



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



**BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE LA RAYA
MARIPOSA *Gymnura marmorata* (COOPER,
1864) EN LA COSTA OCCIDENTAL DE BAJA
CALIFORNIA SUR, MÉXICO**

TESIS

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

PRESENTA

MARÍA ITZIGUERI BURGOS VÁZQUEZ

LA PAZ, B.C.S., DICIEMBRE 2013



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 08 del mes de Noviembre del 2013 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis titulada:

"BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE LA RAYA MARIPOSA *Gymnura marmorata* (COOPER, 1864) EN LA COSTA OCCIDENTAL DE BAJA CALIFORNIA SUR, MÉXICO"

Presentada por el alumno:

BURGOS

Apellido paterno

VÁZQUEZ

materno

MARÍA ITZIGUERI

nombre(s)

Con registro:

A	1	2	0	3	4	1
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

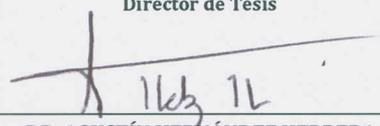
Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA DEFENSA DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

Directores de Tesis


DR. FELIPE GALVÁN MAGAÑA
Director de Tesis

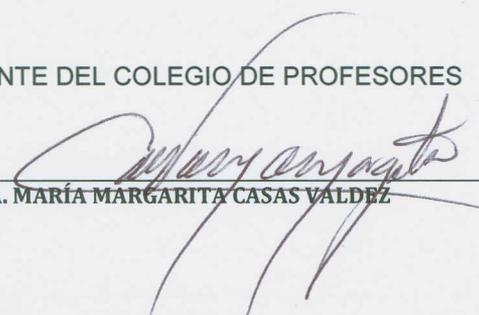

DRA. ROSA ISABEL OCHOA BÁEZ
2ª. Directora de Tesis


DR. AGUSTÍN HERNÁNDEZ HERRERA


MC. MARCIAL TRINIDAD VILLALEJO FUERTE


DRA. MARIBEL CARRERA FERNÁNDEZ

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES


DRA. MARÍA MARGARITA CASAS VALDEZ



IPN
CICIMAR
DIRECCION



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

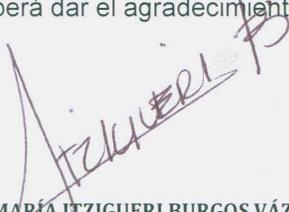
En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 15 del mes Noviembre del año 2013
el (la) que suscribe BIÓL. MARÍA ITZIGUERI BURGOS VÁZQUEZ alumno(a) del
Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS
con número de registro A120341 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS
manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:
DR. FELIPE GALVÁN MAGAÑA Y DRA. ROSA ISABEL OCHOA BÁEZ
y cede los derechos del trabajo titulado:

"BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE LA RAYA MARIPOSA *Gymnura marmorata*
(COOPER, 1864) EN LA COSTA OCCIDENTAL DE BAJA CALIFORNIA SUR, MÉXICO"

al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: itzigueri@gmail.com - galvan.felipe@gmail.com - rochoa@ipn.mx

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


BIÓL. MARÍA ITZIGUERI BURGOS VÁZQUEZ

nombre y firma

*Porque mi voluntad, mi esfuerzo y mi amor están basados solamente en Dios,
este trabajo es el comienzo de mi agradecimiento hacia Él.*

*Para los cuatro ángeles incondicionales que el Universo me correspondió en esta
vida, Miguel Ángel y María Atziri, mis papás. Miguel Ángel y María Atziri,
mis hermanos.*

Agradecimientos

Al Instituto Politécnico Nacional y al Programa Institucional de Formación de Investigadores (IPN-PIFI), por la oportunidad y la beca de apoyo brindada para mi realización académica.

Al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) por brindarme la oportunidad y el apoyo de realizar el posgrado en esta institución.

A la Comisión Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el apoyo económico que se me brindó durante estos dos años de maestría.

Al Dr. Felipe Galván Magaña, por su confianza y su apoyo durante estos más de dos años, por permitirme ser parte de su equipo. A la Dra. Rosa Isabel Ochoa Báez, por la enseñanza que ha dejado en mí, por ser una gran maestra, dedicada y siempre en busca de empeño y equidad. Gracias a ambos por su paciencia y esfuerzo para que yo terminara este proyecto de vida.

A la Dra. Maribel Carrera, por la información brindada al inicio de este trabajo y por su apoyo. Al maestro Marcial Villalejo, por su enorme paciencia y consejos durante la maestría, por ser tan buen guía académico. Al Dr. Agustín Hernández y el Dr. Leonardo Abitia, por aceptar ser parte de este trabajo y la aportación de sus conocimientos.

A Humberto Ceseña Amador y Cesar Casas Núñez del Departamento de Servicios Educativos, por la disposición que siempre han brindado, por siempre estar atentos al proceso del alumno, por mantenernos informados y por ser pieza clave en todos los procesos académicos. A Manuel Pacheco, por su amabilidad y disposición para cualquier situación académica y por el ambiente tan agradable que propicia en el área de trabajo.

A Cristina Oddone, porque sin planearlo se convirtió en mi amiga, gracias Cristina por los tres meses de estancia que me brindaste tu hogar, tu familia, tus conocimientos, tu paciencia y tus mascotas. Espero repetir la visita. Esta tesis lleva mucho de tu sabiduría, gracias por ello.

Gracias Atziri Vázquez por ser la madre amorosa, incondicional, tierna y maravillosa que Dios puso en mi vida. Gracias por ser así, por amarme tanto, por cuidarme, por darme todo lo que tienes, por entregarte en cuerpo y alma para que tus hijos vivamos en armonía. Gracias madre por traerme a la vida. Te amo.

Gracias Miguel Ángel por confiar en mí. Por ser mi guardián protector, por hacerme sentir amada, por tus consejos, por ser un ejemplo de vida, por ser la luz en mi oscuridad. No hay palabras que reflejen mis sentimientos de orgullo por el padre que tengo. Eres y serás siempre mi hombre favorito. Te admiro y te amo. Gracias.

A mis hermanos Miguel y Atziri, que son las personas que más amo en la vida, que son las únicas personas por las cuales entregaría mi vida sin pensarlo. Ustedes son un motivo en mí vivir. Te amo hermano más de lo que te imaginas, tu felicidad me da alegría de vivir, eres un hombre maravilloso, gracias por tu ayuda y por tu amistad. Atziri, te amo como nunca imagine amar a alguien, haces que este trabajo tenga sentido. Gracias hermana por ser mi amiga y mi compañera, por ser quien eres, bella y maravillosa. A mi Torito, que siempre está ahí para darme cariño, que siempre me mira con amor.

A Gaby Maday, por ser mi compañera de madurez espiritual, mi mejor amiga, por quererme y aceptarme tal cual soy. A Gabriela Agüero, por siempre creer en mí, por su apoyo emocional y por tantos años de tolerancia. Las amo.

A Jorge Guerrero, por aparecer en mi vida, por aparecer justo en el momento que lo necesite, a ti te debo estos dos años de buena compañía, gracias por tu cariño, tu comprensión, tu tiempo y por apoyarme incondicionalmente en este proceso.

A Jesús Ojeda, que logro que yo creyera, por ser un gran maestro y guía espiritual, por ser clave para que yo lograra esta meta. Por estar en ese momento, justo en ese momento. Infinitamente agradecida.

A Flor Santana, por su tolerancia, por apoyarme en todas las fases emocionales de una mujer, por regalarme su experiencia, gracias. A Blanca Beltrán, por su atención, su preocupación y su tiempo, por querer compartir siempre conmigo. A Adrián Miranda, Norma Luz y Gabriel Ortiz, por no solo ser mis compañeros, por ser mis amigos y mis cómplices. A Sergio del Monte, por saber exactamente como subir el ánimo y la autoestima. Por todos ellos, gracias Dios, porque nos conocimos en esta vida y no en la anterior.

A la familia Aguilar Beltrán, por abrirme las puertas de su casa, por su confianza y amabilidad. A Anarosa, por convertirse en mí amiga y confiar en mí. Por tu gran apoyo Ana, muchas gracias. A Paty, que siempre está ahí con una frase de aliento, y por tu apoyo para cualquier situación. A Brenda y Ulises, por su amistad y su tiempo. A Alfredo Aguilar por permitirme ser parte de su familia, a Luis Alfredo, por recordarme a mis hermanos y por su interés hacia mi trabajo. Muchas gracias a todos por hacerme sentir en casa fuera de casa. A Gabriel Díaz, por quererme tal cual soy, por su tolerancia, su amor y comprensión. Gracias por siempre estar ahí Gaby.

A Marina Irigoyen por su confianza, su bondad, su alegría que contagia el lugar de trabajo. Gracias amiga por apoyarme en cada uno de los aspectos de mi vida. Te quiero mucho.

A Edgardo Camacho, porque el sin saberlo, da alegría a mis días de trabajo. Por ser un gran amigo, por su confianza en mí. Por su comprensión e interés en mi desarrollo profesional y en mi vida. Por tu tiempo y tú cariño, gracias.

A Gabriela Ruiz, por la confianza que me brinda, por su cariño, por las largas charlas, gracias amiguita por compartirme tu vida, te quiero. A Leyberth Fernández, por ser la persona que es, por compartirme su amistad, su cariño y su confianza, eres bien importante en mi vida amigo, te quiero.

A Michelle Abascal por los buenos momentos que hemos pasado, por brindarme su amistad y su cariño, gracias hija. A Xchel Moreno, por apoyarme en mi desarrollo académico, por sus consejos, su guía en este proceso y el que sigue y sobre todo por brindarme su amistad.

A Marian Camacho, Francisco Domínguez, Josué Yee y Marco Dapa, por su amistad y cariño, por los buenos momentos que me brindan en los días de trabajo. Por su apoyo, por los consejos y por la buena vibra que hacen sentir a ese cubículo. A Sury, por su amistad y por estar siempre que la he necesitado, gracias amiga por la confianza que me has brindado y sobretodo tu apoyo.

A Roberto Aguilera, por las sonrisas que regala todos los días, por la alegría que brinda a todas las personas que lleguen en busca de su ayuda, por su amabilidad, comprensión y tolerancia. A Susana Cárdenas, por ser una mujer tan alegre, por contagiar esa alegría, por su disponibilidad de ayudar siempre. Gracias a los dos, no solo por su ayuda, sino por brindar siempre su amistad y su cariño, los quiero.

A Armando Hernández, por su disponibilidad, por siempre estar atento y por la ayuda que siempre está dispuesto a ofrecer.

A Víctor, porque sin corresponderle me brindó su apoyo durante este proceso, por darme la oportunidad de comenzar esta nueva etapa (que muy acertadamente me lo ha dicho "haremos muy buen equipo"), pero sobre todo por la confianza y por su amistad. Gracias.

ÍNDICE

LISTA DE FIGURAS.....	III
LISTA DE TABLAS.....	VIII
GLOSARIO.....	IX
RESUMEN.....	XI
ABSTRACT.....	XII
1. INTRODUCCIÓN.....	1
2. ANTECEDENTES.....	3
3. OBJETIVO GENERAL.....	5
3.1 OBJETIVOS PARTICULARES.....	5
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	6
4.1 ÁREA DE ESTUDIO.....	6
4.2 TRABAJO DE CAMPO.....	7
4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS.....	7
4.4 CRITERIOS UTILIZADOS PARA LA EVALUACIÓN DE MADUREZ.....	8
4.4.1 Hembras.....	8
4.4.2 Machos.....	9
4.5 ANÁLISIS HISTOLÓGICO.....	9
5. RESULTADOS.....	10
5.1 COMPOSICIÓN DE TALLAS.....	10
5.1.2 Machos.....	11
5.1.3 Hembras.....	12
5.2 PROPORCIÓN DE SEXOS.....	13
5.3 TALLA DE PRIMERA MADUREZ.....	13
5.3.1 Machos.....	13
5.3.1.1 Gonopterigios.....	14
5.3.2 Hembras.....	15
5.3.2.1 Evaluación de madurez.....	15
5.3.2.2 Talla de primera madurez en hembras.....	17
5.4 DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DEL APARATOR REPRODUCTOR.....	17
5.4.1 Machos.....	17
5.4.2 Hembras.....	19
5.4.2.1 Ovario.....	20
5.4.2.2 Glándula oviducal.....	21
5.4.2.3 Útero.....	22
5.5 FECUNDIDAD UTERINA.....	24
5.6 CICLO REPRODUCTIVO.....	26
5.7 ESTRUCTURA HISTOLÓGICA.....	26

5.7.1 Machos.....	26
5.7.1.2 Testículo.....	26
5.7.1.3 Espermatogénesis.....	28
5.7.1.4 Testículo derecho.....	32
5.7.1.5 Epidídimo.....	34
5.7.1.6 Vesícula seminal.....	35
5.7.2 Hembras.....	38
5.7.2.1 Ovario.....	38
5.7.2.2 Glándula oviducal.....	41
5.7.2.3 Útero.....	43
5.7.2.4 Ovario asimétrico.....	47
6. DISCUSIÓN.....	48
6.1 COMPOSICIÓN DE TALLAS.....	48
6.2 PROPORCIÓN DE SEXOS.....	49
6.2.1 Embriones.....	49
6.2.2 Juveniles.....	50
6.2.3 Adultos.....	50
6.3 TALLA DE PRIMERA MADUREZ.....	51
6.3.1 Machos.....	51
6.3.2 Hembras.....	52
6.4 FECUNDIDAD.....	54
6.5 DESARROLLO EMBRIONARIO.....	54
6.6 CICLO REPRODUCTIVO.....	55
6.7 ESTRUCTURA MACRO Y MICROSCOPICA DE LOS ÓRGANOS REPRODUCTORES.....	57
6.7.1 Machos.....	57
6.7.1.1 Gonopterigios.....	57
6.7.1.2 Testículos.....	57
6.7.1.3 Epidídimo.....	59
6.7.1.4 Vesícula seminal.....	59
6.7.2 Hembras.....	60
6.7.2.1 Ovarios.....	60
6.7.2.2 Glándula oviducal.....	62
6.7.2.3 Útero.....	63
7. CONCLUSIONES.....	65
8. LITERATURA CITADA.....	67

LISTA DE FIGURAS

Figura	Página
1. Macho de <i>Gymnura marmorata</i> (Cooper, 1864).....	2
2. Localidades de muestreo ubicados en la costa occidental del Estado de Baja California Sur, México.....	6
3. Número total de organismos registrados de <i>Gymnura marmorata</i> del año 2008 al 2012.....	11
4. Intervalos de tallas del ancho de disco (AD) en los machos registrados de <i>Gymnura marmorata</i>	11
5. Intervalos de tallas del ancho de disco de los machos de <i>Gymnura marmorata</i> registrados en los años 2008 al 2012.....	12
6. Intervalos de tallas del ancho de disco (AD) de las hembras de <i>Gymnura marmorata</i> registradas en los años 2008 al 2012.....	12
7. Intervalos de tallas del ancho de disco de las hembras de <i>Gymnura marmorata</i> registradas en los años 2008 al 2012.....	13
8. Relación de la longitud del gonopterigio con el ancho de disco (AD) de los machos de <i>Gymnura marmorata</i>	14
9. Talla estimada de primera madurez AD_{50} para machos de la especie <i>Gymnura marmorata</i>	15
10. Talla estimada de primera madurez AD_{50} en hembras de <i>Gymnura marmorata</i>	17
11. Aparato reproductor de un macho maduro de <i>Gymnura marmorata</i> . Se observan los dos testículos, el de mayor tamaño a lado izquierdo (TD) y el de menor del lado derecho (Td). Los ductos genitales, en la parte anterior el epidídimo (E) y en la parte posterior, la vesícula seminal (VS).....	18
12. Aparato reproductor de una hembra madura de <i>Gymnura marmorata</i> . El ovario derecho (O) presenta el mayor tamaño y de lado contrario el ovario izquierdo (Oi) de menor tamaño. La glándula oviducal (Go) se posiciona en la parte anterior del útero (U).....	19
13. Relación del largo y ancho del ovario con el ancho de disco (AD) de las hembras de <i>Gymnura marmorata</i>	21
14. Relación del largo y ancho de la G.O. con el ancho de disco (AD) de las	

hembras de <i>Gymnura marmorata</i>	23
15. Relación del largo y ancho del útero con el ancho de disco (AD) de las hembras de <i>Gymnura marmorata</i>	24
16. Medias del ancho de disco (AD) embrionario de <i>Gymnura marmorata</i> en los meses de registro.....	25
17. Longitud del gonopterigio en relación al ancho de disco (AD) embrionario en los machos de <i>Gymnura marmorata</i>	26
18. Microfotografía de testículo en corte transversal de un macho maduro de <i>Gymnura marmorata</i> . La Túnica albugínea (TA), los túbulos seminíferos (TS), el estroma y los vasos sanguíneos (Vs). Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 200 μm	27
19. Microfotografía de túbulo seminífero en un testículo de macho maduro de <i>Gymnura marmorata</i> . Espermatocistos (Est), células de Sertoli (CS). Cada túbulo seminífero es rodeado por una membrana basal (Mb). Técnica de Tricrómica de Mallory, Barra = 20 μm	28
20. Microfotografía de testículo con corte transversal, en un macho de 72 cm de ancho de disco (AD) de <i>Gymnura marmorata</i> , en la cual se observan las primeras cuatro fases de la espermatogénesis. En la primera fase (1), células primarias o espermatogonias (Eg), (2) espermatocitos primarios (Ec), (3) espermatocitos primarios (Ec I) espermatocitos secundarios (Ec II). (4) espermátidas (Ed). Técnica Hematoxilina – Eosina, Barra = 100 μm	29
21. Microfotografía de testículo con corte transversal, en un macho maduro de 72 cm de ancho de disco (AD) de <i>Gymnura marmorata</i> . (4) espermátidas (Ed) (5) espermátidas (Ed) (6) espermatozoides maduros (Ez). Técnica Hematoxilina – Eosina, Barra = 50 μm	29
22. Microfotografía de corte transversal de testículo en un macho maduro de 62 cm de ancho de disco (AD) en <i>Gymnura marmorata</i> , en la cual se observan las diferentes fases de la espermatogénesis. A: Fase 1, Técnica Hematoxilina-Eosina; Barra = 100 μm ; B: Fase 2, Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 50 μm ; C: Fase 3. Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 100 μm ; D: Fase 4, Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 50 μm ; E, F: Fase 5, Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 50 μm ; G: Fase 6, Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 50 μm	32

23. Microfotografía de corte transversal de testículo derecho en un macho maduro de *Gymnura marmorata*. El asterisco (*) señala la capsula que envuelve al órgano. El estroma (Es) abarca toda la estructura del órgano asimétrico Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 50 μm 33
24. Microfotografía de corte transversal de testículo izquierdo en un macho maduro de *Gymnura marmorata*, en el cual se observan las células sanguíneas (css) y tejido conectivo fino de fibras colágenas (Tc) por todo el órgano embebiendo las células acidófilas (circulo en a) y basófilas (circulo en b) que componen este órgano. Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 20 μm 33
25. Microfotografía de corte transversal de epidídimo en un macho maduro de *Gymnura marmorata*. La imagen muestra conductos estructurados por epitelio cilíndrico simple (Ecis) sobre una membrana basal (Mb) que rodea a todo el conducto. Las células epiteliales presentan estereocilios dirigidos hacia el lumen de cada conducto, en el cual se encuentra material de secreción. Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 20 μm 34
26. Microfotografía de corte transversal de epidídimo en un macho maduro de *Gymnura marmorata*. Se observa en la luz del tubo el material de secreción (Msc) o gotas lipídicas. La membrana basal (Mb) es delgada de fibras musculares lisa circular la cual rodea y soporta a las células secretoras. Técnica de Tricrómica de Mallory, Barra = 20 μm 35
27. Microfotografía de corte transversal de vesícula seminal de un macho maduro de *Gymnura marmorata*. Elongaciones (Elg) provenientes del tejido de recubrimiento de la vesícula, formando pliegues que abarca toda la estructura. Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 500 μm 36
28. Microfotografía de corte transversal de vesícula seminal de un macho maduro de *Gymnura marmorata*. La estructura está rodeada de fibras colágenas (Fc), el epitelio que rodea toda la vesícula es de tipo pseudoestratificado ciliado (Epc). En la luz de la estructura se encuentran los espermatozoides (Ez) embebidos en el material de secreción (Msc). Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 50 μm 36
29. Microfotografía de corte transversal de vesícula seminal de un macho maduro de *Gymnura marmorata*. Las elongaciones están formadas por epitelio cilíndrico simple (Ecis) con un vaso sanguíneo central (vs). Por toda la vesícula se encuentra el material de secreción (Msc). Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 50 μm 37

30. Microfotografía de corte transversal de vesícula seminal de un macho maduro de <i>Gymnura marmorata</i> . Dos grupos de espermatozoides (flechas) sobre las elongaciones, material de secreción (Msc) con espermatozoides (Ez) y fibras colágenas. Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 100 μm	38
31. Microfotografía de corte transversal de ovario de una hembra madura de <i>Gymnura marmorata</i> . Estructuras ováricas, túnica albugínea (Ta), oocitos primarios (Ool), folículos en diferentes fases de desarrollo y cuerpo atrésico (Ca). Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 200 μm	39
32. Microfotografía de corte transversal de ovario de una hembra madura de <i>Gymnura marmorata</i> . Dos oocitos (Oo) en la misma fase de desarrollo (folículo previtelogénico) en el interior del folículo, se observa la zona pelúcida (Zp), vitelo (v) y las células foliculares (Cf). Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 50 μm	40
33. Microfotografía de corte transversal de ovario de una hembra madura de <i>Gymnura marmorata</i> . Invaginaciones de las células foliculares (Cf) formando el cuerpo lúteo (CL). Técnica de PAS, Barra = 500 μm	40
34. Microfotografía de corte transversal de ovario de una hembra madura de <i>Gymnura marmorata</i> . Cuerpo lúteo (CL), teca externa (T) y estroma ovárico (Es). Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 200 μm	41
35. Microfotografía de corte transversal de glándula oviducal de una hembra madura de <i>Gymnura marmorata</i> . Las fibras colágenas (Fc) rodean cada túbulo oviducal (To) los cuales están formados por epitelio pseudoestratificado ciliado (Epc). Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 50 μm	42
36. Microfotografía de corte transversal de glándula oviducal de una hembra madura de <i>Gymnura marmorata</i> . Las placas están dirigidas hacia la luz de la glándula, la cuales forman diferentes ductos secretores (Ds). Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 100 μm	42
37. Microfotografía de corte transversal de útero de una hembra de 63 cm de ancho de disco (AD) de <i>Gymnura marmorata</i> . Los villis uterinos (vu) tienen un solo vaso sanguíneo (Vs) central y en esta etapa temprana de madurez presentan un epitelio cilíndrico simple (Ecis). Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 100 μm	43
38. Microfotografía de corte transversal de útero de <i>Gymnura marmorata</i> de	

una hembra de 63 cm de AD. Los <i>villis</i> uterinos no presentan un desarrollo como tal y su epitelio es de tipo cilíndrico simple (Ecis). Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 50 μ m.....	44
39. Microfotografía de corte transversal de útero de <i>Gymnura marmorata</i> de una hembra de 63 cm de AD. En las primeras etapas del desarrollo de madurez en el trofonemata los <i>villis</i> uterinos presentan un solo vaso sanguíneo (Vs) central poco ensanchado. Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 50 μ m.....	44
40. Microfotografía de corte transversal de útero de <i>Gymnura marmorata</i> de una hembra de 95 cm de AD. Los <i>villis</i> uterinos (vu) están completamente desarrollados, con un vaso sanguíneo central (Vs) ensanchado. Las paredes uterinas están llenas de fibras musculares (*) y fibras colágenas (Fc). Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 200 μ m.....	45
41. Microfotografía de corte transversal de útero de <i>Gymnura marmorata</i> de una hembra de 97 cm de ancho de disco (AD). Los <i>villis</i> uterinos desarrollados presentan criptas secretoras (Crs) encargadas de producir la secreción (S) nutritiva para los embriones. Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 20 μ m.....	46
42. Microfotografía de corte transversal de útero de <i>Gymnura marmorata</i> en una hembra de 97 cm de ancho de disco (AD). Criptas secretoras y secreción nutritiva (s). Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 20 μ m.....	46
43. Microfotografía de corte transversal de ovario derecho de una hembra madura de <i>Gymnura marmorata</i> de 97 cm de ancho de disco (AD). oocitos (Oo) en diferentes fases de desarrollo (excepto la de madurez), los folículos presentaron las mismas características que en el ovario izquierdo. El estroma (Es) también presento las mismas características que el ovario contrario. Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 500 μ m.....	47

LISTA DE TABLAS

TABLA	PÁGINA
1. Condición anatómica del ovario, glándula oviducal y útero en los diferentes estadios de madurez de hembras de <i>Gymnura marmorata</i>	16
2. Longitudes máximas y mínimas del largo y ancho de las estructuras reproductivas del ovario, útero y glándula oviducal de las hembras de <i>Gymnura mamorata</i>	20
3. Relación mensual de las madres de <i>Gymnura marmorata</i> registradas y el AD con el número embrionario y la media de AD embrionaria de hembras y machos.....	24

GLOSARIO

Atresia: La atresia de un folículo puede ocurrir en cualquier talla para la formación de un cuerpo lúteo, en el cual anteriormente se dio la ovulación del oocito, quedando la pared del folículo colapsado (Hamlett & Koob 1999).

