y machos, excepto en los meses de apareamiento donde se equilibra el número entre estos.
- La diferencia en la proporción sexual se da a partir del nacimiento, mientras que en la fase embrionaria no existen diferencias en cuanto a dicho parámetro.
- Las diferencias en cuanto a la talla media de madurez, entre ambas costas de Baja California Sur, al parecer solo se ponen de manifiesto en las hembras.
- 7. La especie *Gymnura marmorata*, presenta una mayor fecundidad comparada con otras especies de gymnúridos a nivel mundial; lo que se pudiera sugerir una mayor resiliencia ante la presión pesquera.
- 8. La madurez, determinada solo por características externas en los machos de Gymnura marmorata parece no ser consistente con lo observado de manera interna, por lo que se deben tener en cuenta los criterios microscópicos para corroborarla.
- 9. Las hembras de *Gymnura marmorata*, una vez que alcanzan la madurez sexual, se mantienen reproductivamente activas durante todo el año.
- 10. La duración del periodo de gestación de *Gymnura marmorata* entre ambas costas, puede variar, según las condiciones del ambiente.

- 11.El testículo y ovario derecho en *Gymnura marmorata* son estructuras vestigiales.
- 12. En los machos de *Gymnura marmorata*, no se presentaron agregaciones tipo espermatozeugmata o espermatóforos, lo que sugiere que la eyaculación ocurre en un corto periodo de tiempo, una vez llegan los espermatozoides a la vesícula seminal.
- 13. La secreción de leche uterina ocurre desde las hembras en desarrollo.

Recomendaciones:

- Se recomienda continuar con el estudio histológico de la glándula oviducal, haciendo énfasis en los tipos de corte y tinciones especiales, así como ampliar el muestreo a otros meses para lograr un mapeo completo de dicha estructura, con el objetivo de comprobar la ausencia de esperma en la zona terminal.
- Se recomienda realizar un estudio detallado de la glándula alcalina, desde el punto de vista histológico e incluir microscopía electrónica en esta especie, y de ser posible ampliar el estudio a otras especies de batoideos procedentes de la pesquería artesanal que se realiza en el estado de Baja California Sur.

Literatura citada

- Alkusairy, H., Ali, M., Saad, A., Reynaud, C., & Capapé, C. (2014). Maturity, reproductive cycle, and fecundity of spiny butterfly ray, Gymnura altavela (Elasmobranchii: Rajiformes: Gymnuridae), from the coast of Syria (eastern Mediterranean). Acta Ichthyologica et Piscatoria, 44, 229-240. https://doi.org/10.3750/AIP2014.44.3.07
- Braccini, J. M. y G. E. Chiaramonte. (2002). Biologia de la raya Psammobatis extenta (Garman, 1913) (Batoidea: Rajidae). Revista Chilena de Historia Natural 75: 179-188.
- Burgos Vázquez, M., Galván-Magaña, F., Carrera Fernández, M., Ochoa Baez, R., & Oddone, M. C. (2019). Reproductive characteristics and reproductive tract anatomy of the California butterfly ray Gymnura marmorata (Myliobatiformes: Gymnuridae). *Journal of Fish Biology*, 95. https://doi.org/10.1111/jfb.13999
- Carrier, J. C., Musick, J. A., & Heithaus, M. R. (2012). Biology of sharks and their relatives. CRC Press LLC, Second Edi(MARINE BIOLOGY), 596.
- Dávila-Ortiz, J. (2002). Biología reproductiva de la raya mariposa Gymnura marmorata Cooper 1863 en Bahía Almejas B C S México. Universidad Autónoma de Baja California Sur.
- De Luliis, G., & Pulera, D. (2007). The dissection of vertebrates: A laboratory manual. Elsevier.
- del Valle González-González, L., Mejía-Falla, P. A., Navia, A. F., De la Cruz-Agüero, G., Ehemann, N. R., Peterson, M. S., & Cruz-Escalona, V. H. (2021). The Espiritu Santo Island as a critical area for conserving batoid assemblage species within the Gulf of California. *Environmental Biology of Fishes*, 104(11), 1359-1379. https://doi.org/10.1007/s10641-021-01165-w
- Elisio, M., Awruch, C., Massa, A. M., Macchi, G. J., & Somoza, G. M. (2019).
 Effects of temperature on the reproductive physiology of female elasmobranchs: The case of the narrownose smooth-hound shark (Mustelus schmitti).
 - https://figshare.utas.edu.au/articles/journal_contribution/Effects_of_temperat ure_on_the_reproductive_physiology_of_female_elasmobranchs_the_case of the narrownose smooth-hound shark Mustelus schmitti /22986269/1
- Espino-Ruano, A., Castro, J. J., Guerra-Marrero, A., Couce-Montero, L., Meyers, E. K. M., Santana-del-Pino, A., & Jimenez-Alvarado, D. (2023). Aggregative Behaviour of Spiny Butterfly Rays (Gymnura altavela, Linnaeus,

