

BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE LA RAYA LÁTIGO Hypanus longus (Garman, 1880) CAPTURADA EN EL PACÍFICO DE GUATEMALA.

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

PRESENTA
FRANCISCO EMANUEL POLANCO VÁSQUEZ

LA PAZ, B.C.S., NOVIEMBRE DE 2022

DIRECCIÓN



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

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

						,				
				La Pa	z, B.C.S.,	a 1	4 d	e Nov	del	2022
El Colegio	de Profesores de Posgrad	do de CENTE	RO INTERDISC	CIPLINA	RIO DE CIE	ENCIAS	MARIN	NAS (en su S	Sesión
			(Unidad	Académic	:a)					
EXTRAORD	No. E-242.21 celebra	ada el día	29 del me	s EN	ERO d	le 2	021	conoci	ó la soli	icitud
presentada	a por el (la) alumno (a):	_		L		L				
Apellido Paterno:	POLANCO		VÁSQUEZ		Nombre ((s): I	FRANCI	SCO EMA	NUEL	
Número de	e registro: B 2 0 0	0 4 3 0]							
del Progra	ıma Académico de Posgrad	do: MAES	STRÍA EN C	IENCIA	AS EN MA	NEJO	DE RE	CURSOS	MARI	INOS
	al registro de su tema de to igna al aspirante el tema d			nte:						
	GÍA REPRODUCTIVA DE LA O DE GUATEMALA"	RAYA LÁTIG	O Hypanus	longus	(Garman,	1880)) CAPT	URADA I	EN EL	
Objetivo g	eneral del trabajo de tesis:									
	rizar parámetros de la biol		ıctiva de la ı	raya lá	tigo <i>Hypa</i>	nys lo	ngus e	n el Pací	fico de	
2 Se desi	igna como Directores de T	esis a los pro	fesores:							
Director:	DRA. ROSA ISABEL OCHOA	A BÁEZ	2°	Directo	DR. F	ELIPE	GALVÁ	N MAGA	ÑA	
L			.		<u> </u>	No a	plica:			
3 El Trab	ajo de investigación base ¡	para el desar	rollo de la te	sis ser	á elaborac	do por	el alun	nno en:		
EL CENTI	RO INTERDISCIPLINARIO DE	CIENCIAS MA	RINAS - IPN							
Que cuent	ta con los recursos e infrae	structura nec	esarios.							
en que se	resado deberá asistir a los suscribe la presente, has correspondiente.	seminarios d ta la aprobac	esarrollados ción de la ve	en el a ersión d	área de ad completa d	Iscripo de la te	ión del esis po	trabajo or parte o	desde de la C	la fecha omisión
	Director(a) de Tes	sis			2° Dire	ctor d	e Tesis	s (en su e	caso)	
)				•	*	/		
B	AA. ROSA ISABEL OCHOA BÁ	ÁEZ			DR. FE	LIPE G) GALVÁN	MAGAÑ.	A	
LI	Aspirante Aspirante Aspirante	OLANCO VÁSO	QUEZ		Preside	Au	el Cole	wh		CUTIVO SUMBOS P.N.



NOMBRE DEL TRABAJO

AUTOR

Polanco_Vásques_Tesis.pdf

FRANCISCO EMANUEL POLANCO VÁSQ

UEZ

RECUENTO DE PALABRAS

RECUENTO DE CARACTERES

24347 Words

136818 Characters

RECUENTO DE PÁGINAS

TAMAÑO DEL ARCHIVO

105 Pages

5.4MB

FECHA DE ENTREGA

FECHA DEL INFORME

Nov 14, 2022 10:05 AM GMT-7

Nov 14, 2022 10:06 AM GMT-7

5% de similitud general

El total combinado de todas las coincidencias, incluidas las fuentes superpuestas, para cada base c

- 5% Base de datos de Internet
- 1% Base de datos de publicaciones

· Base de datos de Crossref

- Base de datos de contenido publicado de Crossr
- 1% Base de datos de trabajos entregados

Excluir del Reporte de Similitud

- Material bibliográfico
- Material citado

- · Material citado
- Coincidencia baja (menos de 10 palabras)

SIP-14 REP 2017



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

 				Г	
En la Ciudad de La Paz, B.C.S.	siendo	la: 12:00 horas	del día 17 d	el mes d	Noviembre
del 2022 se reunieron los	s miembros de la	Comisión Reviso	ra de la Tesis,	designada	a por el Colegio de
Profesores de Posgrado de	CENTRO INTERDISC	IPLINARIO DE CIENCI	AS MARINAS	para exa	minar la tesis titulada:
"BIOLOGÍA REPRODUCTIVA CAPTURADA EN EL PACÍFICO			s (Garman, 1880)	del (la) alumno (a):
Apellido POLANCO Paterno:	Apellido Materno:	VÁSQUEZ	Nombre (s):	FRANCISC	CO EMANUEL
Número de registro:	B 2 0 0 4	3 0			
Aspirante del Programa Acad	émico de Posgra	do: MAESTRÍA	EN CIENCIAS EN N	ANEJO DE	RECURSOS MARINOS
Una vez que se realizó un ar trabajo de tesis tiene <u>5%</u> de s					o, se encontró que el
Después que esta Comisión textos de la tesis identificado: SI NO SE SE CONSTITU		tes con otros doc			
JUSTIFICACIÓN DE LA COI "El resultado del 5% es aceptab Similares a otras tesis de otras e	le, porque se refier	e a la temática, me	todología con ob		
**Es responsabilidad del alumno co de similitud para establecer el ries			igio, y del Director	o Directores	s de tesis el análisis del %
Finalmente y posterior a la le miembros de la Comisión ma	ectura, revisión ir	ndividual así con	ENDER N	intercaml	
"SATISFACE LOS REQUISITOS SEÑ	ÍALADOS POR LAS D	ISPOSICIONES REG	LAMENTARIAS V	IGENTES"	
	COMISIÓ	N REVISORA I	DE TESIS		
DR. FELIPE GALVÁN MAGAÑA Director de Tesis	DR. AG	STÍN HERNÁNDEZ F Nombre completo y firm			LIO GONZÁLEZ ARMAS mbre completo y firma
Nombre completo y firma DRA. ROSA ISABEL OCHOA BÁEZ Director de Tes s Nombre completo y firma	DR	A. KÄTYERIN SOTO LO Nombre completo y firm	ÓPEZ	DR. SER I	IO HERNANDEZ TRUILLO mbre competo Alma a ENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES
				1	I.P.N.
					CICIMAR