Células de Sertoli: Células somáticas, que dan soporte y estructura a las células sexuales masculinas (Hamlett, *et al.*, 2002).

Espermatocisto: Dentro del túbulo seminífero, forman la unidad o lóbulo, en el cual se desarrollan las células germinales o células de Sertoli (Hamlett, *et al.*, 2002).

Espermatóforo: Tipo de agregación espermática en el cual los espermatozoides están alineados cabeza con cabeza formando paquetes laterales (Maruska *et al.*, 1996).

Espermatozeugmata: Tipo de agregación espermática estructurada por una masa o matriz seminal central, con las cabezas de los espermatozoides embebidas y las colas proyectándose hacia afuera de esta matriz (Maruska *et al.*, 1996).

Gonopterigio: Órgano copulador en machos de los elasmobranquios. Son extensiones de las aletas pélvicas, soportadas por un endoesqueleto (Compagno, 1999).

Histótrofo: Material nutritivo para el desarrollo embrionario, secretado por el trofonemata uterino (Hamlett *et al.*, 1996).

Histotrofia lipídica: Modo reproductivo en el cual el útero de las rayas presenta *villis* uterinos con criptas secretoras para la elaboración del material nutritivo, llamado histótrofo (Hamlett *et al.*, 1996).

Membrana basal: Membrana de recubrimiento y revestimiento, en la cual las células epiteliales están unidas firmemente y descansan sobre esta, la cual separa el epitelio del tejido conectivo subyacente (Roland, 1977).

Mesorquio: Tejido de doble pared, en el cual están suspendidos dorsoventralmente los testículos de los elasmobranquios (Maruska *et al.* 1996).

Órgano epigonal: Órgano irregular, en el cual están embebidos los ovarios en las hembras y los testículos en los machos, en los elasmobranquios. El cual es de origen linfoide, el cual es una fuente importante de leucocitos en la circulación general (Hamlett, *et al.*, 2002).

Testículo compuesto: Se presenta solo en batoideos. Está compuesto por múltiples zonas de germinación. Los Espermatozoides derivados de cada zona germinal están dispuestos en columnas que irradian desde el centro y también atraviesan el diámetro de los testículos. Cada zona germinal con su progenie de espermatozoides están estructurados como un lóbulo de forma irregular (Hamlett, *et al.*, 2002).

Trofonemata: Tejido uterino en forma de placas formando *villis* o vellos vascularizados para la secreción del histiotrofo (Hamlett *et al.*, 1996).

Villi uterino: Tejido endometrial vascularizado en forma de vello (Hamlett & Koob 1999).

Vivíparo aplacentado: El embrión no depende del vitelo. El material nutritivo será elaborado por la madre para el desarrollo embrionario (Needham, 1942).

RESUMEN

La raya mariposa, *Gymnura marmorata* se encuentra como especie frecuente en las capturas de batoideos en el noroeste mexicano, sin embargo, no existe ningún plan de manejo pesquero o de conservación de la especie debido a la falta de información biológica de este recurso. El objetivo de este trabajo consistió en analizar las características del modo reproductivo de la especie, basadas en muestreos realizados de marzo a agosto de 2008 al 2012 en dos campos pesqueros de la costa occidental de B.C.S. A cada organismo recolectado se le midió el ancho de disco (AD); en los machos, se midió el largo del gonopterigio (órgano copulador) y el grado de calcificación del mismo. Se extrajeron las gónadas y se procesaron histológicamente. Se obtuvo la composición de tallas, la proporción sexual, el tamaño de primera madurez sexual (AD_{50}), la fecundidad uterina y el ciclo reproductivo. Se analizaron 123 organismos en total, de los cuales 39 fueron machos y 84 hembras. Las tallas de ambos sexos se ubicaron entre 53 a 131 cm de AD. La talla media de los machos estuvo en 67.9 cm de AD y en las hembras de 85.8 cm de AD. La proporción sexual fue de 2.15H:1M. El AD_{50} promedio en machos alcanzó 46.8 cm y en hembras de 73.3 cm. La fecundidad uterina fue 8 embriones por hembra. En los machos adultos sólo el testículo izquierdo fue funcional y de tipo compuesto. En hembras adultas, sólo el ovario izquierdo es funcional y el útero presentó *villitis* uterinos (trofonemata). El ciclo reproductivo en el año marca un periodo de gestación de 9 a 12 meses y la talla de nacimiento en 23 cm de AD.

Palabras clave: Vivíparo, gonopterigio, Gymnuridae, trofonemata, modo reproductivo.

ABSTRACT

The butterfly ray *Gymnura marmorata* it's found frecuntly in batoids bycatch in northwest Mexico. However, there is no fishery management plan or conservation of the species due to the lack of biological information. The main objective of the present study it's describe the reproductive biology of this specie of ray, for wich were sampled from March to August of the years 2008 to 2012 in two fishing camps of the west coast of B.C.S. Each sampled organism was measured the width disk, (WD), in the males, was measured the claspers lenght (copulatory organ), and the degree of the calcification. The gonads was extracted and histologically processed. Was obtained the sizes composition, sex ratio, sizes at maturity (WD_{50}), uterine fecundity and finally the reproductive cycle description. In total were recorded 123 organism, 39 males and 84 females. The size range for both sex, was 53 to 131 cm WD. Males had a mean of 67.9 cm WD, and females a mean of 85.8 cm WD. The sex ratio was of 2.15F:1M. In the males the WD_{50} was of 46.8 cm and females 73.3 cm. The uterine fecundity was estimated at 8 embryos by female. In the males only the left testicle was functional and compound type. In the females only the left ovarian was functional, and the utero had uterine *villis* (trophonemata). The reproductive cycle was an annual type, and gestation period of 9 to 12 months, and a birth size of 23 cm WD.

Keywords: Viviparous, claspers, Gymnuridae, trophonemata, reproductive mode.

1. INTRODUCCIÓN

La familia Gymnuridae es conocida comúnmente con el nombre de “rayas mariposa” o “tortillas” (McEachran & Notarbartolo, 1995). Se distribuye solo en la franja tropical y templado cálida del Océano Atlántico, Mar Negro, India y Océano Pacífico, prefiere ambientes estuarinos, de lagunas costeras y bocas de ríos (Bigelow & Schroeder, 1953; Nelson, 1994; McEachran & Notarbartolo, 1995). Esta familia comprende dos géneros *Aetoplatea* Müller & Henle (1841) con una pequeña aleta dorsal en la mitad de la cola y *Gymnura* Van Hasselt (1823) sin dicha aleta dorsal. El número total de especies varía de 10 a 12 dependiendo del autor (Bigelow & Schroeder, 1953; Nelson, 1994; Hamlett, 1999).

La raya mariposa *Gymnura marmorata* (Fig. 1) es una especie tropical bentónica, que se puede localizar desde la zona intermareal hasta los 150 m de profundidad. Habita desde las costas de California, E.U., hasta Perú incluyendo el Golfo de California, México. Presentan un cuerpo romboide y aplanado, más ancho que largo; su cola es corta, con una o varias espinas; su coloración dorsal es café oscuro u oliváceo con manchas reticuladas y el vientre blanco. Se alimenta principalmente de peces óseos, crustáceos y cefalópodos (Santana-Morales *et al.*, 2004).

Su modo reproductivo es de tipo vivíparo aplacentario con *villitis* uterinos o trofonemata. Estos “vellos” uterinos secretan histótrofo, el cual a menudo es llamado como leche uterina y se define como "cualquier material nutritivo, incluyendo las secreciones glandulares, células y residuos de células, que están disponibles para el embrión o el feto y se deriva directamente de los tejidos maternos distintos de la sangre" (Mossman, 1987).

Este modo reproductivo que presenta la especie es llamado, histotrofia lipídica definitiva, el cual se presenta en rayas únicamente, en este modo, el útero esta vascularizado para la formación del trofonemata las cuales se van a introducir en el embrión por medio de las branquias y boca. En la mayoría de rayas con este modo reproductivo el histótrofo es elaborado por criptas secretoras (Hamlett *et al.*, 1996).

Numéricamente hablando, las capturas de rayas han aumentado en sitios de captura a través del Golfo de California, siendo estas un componente significativo en el total de extracción. *Gymnura* spp. es la especie más capturada de todas las rayas registradas en la pesca artesanal de elasmobranquios de esta región y esta representa en gran proporción en la extracción de pesca incidental en comparación con otros batoideos (Villavicencio-Garayzar, 1995; Bizzarro *et al.*, 2007).

El crecimiento en la explotación de las rayas y la falta de medidas de manejo correspondientes, son factores preocupantes porque la mayoría de los elasmobranquios poseen historias de vida característica (p. ej. prolongada longevidad, lento crecimiento, baja fecundidad, edad de madurez tardía) que pueden severamente restringir su capacidad de resistir una presión de pesca o recuperarse de una sobreexplotación (Bizarro *et al.*, 2009).

La susceptibilidad de los elasmobranquios a la explotación pesquera, hace indispensable para los administradores en materia de recursos marinos, el conocimiento de los periodos reproductivos de las especies sujetas a explotación comercial y de aquellas que se consideran recursos potenciales (Walker, 2004). La información con la que se dispone hasta el momento sobre esta especie es limitada, algunos autores han trabajado con la taxonomía del grupo, o con aspectos reproductivos de la familia. Sin embargo, no existen datos suficientes específicos, que permitan hacer un plan de manejo adecuado para la extracción de la raya mariposa.



Figura 1. Macho de *Gymnura marmorata* (Cooper, 1864).

2. ANTECEDENTES

Beltrán-Félix *et al.* (1986) en Bahía Almejas, reportan como hembras maduras a los ejemplares con tallas superiores a los 86 cm de ancho de disco (AD), las que expulsaban sus crías cuando eran llevadas a bordo. Sin embargo entre los intervalos de tallas de 66 y 76 a 86 cm de AD, solo se encontraron dos y un ejemplares, respectivamente.

Villavicencio-Garayzar (1993) describe la biología reproductiva de *G. marmorata* en la costa occidental de la Península de Baja California. Este trabajo fue realizado en Bahía Almejas, en el Estado de Baja California Sur. Describe a esta especie con dos oviductos funcionales. Con una talla de madurez para machos de 45 cm de AD en adelante y para hembras de 74 cm de AD en adelante. Las hembras con 82 cm de AD en adelante fueron portadoras de embriones grandes. Otros organismos con talla superior a los 90 cm de AD, tenían los oviductos dilatados, indicando que la expulsión de crías se había llevado a cabo.

La proporción de sexos fue de 1.9:1 con un dominio de los machos sobre las hembras. En lo que se refiere a la fecundidad esta fue dependiente de la talla materna. Los embriones presentaron tallas promedio mayores en marzo. Y las crías nacen con tallas entre 14 y 26 cm de AD. La abundancia encontrada por Villavicencio-Garayzar (1993) fue mayor durante la primavera-verano, cuando se registró el 80% del total anual capturado. Concluye que la raya mariposa entra en Bahía Almejas a expulsar sus crías en mayo, permaneciendo solo algunas hembras hasta agosto.

En otros estudios, proponen que varias especies de rayas como *G. marmorata* (Villavicencio-Garayzar, 1993) *G. altavela* (Daiber & Booth, 1960) *Urolophus halleri* (Babel, 1967), *D. longus* (Villavicencio *et al.*, 1994) y en algunos tiburones (Pratt & Casey, 1990) se ha observado una relación entre el número de embriones y la talla materna.

Posteriormente Dávila (2002), en un estudio realizado en la costa occidental de B.C.S. Propone que la talla de primera madurez para *G. marmorata*, en los

machos se estima en 41 cm de AD, mientras que en las hembras de 68 cm de AD, con el ovario izquierdo y los dos oviductos funcionales. Presentando un periodo de gestación anual de 9 a 12 meses y una expulsión embrionaria durante los meses de primavera-verano y una fecundidad de 2 a 9 embriones por hembra y una talla de nacimiento calculada entre los 21 y 26.5 cm de AD.

La presencia de machos y hembras de *G. marmorata* en Bahía Almejas es aparentemente regulada por la temperatura del agua entrando después de marzo-abril cuando las temperaturas son mínimas y alcanzando sus valores máximos en julio-agosto cuando también se alcanzan las temperaturas máximas. Posteriormente los organismos salen del lugar cuando la temperatura comienza de nueva cuenta su ascenso y regresan hasta el próximo año. En este estudio las hembras fueron más abundantes que los machos casi durante todo el año, pero, en fases embrionarias hubo una mayor proporción de machos con respecto a las hembras. Los machos fueron más pequeños en talla que las hembras (Dávila, 2002).

Downton *et al.* (2007) describe a Bahía Magdalena en la costa occidental de B.C.S. como una zona de reproducción y refugio para algunos neonatos de elasmobranquios durante todo el año, incluyendo a *G. marmorata*.

El estudio más reciente hecho por Bejarano (2011) describe a *G. marmorata* con dos úteros desarrollados y con embriones en su interior. La presencia de vellosidades en las paredes uterinas (trofonemata), que liberan la “leche uterina” o histotrofo, rico en proteínas y lípidos, que representa una mejor transferencia de nutrientes para los embriones.

3. OBJETIVO GENERAL

Describir la biología reproductiva de la raya mariposa *Gymnura marmorata* en la costa occidental de Baja California Sur.

3.1 OBJETIVOS PARTICULARES

- ❖ Obtener la composición de tallas de los organismos capturados.
- ❖ Determinar la proporción de sexos para embriones, juveniles y adultos.
- ❖ Determinar la talla de primera madurez para machos y hembras.
- ❖ Estimar la fecundidad uterina.
- ❖ Caracterizar el ciclo reproductivo.
- ❖ Describir la estructura histológica de los órganos reproductores en hembras y machos.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 ÁREA DE ESTUDIO

Los dos sitios de muestreo son los campos pesqueros de Punta Lobos ($23^{\circ}25'N$ y $110^{\circ}15'W$) y San Lázaro ($24^{\circ}45'N$; $112^{\circ}8'W$) (Fig. 2), ubicados en el estado de Baja California Sur México, en la costa occidental de la Península de Baja California, que incluye la porción más sureña del Sistema de la Corriente de California (SCC), que forma el margen oriental del gran giro oceánico del Pacífico Norte y una de las importantes zonas de surgencia costera por viento (Lynn & Simpson, 1987).

Estacionalmente, las surgencias por viento incorporan a la superficie aguas subsuperficiales, frías, ricas en nutrientes a lo largo de la costa lo largo de la costa, por dentro de la Corriente de California (CC), una estrecha contracorriente fluye normalmente durante el otoño e invierno hacia el norte (Lynn & Simpson, 1987). Una parte importante de la productividad total del sistema proviene de la advección de la propia CC, especialmente la que se refleja en la abundancia de macrozooplancton (Bernal, 1979).

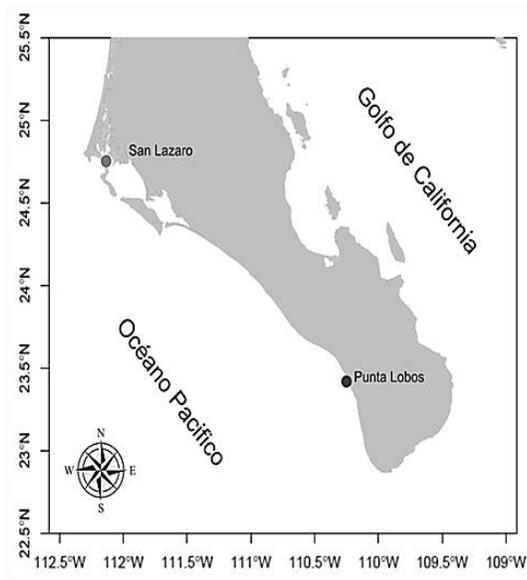


Figura 2. Localidades de muestreo ubicados en la costa occidental del Estado de Baja California Sur, México.

En la parte sur del sistema tanto las surgencias como la advección, las dos fuentes principales de enriquecimiento superficial, ocurren durante la primavera, al mismo tiempo que presentan los mínimos promedios de nivel medio del mar, que corresponden con la intensidad máxima de la CC. Por otra parte, la CC se debilita notablemente durante el verano/otoño, mientras que la contracorriente costera (CCC) se intensifica y transporta agua de origen tropical hacia el norte, calentando considerablemente toda el área (Lluch-Belda, 2000).

4.2 TRABAJO DE CAMPO

Se realizaron muestreos mensuales de marzo a agosto del año 2008 al 2012. Los organismos fueron obtenidos por medio de la pesca artesanal, la cual se realiza en embarcaciones de tipo panga, con redes de fondo de monofilamento con una luz de malla de 8 a 8.5 pulgadas.

Se utilizó una bitácora de campo para el registro de los datos morfométricos y condición del gonopterigio (órgano copulador en machos). A cada organismo se le tomaron las medidas de su ancho de disco (AD), distancia comprendida entre los extremos de las aletas pectorales (Hubbs & Ishiyama, 1968), posteriormente se diferenció de hembras y machos por la presencia de los gonopterigios (Álvarez del Villar, 1978) los cuales fueron medidos longitudinalmente desde la base hasta la punta más distal.

Una vez capturados los datos en bitácora, se realizó una incisión abdominal, se disecaron los órganos reproductores de los ejemplares en ambos sexos. Cada uno de estas partes se introdujo en formol al 10% dentro de bolsas plásticas y etiquetadas con los datos de fecha, localidad, sexo y número de registro del organismo.

4.3 ANÁLISIS ESTADÍSTICOS

La composición de tallas se obtuvo mediante una gráfica mensual de máximos y mínimos de la longitud del ancho de disco para cada sexo y con histograma de

intervalos de talla para cada sexo. La ocurrencia mensual se basó en la elaboración de un histograma de los organismos registrados a través de los meses de muestreo.

Para determinar la proporción de sexos se utilizaron el total de ejemplares de cada sexo y 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 1:1, la prueba estadística utilizada fue la χ^2 y la regla de decisión se realizó con una confianza del 95%.

Para estimar la talla de primera madurez en ambos sexos, se utilizó una curva logística ajustada entre la fracción de machos y hembras maduras como una función de AD, por medio del modelo siguiente:

$$P_{AD} = \frac{1}{1 - e^{a+bAD}}$$

Donde P_{AD} es la fracción de individuos maduros en la longitud de clase AD. Los parámetros a y b son constantes del modelo (Oddone *et al.*, 2007).

La fecundidad uterina se estimó por medio del promedio del número de embriones por hembra a través de los meses de muestreo (Pratt, 1979). Se calculó el promedio de la talla embrionaria mensual para obtener información del periodo de gestación, talla y mes de expulsión (Dávila, 2002). La talla de expulsión se estimó por medio de una comparación del tamaño máximo embrionario y el tamaño menor en las capturas. La estimación del periodo de gestación se obtuvo a través de la variación del tamaño de los embriones, (Yokota, 2012).

4.4 CRITERIOS UTILIZADOS PARA LA EVALUACIÓN DE MADUREZ

4.4.1 Hembras

Los criterios utilizados para evaluar el estado de madurez en hembras se basaron en la condición anatómica del aparato reproductor y la presencia o ausencia de embriones en el útero. Estos criterios de madurez se basaron en la escala macroscópica de especies vivíparas de elasmobranquios (ICES, 2010). El primer estadio, inmadura, los ovarios son variablemente visibles o pequeños, blanquecinos,

con folículos ováricos indistinguibles. El útero está filiforme y estrecho. En el segundo estadio, en desarrollo (inmadurez), los ovarios comienzan a agrandarse, con pequeños folículos de diferentes tamaños. Algunos folículos están relativamente grandes y amarillos.

El tercer estadio, demuestra la capacidad de reproducirse (madura), los ovarios ya están desarrollados, con folículos distinguibles y llenos de vitelo. El cuarto estadio, la gravidez temprana (materna), los úteros están ensanchados, redondeados y los embriones no pueden ser observados. El quinto estadio, gravidez media (materna), los embriones presentan un tamaño pequeño, con un saco vitelino relativamente grande.

El sexto estadio, gravidez tardía (materna), los embriones están completamente formados, con un saco vitelino reducido o ausente, los embriones son fácilmente medidos y definidos sexualmente. El séptimo estadio, regresión (madura), los ovarios están encogidos, sin desarrollo folicular (en degeneración) ya que están pasando por atresia. El diámetro de la glándula oviducal se puede reducir y el útero más ancho, colapsado, vacío y rojizo.

El ultimo estadio, regeneración (madurez), el ovario tiene pequeños folículos en diferentes estadios de desarrollo, con presencia de atrésicos, úteros alargados, con paredes flácidas y glándula oviducal distinguibles. Se realizó una gráfica de dispersión para observar la relación que hay del largo y ancho del ovario, glándula oviducal y útero con el ancho de disco de las hembras.

4.4.2 Machos

En machos, la evaluación de madurez se basó en la observación del grado de calcificación en el gonopterigio, el cual se designó con el número 0 como nada calcificado, 1, como semicalcificado y 2, como completamente calcificado (Hamlett, *et al.*, 2002). La relación del largo del gonopterigio con el ancho de disco de los organismos, de embriones y adultos se obtuvo mediante un gráfico de dispersión.

Para el análisis microscópico se eligieron zonas de corte en las estructuras objetivo, testículo, epidídimo, conductos deferentes y vesícula seminal, para machos. En el caso de las hembras las estructuras objetivo fueron el ovario, la glándula oviducal y el útero. En machos, se hicieron cortes transversales del testículo en todos los casos. Para las hembras, se realizaron cortes transversales en la mitad del ovario. Para la glándula oviducal y el útero los cortes fueron transversales y sagitales.

El proceso histológico comenzó con el lavado en agua corriente durante 6 a 8 horas, para eliminar el exceso de formol y urea. Posteriormente fueron colocadas en alcohol al 70% durante 3 días. Se prosiguió con la deshidratación, la cual consistió en cambios sucesivos de alcohol a concentraciones crecientes, en un procesador de tejidos, para posteriormente ser incluidas en Paraplast. Se realizaron cortes de 3 a 5 micras de grosor con un micrótomo tipo Microm HM 355S. Cada una de estas laminillas se colocó en la estufa para disolver la parafina excedente, aproximadamente durante 24 horas.