- 1758) in the Shallow Coastal Zones of Gran Canaria in the Eastern Central Atlantic. *Animals*, *13*(9), Article 9. https://doi.org/10.3390/ani13091455
- Gales, S. M., Parsons, K. T., Biesack, E. E., Ready, J., Siccha-Ramirez, R., Rosa, L. C., Rosa, R., Rotundo, M. M., Bills, R., Rodrigues, A. E. S., Rodrigues-Filho, L. F. S., McDowell, J., & Sales, J. B. L. (s. f.). Almost half of the Gymnura van Hasselt, 1823 species are unknown: Phylogeographic inference as scissors for cutting the hidden Gordian knot and clarify their conservation status. *Journal of Systematics and Evolution*, n/a(n/a). https://doi.org/10.1111/jse.13027
- Galíndez, E. J., & Aggio, M. C. (2002). ÓRGANOS GRANULOPOYÉTICOS DEL GATUSO (Mustelus schmitti) (CHONDRICHTHYES, TRIAKIDAE). ESTUDIOS A TRAVÉS DE LOS MICROSCOPIOS DE LUZ Y ELECTRÓNICO. Revista chilena de anatomía, 20(1), 49-54. https://doi.org/10.4067/S0716-98682002000100007
- Galíndez, E. J., Díaz Andrade, M. C., & Estecondo, S. (2014). Morfological indicators of initial reproductive commitment in Mustelus schmitti (Chondrichthyes, Triakidae): Folliculogenesis and ovarian structure along the life cycle. https://doi.org/10.1590/1519-6984.23312
- Gilbert, S. (2005). *Biología del Desarrollo* (7a Edición). Médica Panamericana.
- Gómez, A. (1995). Desarrollo gonadal y sexualidad de peces teleosteos. Saber, 7(2), 11.
- Griswold, M. D. (1998). The central role of Sertoli cells in spermatogenesis.
 Seminars in Cell and Developmental Biology, 9(4), 411-416.
 https://doi.org/10.1006/scdb.1998.0203
- Hamlett, W. C. (2005). Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, batoids and chimaeras (Vol 3). Science Publishers Incorporated.
- Hamlett, W. C., & Hysell, M. K. (1998). Uterine specializations in elasmobranchs. *Journal of Experimental Zoology*, 282(4-5), 438-459. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-010X(199811/12)282:4/5<438::AID-JEZ4>3.0.CO;2-6
- Henningsen, A., Smale, M., Garner, R., & Kinnunen, N. (2004). Chapter 16
 Reproduction, Embryonic Development, and Reproductive Physiology of
 Elasmobranchs.
- Heras-Sánchez, M. del C., Valdez-Holguín, J. E., & Hazas-Izquierdo, R. G. (2019). Sea-Surface Temperature Spatiotemporal Analysis for the Gulf of