DIRECCIÓN



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE USO DE OBRA PARA DIFUSIÓN

En la Ciudad de	La Paz, B.C.S.,	el día		del mes de	Noviembre	del año	2022
El (la) que suscribe	LIC. FRA	NCISCO EI	MANUE	L POLANCO VÁSQ	UEZ Alu	ımno (a) de	l Programa
	MAESTRÍA I	N CIENCL	AS EN M	ANEJO DE RECUF	RSOS MARINOS		
con número de regi	istro B200430	adscr	ito al	CENTRO INTE	RDISCIPLINARIO	DE CIENCIAS	MARINAS
manifiesta que es a	utor(a) intelectua	del pres	ente tra	abajo de tesis, b	ajo la dirección	de:	
	DR. FELIPE GAL	VÁN MAGA	AÑA Y	DRA. ROSA ISA	ABEL OCHOA BÁ	EZ	
y cede los derechos	del trabajo titula	do:					
"BIOL	OGÍA REPRODUCT					nan, 1880)	
	CAPTI	JRADA EN	I EL PA	CÍFICO DE GUAT	EMALA"		
al Instituto Politécr	iico Nacional, para	su difusi	ón con	fines académico	os y de investiga	ación.	
Los usuarios de la i	nformación no del	en renro	ducir e	l contenido text	nal gráficas o d	latos del tra	nhaio sin el
		_					
permiso expresado	del autor y/o dire	ctor(es)	del trab	oajo. Este pued	le ser obtenido	escribiend	o a las
siguientes dirección	n(es) de correo:	polance	oenca@	gmail.com- fga	alvan@ipn.mx -	rochoa@ij	n.mx
Si el permiso se oto	rga, el usuario del	erá dar e	el agrad	lecimiento corre	espondiente y c	itar la fuent	te de este.
	1	0	RI SO	AT			
	/ /	1174	7/1/1	9 -6671.	1		

LIC. FRANCISCO EMANUEL POLANCO VÁSQUEZ

Nombre completo y firma autógrafa del (de la) estudiante

AGRADECIMIENTOS

Al pueblo de México, ya que con sus impuestos financiaron mi educación. Siempre les estaré agradecido.

A los doctores: Rosa Isabel, Felipe Galvan, Katherin Soto y Rene Torres por todo el cariño, amistad y apoyo que me brindaron durante el desarrollo de la tesis y durante mi estancia en México. Los quiero mucho.

A los doctores: Rogelio Gonzáles y Agustín Hernández por su apoyo en la elaboración de la tesis.

Al CICIMAR-IPN, por recibirme en la maestría y ayudarme en mi formación profesional.

Al CONACYT, BEIFI, OEA y a la fundación Heinrich Böll Stiftung por el apoyo económico que me brindaron para poder costear mi estadía en México.

A Wildlife Conservation Society Guatemala, por el apoyo económico que me brindaron para poder costear el trabajo de campo de la tesis.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala/Centro de Estudios del Mar y Acuicultura USAC/CEMA, por facilitarme el uso de las instalaciones para analizar mis muestras.

A don Meme y a Chori, pescadores de Sipacate ya que sin su apoyo no hubiera podido colectar las muestras de mi tesis.

A José Moreira, Jorge Marroquín y José Ortiz por el apoyo en toda la logística de recolección y análisis de muestras de campo y análisis de laboratorio.

A Laura Galindo, Marcos Gonzales, Cristopher Avalos y Alejandra Morales por su valioso apoyo en la toma de medidas morfométricas de las gónadas.

A Jorge Morales por compartirme información para complementar el análisis de relación talla peso.

A Mariana, Imanol, Rodri, Vivi, Mayra, Einye, Mariana, Perla, Pancho, Estefi, Clara, Kike y Checo por su amistad y el apoyo que me brindaron durante la maestría. Siempre los voy a recordar.

DEDICATORIA

A mi familia Polanco-Vásquez, a mis amigos y a mis siete perros.

A los estudiantes sancarlistas que se encuentran en resistencia protestando contra el fraude realizado en la Universidad de San Carlos de Guatemala USAC. Siempre les estaré agradecido. Fuerza y Resistencia.

INDICE

RESUN	MEN	XIII
ABSTF	RACT	XIV
1. IN	TRODUCCIÓN	1
2. AN	NTECEDENTES	5
3. JU	STIFICACIÓN	7
4. OF	BJETIVOS	8
4.1.	Objetivo general	8
4.2.	Objetivos específicos	8
5. M	ATERIALES Y MÉTODOS	9
5.1.	Área de estudio	9
5.2.	Tamaño de la muestra	10
5.3.	Colecta e identificación de los organismos	10
5.4.	Trabajo de laboratorio	11
5.5.	Análisis Estadísticos	11
5.6.	Evaluación de la madurez sexual	12
a.	Hembras	12
b.	Machos	14
5.7.	Análisis histológico	16
6. Re	sultados	18
6.1.	Estructura de tallas	18
6.2.	Relación Talla (ancho de disco)-peso	22
6.3.	Morfometría de las gónadas	23
a.	Gónadas de machos	23
b.	Gónadas de hembras	23
6.4.	Determinación de la condición de madurez sexual	24
a.	Madurez sexual en machos	24
b.	Madurez sexual en hembras	26
6.5. embr	Fecundidad, estructura de talla, talla de nacimiento y proporción de sex iones	
6.6.	Ciclo reproductivo	31
a.	Ciclo ovárico	31

6.7.	Anatomía externa del aparato reproductor de las hembras	33
6.8.	Fases de madurez sexual en las gónadas de las hembras	34
a.	Inmaduras	34
b.	Hembras en maduración	36
c.	Maduras	37
d.	Preñadas	38
6.9.	Histología del ovario	38
a.	Oogénesis	39
b.	Oogonia	40
c.	Folículos primarios	41
d.	Folículos previtelogénicos	43
e.	Folículos vitelogénicos	43
6.10.	Útero	45
6.11.	Glándula oviducal	50
a.	Zona Club	50
b.	Zona papillary	51
c.	Zona terminal.	51
6.12.	Anatomía externa del aparato reproductor de los machos	52
6.13.	Fases de madurez sexual en las gónadas de los machos	54
a.	Inmaduros	54
b.	En desarrollo	55
c.	Maduros	55
6.14.	Anatómica microscópica e histológica del testículo	57
a.	Espermatogonia primaria	58
b.	Espermatogonia secundaria	58
c.	Espermatocito primario	59
d.	Espermatocito secundario	60
e.	Espermátida	61
f.	Espermatozoide inmaduro	61
g.	Espermatozoide maduro	62
6.1	5. Epidídimo	63
6.1	6. Glándula de Leydig	63

6.1	7. Vesícula seminal	64
7. DI	SCUSIÓN	66
7.1.	Estructura poblacional	66
7.2.	Aspectos reproductivos	69
7.3.	Anatomía externa del aparato reproductor de las hembras	74
7.4.	Histología del aparato reproductor de las hembras	75
7.5.	Anatomía externa del aparato reproductor de los machos	77
7.6.	Histología del aparato reproductor de machos	78
8. CO	ONCLUSIONES	80
9. RE	ECOMENDACIONES	82
10.	BIBLIOGRAFIA	83