Se agruparon las laminillas de acuerdo a las tinciones objetivo, las cuales fueron Hematoxilina-Eosina, Feulgen, Tricrómica de Mallory y PAS (Humason, 1979). Finalmente cada laminilla fue montada en Citoseal. La observación para la descripción de las estructuras histológicas se hizo mediante un microscopio óptico. La captura de imagen se obtuvo mediante un equipo Olympus (DP2-BSW) versión 2.2.

5. RESULTADOS

5.1 COMPOSICIÓN DE TALLAS

De un total de 123 organismos recolectados de marzo a agosto del 2008 al 2012 en las dos localidades, se encontraron 39 machos, con la mayor abundancia en mayo ($n = 15$), marzo y junio con la menor ($n = 5$). En las hembras se obtuvieron un total de 84 individuos, mayo presento la mayor abundancia ($n = 38$), julio y agosto la menor ($n = 2$ y $n = 2$, respectivamente) (Fig. 3).

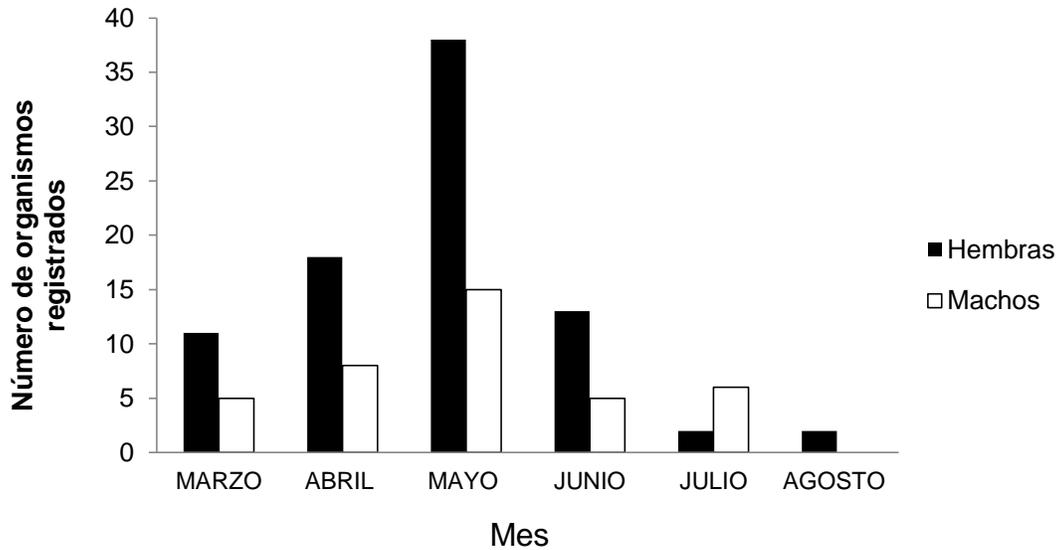


Figura 3. Número total de organismos registrados de *Gymnura marmorata* del año 2008 al 2012.

El intervalo de tallas del ancho de disco encontrado, del total de organismos muestreados de *G. marmorata*, fue de 53 y 131 cm de AD para ambos sexos, con una media registrada de 79.6 cm AD.

5.1.2 Machos

Para los machos la media obtenida fue de 67.9 cm, con un intervalo de tallas que van de los 53 a los 99 cm de AD (Fig. 4).

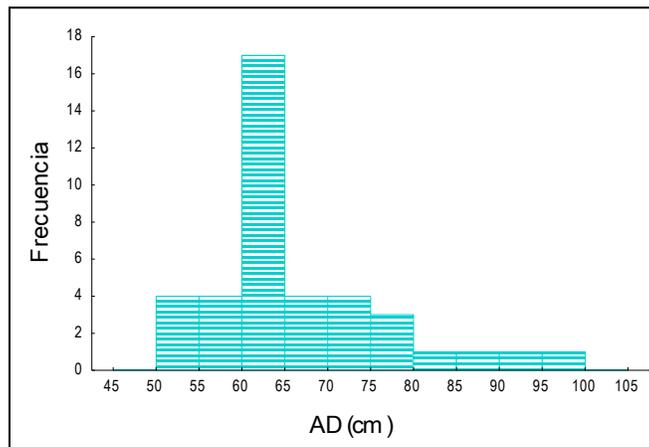


Figura 4. Intervalos de tallas del ancho de disco (AD) en los machos registrados de *Gymnura marmorata*.

El mes en el cual se registró el valor más alto de la media fue en julio; en marzo y julio se presentaron las tallas menores (Fig. 5).

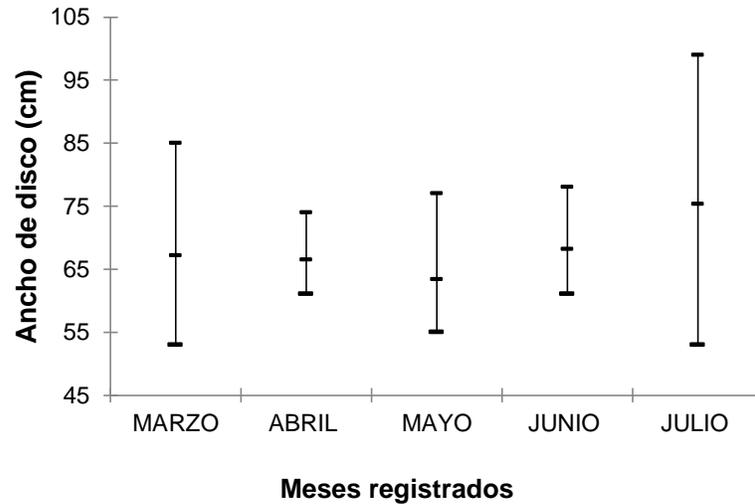


Figura 5. Intervalos de tallas del ancho de disco de los machos de *Gymnura marmorata* registrados en los años 2008 al 2012.

5.1.3 Hembras

En las hembras se registró una media de 85.8 cm AD, una talla mínima de 53 cm de AD y una máxima de 131 cm de AD (Fig. 6).

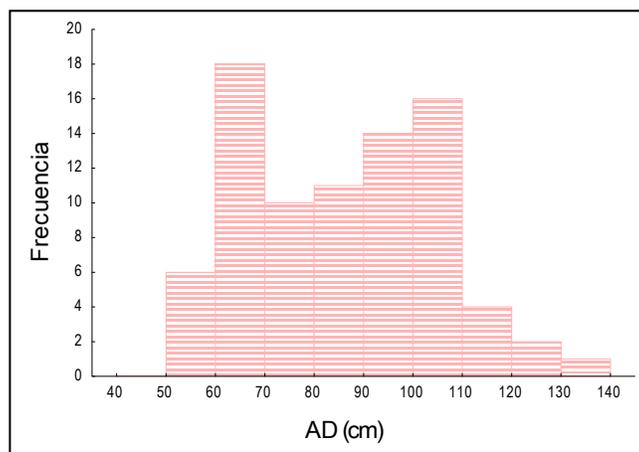


Figura 6. Intervalos de tallas del ancho de disco (AD) de las hembras de *Gymnura marmorata* registradas en los años 2008 al 2012.

En el mes de junio se presentó la hembra más grande, con una media de 94.5 cm de AD. Dado que en el mes de agosto, solo se obtuvo el registro de un organismo (61 cm de AD) el mes en el cual se registró con la media de la hembra más chica, fue mayo (Fig. 7).

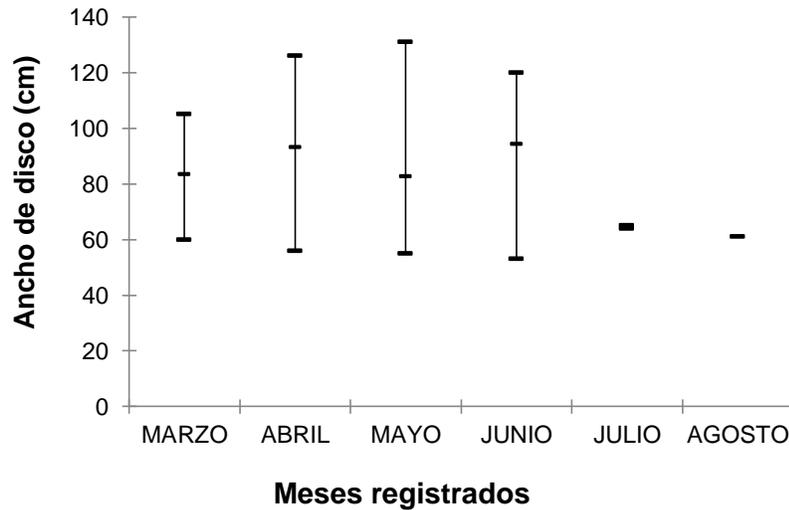


Figura 7. Intervalos de tallas del ancho de disco de las hembras de *Gymnura marmorata* registradas en los años 2008 al 2012.

5.2 PROPORCIÓN DE SEXOS

Del total de organismos muestreados (n=123), se registró que 84 fueron hembras y 39 machos, obteniendo una proporción sexual de 2.15H: 1M. La prueba estadística de χ^2 obtenida ($\chi^2=16.46$ $p<0.05$) indica que en los organismos registrados, existen diferencias significativas entre la proporción sexual de la población muestreada.

5.3 TALLA DE PRIMERA MADUREZ

5.3.1 Machos

Todos los machos registrados fueron maduros. La talla mínima registrada fue de 53 cm AD, con las condiciones del gonopterigio de individuos maduros, esto es,

que todos los organismos que se estudiaron, presentaron grado de rotación de 180°, la calcificación se presentó como semicalcificados y calcificados y las gónadas presentaban esperma.

5.3.1.2 Gonopterigios

La talla mínima encontrada de los gonopterigios en los organismos muestreados, fue de 5 cm de longitud y la máxima de 15 cm. Las condiciones del gonopterigio, como el grado de calcificación y la rotación variaron de un organismo a otro, sin depender de la talla para presentar ciertas características. Estas características no definieron la madurez ya que no existió relación entre el ancho de disco del organismo, la longitud del gonopterigio y las condiciones de este.

En la etapa madura no se encontró relación entre el largo del gonopterigio y el ancho de disco de los organismos, sin embargo, en estadios embrionarios si existió esta relación (Fig. 8).

De acuerdo a las características mencionadas anteriormente, la talla estimada donde el 50% de la población fue madura, fue de 46.8 cm AD (Fig. 9).

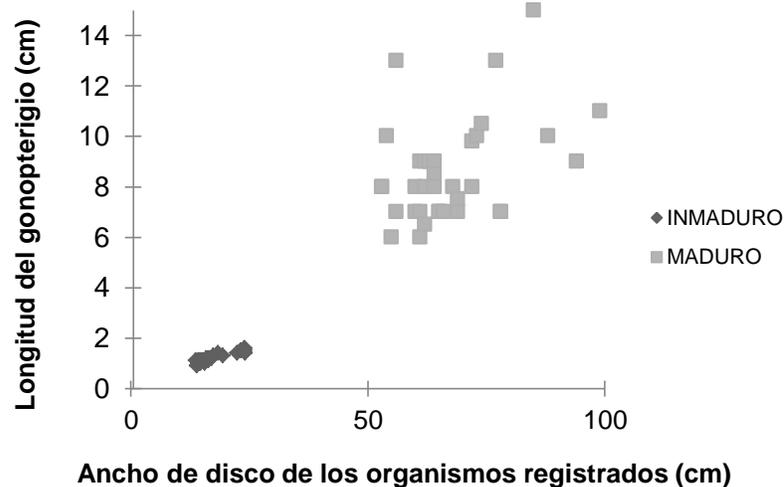


Figura 8. Relación de la longitud del gonopterigio con el ancho de disco (AD) de los machos de *Gymnura marmorata*.

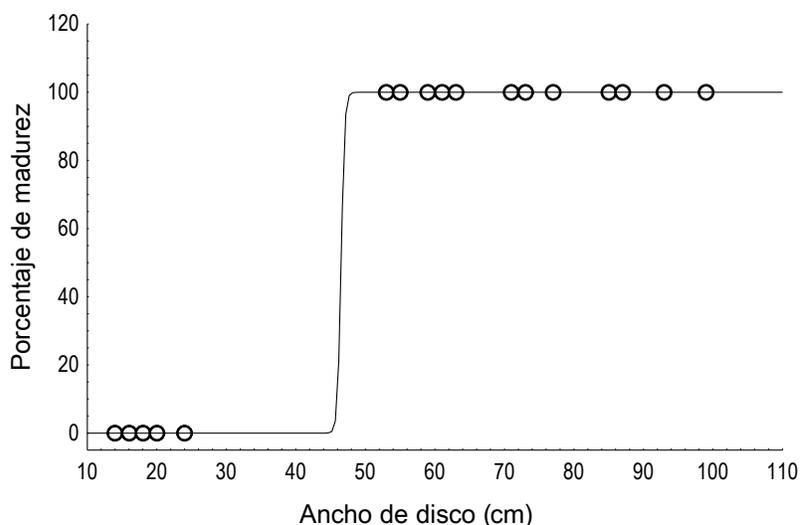


Figura 9. Talla estimada de primera madurez AD50 para machos de la especie *Gymnura marmorata*.

5.3.2 Hembras

5.3.2.1 Evaluación de madurez

De todas las hembras registradas, se pudieron observar tres diferentes estadios de madurez (Tabla 1). Las inmaduras, las cuales tenían un intervalo de talla de los 53 a 64 cm AD y con características morfológicas peculiares como el ovario sin desarrollar, glándula oviducal pequeña y úteros con vellosidades del trofonemata cortos.

El otro estadio que se presentó, en las hembras juveniles con tallas de 64 a 75 cm de AD, el ovario presentaba las primeras fases de desarrollo, con oocitos más grandes que en las inmaduras y en el útero el comienzo del desarrollo del trofonemata. En el tercer estadio, en el cual ya eran maduras con tallas de los 76 a 131 cm de AD el ovario ya estaba maduro con oocitos grandes, llenos de vitelo, con la glándula oviducal ligeramente más grande y ensanchada.

En los úteros el endometrio se caracterizó por estar revestido ampliamente por el trofonemata notable desarrollado, con una gran cantidad de vellosidades. En el

caso de las algunas hembras poseedoras de embriones, coincidió con un ovario tamaño pequeño y los folículos indiferenciados.

En otros casos se presentaron ovarios bien desarrollados con oocitos maduros, llenos de vitelo. Las glándulas oviducal presentaron características similares en esta fase. Los úteros estaban totalmente expandidos, con las paredes delgadas y con largas extensiones de vellosidades de color rojo (por su gran irrigación sanguínea) del trofonemata que rodeaban a los embriones y en ciertas áreas penetrando en los espiráculos y las aberturas branquiales, además los embriones estaban embebidos en una sustancia nutritiva incolora (leche análoga a la placenta en mamíferos).

Tabla 1 Condición anatómica del ovario, glándula oviducal y útero en los diferentes estadios de madurez de hembras de *G. marmorata*.

ESTADIO DE MADUREZ	Estadio	Rango AD (cm)	n	CONDICIÓN ANATÓMICA		
				Ovario	Glándula oviducal	Útero
INMADURA	1	53.0 - 64.0	15	Folículos sin desarrollar	Se distingue fácilmente del útero	Villi uterino corto, paredes uterinas delgadas
EN DESARROLLO (inmadura)	2	65.0 - 75.0	15	Comienzo del desarrollo folicular	Se distingue fácilmente del útero	Villi uterino corto, paredes uterinas delgadas
CAPAZ DE REPRODUCIRSE (madura)	3a	> 75.0	43	Folículos maduros, llenos de vitelo	Comienza a reducir el tamaño	Villi uterino comienza a engrosarse, paredes uterinas gruesas
GRAVIDEZ TARDÍA (madura)	3d	75.0 - 131.0	11	Folículos maduros/Folículos sin desarrollar	Se reduce el tamaño, no se distingue fácilmente del útero	Villi uterino largo, bien vascularizado, producción de histotrofo, paredes uterinas delgadas y expandidas

5.3.2.2 Talla de primera madurez en hembras

De acuerdo a las características morfológicas y de desarrollo sexual, se obtuvo la talla de primera madurez AD_{50} , calculada cuando el 50% de la población fue madura, la talla resultante fue de 73.3 cm AD (Fig. 10).

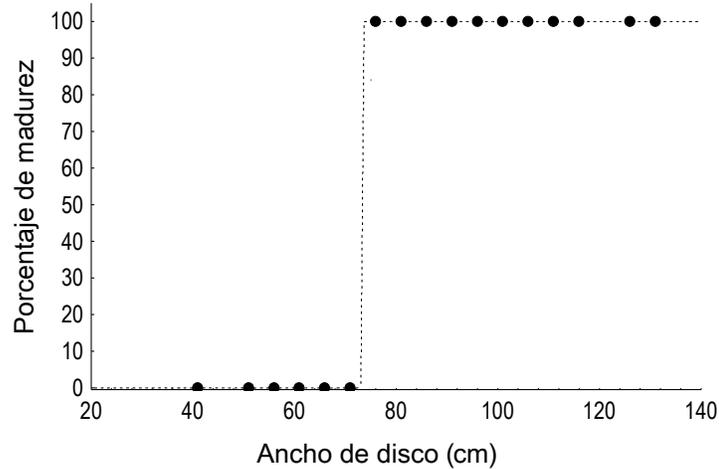


Figura 10. Talla estimada de primera madurez AD_{50} en hembras de *Gymnura marmorata*.

5.4 DESCRIPCIÓN ANATÓMICA DEL APARATOR REPRODUCTOR

5.4.1 Machos

El aparato reproductor de los machos, está compuesto por un testículo funcional y uno no funcional o asimétrico, ubicados en la parte anterior de la cavidad abdominal, sostenidos a esta por medio de la mesorquio y los ductos genitales (epidídimo, conductos deferentes y vesícula seminal) (Fig. 11).

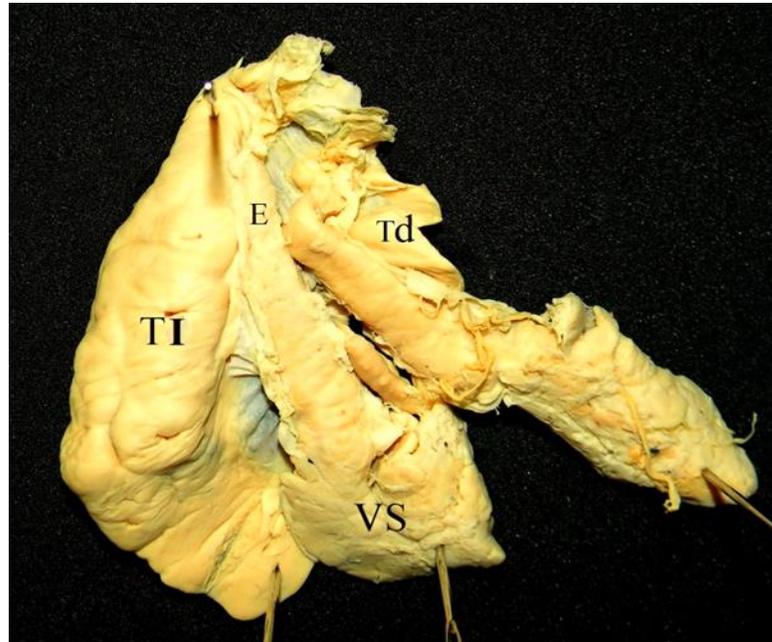


Figura 11. Aparato reproductor de un macho maduro de *Gymnura marmorata*. Se observan los dos testículos, el de mayor tamaño a lado izquierdo (TD) y el de menor del lado derecho (Td). Los ductos genitales, en la parte anterior el epidídimo (E) y en la parte posterior, la vesícula seminal (VS).

De acuerdo al análisis realizado en campo y en laboratorio, se encontró que los 39 organismos muestreados, presentaban un solo testículo funcional del lado izquierdo del organismo (posicionado ventralmente) y uno vestigial del lado contrario, el cual no presento el mismo tamaño al izquierdo. Este testículo no funcional, no desarrolla lóbulos testiculares y por consiguiente no genera células sexuales. Este se encuentra conectado a los conductos eferentes sin embargo no hay transmisión de semen hacia ellos.

El estudio biométrico se realizó a 12 organismos adultos con intervalo de tallas de 56 a los 74 cm de AD en el testículo funcional. En este análisis se encontró que la media del largo testicular (Ltes) fue de 6.5 cm y el ancho testicular (Ates) de 2.1 cm. Se obtuvo una amplitud de 5.1 a 8 cm de Ltes y 1.7 a 2.6 cm de Ates. El número promedio de lóbulos testiculares fue de 15 por testículo funcional. No se encontró

relación entre el Ltes y el Ates con el ancho de disco de los organismos (Ltes: $R^2 = 0.2732$; Ates: $R^2 = 0.4472$).

5.4.2 Hembras

El aparato reproductor de las hembras (Fig. 12), está compuesto por un ovario funcional (posicionado en la parte izquierda de manera ventral) y uno no funcional o asimétrico del lado contrario, glándulas oviducuales y úteros pareados. El aparato reproductor de las hembras se encuentra en la parte anterior de la cavidad abdominal y sostenido por medio del mesovarium a la columna vertebral del organismo.

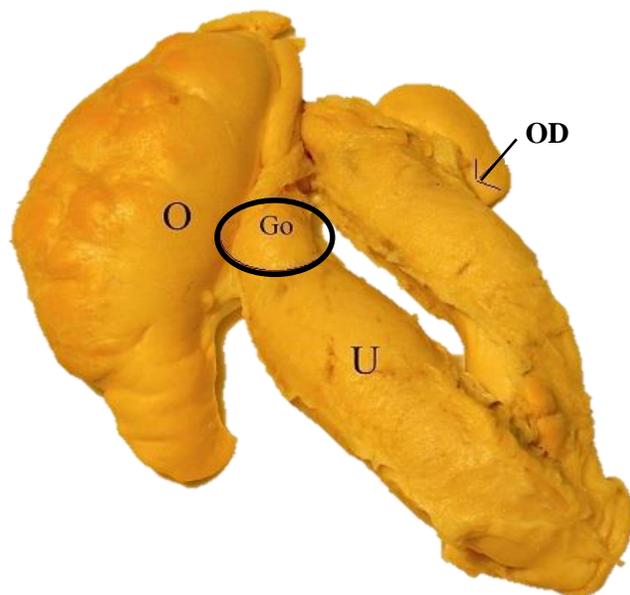


Figura 12. Aparato reproductor de una hembra madura El ovario derecho (O) presenta el mayor tamaño y a diferencia del ovario izquierdo (Oi) de menor tamaño. La glándula oviducal (Go) se posiciona en la parte anterior del útero (U).

Se analizaron los ovarios de 29 hembras, 4 inmaduras, 2 juveniles y 23 adultas, se midió el oocito más grande en el ovario, obteniendo un rango de 0.4 (de una hembra de 97 cm de AD) a 1.8 cm (en una hembra de 120 cm de AD) de diámetro en las hembras maduras y 0.5 a 0.7 cm de diámetro en las inmaduras (41 a

64 cm de AD). Las hembras adolescentes presentaron oocitos sin desarrollar con medidas por debajo de los 0.4 cm de diámetro.

Un total de 12 hembras adultas presentaron oocitos menores de los 0.4 cm de diámetro, sin desarrollo aparente. En las hembras grávidas se encontraron oocitos entre 1.3 a 1.6 cm de diámetro, y en una hembra grávida (131 cm de AD) sin desarrollo aparente de oocitos (< 0.4 cm de diámetro). Se obtuvieron medidas de largo y ancho del ovario, glándula oviducal y útero (Tabla 2).