- California, 1998–2015: Regime Change Simulation. En M. Torres, J. Klapp, I. Gitler, & A. Tchernykh (Eds.), *Supercomputing* (pp. 167-181). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-030-10448-1_16
- Hopkins, T. E., & Cech, J. J. (2003). The Influence of Environmental Variables on the Distribution and Abundance of Three Elasmobranchs in Tomales Bay, California. *Environmental Biology of Fishes*, 66(3), 279-291. https://doi.org/10.1023/A:1023907121605
- Jargowsky, M. B., Huerta-Beltrán, B. L., Ajemian, M. J., Colvin, M. E., & Drymon, J. M. (2022). Growth, reproduction, and age at maturity of Lessa's butterfly ray Gymnura lessae in the northern Gulf of Mexico. *Environmental Biology of Fishes*, 105(9), 1237-1249. https://doi.org/10.1007/s10641-022-01347-0
- Lara-Alcantara, A. A., Mendez, O., & Moral-Flores, L. F. D. (2023). Evidencia del máximo número de crías en la raya mariposa, Gymnura lessae (Myliobatiformes: Gymnuridae), en el Golfo de México. *Acta Zoológica Lilloana*, 137-142. https://doi.org/10.30550/j.azl/2023.67.1/2023-03-15
- Last, P., Carvalho, M., Corrigan, S., Naylor, G., Seret, B., & Yang, L. (2016).
 The Rays of the World project—An explanation of nomenclatural decisions (pp. 1-10).
- Leung, A. J.-X., Loh, K.-H., & Then, A. Y.-H. (2022). Reproductive biology, length-weight relationship and diet of co-occurring butterfly rays, Gymnura poecilura and Gymnura zonura, in Malaysian waters. *Journal of Fish Biology*, 102. https://doi.org/10.1111/jfb.15288
- Love, M. S., Bizzarro, J. J., Cornthwaite, M., Frable, B. W., & Maslenikov, K. P. (2021). *Gymnura marmorata*. https://doi.org/10.5281/zenodo.5818783
- Márquez-Farías, J. F., & Blanco-Parra, M.-D.-P. (2005). Rayas del Golfo de California.
- Mc Millan, D. (2007). Fish Histology: Female reproductive systems. Springer.
- McEachran, J. D., & Carvalho, M. R. (2003). Batoid fishes. En The Living Marine Resources of the Western Central Atlantic. Volume 1: Introduction, molluscs, crustaceans, hagfishes, sharks, batoid fishes, and chimaeras. (Vol. 1, pp. 508-589).
- Menon, M., Maheswarudu, G., Ramulu, K., & Kizhakudan, S. (2020). Reproductive biology and diet of the longtail butterfly ray Gymnura poecilura (Shaw, 1804) along western Bay of Bengal. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 100, 1-10. https://doi.org/10.1017/S0025315420000259

- Mossman, H. W. (1987). Vertebrate Fetal Membranes. https://doi.org/10.1007/978-1-349-09065-5
- Osorio-Ocampo, S., García-Sánchez, L., Marcela Lira-Beltrán, R., Macías*, J. L., Pola, A., Avellán, D. R., Ocampo-Díaz, Y. Z. E., Groppelli, G., Sulpizio, R., García-Tenorio, F., González-Barba, G., & Sosa-Ceballos, G. (2019). Volcanic and marine stratigraphy along the El Álamo Canyon, Santa Rosalía Basin, Baja California Sur. En P. A. Pearthree (Ed.), *Geologic Excursions in Southwestern North America* (Vol. 55, p. 0). Geological Society of America. https://doi.org/10.1130/2019.0055(08)
- Pawlina, W. (2016). ROSS Histología. Texto y atlas: Correlación con biología molecular celular (Séptima ed). Wolters Kluwer.
- Ramírez-Amaro, S., Cartamil, D., Galván-Magaña, F., Gonzalez Barba, G., Graham, J., Carrera Fernández, M., Escobar-Sánchez, O., Sosa-Nishizaki, O., & ROCHIN-ALAMILLO, A. (2013). The artisanal elasmobranch fishery of the Pacific coast of Baja California Sur, Mexico, management implications. Scientia Marina, 77. https://doi.org/10.3989/scimar.03817.05A
- Ross, M., & Pawlina, W. (2016). Histología: Texto y Atlas (7° Edición). Wolters Kluwer.
- Sadler, T. W. (2003). Langman's Medical Embryology (LWW, Ed.; 9th Ed.).
 Wolters Kluwer.
- Sala, E., Aburto-Oropeza, O., Reza, M., Paredes, G., & López-Lemus, L. G. (2004). Fishing Down Coastal Food Webs in the Gulf of California. Fisheries, 29(3), 19-25. https://doi.org/10.1577/1548-8446(2004)29[19:FDCFWI]2.0.CO;2
- Sánchez Cota, J. (2016). EDAD Y CRECIMIENTO DE LA RAYA MARIPOSA, Gymnura marmorata (Cooper, 1864) EN LA PORCIÓN SUR DE LA COSTA OCCIDENTAL DE BAJA CALIFORNIA SUR, MÉXICO.
- Sea-Surface Temperature Spatiotemporal Analysis for the Gulf of California, 1998–2015: Regime Change Simulation | SpringerLink. (s. f.). Recuperado 25 de noviembre de 2024, de https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-10448-1_16
- Skinner, M. K. (2018). Encyclopedia of reproduction (Second Edi). Elsevier Inc.Academic Press.
- Smith, W., Bizzarro, J., Richards, V., Nielsen, J., Márquez-Farías, J. F., & Shivji, M. (2009). Morphometric convergence and molecular divergence: The taxonomic status and evolutionary history of Gymnura crebripunctata and