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. A, Cola de H. dipterurus donde se observa un pliegue ventral y uno dorsal. B, cola
de H. longus donde se observa un pliegue ventral y una quia dorsal2
Figura 2. Ubicación del Área de Uso Múltiple Marino Costera Sipacate-Naranjo (AUMMCSN)
Figura 3. Distribución de frecuencias de tallas de machos y hembras de <i>Hypanus longus</i> er el Pacifico de Guatemala.
Figura 4. Relación ancho de disco cm - peso g de <i>H. longus</i> en el Pacífico de Guatemala
Figura 5. Regresión lineal entre el ancho de disco cm y la longitud del gonopterigio cm de los machos de <i>H. longus</i>
Figura 6. Regresión lineal entre el ancho de disco cm y la longitud del testículo izquierdo mm de los machos de <i>H. longus</i>
Figura 7. Estadios de madurez de machos de <i>H. longus</i> (Im= inmaduros, Ed= en desarrollo y Ma= maduros)
Figura 8. Longitud a la cual el 50% de los organismos machos de <i>H. longus</i> tienen la probabilidad de estar maduros
Figura 9. Regresión lineal entre el ancho de disco cm y la longitud del útero izquierdo mm de las hembras de <i>H. longus</i>
Figura 10. Estadios de madurez de hembras de <i>H. longus</i> (Im= inmaduros, Ed= en desarrollo Ma= maduros y Pre= preñadas)
Figura 11. Longitud a la cual, el 50% de los organismos hembras de <i>H. longus</i> tienen la probabilidad de estar maduras
Figura 12. Distribución de frecuencias de tallas de los embriones de machos y hembras de H. longus en el Pacifico de Guatemala
Figura 13. Correlación entre el ancho de disco de las hembras preñadas y el número de embriones

Figura 14. Desarrollo del folículo ovárico de mayor tamaño (diámetro) durante la temporada
de muestreo
Figura 15. Variación del tamaño (AD) de los embriones durante la temporada de muestreo
Figura 16. Anatomía externa del aparato reproductor de las hembras de H. longus. Vist
dorsal. (Ovi= Ovario izquierdo, Ovdi= Oviducto izquierdo, GO= Glándula Oviducal, Ui=
Útero izquierdo, Ovd= Ovario derecho, Ud= Útero derecho)
Figura 17. Posición de la gónada de una hembra dentro de la cavidad visceral de <i>H. longus</i> Vista ventral. (Ovd= Ovario derecho, Ovi= Ovario izquierdo, Riñ= Riñones)
Figura 18. Gónada de una hembra inmadura de <i>H. longus</i> de 67 cm AD. (Ovi= Ovario izquierdo, Ovdi= Oviducto izquierdo, GO= Glándula Oviducal, Ui= Útero izquierdo, Ovd-Ovario derecho, Ud= Útero derecho)
Figura 19. Gónada de una hembra en desarrollo de H. longus de 79 cm AD. (Ovi= Ovario
izquierdo, Ovdi= Oviducto izquierdo, GO= Glándula Oviducal, Ui= Útero izquierdo, Ovd=
Ovario derecho, Ud= Útero derecho)
Figura 20. Aparato reproductor de una hembra madura de <i>H. longus</i> de 107 cm AD. (Ovi-
Ovario izquierdo, Ovdi= Oviducto izquierdo, GO= Glándula Oviducal, Ui= Útero izquierdo Ovd= Ovario derecho, Ud= Útero derecho)
Figura 21. Anatomía externa del aparato reproductor de una hembra preñada de <i>H. longu</i> de 141 cm AD. (Ovi= Ovario izquierdo, Ovd= Oviducto izquierdo, GO= Glándula Oviducal Ui= Útero izquierdo, Ovd= Ovario derecho, Ud= Útero derecho)
Figura 22. Corte transversal en la parte media del ovario izquierdo de una hembra inmadur de 79 cm AD (Órgano epigonal=OE, Tejido epitelial germinal=TG, Nido de ovocitos=NO
Folículo primario=FPr). Técnica Hematoxilina-Eosina. 10x
Figura 23. (A) Oogonia rodeadas por células foliculares de una hembra inmadura de 79 cm AD. (B) Oogonia de una hembra inmadura de 79 cm AD. (Tejido epitelial germinal=TG Oogonia=O, Núcleo de célula folicular=NCF). Técnica Hematoxilina-Eosina. 100x
Figura 24. Nido de oocitos. (Ovocito primario=OPr). Técnica Hematoxilina Eosina. 100x4:

Figura 25. Nido de 4 oogonias con células foliculares en una hembra inmadura de 79 cm
AD. (Ovocito primario=OPr). Técnica Hematoxilina Eosina. 100x41
Figura 26. (A) Folículo primario inicial, Técnica Hematoxilina Eosina. 100x. (B) Folículo primario en una etapa avanzada donde la capa granulosa, se convierte en epitelio aplanado simple, Técnica Hematoxilina Eosina. 100x. (C, D) Folículo primario inicial en etapa a avanzada. Técnica Tricrómica de Mallory. (Zona pelúcida= ZP, Teca= T, Capa Granulosa= CG). 40x y 100x.
Figura 27. (A) Folículo previtelogénico, Técnica Tricrómica de Mallory. 10x. (B) Folículo previtelogenico, Técnica Hematoxilina Eosina. 40x. (Zona pelúcida=ZP, Teca=T, Capa Granulosa=CG, Órgano epigonal= OE).
Figura 28. (AB) Folículo vitelogénico (FV), Técnica Tricrómica de Mallory. (Zona pelúcida=ZP, Teca=T, Capa Granulosa=CG, Gránulos de vitelo=GV) 10x y 100x44
Figura 29. (AB) Folículo vitelogénico con pliegues, Técnica Tricrómica de Mallory. (Zona pelúcida=ZP, Teca=T, Capa Granulosa=CG, Gránulos de vitelo=GV, P= Pliegues) 10x y 100x
Figura 30. Folículo vitelogénico totalmente maduro, Técnica Tricrómica de Mallory (Zona pelúcida=ZP, Teca=T, Capa Granulosa=CG, Gránulos de vitelo=GV, P= Pliegues) 10x y 100x.
Figura 31. (A) Acino o cripta totalmente formada en la trofonemata, corte longitudinal de acino. (B) Acino o cripta en corte transversal. Hembra de 137 cm de AD preñada. Técnica Tricomica de Mallory. (Acino=Ac) 40x
Figura 32. (A) Corte de la pared del Útero de una hembra preñada de 118 cm de AD. (B) útero de una hembra inmadura de 79 cm AD. Técnica Tricrómica de Mallory. 10x. (Tejido conjuntivo denso= TD, Tejido muscular liso= TML, Tejido conjuntivo laxo= TL. Endometrio= E, Trofonemata= Tf)
Figura 33. (A) Cripta totalmente formada presenta leche uterina, corte longitudinal del acino (B) Trofonemata con leche uterina con acinos en diferentes planos de corte. Hembra de 137 cm de AD preñada. Técnica Tricrómica de Mallory. (Acino=Ac, Leche U) 40x y 10x 48