5.4.2.1 Ovario

Para el ovario la media calculada del largo fue de 6.1 cm y el ancho de 2.9 cm de diámetro. El largo del ovario tuvo un rango de 3.3 a 10.9 cm de diámetro y el ancho de 1.7 a 5 cm de diámetro. No hubo diferencias significativas entre el largo ($R^2=0.31$) y ancho ($R^2=0.23$) del ovario con relación al ancho de disco de la hembra (Fig. 13).

Tabla 2. Longitudes máximas y mínimas del largo y ancho de las estructuras reproductivas del ovario, útero y glándula oviducal de las hembras de *Gymnura mamorata*.

			Longitud (cm)	AD hembra (cm)	Mes	Promedio (cm)
OVARIO	Largo	Min	3.3	64	Junio	6.1
		Max	10.9	105	Agosto	
	Ancho	Min	1.7	131	Mayo	2.9
		Max	5	120	Junio	
ÚTERO	Largo	Min	2.2	63	Mayo	5.6
		Max	18.5	94	Mayo	
	Ancho	Min	0.8	63	Mayo	2.7
		Max	10	94	Mayo	
GIÁNDULA OVIDUCAL	Largo	Min	0.7	63	Mayo	1.2
		Max	2.2	120	Junio	
	Ancho	Min	0.7	70	Marzo	1
		Max	1.6	120	Junio	

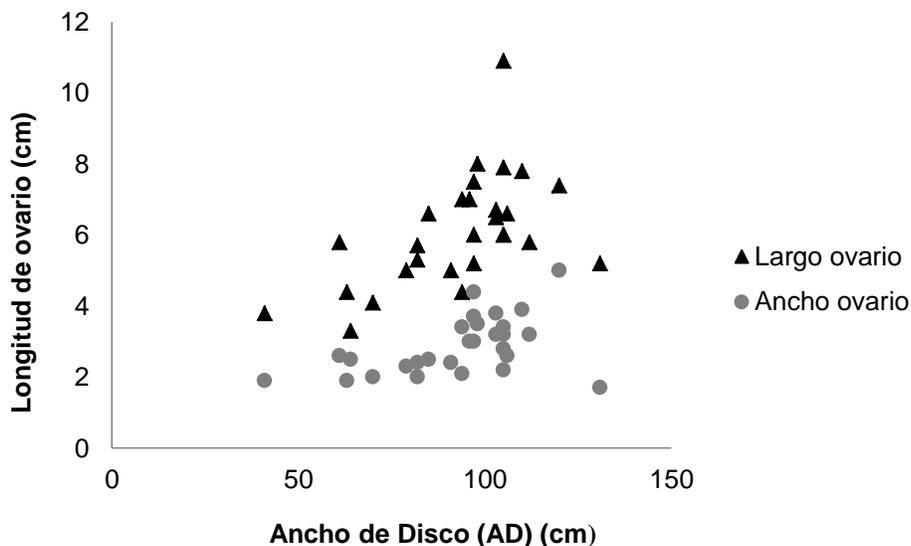


Figura 13. Relación del largo y ancho del ovario con el ancho de disco (AD) de las hembras de *Gymnura marmorata*.

5.4.2.2 Glándula oviducal

La glándula oviducal (G.O.) en *G. marmorata* presentó una forma tubular y peculiar al compararse con la de otras rayas, la parte anterior de la G.O. estuvo redondeada y separada del ovario por una pequeña porción de tejido. La parte posterior unida por tejido muscular al útero, y no se logró observar un oviducto como tal, ya que este tejido es delgado, está unido al tejido epitelial que reviste el útero y que forma las vellosidades del trofonemata.

Al realizar los cortes transversales para el análisis histológico se observó que la G.O. está compuesta por cuatro zonas que se disponen en forma circular del centro hacia la periferia, que a su vez se pudieron diferenciar dichas zonas por las diversas estructuras tisulares que las componen.

En el desarrollo morfológico de la G.O. no se observaron cambios distintivos a través de los diferentes estadios de madurez que se presentan en las hembras. Sin embargo, cuando la hembra estuvo grávida, la G.O. quedó compactada entre el ovario y el útero, disminuyendo su tamaño ligeramente.

Se obtuvieron las medidas de la G.O. El largo (medida comprendida desde la parte anterior hasta la base de la estructura) y el ancho. En estas variables no se observaron diferencias significativas de crecimiento en relación al AD o al estadio de madurez de la hembra (Fig. 14).

El largo de la G.O. tuvo una media de 1.2 cm y un rango de 0.7 a 2.2 cm. La relación entre el largo de la G.O. y el AD no fue significativa en relación al crecimiento del organismo ($R^2 = 0.2828$).

El ancho tuvo una media de 1 cm y un rango de 0.1 a 1.6 cm. La relación entre el ancho de la G.O. y el AD no fue significativa en relación al crecimiento de la hembra ($R^2=0.3327$).

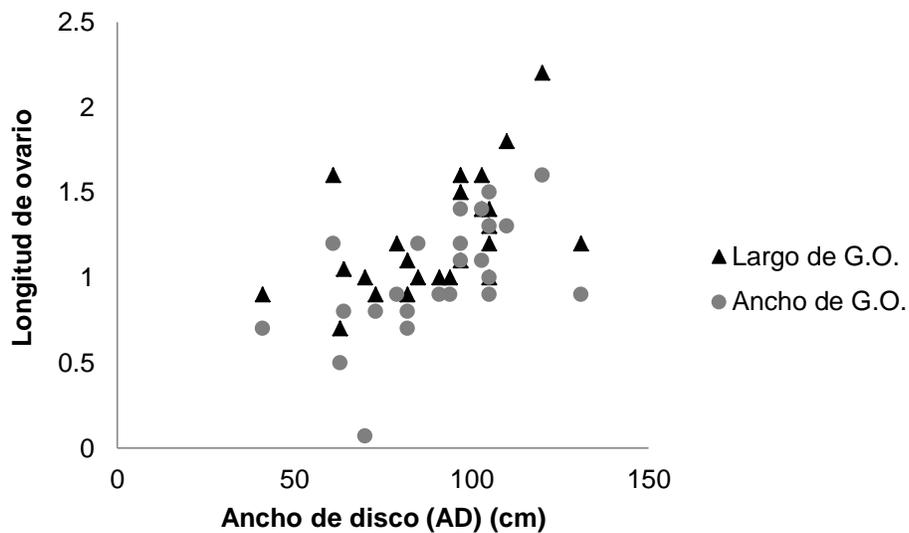


Figura 14. Relación del largo y ancho de la G.O. con el ancho de disco (AD) de las hembras de *Gymnura marmorata*.

5.4.2.3 Útero

El útero presentó tres formas bien definidas, en las diferentes etapas de desarrollo de las hembras registradas. En el estadio más temprano (hembra inmadura), el útero tuvo un tamaño pequeño en comparación con los otros estadios.

Se pudo apreciar que longitudinalmente está dividido en dos partes, la zona anterior más ancha que la parte inferior del útero. Este ensanchamiento se presentó de manera esférica y la parte baja de forma tubular más angosta. En relación al trofonemata, fue poca la cantidad de *villis* uterinos que presentaron, además de que fueron cortos y poco desarrollados.

En las hembras juveniles y maduras, el útero se observó ensanchado de sus paredes y con crecimiento en largo y ancho. La forma esférica de la parte anterior, deja de distinguirse de la parte baja, ya que esta se ensancha de manera tal, que se iguala ligeramente en tamaño a la parte anterior. La pared uterina está completamente cubierta por vellosidades del trofonemata que aumentaron su longitud y su grosor.

En las hembras grávidas el tamaño del útero aumentó significativamente a lo largo y ancho, en tanto, la pared uterina se tornó delgada, además de expandirse favoreciéndose el sostén y recubrimiento de los embriones. El trofonemata presentó una gran secreción de material nutritivo y las vellosidades están fuertemente irrigadas por líquido sanguíneo.

Las variables del útero obtenidas fueron el largo y el ancho, las cuales se observan en la Fig. 15. El largo obtuvo una media de 5.6 cm y un rango de 2.2 a 18.5 cm. La relación entre el largo y el AD de la hembra no presentó relación significativa ($R^2 = 0.1322$). El ancho tuvo una media de 2.7 cm y un rango de 0.8 a 10 cm y una relación no significativa entre el ancho y el AD de la hembra ($R^2 = 0.1033$).

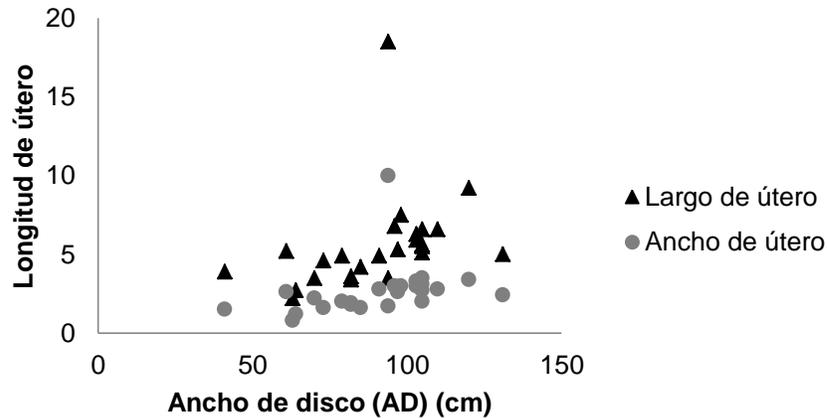


Figura 15. Relación del largo y ancho del útero con el ancho de disco (AD) de las hembras de *Gymnura marmorata*.

5.5 FECUNDIDAD UTERINA

Se registró un total de 11 hembras grávidas entre los meses de marzo a junio, en el total de años de muestreo, con una media de AD de las madres de 104.7 cm y un rango de tallas de 76 a 131 cm de AD y un promedio embrionario por hembra de 7.9 (Tabla 3).

Tabla 3. Relación mensual de las madres registradas y el AD con el número embrionario y la media de AD embrionaria de hembras y machos.

	Madre		Embriones		Media AD embriones (cm)	
	n madre	Media de la madre (cm)	n hembras	n machos	hembras	machos
MARZO	3	90	10	8	16.04	16.57
ABRIL	2	94	16	11	14.93	14.65
MAYO *	3	120	-	-	-	-
JUNIO	3	107.66	7	9	23.81	22.41

Se registraron 87 embriones, pero, para propósitos de la biometría solo se identificó el sexo y medidas de un total de 61 ejemplares, 28 machos y 33 hembras. Con una proporción sexual de 1.18H: 1M; la cual no fue significativa ($\chi^2= 0.040$; $p<0.05$).

La media del AD embrionario para ambos sexos fue de 17.4 cm de AD, con un rango de 13.6 a 26 cm de AD, abril resultó el mes que registro la media menor (14.8 cm) y junio el mes con la media más grande (23 cm) (Fig. 16). Las hembras registraron una media de 17.2 cm de AD con un rango que va de los 14 a los 26 cm y los machos una media de 17.7 cm y un rango de 13.6 a 24 cm.

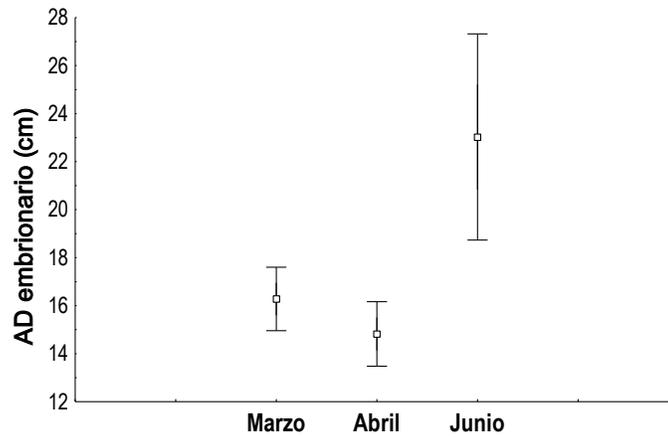


Figura 16. Medias del ancho de disco (AD) embrionario de *Gymnura marmorata* en los meses de registro.

En los embriones machos el promedio de la longitud del gonopterigio, fue de 1.2 cm. El coeficiente de correlación obtenido de la relación del ancho de disco embrionario contra la longitud del gonopterigio fue de $R^2 = 0.898$ (Fig. 17).

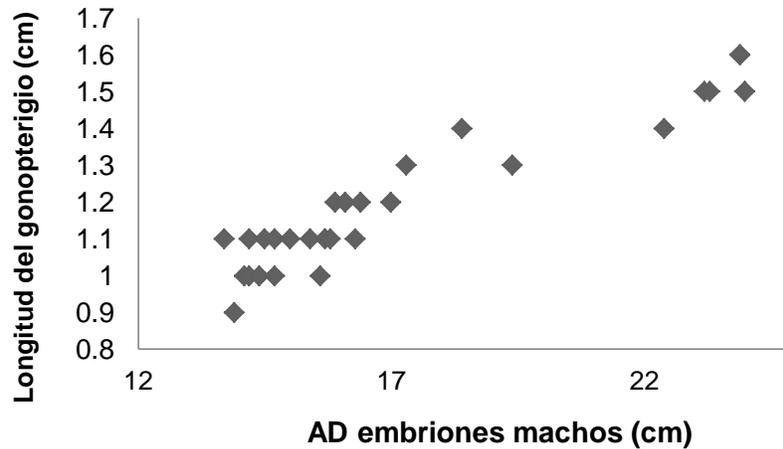


Figura 17. Longitud del gonopterigio en relación al ancho de disco (AD) embrionario en los machos de *Gymnura marmorata*.

5.6 CICLO REPRODUCTIVO

En el periodo de marzo a julio, se detectó el apareamiento, ya que durante estos meses se encontraron hembras con folículos maduros. El periodo de gestación se estimó de 9 a 12 meses y una talla de nacimiento de 23 cm de AD, siendo junio el mes de parto, con un ciclo reproductivo anual y sincrónico. Todos los meses de muestreo se encontraron hembras grávidas con folículos maduros

5.7 ESTRUCTURA HISTOLÓGICA

5.7.1 Machos

5.7.1.2 Testículo

Se describió el testículo izquierdo de *G. marmorata* como tipo compuesto. En este órgano, del lado izquierdo fue posible observar las diferentes fases de la espermatogénesis. Es notablemente de mayor tamaño que el derecho y en este último no se encontró ningún indicio de producción de células sexuales.

El testículo izquierdo está constituido por los túbulos seminíferos distribuidos ampliamente por todo el testículo. Estos túbulos no presentaron una tendencia en su acomodo o distribución y aquellos túbulos caracterizados por la presencia de estadios más avanzados de la espermatogénesis, se localizaron cercanos a la periferia o túnica albugínea del testículo (Fig. 18). Los túbulos seminíferos se observaron embebidos en un sistema intersticial de capilares sanguíneos y tejido conjuntivo, todo este sistema está dentro del estroma testicular.

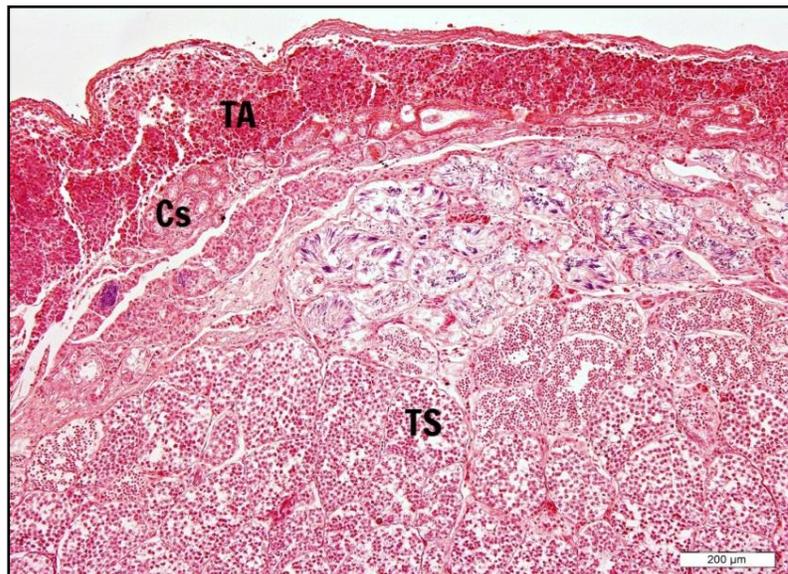


Figura 18. Microfotografía de testículo en corte transversal de un macho maduro de *Gymnura marmorata*. La Túnica albugínea (TA), los túbulos seminíferos (TS), el estroma y los vasos sanguíneos (Vs). Técnica Hematoxilina- Eosina, Barra = 200 µm.

Los túbulos seminíferos están formados por diversas capas de células de Sertoli, ubicadas en la membrana basal de cada túbulo (Fig. 19) y las células germinales que a su vez constituyen el espermatocisto. Cada túbulo está rodeado por un epitelio seminífero compuesto por tejido conjuntivo y un lumen que se encuentra en el centro o luz de cada túbulo.

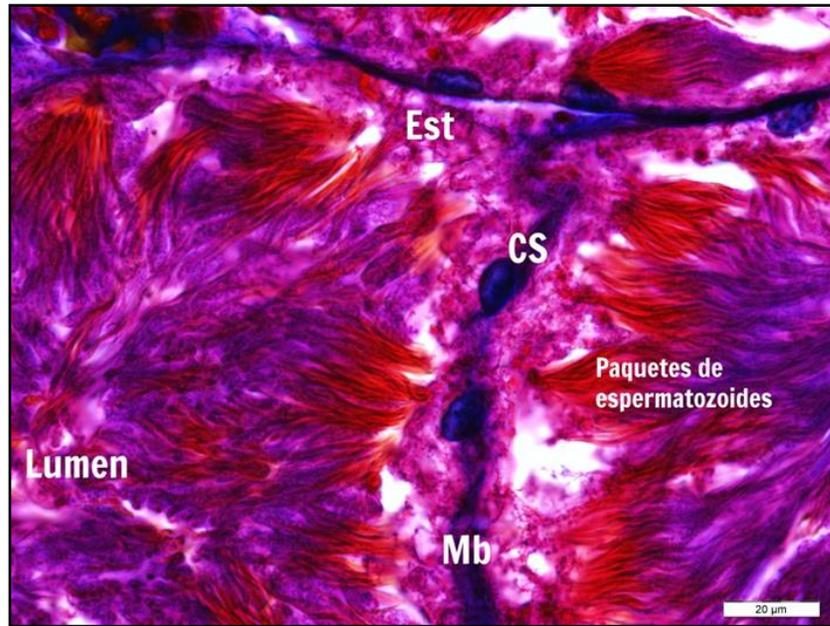


Figura 19. Microfotografía de túbulo seminífero en un testículo de macho maduro de *Gymnura marmorata*. Espermatocistos (Est), células de Sertoli (CS). Cada túbulo seminífero es rodeado por una membrana basal (Mb). Técnica de Tricrómica de Mallory, Barra = 20 μm.

5.7.1.3 Espermatogénesis

En los organismos utilizados para el análisis histológico se logró observar las seis fases de la espermatogénesis en el testículo derecho de *G. marmorata*, (Fig. 20 y 21). No se observaron variaciones del desarrollo gametogénico en relación con la talla del organismo o con el mes de registro. Todos los organismos observados presentaban las mismas fases de la espermatogénesis.

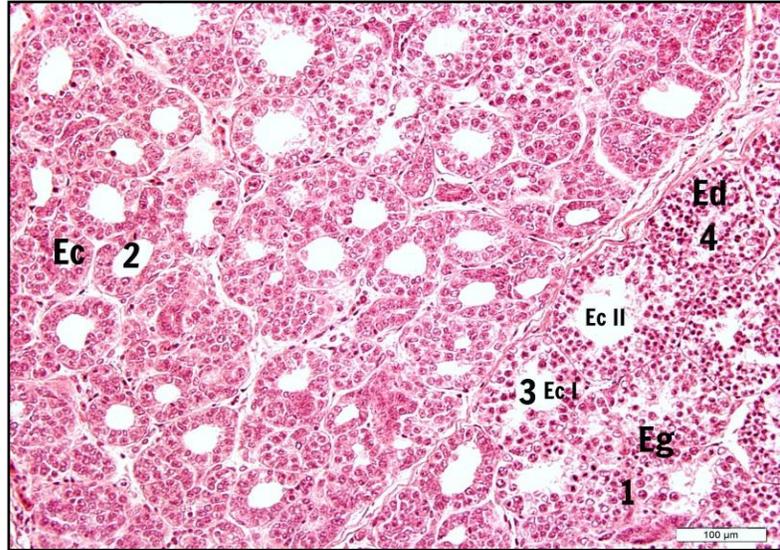


Figura 20. Microfotografía de testículo con corte transversal, en un macho de 72 cm de ancho de disco (AD) de *Gymnura marmorata*, en la cual se observan las primeras cuatro fases de la espermatogénesis. En la primera fase (1), células primarias o espermatogonias (Eg), (2) espermatocitos primarios (Ec), (3) espermatocitos primarios (Ec I), espermatocitos secundarios (Ec II). (4) espermatidas (Ed). Técnica Hematoxilina – Eosina, Barra = 100 μm.