- Gymnura marmorata in the eastern Pacific Ocean. *Journal of fish biology*, *75*, 761-783. https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2009.02300.x
- Tabares, C., Tarazona, A., & Olivera, M. (2005). Fisiología de la activación del espermatozoide en peces de agua dulce. Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias, 18(2).
- Van der Bie, G. (2001). Embriology: Early development from a phenomenological point of view. Luis Bolk Institute.
- Washington), J. B. (University of, Seahorse), R. P. (Project, Education), O. S.-N. (The E. C. for S. R. and H., Katelyn Herman (Georgia Aquarium, A., Burgos-Vázquez, I., Jiménez, J. C. P., & Avalos, C. (2019). IUCN Red List of Threatened Species: Gymnura marmorata. *IUCN Red List of Threatened Species*. https://www.iucnredlist.org/es
- Wourms, J. P. (1981). Viviparity: The Maternal-Fetal Relationship in Fishes. *American Zoologist*, 21(2), 473-515. https://doi.org/10.1093/icb/21.2.473
- Yokota, L., R. Goitein, M.D. Gianeti y R.T. Lessa. 2012. Reproductive biology of the smooth butterfly ray *Gymnura micrura*. *J. Fish Biol.*, 81:1315–1326.

Anexo 1: Criterios para evaluar el estadio de madurez sexual en hembras de *Gymnura marmorata*, Burgos-Vásquez *et. al.* 2019 (Costa occidental de BCS).

E	stadío	Ovario izquierdo	Glándulas oviducales	Útero
		Ausencia de fóliculos ováricos visibles		Indiferenciado del
				oviducto, sin
	1. No desarrollado		Ausentes	vellosidades
				uterinas y sin
				secreción
Inmadura				histotrófica
IIIIIauuia				Comienzan a
				ensancharse y
	2. En	Presencia de folículos		tienen vellosidades
	desarrollo	previtelogénicos (≤0,4 mm de	Empiezan a desarrollarse y	uterinas cortas. Sin
		diámetro); abundante órgano	diferenciarse de oviductos	secreción
		epigonal.	anteriores y úteros	histotrófica
			Completamente diferenciadas de oviductos anteriores y úteros, aparecen agrandadas	Completamente
				diferenciado de la
				glándula oviducal;
	3. No embarazada	Presencia de folículos previtelogénicos (≥ 0,5-0,8 cm de diámetro) y folículos vitelogénicos (≥ 0,9 cm de diámetro); presencia de un órgano epigonal en algunas áreas		presencia de
				abundantes y largas
				vellosidades
				uterinas. Las
				paredes musculares
				parecen
				ligeramente más
Madura				gruesas. Sin
				secreción
				histotrófica visible.
	4. Embarazada	Presencia de folículos previtelogénicos (≥ 0,5-0,8 cm de diámetro) y folículos vitelogénicos (≥ 0,9 cm de diámetro); presencia de un órgano epigonal en algunas zonas; presencia de folículos postovulatorios	Completamente diferenciadas de oviductos anteriores y úteros, aparecen agrandadas	Presencia de
				abundantes y largas
				vellosidades
				uterinas; altamente
				vascularizado;
				paredes musculares
				gruesas; presencia
				de embriones;
				abundante
		·		secreción
				histotrófica

Anexo 2: Criterios para evaluar el estadio de madurez sexual en machos de *Gymnura marmorata*, Burgos-Vásquez *et. al.* 2019 (Costa occidental de BCS).

Estadío		Testículo izquiero	Gonopterigios	Semen
Inmaduro	1. No desarrollado	Ausencia de lóbulos testiculares, abundante órgano epigonal	sin calcificar, longitud menor que la de las aletas pélvicas, no rotacion	No
	2. En desarrollo	Lóbulos testiculares parcialmente desarrollados abundante órgano epigonal	sin calcificar; su longitud es menor o igual a la de las aletas pélvicas	No
	3. En desarrollo	Lóbulos testiculares completamente desarrollados poco órgano epigonal	Parcialmente calcificado; su longitud es mayor que la de las aletas pelvicas	No
Maduro	4. Desarrollado	Lóbulos testiculares completamente desarrollados poco órgano epigonal	Completamente calcificado; su longitud es mayor que la de las aletas pelvicas	Sí