Figura 34. Trofonemata de una hembra inmadura de 79 cm AD, Téc. Tricomica de Mallory.
40x. (Trofonemata=Tf, Vaso sanguíneo=Vs, Epitelio cilíndrico simple=Ecs)48
Figura 35.Trofonemata de una hembra madura de 104 cm AD, Téc. Tricrómica de Mallory (Acino=Ac, Trofonemata=Tf, Vaso sanguíneo=Vs, Epitelio cilíndrico simple=Ecs). 40x y 10x
Figura 36. Trofonemata de una hembra en desarrollo de 101 cm AD, Téc. Tricrómica de Mallory. 40x. (Acino=Ac, Trofonemata=Tf, Vaso sanguíneo=Vs, Epitelio cilíndrico simple=Ecs).
Figura 37. Zona club, Técnica Tricrómica de Mallory. (A) Lumen en la zona club. (B) Achino, con células ciliadas (Acino=A, Lumen=L, Lamela=Lm). 10x y 40 x
Figura 38. Zona papillary. (A) Lumen en la zona papillary 20X. (B) Acino, con células ciliadas, Técnica Tricrómica de Mallory. 40X. (Acino=A, Lamela=Lm)51
Figura 39. Zona terminal, Técnica Tricrómica de Mallory. (Acino=A, Lumen=L) 40x 52
Figura 40. Anatomía externa del aparato reproductor de los machos de <i>H. longus</i> . Vista dorsal. (Ei= Epididimio izquierdo, Ti= Testículo izquierdo, Gli= Glándula de Leydig izquierda, Vsi= Vesícula seminal izquierda, Ed= Epididimio derecho, Td= Testículo derecho, Gld= Glándula de Leydig derecha, Vsd= Vesícula seminal derecha)
Figura 41. Gónada fresca de un macho de <i>H. longus</i> . Vista dorsal. (Ei= Epididimio izquierdo, Ti= Testículo izquierdo, Gli= Glándula de Leydig izquierda, Vsi= Vesícula seminal izquierda, Ed= Epididimio derecho, Td= Testículo derecho, Gld= Glándula de Leydig derecha, Vsd= Vesícula seminal derecha, Rin=Riñón)
Figura 42. Gónada de un macho inmaduro de <i>H. longus</i> de 59 cm AD. (Ei= Epididimio izquierdo, Ti= Testículo izquierdo, Gli= Glándula de Leydig izquierda, Vsi= Vesícula seminal izquierda, Ed= Epididimio derecho, Td= Testículo derecho, Gld= Glándula de Leydig derecha, Vsd= Vesícula seminal derecha, Rin=Riñón)
Figura 43. Gónada de un macho en desarrollo de <i>H. longus</i> de 72 cm AD. (Ei= Epididimici izquierdo, Ti= Testículo izquierdo, Gli= Glándula de Leydig izquierda, Vsi= Vesícula

seminal izquierda, Ed= Epididimio derecho, Td= Testículo derecho, Gld= Glándula de
Leydig derecha, Vsd= Vesícula seminal derecha)
Figura 44. Gónada de un macho maduro de <i>H. longus</i> de 88 cm AD. (Ei= Epididimic izquierdo, Ti= Testículo izquierdo, Gli= Glándula de Leydig izquierda, Vsi= Vesícula seminal izquierda, Ed= Epididimio derecho, Td= Testículo derecho, Gld= Glándula de Leydig
Figura 45. Testículo de macho maduro de <i>H. longus</i> . Técnica Tricomica de Mallory. 800 x (Oe= Órgano epigonal, Espm= Espermatozoides maduros, Espi= Espermátidas inmaduras)
Figura 46. Espermatogonia primaria. (Espermatogonia primaria=E1ra) Técnica Hematoxilina-Eosina. 100x
Figura 47. Espermatogonias secundarias dentro de la membrana basal. (Espermatogonia secundaria=E2da, Membrana basal=MB) Técnica Hematoxilina-Eosina. 100x
Figura 48. Espermatocito primario. (Espermatocito primario=EP1ra) Técnica Hematoxilina- Eosina. 40x
Figura 49. Espermatocitos secundarios (Espermatocitos secundarios=EP2da, Membrana basal=MB, Células de Sertoli=CS) Técnica Hematoxilina-Eosina. 100x
Figura 50. Espermátidas (Espermátidas=EPr, Células de Sertoli=CS) Técnica Hematoxilina- Eosina. 100x. 61
Figura 51. Espermatozoides inmaduros (Espermatozoides inmaduros=Esi, Cola de espermatozoide=Col, Cabeza del espermatozoide=Ca) Técnica Hematoxilina-Eosina. 100x
Figura 52. Espermatozoides maduros (Espermatozoides maduros=Esm, Lumen=L Membrana basal=MB) Técnica Hematoxilina-Eosina. 100x
Figura 53. Sección de epidídimo en corte transversal con evidencia de acumulación de espermatozoides (Espermatozoides=Esm, Tejido conjuntivo de colágeno=Tc, Epitelic pseudoestratificado=EP). Técnica Hematoxilina-Eosina. 10x

Figura 54. Sección de glándula de Leydig en un corte transversal con evidencia de flujo de
espermatozoides (Acino= A, Tejido conjuntivo de colágeno=Tc, Epitelio
pseudoestratificado=EP, Espermatozoide=Esm). Técnica Hematoxilina-Eosina. 40x 64
Figura 55. Sección de vesícula seminal en un corte longitudinal con evidencia de flujo de
espermatozoides almacenados en forma de espermatóforo (Espermatóforo=Esp, Tejido
conjuntivo de colágeno=Tc, Epitelio pseudoestratificado=EP). Técnica Hematoxilina-
Eosina. 40x65

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estadios de desarrollo gonadal en hembras (ICES, 2013). (Estadios de madu	ırez
fueron validados a partir del análisis histológico)	14
Tabla 2. Estadios de desarrollo gonadal en machos (ICES, 2013). (Todos los estadios	
madurez fueron validados a partir del análisis histológico)	
Tabla 3. Promedios de anchos de disco AD de las hembras de <i>H. longus</i> por mes	
Tabla 4. Promedio de ancho de disco AD de los machos de <i>H. longus</i> por mes	
Tabla 5. Proporción de sexos por mes de <i>H. longus</i>	
Tabla 6. Medidas morfométricas de las gónadas del lado izquierdo de las hembras de longus.	
Tabla 7. Diámetro de los oocitos de hembras de <i>H. longus</i>	
Tabla 8. Medidas morfométricas de los testículos de los machos de <i>H. longus</i>	
Tabla 9. Talla reportadas para <i>H. longus</i> en la zona de distribución	ხგ