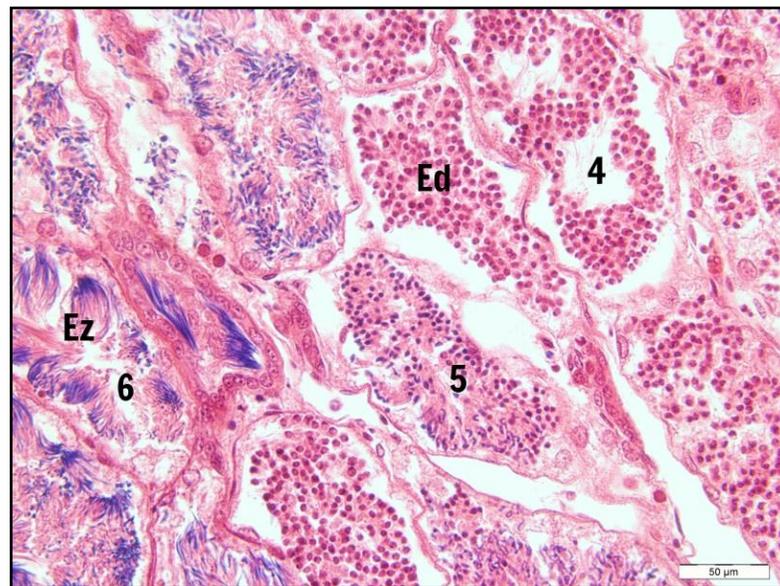


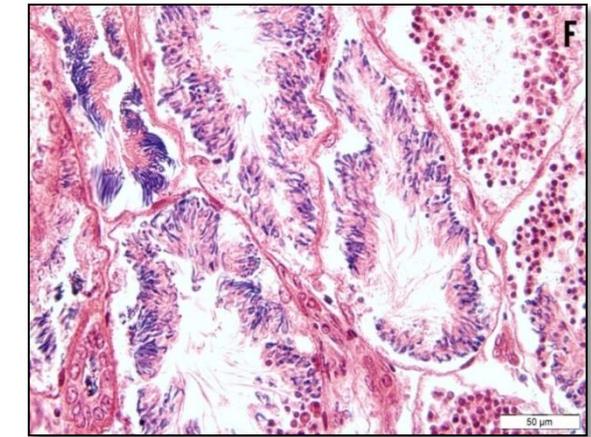
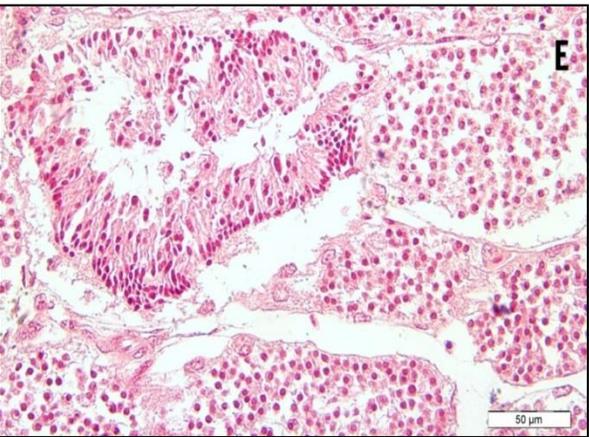
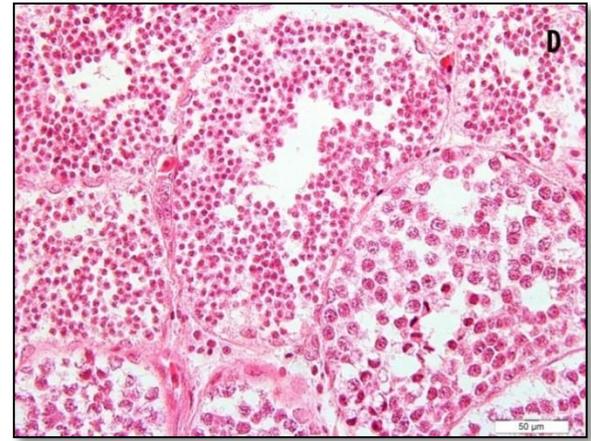
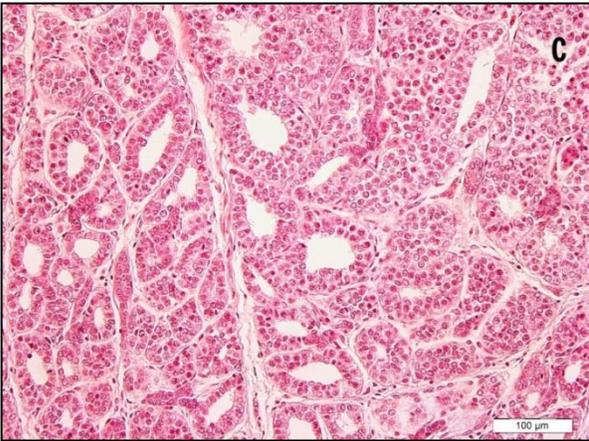
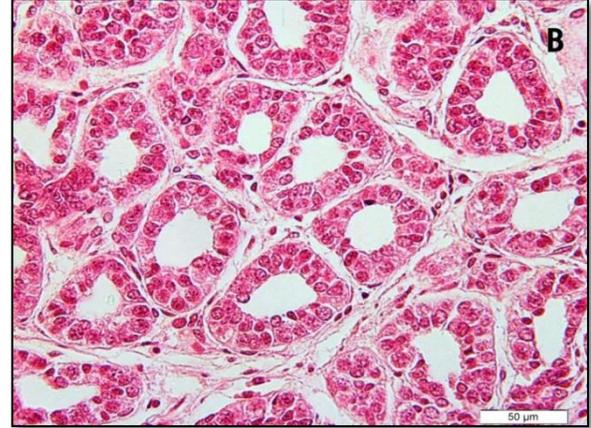
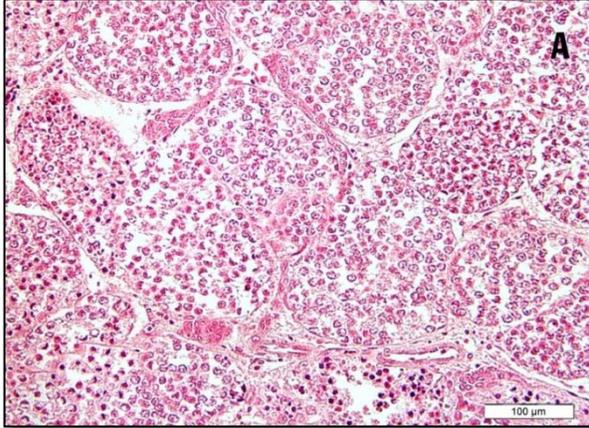
Figura 21. Microfotografía de testículo con corte transversal, en un macho maduro de 72 cm de ancho de disco (AD) de *Gymnura marmorata*. (4) espermatidas (Ed), (5) espermatidas (Ed), (6) espermatozoides maduros (Ez). Técnica Hematoxilina – Eosina, Barra = 50 μm.

En la primera fase se observan las células sexuales primarias o espermatogonias por todo el túbulo seminífero, sin ningún tipo de orden o tendencia en su acomodo (Fig. 22A). En la segunda fase, una vez que comenzó la división de las espermatogonias y desarrollo de las células de Sertoli se observó claramente como se ha formado el lumen del túbulo seminífero, ya que las células migraron radialmente hacia la periferia del túbulo seminífero (Fig. 22B).

La tercera fase se distingue por el final del proceso mitótico en las espermatogonias y la formación de los espermatoцитos primarios que completan la primera división meiótica para dar origen a la segunda división meiótica, en esta fase las células se observan de un menor tamaño y llenando por completo el túbulo seminífero, en esta fase no se observa un lumen o luz como tal (Fig. 22C). En la cuarta fase se observaron claramente la formación de las espermátides (resultantes de la segunda división meiótica), estas presentan un menor tamaño que el espermatoцитo y se encuentran por todo el túbulo seminífero.

En esta fase se comenzó a observar nuevamente la formación de la luz del tubo (Fig. 22D). La quinta fase se pudo diferenciar claramente por la formación del flagelo y la distinción de una cabeza en las espermátides, además de la presencia de un lumen. La cola de cada espermátida es corta y la cabeza ancha. No se observó un orden particular en su acomodo, aunque las colas estaban orientadas hacia el lumen del túbulo y las cabezas hacia la periferia de este (Fig. 22 E, F). La sexta fase, en la cual los espermatozoides ya están maduros, la cola está bien desarrollada, alargada y orientada hacia el lumen. No se observa una cabeza como tal, solo la forma en espiral y el alargamiento y ensanchamiento del espermatozoide.

En esta fase fue claro observar el acomodo en paquetes de los espermatozoides maduros. Cada paquete está formado por un espermatoцитo maduro, una célula de Sertoli, en la cual están insertados los espermatozoides ya maduros, este paquete se observó posicionado en la membrana basal del epitelio germinativo (o membrana basal solamente) del túbulo seminífero (Fig. 22G).



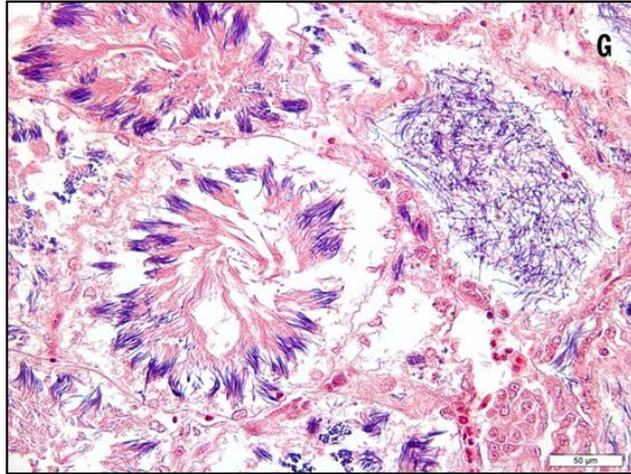


Figura 22. Microfotografía de corte transversal de testículo en un macho maduro de 62 cm de ancho de disco (AD) en *Gymnura marmorata*, en la cual se observan las diferentes fases de la espermatogénesis. A: Fase 1 Técnica Hematoxilina-Eosina (Barra = 100 µm); B: Fase 2. Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 50 µm; C: Fase 3. Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 100 µm; D: Fase 4. Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 50 µm; E, F: Fase 5. Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 50 µm; G: Fase 6. Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 50 µm.

5.7.1.4 Testículo derecho

Se observó que el testículo derecho es un órgano atípico carente de los componentes estructurales del testículo funcional, presente en batoideos, como los túbulos seminíferos, espermatocistos, células de Sertoli y por consiguiente no presenta desarrollo espermatogénico (Fig. 23).

Los componentes que caracterizan este órgano sin evidencia espermatogénica son comparables a la estructura de órganos parenquimatosos como las glándulas endocrinas, compuestas por células de tipo cromófilas (hipofisarias) y un sistema de irrigación sanguínea abundante, sin conductos (Fig. 23 y 24). Las células que lo componen están embebidas en capilares y un tejido conectivo fino. Esta estructura atípica está cubierta por una capsula de tejido colágeno, similar a la túnica albugínea en el testículo funcional.

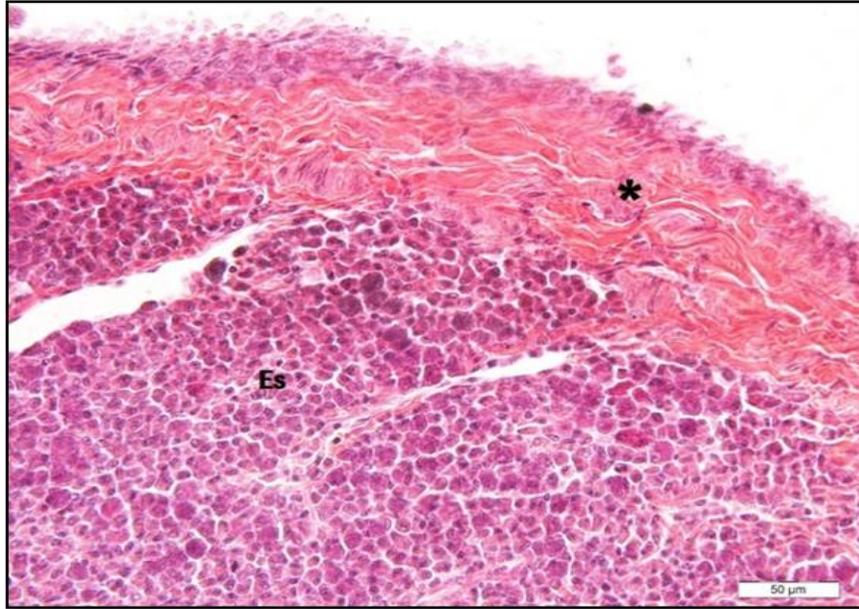


Figura 23. Microfotografía de corte transversal de testículo derecho en un macho maduro de *Gymnura marmorata*. El asterisco (*) señala la capsula que envuelve al órgano. El estroma (Es) abarca toda la estructura del órgano asimétrico. Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 50 μm.

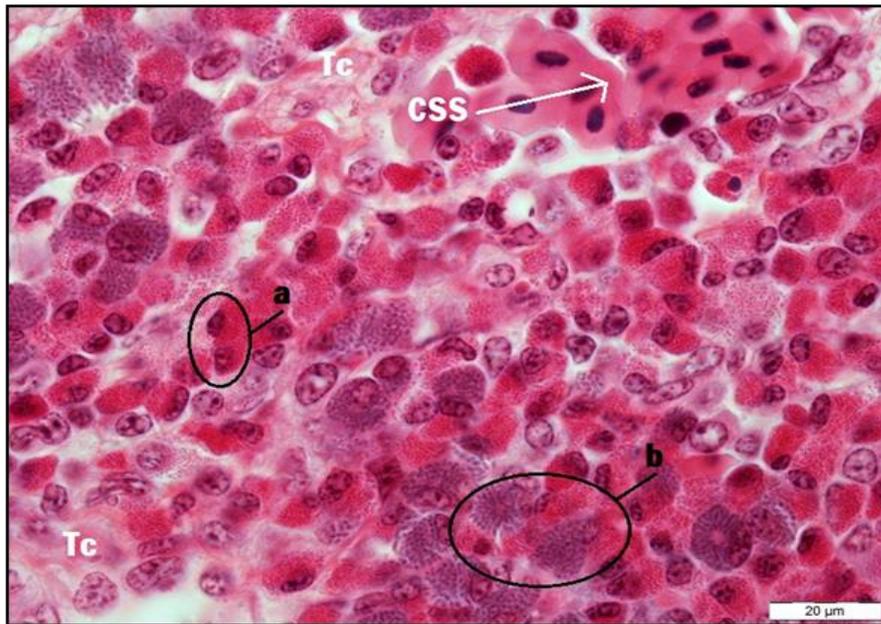


Figura 24. Microfotografía de corte transversal de testículo izquierdo en un macho maduro de *Gymnura marmorata*, en el cual se observan las células sanguíneas (css) y tejido conectivo fino de fibras colágenas (Tc) por todo el órgano embebiendo las células acidófilas (circulo en a) y basófilas (circulo en b) que componen este órgano. Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 20 μm.

5.7.1.5 Epidídimo

El epidídimo de *G. marmorata* presentó túbulos (Fig. 25) en toda la cavidad de la estructura de transición del esperma. Estos túbulos están rodeados por fibras colágenas que les dan soporte y estructura, presentaron además, una membrana basal sobre la cual se posiciona el epitelio cilíndrico simple. Estas células presentan estereocilios, dirigidos hacia el lumen de cada túbulo. En ninguno de los cortes realizados se pudieron observar espermatozoides.

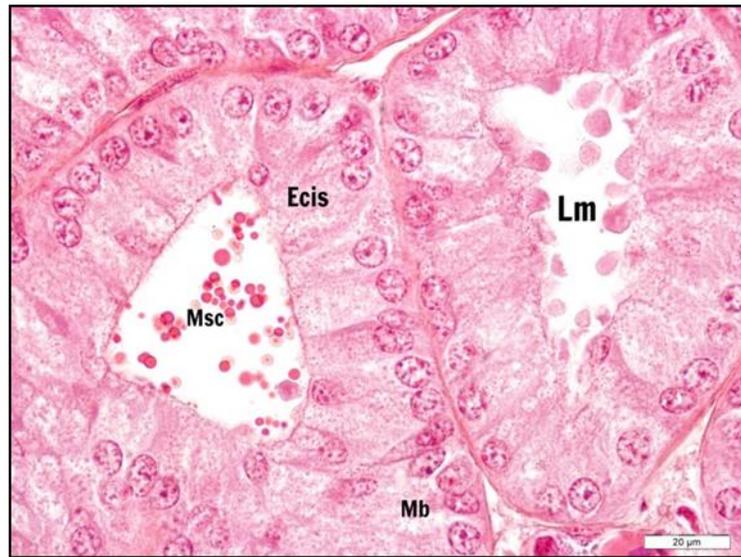


Figura 25. Microfotografía de corte transversal de epidídimo en un macho maduro de *Gymnura marmorata*. La imagen muestra conductos estructurados por epitelio cilíndrico simple (Ecis) sobre una membrana basal (Mb) que rodea a todo el conducto. Las células epiteliales presentan estereocilios dirigidos hacia el lumen (Lm) de cada conducto, en el cual se encuentra material de secreción. Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 20 µm.

El epitelio cilíndrico simple característico del epidídimo, presentó células secretoras de material enzimático. Este material de secreción se encontró depositado en el lumen o luz de cada túbulo, teniendo la forma de gránulos o gotas dispersas en el centro de cada estructura (Fig. 26).

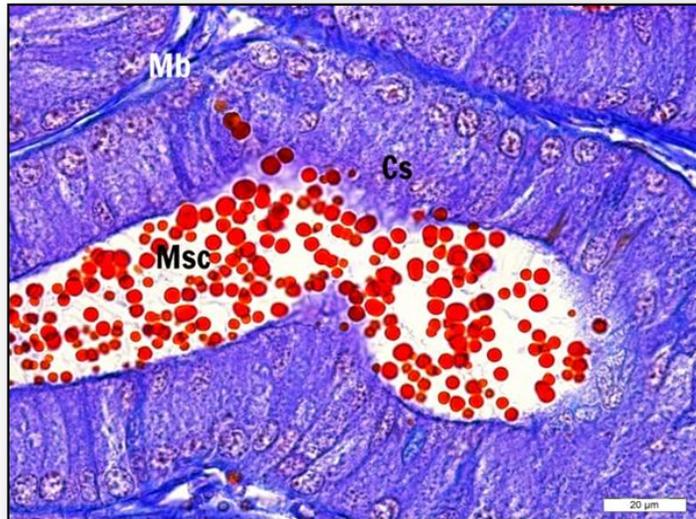


Figura 26. Microfotografía de corte transversal de epidídimo en un macho maduro de *Gymnura marmorata*. Se observa en la luz del tubo el material de secreción (Msc) o gotas lipídicas. La membrana basal (Mb) es delgada de fibras musculares lisa circular la cual rodea y soporta a las células secretoras. Técnica de Tricrómica de Mallory, Barra = 20 μ m.

5.7.1.6 Vesícula seminal

La vesícula seminal presento elongaciones provenientes del tejido de recubrimiento que rodea a la estructura (Fig. 27). Estas elongaciones forman pliegues que abarcan toda la vesícula seminal, formando canales a través de la luz del conducto de la vesícula. Se observaron fibras colágenas y tejido muscular liso rodeando toda la estructura. Los espacios los cuales son formados por los pliegues, se encontró material de secreción o enzimático en el cual están embebidos los espermatozoides

Se observaron dos tipos de epitelio, el primero de tipo pseudoestratificado ciliado con células secretoras recubre toda la estructura, este tejido está rodeado por fibras colágenas que proporcionan soporte a toda la vesícula seminal. El segundo epitelio fue de tipo cilíndrico simple, este epitelio forma elongaciones de la vesícula, las cuales a su vez mostraron tejido muscular liso en su interior (Fig. 28 y 29).

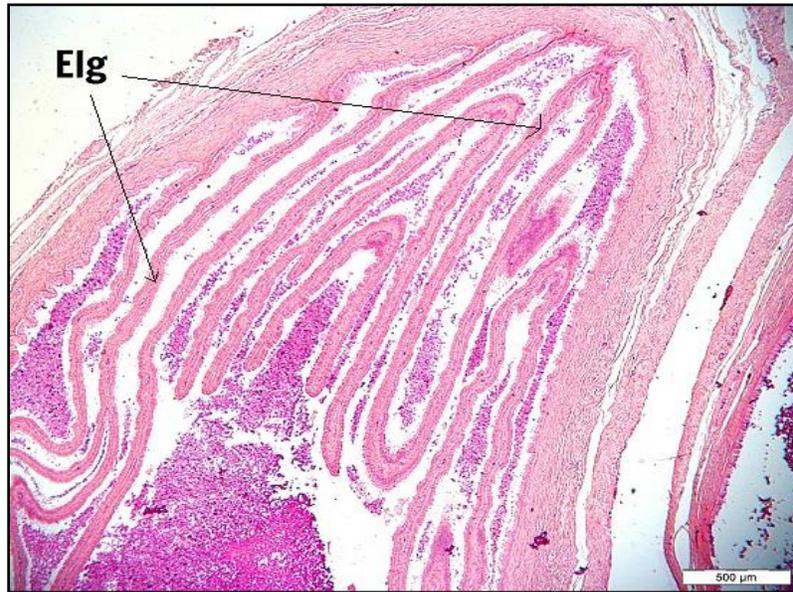


Figura 27. Microfotografía de corte transversal de vesícula seminal de un macho maduro de *Gymnura marmorata*. Elongaciones (Elg) provenientes del tejido de recubrimiento de la vesícula, formando pliegues que abarca toda la estructura. Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 500 μm.

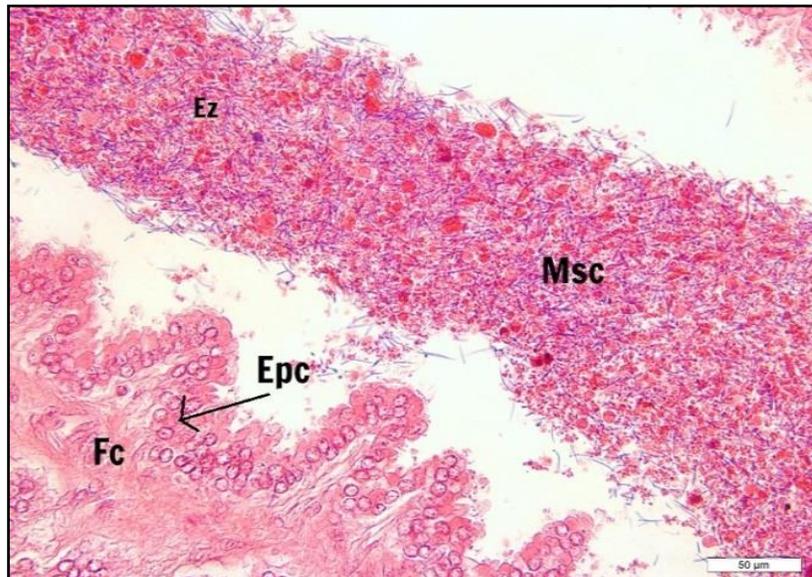


Figura 28. Microfotografía de corte transversal de vesícula seminal de un macho maduro de *Gymnura marmorata*. La estructura está rodeada de fibras colágenas (Fc), el epitelio que rodea toda la vesícula es de tipo pseudoestratificado ciliado (Epc). En la luz de la estructura se encuentran los espermatozoides (Ez) embebidos en el material de secreción (Msc). Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 50 μm.

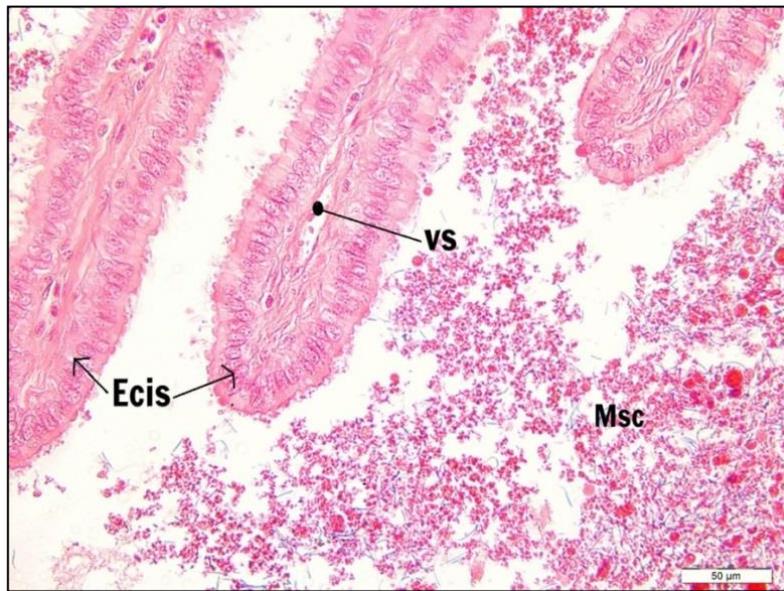


Figura 29. Microfotografía de corte transversal de vesícula seminal de un macho maduro de *Gymnura marmorata*. Las elongaciones están formadas por epitelio cilíndrico simple (Ecis) con un vaso sanguíneo central (vs). Por toda la vesícula se encuentra el material de secreción (Msc). Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 50 μm.

No se observaron asociaciones de espermatozoides de tipo espermatozeugmata o espermatóforos en la vesícula seminal de *G. marmorata*. Sin embargo, en algunas zonas se encontraron espermatozoides posicionados con las cabezas asentadas, sobre las células del epitelio de las elongaciones de la vesícula, sin presentar un patrón que defina la posición de estos (Fig. 30).

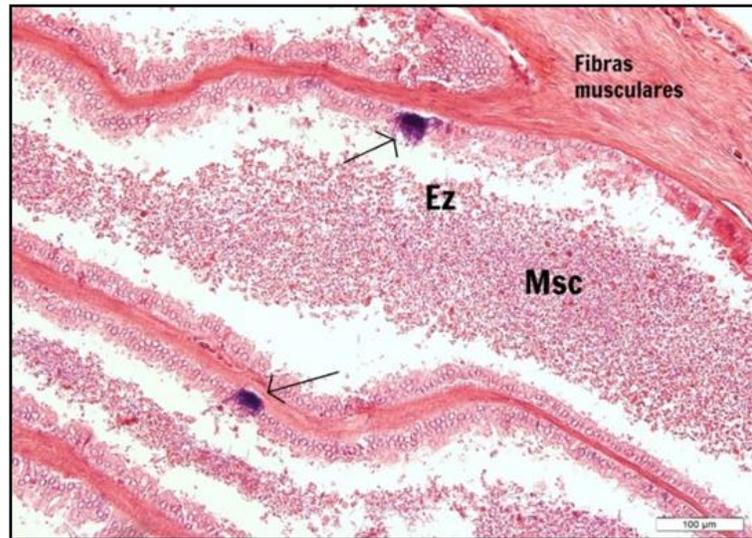


Figura 30. Microfotografía de corte transversal de vesícula seminal de un macho maduro de *Gymnura marmorata*. Dos grupos de espermatozoides (flechas) sobre las elongaciones, material de secreción (Msc) con espermatozoides (Ez) y fibras colágenas. Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 100 μ m.

5.7.2 Hembras

5.7.2.1 Ovario

EL ovario de las hembras maduras de *G. marmorata* está rodeado por una túnica albugínea que rodea la superficie externa del todo el órgano (Fig. 31). El estroma se caracteriza por presentar una zona germinal en la parte anterior del ovario, el estroma ovárico, el cual embebe las estructuras de este órgano y en la cual se observaron oocitos en diferentes fases de desarrollo. Algunas células del órgano epigonal el cual está constituido por linfa y material hematopoyético, se pueden observar dentro del estroma ovárico (Fig. 32 y 33).

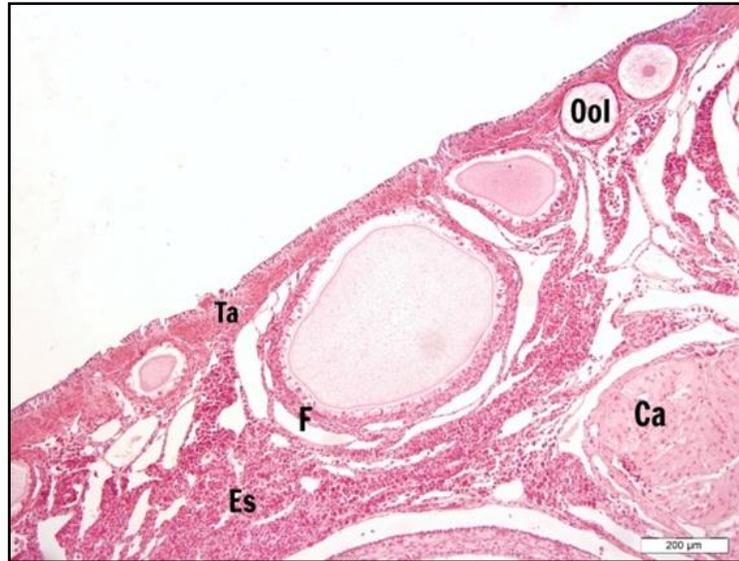


Figura 31. Microfotografía de corte transversal de ovario de una hembra madura de *Gymnura marmorata*. Estructuras ováricas, túnica albugínea (Ta), oocitos primarios (Ool), folículos en diferentes fases de desarrollo y cuerpo atrésico (Ca). Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 200 µm.

Se observaron oocitos primarios o previtelogénicos justo debajo de la túnica albugínea, los cuales estaban rodeados por células foliculares. Los folículos maduros se caracterizaron por presentar vitelo (vitelogénesis) dentro del oocito, además de una zona pelúcida bien definida, la teca interna y teca externa.

En todas las hembras maduras de *G. marmorata* se observaron cuerpos atrésicos, formados por células foliculares, resultado de la ovulación (Fig. 33 y 34).



Figura 32. Microfotografía de corte transversal de ovario de una hembra madura de *Gymnura marmorata*. Dos oocitos (Oo) en la misma fase de desarrollo (folículo previtelogénico) en el interior del folículo, se observa la zona pelúcida (Zp), vitelo (v) y las células foliculares (Cf). Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 50 μm.

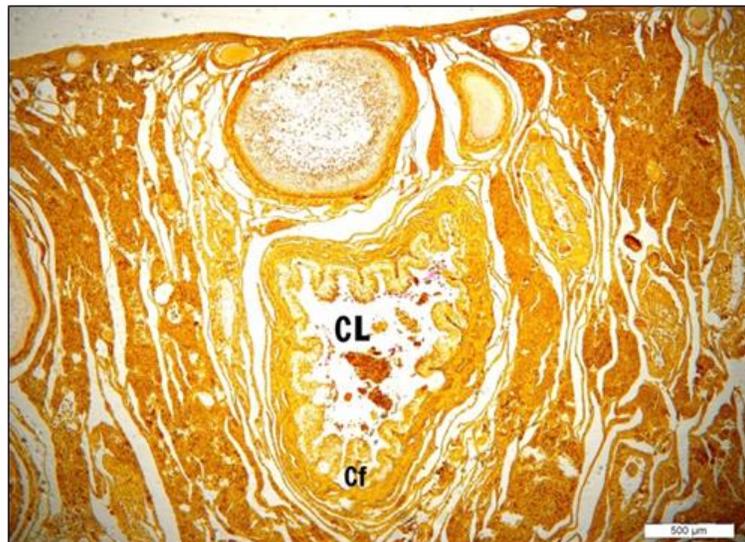


Figura 33. Microfotografía de corte transversal de ovario de una hembra madura de *Gymnura marmorata*. Invaginaciones de las células foliculares (Cf) formando el cuerpo lúteo (CL). Técnica de PAS, Barra = 500 μm.

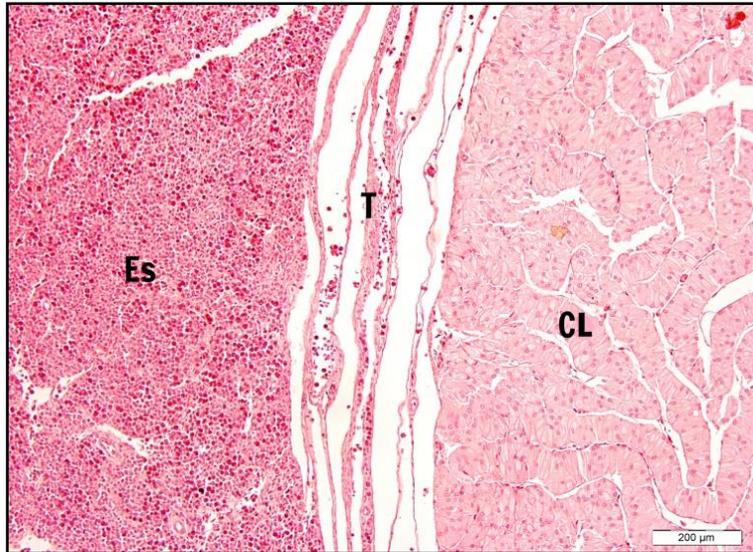


Figura 34. Microfotografía de corte transversal de ovario de una hembra madura de *Gymnura marmorata*. Cuerpo lúteo (CL), teca externa (T) y estroma ovárico (Es). Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 200 μ m.

5.7.2.2 Glándula oviducal

En *G. marmorata* la glándula oviducal estuvo compuesta en su mayor parte por túbulos oviducal (Fig. 35), formados por epitelio pseudoestratificado ciliado. Cada túbulo está rodeado por una membrana basal, además el material intersticial está compuesto de fibras colágenas y vasos sanguíneos.

En la luz o lumen de la glándula oviducal desembocan las placas (Fig. 36) que forman los ductos secretores, estas placas están formadas por epitelio pseudoestratificado columnar ciliado. No se encontró almacenaje de espermatozoides en ninguna de las zonas de la glándula oviducal.

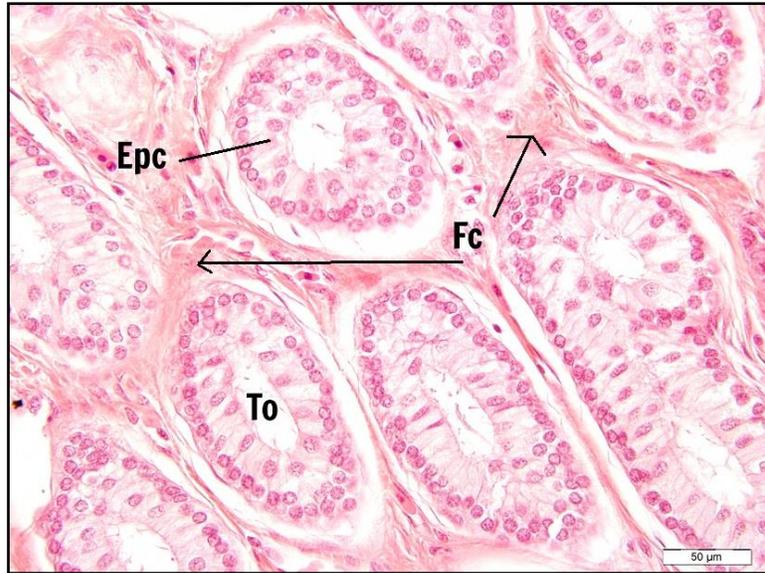


Figura 35. Microfotografía de corte transversal de glándula oviducal de una hembra madura de *Gymnura marmorata*. Las fibras colágenas (Fc) rodean cada túbulo oviducal (To) los cuales están formados por epitelio pseudoestratificado ciliado (Epc). Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 50 μm .

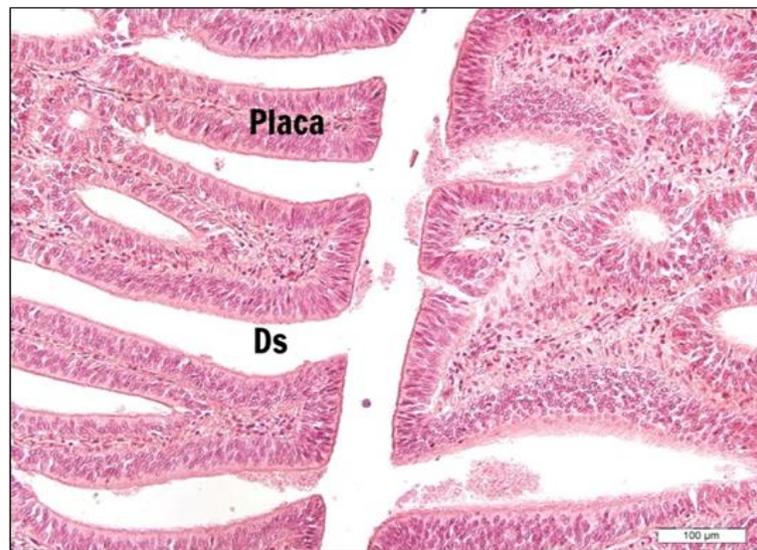


Figura 36. Microfotografía de corte transversal de glándula oviducal de una hembra madura de *Gymnura marmorata*. Las placas están dirigidas hacia la luz de la glándula, las cuales forman diferentes ductos secretores (Ds). Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 100 μm .

5.7.2.3 Útero

Los cortes analizados del útero de *G. marmorata* presentaron diferencias tisulares dependiendo de la talla de AD de la hembra estudiada. Las hembras con tallas menores a 63 cm de AD presentaron úteros con vellosidades del trofonemata cortas, delgadas y poca vascularización. Los vellos uterinos se observan como elongaciones del tejido conjuntivo laxo del endometrio, estas elongaciones son ramificaciones, compuestas por el centro, de tejido conjuntivo laxo de fibras colágenas y células sanguíneas. Estas elongaciones están cubiertas por epitelio cilíndrico simple posicionadas sobre una membrana basal (Fig. 37, 38 y 39).

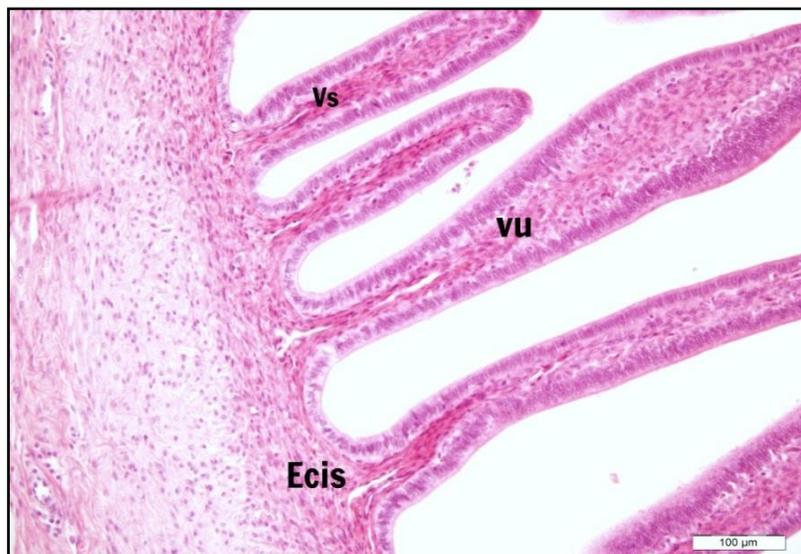


Figura 37. Microfotografía de corte transversal de útero de una hembra de 63 cm de ancho de disco (AD) de *Gymnura marmorata*. Los villis uterinos (vu) tienen un solo vaso sanguíneo (Vs) central y en esta etapa temprana de madurez presentan un epitelio cilíndrico simple (Ecis). Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 100 µm.

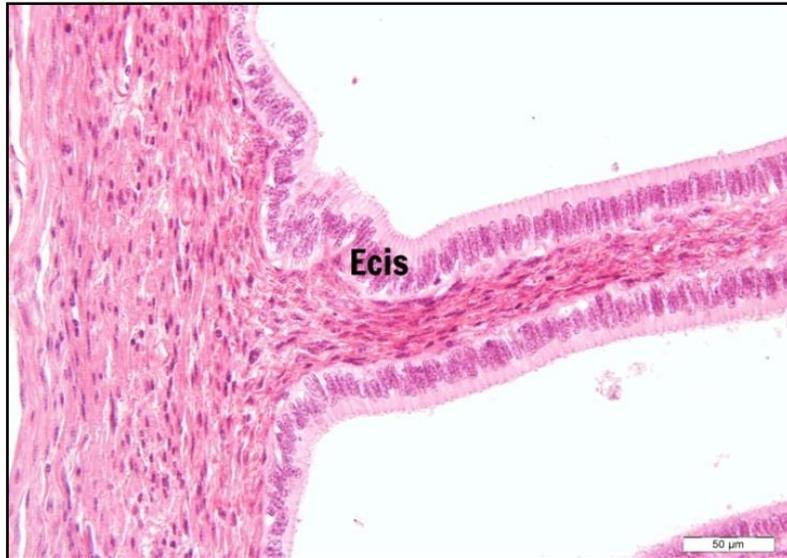


Figura 38. Microfotografía de corte transversal de útero de *Gymnura marmorata* de una hembra de 63 cm de AD. Los *villis* uterinos no presentan un desarrollo como tal y su epitelio es de tipo cilíndrico simple (Ecis). Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 50 μm.

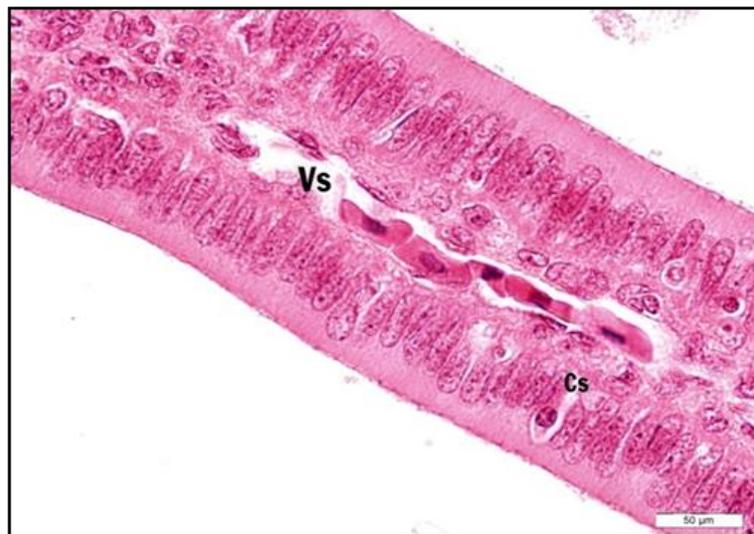


Figura 39. Microfotografía de corte transversal de útero de *Gymnura marmorata* de una hembra de 63 cm de AD. En las primeras etapas del desarrollo de madurez en el trofonemata los *villis* uterinos presentan un solo vaso sanguíneo (Vs) central poco ensanchado. Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 50 μm.

En las hembras de los 73 cm de AD en adelante, se pudo observar cambios en la estructura general del útero. Se presentaron modificaciones en el tejido que rodea a todo el útero, observándose una primera capa de tejido conjuntivo denso, posteriormente una capa de tejido muscular liso y finalmente la capa de tejido conjuntivo laxo, del cual esta contigua a la capa de tejido del cual nacen las elongaciones del trofonemata (Fig. 40).

Estos cambios estuvieron dados por la presencia de criptas en los vellos uterinos (Fig. 41). Estas criptas están formadas por acinos celulares que secretan la sustancia nutritiva del histótrofo. De igual manera la irrigación sanguínea aumento, el vaso central del vello crece y aumenta en cantidad la irrigación a lo largo del todo el vello uterino. Las células cilíndricas del epitelio, dan la forma criptica que distingue cada vellosidad del trofonemata (Fig. 42).

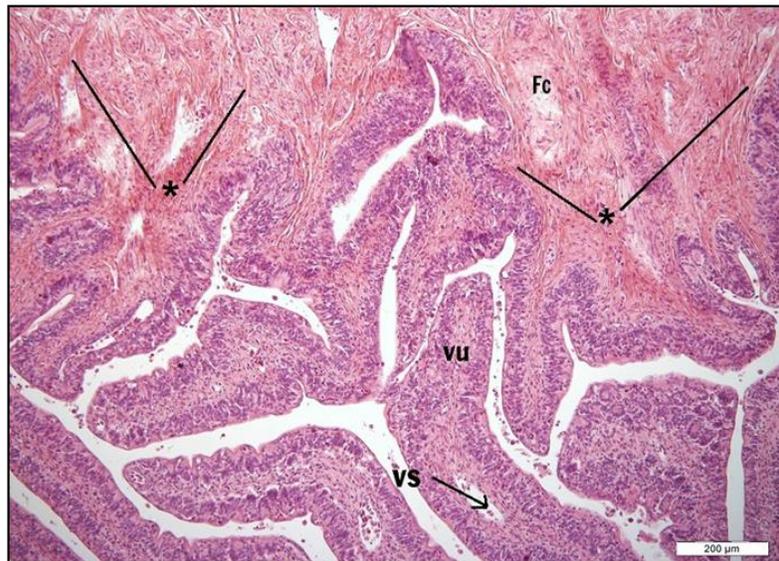


Figura 40. Microfotografía de corte transversal de útero de *Gymnura marmorata* de una hembra de 95 cm de AD. Los villis uterinos (vu) están completamente desarrollados, con un vaso sanguíneo central (Vs) ensanchado. Las paredes uterinas están llenas de fibras musculares (*) y fibras colágenas (Fc). Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 200 μ m.

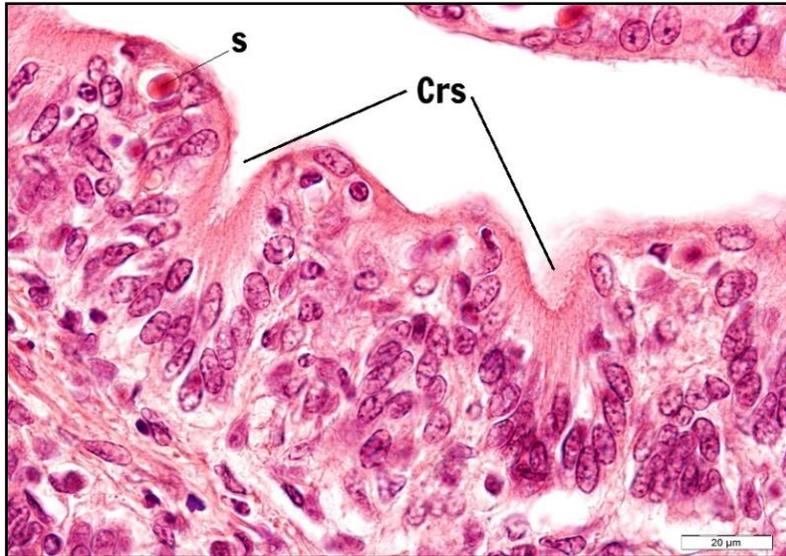


Figura 41. Microfotografía de corte transversal de útero de *Gymnura marmorata* de una hembra de 97 cm de ancho de disco (AD). Los *villis* uterinos desarrollados presentan criptas secretoras (Crs) encargadas de producir la secreción (S) nutritiva para los embriones. Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 20 µm.

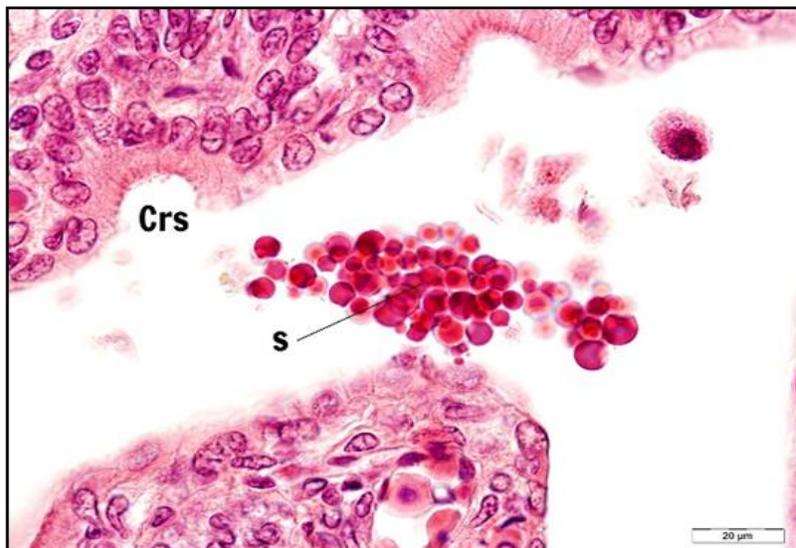


Figura 42. Microfotografía de corte transversal de útero de *Gymnura marmorata* en una hembra de 97 cm de ancho de disco (AD). Las criptas secretoras están más desarrolladas en las etapas de maduras para secretar una mayor cantidad de secreción (s) nutritiva para los embriones. Técnica Hematoxilina-Eosina, Barra = 20 µm.

5.7.2.4 Ovario asimétrico

El ovario derecho de *G. marmorata* presentó un tamaño menor en comparación al ovario izquierdo. El ovario asimétrico presenta las mismas características histológicas que el ovario izquierdo, una túnica albugínea, estroma ovárico y oocitos en diferentes fases de desarrollo, sin embargo, no se observó la presencia de folículos maduros y cuerpos lúteos (Fig. 43).