RESUMEN

La raya látigo Hypanus longus se distribuye en el Pacifico Oriental Tropical, desde Baja California, México hasta Ecuador. En el Pacifico de Guatemala es la especie de raya más capturada, y es una de las especies más pescadas en países como El Salvador, Nicaragua, Costa Rica, Panamá y al sur de México. Actualmente, la información tendiente a implementar medidas de regulación y manejo es escasa. La investigación se realizó en la comunidad pesquera de Sipacate en el Pacifico de Guatemala, de enero de 2019 a febrero de 2021. Se obtuvo información en el desembarque de la flota artesanal tomando datos morfométricos, además se recolectaron gónadas de organismos para describir los aspectos reproductivos. En el laboratorio se tomó datos morfométricos de gónadas y se prepararon las muestras para realizar el análisis histológico. El objetivo general fue caracterizar parámetros de la biología reproductiva de la raya látigo Hypanus longus. Se utilizó información morfométrica de 2659 organismos, 1248 hembras y 1411 machos. La talla promedio de las hembras fue de 83.32 \pm 22.34 cm de ancho de disco (AD); de los machos de 78.18 \pm 10.46 cm AD. Sin diferencias estadísticas entre los AD de los dos sexos (Mann-Whitney, p=0.235070). La proporción sexual fue 0.88:1 H:M, (χ 2=10.12; p<0.05). La relación del ancho de disco-peso, con los datos con los dos sexos combinados resulto en un crecimiento alometrico negativo (b=2.0296263, p<0.05). Para estudiar los aspectos reproductivos se utilizaron 495 organismos, 219 hembras y 276 machos. La longitud de gonopterigio y la longitud del testículo izquierdo describieron el estado de madurez sexual en los machos. La talla de madurez (L50) calculada para machos fue de 75.72 cm AD, se validó por la presencia de espermatozoides maduros en los testículos. El estado de madurez sexual en las hembras se estimó por la longitud del útero izquierdo. La L50 calculada para hembras fue de 105.42 cm AD. Se validó por la presencia de las criptas del trofonemata del útero. La proporción sexual estimada de los embriones fue de 0.76:1.00 H:M, (χ 2=0.83; p>0.05), la fecundidad promedio fue de 2 embriones por hembra. La talla de nacimiento calculada fue de 35 cm AD. La especie H. longus en el Pacífico de Guatemala mostro evidencia de ser una especie asincrónica. Por primera vez se realiza un estudio de biología reproductiva de esta especie en el Pacifico de Centro América y Sur de México, obteniéndose la L50 para machos y hembras más bajas en la zona de distribución. Además, se amplía el intervalo de fecundidad para la

especie con 6 embriones. Se recomienda realizar estudios sobre la segregación de machos y hembras y estudios específicos sobre la fecundidad uterina para no sub estimar esta variable.

ABSTRACT

The Longtail stingray Hypanus longus is distributed in the Eastern Tropical Pacific, from Baja California, Mexico to Ecuador. In the Pacific of Guatemala, it is the most caught ray species and one of the most fished species in countries such as El Salvador, Nicaragua, Costa Rica, Panama and southern Mexico. Currently, the information tending to implement regulation and management measures is scarce. The research was carried out in the fishing community of Sipacate in the Pacific of Guatemala from January 2019 to February 2021. Information on landings of the artisanal fleet was collected, taking morphometric data; in addition, gonads of some organisms were collected to describe the reproductive aspects. In the laboratory, morphometric data of gonads were taken, and samples were prepared for histology. The general objective was to characterize the parameters of the reproductive biology of Hypanus longus. Extracted morphometric information was from 2659 organisms, 1248 females and 1411 males. The average size of the females was 83.32428 ± 22.34991 cm Disk Width (DW); of males was 78.18987 ± 10.4645 cm DW. No statistical differences between the DW of the two sexes (Mann-Whitney, p=0.235070). The sex ratio was 0.88:1 F:M, (χ 2=10.12; p<0.05). The disk width-weight relationship, combined with the data with the two sexes, resulted in negative allometric growth (b=2.0296263, p<0.05). reproductive aspects, 495 organisms were used, 219 females and 276 males. Clasper length and left testis length described the state of sexual maturity in males. The size at maturity was (L50) calculated, for males was 75.72 cm DW; it was validated by the presence of mature sperm in the testes. The length of the left uterus was used to estimate the state of sexual maturity in females. The calculated L50 for females was 105.42 cm DW. It was validated by the presence of the crypts of the trophonemata of the uterus. The estimated sex ratio of the embryos was 0.76:1.00 F:M, (χ 2=0.83; p>0.05), and the average fecundity was two embryos per female. The calculated birth length was 35 cm DW. H. longus in Pacific Guatemala shows evidence of being an asynchronous species. For the first time, a reproductive biology study of this species is carried out in the Pacific of Central America and southern Mexico, obtaining the lowest L50 for males and females in the distribution area. In addition, the

fecundity interval for the species is extended with six embryos. Finally, it is recommended to carry out studies on the segregation of males and females and specific studies on uterine fertility so as not to underestimate this variable.

1. INTRODUCCIÓN

Los elasmobranquios batoideos comprenden una variedad de grupos taxonómicos conocidos comúnmente como: peces sierra, rayas, peces guitarra, torpedos, mobulas, mantarrayas y rayas eléctricas. Poseen un cuerpo achatado dorso ventralmente, las aletas pectorales están expandidas y fusionadas a los lados de la cabeza (Fischer et al., 1995; Carpenter, 2002). Actualmente incluyen alrededor de 670 especies (Ebert et al., 2021).

En el Pacifico centro oriental se encuentran reportadas 11 familias de batoideos, Dasyatidae, Gymnuridae, Mobulidae, Myliobatidae, Narcinidae, Pristidae, Rajidae, Rhinobatidae, Rhinopteridae, Torpedinidae y Urolophidae, las cuales contienen cerca de 20 géneros y 42 especies (Fischer et al., 1995).

La familia Dasyatidae se distribuye en mares tropicales templados-cálidos, en aguas costeras someras, lagunas, estuarios y ocasionalmente en aguas dulces. La mayoría de las especies de esta familia son bentónicas, viven sobre sustratos blandos, el género Pteroplatytrygon es el único del ambiente pelágico. Esta familia presenta los organismos de tamaño mayor con un ancho de disco (AD) de hasta 2.2 metros y un peso estimado de hasta 600 kg. El contorno del disco del cuerpo puede ser en forma de rombo o circular. La cola tiene forma de látigo, más larga que el ancho del disco. La familia carece de aletas dorsales, anal y caudal. La mayoría de las especies presentan una espina aserrada en la cola y otras especies poseen pliegues membranosos en la línea media superior e inferior de la cola. Esta familia tiene alrededor de 86 especies vivientes contenidas en 19 géneros. En cuanto a la taxonomía de la especie, algunos géneros pueden ser difícil de diferenciar debido a las similitudes morfométricas (Last et al., 2016). En el Pacífico de Guatemala se encuentran tres especies pertenecientes a esta familia, *Hypanus dipterurus* (Jordan y Gilbert, 1880), *Hypanus longus* (Garman, 1880) y *Pteroplatytrygon violácea* (Bonaparte, 1832) (Last et al., 2016).