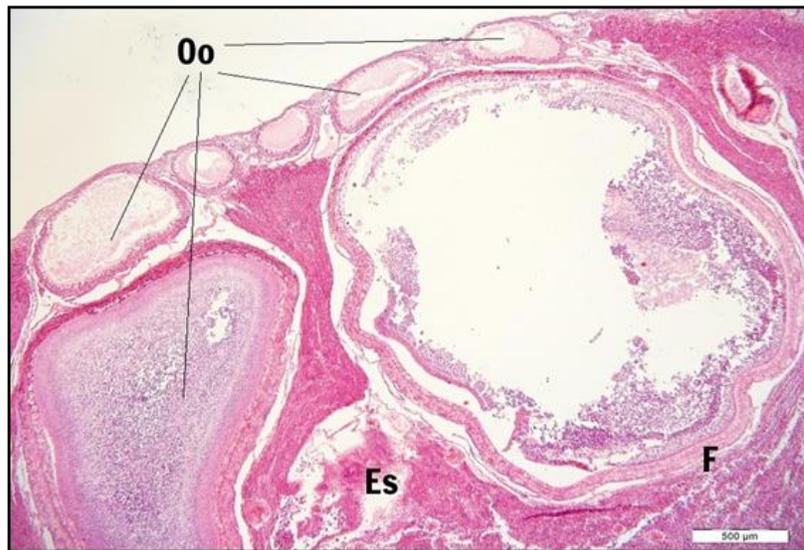


Figura 43. Microfotografía de corte transversal de ovario derecho de una hembra madura de *Gymnura marmorata* de 97 cm de ancho de disco (AD). Presento oocitos (Oo) en diferentes fases de desarrollo (excepto la de madurez), los folículos presentaron las mismas características que en el ovario izquierdo. El estroma (Es) también presentó las mismas características que el ovario contrario. Técnica Hematoxilina–Eosina, Barra = 500 µm.

6. DISCUSIÓN

6.1 COMPOSICIÓN DE TALLAS

Una de las particularidades de trabajar con elasmobranchios capturados por medio de la pesca ribereña, consiste en que el investigador debe enfrentar dependencia relacionada directamente con la época de captura, los tiempos del pescador y la facilidad que estos brinden para obtener las muestras. Estas condiciones un tanto adversas hacen que el número total de muestras de ciertas especies, sea menor y no se logre obtener la cantidad propuesta para la investigación. En el caso particular de batoideos, la obtención de muestras tiene mayor grado de dificultad, ya que la pesca no es dirigida, además de que la pesca de tiburones es mayor en desembarques que la de batoideos, los cuales contribuyen con una porción pequeña del 4.2 % de masa total de captura (Bonfil, 1994, 1997; Castillo-Géniz *et al.*, 1998).

Si bien para este trabajo se realizaron muestreos en dos campos pesqueros en la costa occidental de Baja California Sur, el esfuerzo fue mayor en el campo pesquero de Punta Lobos, la mayoría de los datos, provienen de dicha localidad, a diferencia de San Lázaro, donde el número de muestras no fue significativo.

Bajo este panorama, el análisis de datos se realizó siguiendo el esquema de un solo grupo de tallas por meses, por año, para no generar sesgo en los resultados finales y sin hacer una diferencia en los sitios de captura, permitiendo así, realizar un análisis general de las tallas, la condición de madurez, las características morfológicas e histológicas del organismo.

Del total de organismos recolectados, las hembras se caracterizaron por un ancho de disco mayor a 86 cm de AD, y los machos de 68 cm de AD, coinciden con lo encontrado por Dávila (2002), la misma condición, en la cual la media del AD para hembras es de mayor tamaño que en los machos.

De igual manera las tallas mínimas y máximas fueron de menor tamaño en el estudio de Dávila (2002) en Bahía Magdalena, que en el presente para Punta Lobos

y San Lázaro. Otro estudio realizado en Bahía Almejas por Villavicencio-Garayzar (1993), encontró tallas en hembras entre 42 y 109 cm de AD, obteniéndose un nuevo registro de la talla más grande para una hembra de 131.0 cm de AD y para los machos de 40.5 a 60 cm de AD, también fueron tallas más chicas, registrando también la talla mayor de 99 cm de AD en un macho de *G. marmorata*.

En el presente estudio no se registraron machos en agosto, durante los 5 años de muestreo. Villavicencio-Garayzar (1993) no reporta machos en este mes, Dávila (2002) también registra una proporción mayor de hembras sobre los machos en el mismo mes, indicando que probablemente una vez que termina el proceso reproductivo, los machos migran hacia otras zonas para alimentarse, quedando solamente algunas hembras.

Los dos estudios anteriores fueron realizados en zonas cerradas (bahía), las cuales podrían indicar que organismos más pequeños entran a las bahías a reproducirse y expulsar las crías. En tanto, para Punta Lobos, los organismos fueron capturados en zona de mar abierto a mayor profundidad y las tallas de los organismos registrados fueron más grandes, esto bien podría deberse a las condiciones físicas de la zona o por tratarse de dos poblaciones diferentes.

6.2 PROPORCIÓN DE SEXOS

6.2.1 Embriones

La proporción sexual en los embriones de *G. marmorata* fue igual tanto para hembras que para machos. Esta misma condición la describió Dávila (2002), la diferencia no significativa, en contraste con Villavicencio-Garayzar (1993), quien reporta un dominio de los machos sobre las hembras de 1.9 M: 1H con cuatro hembras grávidas. Es evidente que el número de hembras madres muestreadas, es mínimo, menciona que la proporción sexual confiable solo se obtendrá al incrementar el número de muestras de hembras grávidas.

6.2.2 Juveniles

Al no encontrarse machos inmaduros, no es posible hacer una inferencia en la proporción sexual para esta etapa de la vida de la especie en cuestión. Se recomienda extender el tiempo y esfuerzo de muestreo en los sitios de captura para poder extraer muestras de machos juveniles. El no encontrar ejemplares juveniles es probablemente un indicador de que estos organismos se encuentran en zonas más someras, menos profundas y zonas de crianza, esto podría explicar que existe una segregación por sexos y por estadios de madurez en la época reproductiva.

Es poco probable que los machos juveniles no salgan a aguas abiertas y más profundas, hasta alcanzar cierta talla mayor, ya que poseen tallas menores a las hembras y esto podría implicar vulnerabilidad ante otros depredadores. Portnoy, *et al.* (2007) menciona que la proporción sexual para los tiburones areneros *Carcharhinus plumbeus*, es de 1 a 1 en estuarios y aguas costeras de menos de 10 m de profundidad, sin embargo en aguas de alta mar, hay un sesgo fuerte hacia las hembras de esta especie.

6.2.3 Adultos

La proporción sexual encontrada fue mayor para hembras que para machos, con excepción del mes de julio, sin embargo Dávila (2002) reporta tres meses, marzo, mayo y julio con mayor proporción para los machos, aunque, es en agosto cuando no se pudo registrar ningún macho. De igual manera Villavicencio-Garayzar (1993), reportó ausencia de machos este mismo mes, esto permite asumir que una vez finalizada la época de reproducción, los machos (y algunas hembras) migran hacia otras zonas, probablemente para alimentarse y en la zonas de captura solamente quedan algunos neonatos y hembras grávidas.

En elasmobranquios es común observar esta condición donde las hembras son más abundantes que los machos. Smith *et al.* (2009) en un estudio realizado en la costa oriental de Baja California, menciona que las rayas de *Rhinobatus productus* capturadas por pesca artesanal, son más abundantes las hembras sobre los machos,

probablemente, solo la mitad de la población se reproduce, como resultado de una estrategia de supervivencia.

El estudio de biología reproductiva de *G. micrura* señala que la proporción de sexos desigual se relaciona con el hecho de que las hembras alcanzan la madurez a un mayor tamaño que los machos y por esta razón las hembras juveniles están más representadas en los muestreos (Yokota, 2012)

Otra de las posibilidades para explicar las abundancia mayores de las hembras, sobre los machos, no precisamente significa una característica de sesgo poblacional; sino el hecho de como fue el método de muestreo para capturar las especies objetivo del estudio (Frisk, 2004). En el caso de *G. marmorata*, el esfuerzo de muestreo estuvo dirigido más hacia un campo pesquero, las muestras fueron obtenidas por medio de pesca incidental y por factores climáticos en ocasiones se suspendían los viajes de pesca, esto influye en el número de organismos registrados y sobre la probabilidad de encontrar mayor cantidad de machos.

Una de las explicaciones dada a la segregación de sexos en rayas, es explicada por Steven (1933), en donde afirma que esta característica es porque podrían presentar diferentes hábitos alimenticios y de distribución, haciendo a los machos menos propensos a ser capturados por medio de la pesca, por el sitio donde se ubican.

Finalmente Bizarro *et al.* (2009) en un estudio realizado en el Golfo de California encontró que las hembras de las familias Rhinobatidae, Dasyatidae y Narcinidae, están sometidas a los movimientos estacionales, además de ser más abundantes en los periodos de aguas calidad con la finalidad de reproducción y crianza.

6.3 TALLA DE PRIMERA MADUREZ

6.3.1 Machos

Dada las características del muestreo, la zona y la temporalidad de la pesca, todos los machos registrados estaban maduros, a partir de los 53 cm de AD, estos

presentaron gonopterigios bien desarrollados, completamente calcificados y con una rotación de 180° hacia el interior del cuerpo del organismo ya que según Hamlett, *et al.* (2002) estas son características de madurez en machos de elasmobranquios.

Esto se corroboró con el análisis histológico de las vesículas seminales de los machos de diferentes tallas de ancho de disco, todas presentaron espermatozoides, indicando que los organismos estaban maduros y capaces de reproducirse, tal como lo indica Dávila (2002), para organismos de Bahía Magdalena.

En el estudio de Davila (2002) se registró que a partir de los 30 cm de AD los organismo mostraron un desarrollo en sus estructuras sexuales, condiciones que para el presente trabajo no se pudieron registrar por falta de organismos muestreados, fue por esta causa que para estimar la talla de ancho de disco al cual el 50% de la población fue madura, se utilizaron los datos registrados de los embriones, fue así como se obtuvo una AD_{50} de 46.8 cm de AD, en comparación con Dávila (2002) que fue de 41 cm de AD, Villavicencio-Garayzar (1993) no estima este parámetro, sin embargo menciona que a partir de los 45 cm de AD presentan gonopterigios calcificados y ductos deferentes con semen.

Dado que en las bahías, estuarios y zonas protegidas en general, no se registran tallas más grandes de la especie, los estudios realizados anteriormente en estas zonas no utilizaron tallas mayores como las encontradas en el presente trabajo para la estimación de la AD_{50} , por este motivo, al utilizar la ecuación logística con rangos de tallas hasta los 99 cm de AD y además tallas embrionarias, la talla de primera madurez registrada en este trabajo disminuye el posible error de estimación.

6.3.2 Hembras decisión

La talla de primera madurez estimada de 73.3 cm de AD, difiere a la estimada por Dávila (2002) en 62 cm de AD; esta diferencia podría atribuirse a dos causas principales, la primera, son dos poblaciones diferentes y la segunda, solo los organismos que alcanzan tallas más grandes salen a mar abierto y dado que el mayor esfuerzo de muestreo fue en el campo pesquero Punta Lobos, la obtención de

la talla de primera madurez se estimó con rangos de tallas más grandes, razón por la cual se obtuvo una AD_{50} mayor a la estimada por Dávila (2002).

Para definir el porqué de una misma especie se presentan tallas de primera madurez diferentes, es necesario expandir los sitios de muestreo y aumentar el número de muestras en diversas zonas de captura, como bahías, estuarios y zonas de más profundidad o de mar abierto.

Evidentemente la talla de primera madurez en las hembras es de mayor tamaño que en los machos, es una característica común en diversas especies de rayas; algunos autores han argumentado esta diferencia como una estrategia reproductiva de los vivíparos, tal es el caso de *G. micrura*. Yokota (2012) el cual sugiere teóricamente que al ser más grandes las hembras, tendrán mayor capacidad en la producción y mantenimiento de los embriones, además, estos tendrán un mejor desarrollo intrauterino como consecuencia de la nutrición proporcionada por la madre.

Wourms (1977) explica cómo la viviparidad es el resultado de un proceso evolutivo a partir de la oviparidad, generando una estrategia reproductiva, este autor menciona además, ocho factores importantes en la evolución de la viviparidad, entre estos se encuentra el tamaño del adulto, ya que un mayor tamaño en los organismos, permitirá la supervivencia a media de las siguientes generaciones.

En este trabajo al haber encontrado tallas de madurez más grandes en la zona de muestreo, en mar abierto, refleja la posibilidad que estos organismos presentan menos vulnerabilidad ante los depredadores. Dávila (2002); Villavicencio-Garayzar (1993) trabajaron con muestras capturadas en zonas de bahías, encontrándose tallas más chicas, lo que las hace más vulnerables a riesgos externos, como la depredación. Los sitios en los cuales estos autores obtuvieron sus muestreas se caracterizan por ser zonas cerradas y protegidas, lo que permite seguridad y refugio a los neonatos, caso contrario para las zonas de mar abierto.

6.4 FECUNDIDAD

La fecundidad obtenida de 8 embriones por hembra en este estudio, está dentro del rango propuesto por Dávila (2002) con 4 a 16 embriones por hembra, con una baja relación entre el número embrionario y la talla materna. Esta misma condición se debe probablemente a factores del muestreo, ya que al momento de retirar de la red a los individuos capturados, algunas hembras grávidas expulsaban sus embriones antes de ser llevadas a bordo; aun así, la probabilidad de no existir una tendencia entre el número embrionario y la talla materna, ya que en algunas hembras de tamaño mayor a los 108 cm de AD presentaron un menor número de embriones, con respecto a las hembras menores a los 94 cm de AD. Villavicencio-Garayzar (1993) describe esta misma condición, por lo cual no es posible hacer inferencias en la fecundidad, sin embargo sugiere que el número de crías si va a depender del tamaño de la hembra.

En el caso particular de *G. micrura*, la fecundidad uterina se estimó entre 1.3 y 3.8 embriones por hembra, este bajo número se debe al tamaño de la especie (20 a 35 cm de AD) (Yokota, 2002) menor en comparación con las tallas maternas que presento *G. marmorata* (76 a 131 cm de AD).

La relación en elasmobranquios con respecto al tamaño de las madres y el número de crías, está relacionado con el modo reproductivo (Wourms, 1977). De acuerdo a Yokota (2012), las hembras más grandes tienen la posibilidad de tener un mayor número de crías, para poder corroborar una relación entre el número de crías con el ancho de disco de la madre, en la raya mariposa, es necesario aumentar el número de muestras abarcando todos los meses de la temporada reproductiva de esta especie.

6.5 DESARROLLO EMBRIONARIO

Los únicos meses con hembras grávidas fueron marzo, abril, mayo y junio, con embriones de tallas de los 13.6 a los 26 cm de AD como máximo, destaca el mes de mayo en que no se registró el ancho de disco de los embrionarios debido a que las madres capturadas en las redes agalleras, expulsaron sus embriones antes de

ser llevadas a bordo. , por tal motivo solo se graficó las tallas máximas y mínimas de los meses, mencionados anteriormente. Esta conducta también la describe Beltrán-Félix *et al.* (1986) en hembras con tallas mayores a los 86.0 cm de AD que expulsaban sus crías antes de ser llevadas a bordo.

Dávila (2002) registró los meses de julio y agosto con las tallas embrionarias más pequeñas (5 y 5.1 cm de AD); sin embargo para propósitos de este trabajo se compararon solamente los meses de primavera-verano, en los cuales se logró obtener registro embrionario. Se observó que para los dos estudios hay un acenso en las medias de la talla embrionaria en los meses de marzo a junio. La talla máxima reportada coincide para los dos trabajos en el mes de junio, Dávila (2002) reporta una máxima de 25.6 cm de AD en comparación con la media más grande registrada en este trabajo que fue de 23 cm de AD se podría proponer como junio el mes de parto de *G. marmorata*, ya que es cuando se reportan las tallas embrionarias más grandes para ambos trabajos, además que en el presente estudio, junio es el último mes reportado con hembras grávidas.

En otro trabajo realizado en el Golfo de California (Castro-Aguirre *et al.*, 1970) reportaron organismos libres con una talla mínima de 14.3 cm de AD, sin mencionar en que mes se registró esa talla. Estas diferencias pueden deberse a que se trata de poblaciones diferentes o probablemente especies diferentes, ya que el ancho de disco coincide con los rangos de tallas mínimas de *G. micrura* (100 a 149 mm de AD) en la costa norte del Estado de Rio Grande del Norte, en Brasil (Yokota, 2012).

El suponer que sean especies diferentes las estudiadas en el Golfo de California y las de la costa occidental del estado de Baja California Sur, se debe al factor del tamaño de los embriones con relación al tamaño del adulto. Por regla general, los adultos grandes se desarrollan a partir de embriones grandes (Marshall, 1971; Wourms, 1977).

6.6 CICLO REPRODUCTIVO

Yokota (2012) menciona la sincronía en el desarrollo y producción de los oocitos y la época de gestación en *G. micrura*, misma situación encontrada para *G.*

marmorata, la cual presento en todos los meses de muestreo hembras con tallas menores a los 65 cm de AD (que aún no son capaces de reproducirse), otras con ovarios en las primeras fases de desarrollo vitelogénico, que probablemente continúen el proceso reproductivo después de agosto y hembras grávidas con folículos maduros en todos los meses de muestreo (a excepción de mayo), lo que evidencia la sincronía en el ciclo reproductivo.

Los dos resultados ponen de manifiesto que la raya mariposa se reproduce durante todo el año con un periodo de gestación de 9 a 12 meses, lo cual coincide con lo establecido por Hamlett *et al.* (2002). Generalmente las especies de Condrictios pueden tener periodos anuales o de menor tiempo, ya que la vitelogénesis puede proceder al mismo tiempo que la gestación y el parto podría ser anual o, como esta descrito para algunas especies, con más frecuencia.

Para poder establecer con exactitud el ciclo reproductivo, Hamlett *et al.* (2002) sugieren la necesidad de conocer la época en la cual las hembras maduras comienzan la ovulación y la época de parto, Villavicencio-Garayzar (1993) menciona además que los periodos de gestación solo será posible describirlos al obtener organismos en otras áreas de estudio.

Establecer la época reproductiva con precisión y describir el ciclo reproductivo de *G. marmorata*, precisa de la extensión del tiempo y zonas de muestreo, además que la obtención de muestras dependa de las capturas por pesca artesanal hace más complicada la obtención de resultados con menos error.

Es necesario recolectar organismos durante todos los meses del año, aumentar el número de muestra y extender el área de estudio para obtener parámetros reproductivos que aporten información necesaria para generar modelos demográficos y establecer planes de manejo adecuados para la especie.

6.7 ESTRUCTURA MACRO Y MICROSCOPICA DE LOS ÓRGANOS REPRODUCTORES

6.7.1 Machos

6.7.1.1 Gonopterigios

Se obtuvo una alta correlación de crecimiento de los gonopterigios con el ancho de disco de los embriones, sin embargo para el caso de los machos maduros la correlación del crecimiento fue menor, ya que a partir de cierta talla o fase del desarrollo sexual, el crecimiento de los gonopterigios se detiene, probablemente esto explique el por qué algunos machos con tallas más grandes presentan gonopterigios con longitudes menores a aquellos organismos con menores tallas de ancho de disco, esta situación la describe Chieffi (1967), para la raya Torpedo, en la cual el crecimiento del gonopterigio no se ve afectado por hormonas de tipo esteroideas, sugieren que los gonopterigios tienen un crecimiento somato-sexual.

6.7.1.2 Testículos

En el presente estudio para *G. marmorata* se encontró el primer hallazgo, de que solo el testículo izquierdo es funcional, con evidencia de actividad espermatogénica. Otros autores como Hamlett *et al.* (2002) han encontrado en rayas el testículo derecho ligeramente más pequeño y sugieren se debe a la disposición con otros órganos. En nuestro estudio no se registró evidencia de espermatogénesis, quedando limitando la funcionalidad en el testículo derecho. Ambos testículos se encontraron en la parte anterior de la cavidad abdominal, de forma dorsoventralmente aplanados tal como lo describe Maruska *et al.* (1996) para los batoideos.

El testículo izquierdo no mostro una zona germina como tal, cada túbulo seminífero sin una estructura definida. Se pudo observar una ligera tendencia en los túbulos en fases maduras de desarrollo, con una ubicación hacia la periferia del testículo. Hamlett *et al.* (2002) describe este patrón en batoideos, en la cual la zona germinal se encuentra en múltiples sitios en el testículo denominando el desarrollo

testicular de tipo compuesto, además otros autores afirman que difícilmente se puede diferenciar la zona germinal en rayas (Mattisson & Fange, 1982; Fange & Pulsford, 1983; Callard, 1991).

Las fases espermatogénicas presentes en el testículo izquierdo de *G. marmorata*, son las mismas descritas por Maruzka *et al.* (1996), basadas en la terminología hecha por Persons & Grier (1992); Maruzka *et al.* (1996), utilizó siete fases, de las cuales seis se pudieron describir en el testículo de la raya mariposa. La séptima fase se refiere a la zona de degeneración en las espermatogonias, comienzan la descomposición una vez que el desarrollo comienza a disminuir. La ausencia de machos en esta fase del desarrollo gonadal se puede deber a la temporada de captura de los organismos muestreados, la cual presenta los picos reproductivos de la especie.

Las características celulares encontradas en el testículo derecho de *G. marmorata* se basaron en las utilizadas por Parson & Grier (1992), en el cual se menciona como espermatocisto la unidad funcional del testículo. Además otras condiciones del testículo es la presencia de material celular proveniente del órgano epigonal, que generalmente está asociado con los componentes tisulares del testículo, con material linfoide y hematopoyético (Stanley, 1963).

En el caso particular del testículo derecho este órgano carece de todas las estructuras que conforman el testículo de elasmobranquios, éste se presenta como una estructura atípica, carente de las características encontradas en el testículo funcional (izquierdo).

Es la primera vez que se registra en *G. marmorata* el testículo derecho sin células espermatogénicas. Esta estructura podría considerarse como estructura vestigial, sin embargo, para confirmar la funcionalidad de este órgano es necesario realizar más estudios de tipo histológico e histoquímico, para conocer más de las funciones de esta estructura vestigial.

Se logró describir una estructura con características comparables al órgano epigonal. Además de células típicas de un sistema glandular (células cromófilas), con

material parenquimatoso, lo que supondría una funcionalidad de tipo hormonal para este órgano. Para corroborar los hallazgos es necesario continuar con estudios de este órgano, dada la vaga referencia sobre los componentes celulares y tisulares de esta estructura vestigial, y así confirmar cuales son las funciones de esta estructura y como se ha transformado a través del tiempo, con respecto al éxito evolutivo de la especie.

6.7.1.3 Epidídimo

La estructura histológica del epidídimo coincide con las descritas por Hamlett *et al.* (2002) para elasmobranquios. Sin embargo no se logró observar espermatozoides como lo menciona este autor. Al ser el epidídimo una estructura de transición para las células masculinas sexuales, es probable que las zonas de corte para el análisis histológico no hayan registrado este tipo de células. Aunque se aplicó técnicas de tinción especiales para la evidencia de material genético no fueron positivas para los espermatozoides, es probable que las zonas elegidas para el análisis histológico no presentaran espermatozoides, por esta razón es necesario ampliar las zonas de corte para su respectiva observación.