El género Hypanus cuenta con ocho especies, caracterizadas por presentar el disco de forma romboidal deprimido y robusto, las aletas pectorales son redondeadas y están fusionadas con el disco. El hocico es obtuso y puntiagudo corto, en algunos ejemplares es alargado. Los ojos son grandes sobresalen levemente. La cola puede ser corta, o bien, larga según el

tamaño del individuo, presenta forma de látigo, filamentosa, su longitud puede ser de 1.3 a 3 veces el AD, la base es típicamente ovalada, deprimida estrecha en algunos un tanto ensanchada. Las aletas pélvicas se encuentran diferenciadas y sobresalen del disco. En la cola presenta un pliegue dorsal desarrollado de forma variable, un tanto prominente formándose una cresta, también puede estar ausente, el pliegue ventral puede variar de tamaño. Presentan un aguijón caudal cerca de la base de la cola, algunas especies presentan espinas medianas en el disco, presenta espinas escapulares pequeñas dispuestas en una fila corta, también presenta espinas medianas en la cola. El dorso es de color café y el lado ventral es blanco (Last et al., 2016)

Hypanus longus se diferencia de las demás especies del género por la presencia de un aguijón en la parte superior de la cola, aparte, la altura del pliegue ventral de la cola es ligeramente menor a la altura de ésta y en la parte dorsal de la cola presenta una quilla (Last et al., 2016). La especie es bentónica y se encuentra sobre fondos blandos arenosos y fangosos, en zonas costeras de la plataforma continental (Fischer et al., 1995).

En la zona de distribución *H. longus* convive con *H. dipterurus*, así, se pueden confundir entre sí. La característica más importante para identificar a *H. longus* de manera correcta es la presencia de pliegues y guías en la cola. en el caso de *H. longus* el pliegue ventral no sobre pasa la altura de la cola (Figura 1). En el caso de *H. dipterurus* el pliegue ventral es mucho más alto que la altura de la cola.

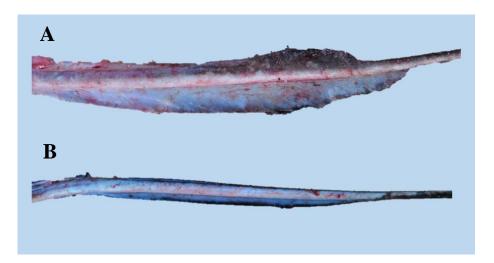


Figura 1. A, Región caudal de *H. dipterurus* donde se observa un pliegue ventral y uno dorsal. B, cola de *H. longus* donde se observa un pliegue ventral y una quia dorsal.

Hypanus longus se distribuye en el Pacifico Oriental Tropical, desde Baja California, México hasta Ecuador, se ha reportado en profundidades de hasta 118 m (Weigmann, 2016). La talla máxima reportada es de 180 cm de AD (Bohórquez-Herrera, 2006). La especie está clasificada en la evaluación global de la Lista Roja de Especies Amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN), como vulnerable (VU) (Pollom et al., 2020).

Todas las especies de la familia Dasyatidae son vivíparas aplacentadas, los embriones permanecen en el útero hasta terminar la gestación (Fischer et al., 1995). Presentan histotrofía lipídica, con producción de proteínas y lípidos en el endometrio del útero, secretadas por la trofonemata o *villis* uterinos, estas prolongaciones epiteliales se introducen en la boca en el embrión, branquias y espiráculo, proporcionándole los nutrientes necesarios durante el desarrollo embrionario (White et al., 2001; Hamlett, 2005).

En algunas especies del género *Hypanus* se ha descrito la vitelogénesis en sincronía con la gestación, siendo coincidente la presencia de los oocitos vitelogénicos aptos para la ovulación al mismo tiempo del parto (Hemidia et al., 2003). El número de crías reportado para *Hypanus longus* varia de una a cinco, el ancho de disco al nacer es cercano a 40 cm y el tiempo de gestación se extiende alrededor de 10 a 11 meses (Pollom et al., 2020).

Hypanus longus es la especie de batoideo de mayor demanda en la zona tropical del Océano Pacifico Oriental, es la principal especie de raya capturada por la pesca comercial en países como: Guatemala, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica, Panamá y en el sur de México (del Cid, 2011; López-Garro et al., 2015; Vega et al., 2016; J. Gonzáles et al., 2017; Torres-Huerta et al., 2019; Hernández et al., 2021).

Las capturas en el Pacífico de Guatemala opera por la flota de lanchas artesanales, como una pesca multiespecífica, utilizan dos tipos de artes de pesca, el trasmallo y un tipo de palangre de fondo llamado localmente como cimbra, para la captura de *H. longus* se utiliza la cimbra. También existen capturas importantes por las redes de arrastre de los barcos camaroneros.

Actualmente H. longus es un recurso importante para las comunidades de pescadores del

Pacifico de Guatemala, debido a que los ejemplares son de tamaño grande, se extrae una cantidad importante de carne por lo cual es mejor aceptada para el consumo en el mercado nacional, su captura es un objetivo prioritario para la pesca artesanal.

Por lo anterior, es necesario recopilar información pesquera a fin de evaluar el estado poblacional de *H. longus*, en el conocimiento que, la zona carece de información de esta pesquería. En este sentido, los estudios de los parámetros reproductivos como: periodo de gestación, talla media de madurez, proporción sexual, talla de maternidad, fecundidad, etc., son indispensables. Obtener la información biológica de la especie contribuirá a establecer puntos de referencia científica para estrategias de manejos pesquero apropiado y sustentable.

2. ANTECEDENTES

Acerca de la biología reproductiva de la raya látigo *Hypanus longus*, en la zona de distribución existen pocos estudios, la mayoría han tenido dificultad con obtener un tamaño de muestra adecuado que permita llegar a conclusiones robustas. La información disponible para la especie consiste en datos morfométricos obtenidos en caracterizaciones pesqueras.

En cuanto a la información sobre la reproducción de esta especie, el primer estudio realizado fue en la localidad conocida como Bahía Almejas, Baja California Sur, México (Villavicencio et al., 1994), donde se reportaron que las hembras maduran a los 110 cm AD y los machos a los 80 cm AD y se contabilizo de uno a tres embriones por hembra. El ciclo de desarrollo embrionario podría llevarse a cabo, en un periodo de 10 y 11 meses. En el trabajo de Villavicencio et al., (1994), las tallas de madurez sexual para hembras y machos se obtuvieron por medio de observaciones de los organismos en campo, no se aplicó ningún modelo para obtener esta variable. En este estudio se reportó por primera vez que en el caso de las gónadas de las hembras únicamente estaba desarrollado el lado izquierdo, el derecho es vestigial.

En Colombia se encontró una proporción de sexos de 3:1 hembras-machos, la talla media de madurez sexual para hembras alcanzó 156.6 cm AD, la cual fue calculada según Vazzoler, (1979). Se encontró un número promedio de dos embriones por hembra (Bohórquez-Herrera, 2006).

También en Colombia, López (2009), encontró la proporción de sexos de 1:1, la talla media de madurez sexual encontrada en 120 cm AD para hembras y 92 cm AD para machos. La fecundidad varió de uno a tres embriones por útero, con promedio dos. La talla de nacimiento se estimó entre 37 y 38 cm AD. No se encontró relación entre el ancho de disco y el número de embriones. El periodo de gestación se estimó la duración de 16 meses. En esta investigación se reportó que únicamente el lado izquierdo de la gónada de las hembras presentaba desarrollo, siendo el lado derecho de forma vestigial. En el caso de los machos, ambos lados presentan desarrollo (López, 2009).

A nivel histológico se realizó una descripción del ovario izquierdo de *H. longus* donde se menciona que es funcional, mientras el derecho es casi vestigial. En la capa de la granulosa del ovocito menciona que la especie muestra células caliciformes secretoras de diferentes

tipos y tamaños, con grandes núcleos. En algunas zonas del epitelio se observó secreción de vitelo de diferente tamaño y forma, así como células sanguíneas. En este trabajo se hace énfasis en la descripción histológica de las gónadas de las hembras (Bejarano, 2011).

En un estudio sobre aspectos reproductivos de esta especie en Baja California Sur, se encontró una proporción sexual de 1:1 hembras-machos. Las hembras recolectadas tuvieron tallas entre 29 y 102 cm AD y los machos entre 39.4 y 97 cm AD. Se identificaron cuatro estadios de madurez para hembras y machos. Las hembras presentaron desarrollada únicamente en la gónada el lado izquierdo. Los machos presentaron testículos pareados, funcionales, lobulados y de forma radial. Se realizó una descripción histológica de los ovarios y los testículos (Jiménez, 2017).

En el Pacífico de El Salvador se encontró que los machos eran adultos a partir de los 87 cm AD y las hembras a los 102 cm AD. La proporción sexual encontrada fue 0.92:1 hembras machos (Gonzáles et al., 2017).

3. JUSTIFICACIÓN

La raya látigo *Hypanus longus* se considera como una de las especies de elasmobranquios más susceptible a la pesca de arrastre de camarón en el Pacífico de Costa Rica (Clarke et al., 2018). Esta especie presenta una productividad intermedia de acuerdo con parámetros como: la edad máxima, la talla máxima, fecundidad, estrategia de reproducción, talla de madurez, edad de madurez y nivel trófico (Hobday et al., 2011). También, es susceptible a la pesca artesanal de pequeña escala, tiene un bajo potencial reproductivo y una altísima susceptibilidad a la pesca de arrastre de fondo lo que pone a la especie como vulnerable (Clarke et al., 2018).

En Colombia encontraron, que tanto la talla como la abundancia (organismos capturados por hora) de *H. longus* disminuyó del año 2001 al 2007, de 0.27 organismos/hora y una talla promedio de 150.6 cm LT a 0.09 organismos/hora y una talla de 129.7 cm LT respectivamente (Navia & Mejía-Falla, 2016).

Actualmente la captura de rayas es una de las actividades pesqueras más importantes para las comunidades que se dedican a la pesca artesanal costera en el Pacífico de Guatemala. En este sentido la pesca de *H. longus*, es un complemento significativo para los ingresos económicos de los pescadores en el municipio de Sipacate. En Guatemala y a nivel regional la información sobre esta especie consiste únicamente en caracterizaciones de la pesquería donde se describe la faena de pesca y la estructura de tallas capturadas.

Según Smith (2006) las tallas relativamente grandes en esta raya podrían asociarse con un crecimiento lento y longevidad prolongada. La fecundidad observada es baja, cinco crías, sugiere esta especie como vulnerable a la sobre pesca (Smith, 2006).

Actualmente en el Pacífico de Guatemala se carece de regulación pesquera o alguna estrategia específica para el manejo pesquero de la especie, en la ley general de pesca y acuicultura solo se tiene reglamentado el uso de las artes de pesca de forma general. Esta investigación pretende generar información de la biología reproductiva de *H. longus*, con el fin de cubrir vacíos de información orientada a implementar medidas de regulación y manejo sustentable por la autoridad nacional de pesca para la pesquería de rayas.

4. OBJETIVOS

4.1.Objetivo general

Caracterizar parámetros de la biología reproductiva de la raya látigo *Hypanus longus* en el Pacífico de Guatemala.

4.2.Objetivos específicos

- Determinar la composición de las tallas de los organismos capturados.
- Determinar la proporción de sexos.
- Describir la morfología macroscópica del aparato reproductor en machos y hembras.
- Describir la estructura histológica de los órganos reproductores en ambos sexos.
- Determinar la talla de madurez en la población.
- Estimar la fecundidad, talla de nacimiento y la proporción de sexos en embriones.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Área de estudio

Los datos morfométricos y las muestras de gónadas de los organismos recolectados provienen de ejemplares capturados por la flota de pescadores artesanales del municipio de Sipacate, departamento de Escuintla, Pacifico de Guatemala. El desembarque opera dentro del Área de Uso Múltiple Marino Costera Sipacate-Naranjo (AUMMCSN) en el rancho municipal de la localidad (Latitud 13^o 55^o 30.36" y Longitud 90^o 9^o 15.874") (Figura 2).

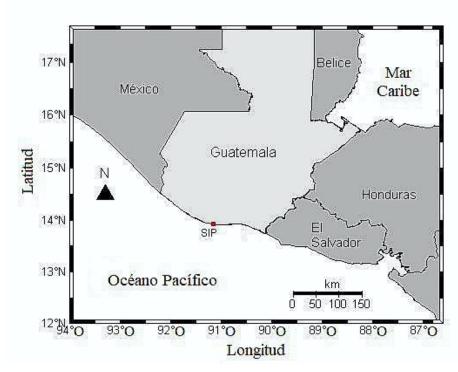


Figura 2. Ubicación del Área de Uso Múltiple Marino Costera Sipacate-Naranjo (AUMMCSN).

El AUMMCSN cuenta con una extensión territorial de 4,304.81 hectáreas, es administrada por el Consejo Nacional de Áreas Protegidas (CONAP). La zona de estudio se encuentra en la parte baja de la cuenca del río Acomé donde existen dos afluentes principales de agua dulce, el río Acomé y el río Coyolate (PNUD, 2018). La región de muestreo tiene clima cálido y lluvioso, la cual está dividido en dos estaciones, temporada seca, cálida y temporada de invierno lluviosa. La temporada seca generalmente se extiende de noviembre a abril, en cambio, la temporada de lluvias de mayo a octubre. La temperatura anual media es de 28 °C. En cuanto a la precipitación anual se encuentra en un intervalo entre 1600 a 1800 mm

anuales (PNUD, 2018).