6.7.1.4 Vesícula seminal

Las características histológicas de la vesícula seminal coinciden con la propuesta por Hamlett *et al.* (2002), las elongaciones, el tipo de tejido epitelial que forma elongaciones que se proyectan hacia el interior del lumen y el material de secreción típico de los elasmobranquios. *G. marmorata* en el presente estudio no demostró paquetes bien definidos de espermatozoides. A diferencia de otros autores que han descrito la peculiaridad de formaciones de paquetes de espermatozoides de tipo espermatóforos y espermatozeugmata (Hamlett, *et al.*, 2002)

Tanaka *et al.* (1995) reconoce cinco tipos de agregaciones de espermatozoides en elasmobranquios, dentro de esta clasificación *G. marmorata* presentó en su mayoría agregaciones de tipo 1, la cual es denominada “Espermatozoides solitarios o grupos de espermatozoides”.

También se identificaron dos agregaciones con un tipo de acomodo distinto, en el cual las cabezas de los espermatozoides estaban posicionadas en el tejido epitelial de los pliegues vesiculares y las colas dirigidas hacia el lumen, este podría ser un acomodo de tipo 2, el cual es denominado “Una sola capa de espermatozeugmata”. Este autor menciona que el tipo de agregaciones es característico de cada especie y en este trabajo es la primera vez que se describe como está estructurada esta asociación de espermatozoides en la vesícula seminal de *G. marmorata*.

6.7.2 Hembras

6.7.2.1 Ovarios

La reducción en el tamaño del ovario derecho de *G. marmorata* de acuerdo a Wourms (1977) comienza con el desarrollo en los ovarios, estos son estructuras pareadas, que regularmente se vuelven asimétricos en los adultos. Menciona además que entre las rayas vivíparas el ovario y el oviducto derecho experimentan diferentes grados de reducción o pérdida.

Villavicencio-Garayzar (1993) solo menciona que el ovario derecho de *G. marmorata* se presenta como reducido, Dávila (2002) encontró el ovario izquierdo como único funcional, sin embargo este autor no menciona cuales fueron las características en las que se basó para definir como funcional un solo ovario, por otra parte Yokota (2012) encontró como funcional solamente el ovario izquierdo en la especie *G. micrura*. A partir de la talla de madurez en hembras de *G. marmorata* el crecimiento del ovario funcional o izquierdo no estuvo en función del ancho de disco de la hembra.

Este tipo de desarrollo no está condicionado por la talla de la hembra adulta, sino más bien por aspectos de la época reproductiva y por el estadio en el que se encuentra el organismo. Además el tamaño de los oocitos indica que los mayores de 0.4 cm de diámetro están en los ovarios de hembras mayores a los 75 cm de AD.

En el presente trabajo las observaciones histológicas demostraron que el ovario derecho no desarrollaba oocitos maduros, lo que probablemente haga de este órgano una estructura rudimentaria, tal como lo menciona Maruska (1996) para la especie *Dasyatis sabina*, en la cual describe al ovario derecho como reducido, compuesto principalmente por tejido epígonal y sin la capacidad de liberar oocitos.

Para el tiburón gata *Pseudotrakis microdon*, Dodd (1972) y Castro *et al.* (1988) mencionan la existencia de un ovario predominante, mientras que el otro es rudimentario. Esta condición de asimetría, rudimentarismo o de ausencia de un ovario es característico de cada especie. Estos resultados indican la necesidad de estudiar la fisiología del ovario derecho de *G. marmorata*, a fin de corroborar posibles funciones hormonales asociadas al ciclo reproductivo de la especie.

Otra de las condiciones descritas para los elasmobranquios, es la presencia de cuerpos atrésicos o cuerpos lúteos en los ovarios (Hamlett *et al.*, 2002). En este trabajo se describe por primera vez para *G. marmorata* la presencia de cuerpos lúteos en todas las hembras maduras, mayores de 75 cm de AD con estadio en gravidez tardía (madura), como resultado del proceso de expulsión del oocito maduro.

En relación a las estructuras ováricas con células de gran tamaño localizadas en el estroma ovárico y la formación de pliegues compuestos por células foliculares encapsuladas por la teca; se asume que corresponden a cuerpos con probable función hormonal en el ciclo reproductivo, de acuerdo a Hoar (1969); Dodd (1972). Para corroborar este supuesto, es necesario dar continuidad a estudios histoquímicos, dirigidos a conocer la influencia en los procesos fisiológicos de la hembra madura.

Con respecto a la presencia de cuerpos lúteos en el ovario derecho, en los análisis histológicos no se encontraron como tal en los ovarios las hembras maduras de la raya mariposa; esto indica la falta de ovulación, corroborándose la ausencia de gametos fértiles.

6.7.2.2 Glándula oviducal

La glándula oviducal en los elasmobranquios, tiene dos funciones principales, el almacenamiento de esperma y la producción de la capsula del huevo en organismos ovíparos. En el caso de *G. marmorata*, no se encontraron características histológicas que evidencien la presencia de estos dos procesos. En general la estructura tisular de la glándula oviducal se divide en cuatro zonas, aunque en el presente trabajo no se distinguieron ninguna de estas, solo se observaron dos diferentes tipos de estructura; la zona de túbulo oviducal y la zona de placas (Hamlett *et al.*, 1998, 1999; Hamlett & Koob, 1999). Es necesario continuar con estudios de tipo histológicos para definir claramente si la glándula oviducal en *G. marmorata* presenta estas cuatro zonas ya descritas y posteriormente conocer las funcionalidad de estas.

Las especies vivíparas comúnmente presentan almacenamiento de esperma (Hamlett *et al.*, 2002; Smith *et al.*, 2004). Wourms (1993) describió tres tipos de patrones de inseminación y de almacenamiento de esperma en once especies de tiburones capturados en la costa este de América del Norte. De estos tres patrones, *G. marmorata* es posible que presente el número uno, como inseminación inmediata sin almacenamiento de esperma, el cual fue descrito en el tiburón *Lamna nasus* en el estudio de Wourms (1993).

Una de las causas que explican la falta de almacenamiento de esperma en la glándula oviducal de *G. marmorata*, puede relacionarse con la presencia de machos y hembras en la misma época, capturados durante todos los meses de muestreo (excepto en agosto), ya que de acuerdo a Hamlett *et al.* (2002) y Smith *et al.* (2004), el almacenamiento de esperma asegura un suministro de espermatozoides para la fertilización de óvulos progresiva liberado por la ovulación, durante un periodo de varias semanas, o posiblemente meses, cuando hay ausencia de machos. Esto refleja que *G. marmorata* no prescinde de esta condición de almacenaje, para la fertilización.

Otra de las condiciones de esta estructura, es el tamaño tan reducido que presenta y que probablemente se deba a que esta sea, una estructura vestigial, además, su longitud y ancho no tienen relación en ninguna fase de desarrollo, con el ancho de disco de la hembra. Wourms (1981) menciona que en organismos vivíparos esta estructura tiende a ser reducida o vestigial, dada las ventajas evolutivas que tiene la viviparidad.

6.7.2.3 Útero

El útero de *G. marmorata* refleja la alta especialización reproductiva que tienen los organismos vivíparos. El revestimiento interno (endometrio) del órgano está compuesto por *villis* uterinos especializados en la secreción de material nutritivo o placenta análoga (Ranzi, 1934), las vellosidades penetran directamente en el embrión, proporcionando eficacia en la asimilación de nutrientes necesarios para el desarrollo embrionario. Este mismo mecanismo fue descrito para *G. micrura*, por Wood-Mason & Alcock (1891), los cuales nombran por primera vez el término trofonemata, el cual se refiere a los apéndices glandulares y aplanados que entran al embrión a través de los espiráculos y pasan al esófago, donde liberan el producto de secreción en el intestino.

Las características morfológicas y la histología de los órganos estudiados en las hembras de *G. marmorata* representan el alto grado evolutivo característico de la especie de ese modo reproductivo. En relación a la biometría, se demostró que la longitud y ancho del útero no está en función de la talla de la hembra, solamente el desarrollo tisular se verá afectado por el estadio de madurez en el que se encuentre el organismo. Wourms (1977) menciona que la placenta análoga es la culminación de una serie de adaptaciones que se originaron con las especies que dependen del vitelo. Estas adaptaciones probablemente hagan más eficaz el uso de energía para la reproducción, restando vulnerabilidad ante depredadores y factores ambientales adversos.

Es necesario continuar con estudios descriptivos de las estructuras reproductivas, basadas en el análisis histológico y fisiológico de estos órganos, éstos

contribuirán en gran medida a complementar y fundamentar el conocimiento de la especie, para ampliar la información científica que se tiene hasta el momento y contribuyendo en futuros trabajos biológicos o demográficos.

7. CONCLUSIONES

El tamaño máximo de *G. marmorata* para ambos sexos alcanza los 131 cm de AD. Las hembras son más grandes durante todos los meses de primavera-verano (excepto julio).

Los embriones por cada hembra de *G. marmorata* analizada, tendieron a la proporción 1:1. En cambio en la vida adulta, predominan las hembras sobre los machos.

En el mes de agosto no se encontraron machos en las capturas por pesca artesanal. Probablemente los machos migren hacia otras zonas.

La talla de ancho de disco a la que el 50% de la población en los machos es madura, es de 46.8 cm de AD, menor que la estimada para las hembras en 73.3 cm de AD.

Solo el testículo izquierdo de tipo compuesto en *G. marmorata*, evidenció actividad espermatogénica. El testículo derecho es asimétrico y carece de las estructuras germinales.

La vesícula seminal de *G. marmorata* no forma agregaciones de tipo espermatozugmata o espermatóforo, sólo "Grupos de espermatozoides".

Solo el ovario izquierdo de *G. marmorata* es funcional, mientras que el ovario derecho únicamente presento folículos que no son viables para la reproducción.

La glándula oviducal de *G. marmorata* no presenta almacenamiento de esperma. Probablemente su única función sea como estructura de transición para el oocito.

Los dos úteros de *G. marmorata* son funcionales. Desarrollan *villitis* uterinos engrosados y vascularizados, capaces de secretar histótrofo o "leche uterina" para la nutrición de los embriones.

La fecundidad uterina de *G. marmorata* es de 8 embriones por hembra y la talla de nacimiento de 23 cm de AD.

G. marmorata presento un periodo de gestación que va de los 9 a 12 meses, siendo junio el mes de parto.

8. LITERATURA CITADA

- Álvarez del Villar, J. 1978. *Los Cordados. Origen, evolución y hábitos de los vertebrados*. Editorial CECSA, México, 372 p.
- Babel, J.S. 1967. The round stingray Dep Fish and Game Reproduction life story and ecology of *Urolophus halleri*, Cooper. *Fish Bull.*, 137(1):104 p.
- Bejarano-Álvarez, O.M. 2011. *Morfología funcional de los modos reproductivos en elasmobranquios del Pacífico mexicano*. Tesis de doctorado en ciencias marinas. CICIMAR-IPN. 185 p.
- Beltrán-Félix, J.L., M.G. Hamman, A. Chagoya-Guzmán & S. Álvarez-Borrego. 1986. Ictiofauna del estero de Punta Banda, Ensenada, Baja California México, antes de una operación de dragado. *Cienc. Mar.*, 1:79-92.
- Bernal, P.A. 1979. Large-Scale biological events in the California Current. *Rep. Calif. Coop. Fish. invest.*, 20:89-101.
- Bigelow, H.B. y W.C. Schroeder. 1953. Fishes of the western North Atlantic Sawfishes, guitarfishes, skates and rays, and chimaeroids. *Mem. Sears Found. Mar. Res.*, 1(2):588 p.
- Bizzarro, J.J., W.D. Smith, J.F. Márquez-Farías, R.E. Hueter. 2007. Artisanal fisheries and reproductive biology of the golden cownose ray, *Rhinoptera steindachneri*, Evermann & Jenkins, 1891, in the northern Mexican Pacific. *Fish. Res.* 84:137–146 p.
- Bizzarro, J.J., W.D. Smith, R.E. Hueter, J. Tyminski, J.F. Márquez-Farías, J.L. Castillo-Géniz, G.M. Cailliet y C.J. Villavicencio-Garayzar. 2009. The status of shark and ray fishery resources in the Gulf of California: applied research to improve management and conservation. *M.L.M.L. Tech. Pub.* 261 p.

- Bonfil, R. 1994. Overview of world elasmobranch fisheries. Food and Agricultural Organization of the United Nations (FAO). *FAO Fish. Tech. Paper* 341. FAO: Rome, Italy. 119 p.
- Bonfil, R. 1997. Status of shark resources in the southern Gulf of Mexico and Caribbean: implications for management. *Fish. Res.* 29 (2): 101–117.
- Callard, G. 1991. Reproduction in male elasmobranch fishes. 104-154. En R. Kinne, Kinne-Saffran E. y Beyenbach K. (Eds), *Oogenesis, Spermatogenesis and Reproduction*. Karger, Basel.
- Carrera, F. M. 2004. *Biología reproductiva del tiburón azul Prionace glauca (Linnaeus, 1758) en la costa Occidental de Baja California Sur, México*. Tesis de Maestría en Manejo de Recursos Marinos. CICIMAR-IPN. México. 67 p.
- Castillo-Géniz, J.L., J.F. Márquez - Farías, M.C. Rodríguez de la Cruz, E. Cortés, A. Cid del Prado. 1998. The Mexican artisanal fishery in the Gulf of México: towards a regulated fishery. *Mar. Freshw. Res.* 49, 611–620.
- Castro, J. I., P.M. Bubucis y N.A. Overstrom. 1988. The reproductive biology of the chain dogfish, *Scyliorhinus retifer*. *Copeia*. 740-746.
- Castro-Aguirre, J. L., M.J. Arvizu y J. Páez. 1970. Contribución al conocimiento de los peces del Golfo de California. *Rev. Soc. Mex. Hist. Nat.* 31: 107-181.
- Compagno, L. J. V. 1999. Systematics and body form. 1-42. En W. C. Hamlett (Ed.), *Sharks, Skates, and Rays: The Biology of Elasmobranch Fish*. Johns Hopkins University Press, Baltimore and London.
- Chieffi, G. 1967. The reproductive system of elasmobranchs: Development and endocrinological aspects. 553-580. En P. W. Gilbert, R. F. Mathewson, y D. P. Rall (Eds.), *Sharks, rays and skates*. Johns Hopkins Press, Baltimore.

- Cooper, J. G. 1864. *On new genera and species of Californian fishes—No. III.* Proceedings of the California Academy of Sciences. 1:108–114.
- Daiber, F. C. y R. A. Booth. 1960. Notes on the biology of the butterfly rays *Gymnura altavela* and *Gymnura micrura*. *Copeia*. 2: 139-167.
- Dávila-Ortiz, J. 2002. *Biología reproductiva de la raya mariposa Gymnura marmorata (Cooper, 1864) en Bahía Almejas B.C.S. México.* Tesis de licenciatura en Biología Marina. Universidad Autónoma de Baja California Sur. La Paz, B.C.S. 45 p.
- Dodd, J. M. 1972. Ovarian control in cyclostomes and elasmobranchs. *Am. Zool.* 12: 325-339.
- Downton-Hoffmann, C.A. 2007. *Biología del pez guitarra, Rhinobatos productus (Ayres, 1856), en Baja California Sur, México.* Tesis de Doctorado en Ciencias Marinas. CICIMAR-IPN. La Paz, BCS. 194 p.
- Fange, R. y A. Pulsford. 1983. Structural studies on lymphomyeloid tissues of the dogfish, *Scyliorhinus canicula*. *L. Cell. Tissue Research*, 230: 337-351.
- Frisk M.G. 2004 *Biology, life history and conservation of elasmobranchs with an emphasis on western Atlantic skates.* Dissertation, University of Maryland. 239 p.
- Hamlett, W. C. 1999. *Sharks, Skates, and Rays. The biology of elasmobranch fishes.* The John Hopkins University press. London, 515 p.
- Hamlett, W. C. y T. Koob. 1999. Female reproductive system. En W. C. Hamlett (Ed.) *Sharks, Skates and Rays: Biology of Elasmobranch Fishes.* The Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland, 398-443.
- Hamlett, W. C., D.P. Knight, T. Koob, M. Jezior, T. Rozycki, N. Brunette Y M. Hysell. 1998. Survey of oviducal gland structure and function in elasmobranchs. *J. Exp. Zool.* 282: 399-420.

- Hamlett, W. C., M. Reardon, J. Clark y T.I. Walker. 2002. Ultrastructure of sperm storage and male genital ducts in a male holocephalan, the elephant fish *Callorhynchus milii*. *J. Exp. Zool.*, 292: 111-128.
- Hamlett, W. C., J. A. Musick, A. M. Eulitt, R. L. Jarrell Y M. A. Kelly. 1996. Ultrastructure of uterine trophonemata, accommodation for Uterolactation, and gas exchange in the southern stingray, *Dasyatis americana*. *Can. J. Zool.* 74: 1417-1430.
- Hoar, W. S. 1969. Reproduction. En W. S. Hoar y D. J. Randall (Eds.), *Fish physiology*. Academic Press, New York, 3:1-72.
- Hubbs, C.L. y R. Ishiyama. 1968. Methods for the taxonomic study and description of skates (Rajidae). *Copeia*, 3:483-491.
- Humanson G. L. 1979. Animal Tissue Techniques. W.H. Freeman and Company, USA. 491 p.
- ICES. 2010. Report of the Workshop on Sexual Maturity Staging of Elasmobranches (WKMSSEL), Valetta, Malta. ICES CM 2010/ACOM: 48. 32 p.
- Leeson, C. R. & Leeson, T.S. 1977. *Histología*. Saunders Company, Philadelphia. 564 p.
- Lluch-Belda, D. 2000. *Centros de actividad biológica en la costa occidental de Baja California Sur*. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S. México. 49-64.
- Lynn, R.J. y J.J. Simpson. 1987. The California Current System: The Seasonal variability of its Physical Characteristics. *J. Geophys. Res.* 92:12, 947-966.
- Marshall, N. B. 1971. *Explorations in the life of fishes*. Harvard Univ. Press, Cambridge, Massachusetts. 204 p.
- Maruska, K., E. Cowie Y T. Tricas. 1996. Periodic gonadal activity and protracted mating in elasmobranch fishes. *J. Exp. Zool.*, 276: 219-232.

- Mattisson, A. y R. Fange. 1982. The cellular structure of the Leydig organ in the shark, *Etmopterus spinax*. *Biol. Bull.*, 162: 182-194.
- Mceachran, J. D. y G. Notarbartolo Di Sciara. 1995. *Peces Batoideos. Pertenece a Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca, Pacífico Centro Oriental*. Organización de las Naciones Unidas para la agricultura y la alimentación. Roma. 11 (1): 1200 p.
- Mossman, H. W. 1987. *Vertebrate fetal membranes: Comparative ontogeny and morphology, evolution, phylogenetic significance, basic functions, research opportunities*. Rutgers University Press, Brunswick, NJ. 383 p.
- Nelson, J. S., 1994. *Fishes of the World*. John Wiley and Sons, Inc. U. S. A. 600 p.
- Needham, J. 1942. *Biochemistry and Morphogenesis*. Cambridge University Press, Cambridge, U.K. 768 p.
- Oddone M.A., Alberto F. Amorim A.F., Mancini P.L., Walter N. y Velasco G. 2007. The reproductive biology and cycle of *Rioraja agassizi* (Müller and Henle, 1841) (Chondrichthyes: Rajidae) in southeastern Brazil, SW Atlantic Ocean. *Sci. Mar.*, 71(3):593-604.
- Parsons, G.R., y H.J. Grier. 1992. Seasonal changes in shark testicular structure and spermatogenesis. *J. Exp. Zool.*, 261:173-184.
- Pratt, H. L. Jr. 1979. Reproduction of the blue shark, *Prionace glauca*. *Fish. Bull.* 77: 445-470.
- Pratt, H. L. Jr. y J. G. Casey. 1990. Shark reproductive strategies as a limiting in directed fisheries with a review of Holden's method of estimating growth parameters. 97-109. En *Elasmobranchs as living resources Advances in the biology ecology systematics and the status of the fisheries*. H. L. Pratt, S. H. Gruber, y T. Taniuchi. (Eds.) NOAA Tech. Rep. NMFS. 90.

- Pratt, H. L. y T. Otake. 1990. Recommendations for work needed to increase our knowledge of reproduction relative to fishery management *NOAA Tech. Rep. NMFS*, 90: 509-510.
- Portnoy D.S., A.N. Piercy y J.A. Musick. 2007. Genetic polyandry and sexual conflict in the sandbar shark, *Carcharhinus plumbeus*, in the western North Atlantic and Gulf of Mexico. *Mol. Ecol.* 16:187–197.
- Ranzi, S. 1934. Le basi fisio-morfologiche dello sviluppo embrionale dei Selaci Parti II e III. *Pubb. Staz. Zool. Napoli.* 13:331-437.
- Santana-Morales, O., J. L. Castillo-Géniz., O. Sosa-Nishizaki y C. Rodríguez-Medrano. 2004. Catálogo de tiburones, rayas y quimeras (chondrichthyes) que habitan en las aguas del norte del Golfo de California. Reporte técnico. Laboratorio de Ecología Pesquera. *CICESE*. 119 p.
- Smith, R.M., T.I. Walker y W.C. Hamlett. 2004. Microscopic organization of the oviducal gland of the holocephalan elephant fish, *Callorhynchus milii*. *Mar. Freshwater Res.*, 55: 155-164.
- Smith W.D., J.J. Bizzarro, V.P. Richards, J. Nielsen, F. Marquez-Farias y M.S. Shivji. 2009. Morphometric convergence and molecular divergence: the taxonomic status and evolutionary history of *Gymnura crebripunctata* and *Gymnura marmorata* in the Eastern Pacific Ocean. *J. Fish Biol.* 75: 761–783.
- Stanley, H. P. 1963. Urogenital morphology in the chimaeroid fish *Hydrolagus colliei* (Lay and Bennett). *J. Morph.* 112:99-127.
- Steven G. A. 1933. Rays and Skates of Devon and Cornwall. III. The Proportions of the Sexes in Nature and in Comercial Landings, and their Significance to the Fishery. *J. Biol. Assoc.* 18: 611-625.
- Tanaka, S., H. KurokawA y M. Hara. 1995. Comparative morphology of the spermin chondrichthyan fishes. 313-320. En B. G. M. Jamieson, J. Ausio y J.-L.

Justine (Eds), *Advances in Spermatozoal Phylogeny and Taxonomy*. Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, 166 p.

Villavicencio-Garayzar, C. J. 1993. Notas sobre *Gymnura marmorata* (Cooper, 1864) Pisces Dasyatidae Bahía Almejas. E. C. S. México. *Rev. Inv. Cient.* 41: 91-94.

Villavicencio-Garayzar, C. J., H. Downton y E. Mariano Meléndez. 1994. Observaciones sobre *Dasyatis longus* (pisces Dasyatidae) en Bahía Almejas Baja California Sur México. *Rev. Biol. Trop.*, 42:371- 373.

Villavicencio–Garayzar, C.J., 1995. Distribución temporal y condición reproductiva de las rayas (Pisces: Batoidea) capturadas comercialmente en Bahía Almejas, Baja California Sur (México). Universidad Autónoma de Baja California Sur. *Rev. Inv. Cient. Ser. Mar.* 6 (12): 1–12.

Walker, T.I. 2004. Management measures, 285–322. En: *Elasmobranch Fisheries Management Techniques*. Musick, J.A., y Bonfíl, R., (Eds). APEC Secretariat, Singapore, APEC #203–FS–03.2.

Wood-Mason, J. y A. Alcock. 1891. The uterine villiform papillae of *Pteroplatea micrura*, and their relation to the embryo. *Proc. Roy. Soc. London.* 49:359-367.

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

Wourms, J.P. y L.S. Demski. 1993. The reproduction and development of sharks, skates, rays and ratfishes: introduction, history, overview, and future prospects. *Environ. Biol. Fish.*, 38: 1-21.

Wourms, J.P. 1977. Reproduction and Development in Chondrichthyan. *Amer. Zool.*, 17:379-410.

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.