5.2. Tamaño de la muestra

El tamaño de muestra se determinó por el total de organismos machos y hembras recolectados en el periodo enero de 2019 a febrero de 2021, durante el muestreo se previno tener la mayor cantidad de muestras en un amplio intervalo de tallas de machos y hembras.

Para evaluar la estructura de la población se obtuvo información de los organismos desembarcados de enero de 2019 a febrero de 2021. Para las variables reproductivas se colectaron gónadas de machos y hembras de enero de 2020 a febrero de 2021.

5.3. Colecta e identificación de los organismos

Las embarcaciones dedicadas a esta pesquería se dirigen principalmente a capturar peces de escama utilizándose el trasmallo como arte de pesca. La actividad se realiza en las primeras 10 a 14 millas náuticas desde la costa. Al mismo tiempo, las embarcaciones utilizan un tipo de palangre (cimbra) colocado sobre el fondo para capturar especies demersales.

En cada embarcación se registraron los siguientes datos: duración de la faena de pesca, arte de pesca utilizado, tipo y tamaño de anzuelo, número de lances realizados, distancia y rumbo de pesca y gasolina consumida. De cada ejemplar muestreado, se identificó la especie, *H. longus*, caracterizada por su cola donde muestra una quilla dorsal y un pliegue ventral (Fischer *et al.*, 1995) (Figura 1. A, Región caudal de H. dipterurus donde se observa un pliegue ventral y uno dorsal. B, cola de H. longus donde se observa un pliegue ventral y una quia dorsal.). Las medidas morfométricas incluyen, el ancho de disco (AD, en cm), largo de disco (LD, en cm), en la identificación del sexo en los machos se utilizó como indicador la presencia del gonopterigios (órganos copuladores), se verifico la calcificación, rotación y presencia de semen. Se clasificaron en organismos inmaduros o juveniles cuando los gonopterigios eran cortos y flexibles. Los maduros se clasificaron cuando los gonopterigios estaban calcificados, se podían rotar y tenían presencia de semen.

Finalmente se evisceraron los organismos muestreados y se procedió a extraer todos los órganos de la cavidad visceral con énfasis en las gónadas. Los órganos se colocaron en bolsas de plástico con formol al 10% en un volumen suficiente para sumergir todo el órgano, etiquetadas con los datos de fecha, sexo y número de registro del ejemplar.

5.4.Trabajo de laboratorio

Después de fijadas las gónadas en formol al 10%, así se conservaron por más de una semana,

en seguida se lavaron tres veces con abundante agua corriente, hasta eliminar el exceso de

formol. Posteriormente, se colocaron en alcohol al 70% para el registro de datos

morfométricos.

De los machos se registró de cada testículo, la longitud total en mm y en ancho en mm,

también el peso en g. De las hembras se registró la longitud en mm y el ancho en mm del

ovario derecho e izquierdo, el útero y la glándula oviducal. También se tomó el peso de

cada uno de los órganos.

5.5. Análisis Estadísticos

Se realizó el histograma de frecuencias de tallas para obtener la composición de la población

a través del ancho de disco de machos y hembras de H. longus, se utilizó un intervalo de 5

cm. Se aplicó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov. Se utilizó la prueba U de

Mann-Whitney para evaluar diferencias estadísticas entre las tallas de machos y hembras.

Para determinar la proporción de sexos, se contabilizó el total de ejemplares de cada sexo y

se dividió entre el total de organismos colectados, de igual manera en los embriones

encontrados. La proporción obtenida se analizó bajo la hipótesis nula de existir una

proporción 1:1, la prueba estadística utilizadas fue la prueba de chi-cuadrada (χ^2) con

corrección de Yates y con el 95% de confianza (Zar, 1996).

Para describir la relación entre el ancho de disco AD cm y el peso en gramos (g) de H.

longus se utilizó la ecuación potencial (Sparre & Venema, 1997):

$$PT = a * LF b$$

donde:

PT = Peso total en lb

LF = Ancho de disco en cm

a = Intercepto

11

b = Coeficiente de alometría

Para evaluar si el valor de 'b' diferente del valor teórico de crecimiento isométrico (3), se aplicó una prueba t de Student. De igual manera, para evaluar si existen diferencias significativas en la relación longitud-peso entre sexos se llevó a cabo un análisis de covarianza (ANCOVA) (Zar, 1996).

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

$$Pm=1/1 + [1 + e^{-(n+bXT_1)}]$$

Dónde Pm es la fracción de individuos maduros en la longitud de clase AD.

Los parámetros a y b son constantes del modelo (Walker, 2005; Mollet et al., 2000).

La fecundidad uterina se estimó mediante el número promedio de embriones por hembra en los diferentes meses de muestreo (Pratt, 1979). La longitud del embrión al nacer se estimó a partir de la talla embrionaria más grande con desarrollo por completo, en comparación con la talla del individuo más pequeño capturado. Para determinar si influye el tamaño de la hembra en el número de embriones producidos, se relacionó el número de embriones con la talla de la hembra madre.

En machos se relacionó el ancho de disco con la longitud de los gonopterigios y el largo del testículo derecho. En hembras se relacionó el ancho de disco con la longitud del útero. Para esto se aplicó un análisis de regresión lineal. Cada medición se realizó al milímetro más cercano para analizar la relación entre el ancho de disco y estas estructuras y determinar la talla a la cual estos órganos incrementan su tamaño, como un estimador de madurez sexual.

5.6. Evaluación de la madurez sexual

a. Hembras

La valoración sexual macroscópica en hembras se realizó con base en la condición anatómica del aparato reproductor, y la presencia o ausencia de embriones en el útero. Se utilizó como referencia la escala macroscópica de especies vivíparas de elasmobranquios (ICES, 2013) (Tabla 1).

Tabla 1. Estadios de desarrollo gonadal en hembras (ICES, 2013). (Estadios de madurez fueron validados a partir del análisis histológico)

Estadio	Descripción
Primer (inmaduro)	Ovarios son variablemente visibles o pequeños, blanquecinos, con folículos ováricos indistinguibles. El útero esta filiforme y estrecho. El útero y la glándula oviducal no se distinguen. La trophonemata se empieza a desarrollar.
Segundo (En desarrollo, inmadurez)	Ovarios comienzan a agrandarse, con pequeños folículos de diferentes tamaños, algunos folículos están relativamente grandes y amarillos. Pueden presentarse folículos vitelogénicos de tamaño pequeño y mediano.
	El útero y la glándula oviducal se empiezan a diferenciar uno del otro.
	Útero se empieza a agrandar junto con la trophonemata.
Tercero (Madura)	Ovarios ya están desarrollados, con folículos distinguibles y llenos de vitelo.
	La glándula oviducal y el útero están totalmente desarrollados. La trophonemata está totalmente alargada.
Cuarto (Gravidez temprana, materna)	Los úteros están ensanchados, redondeados y los embriones no pueden ser observados.
Quinta (Gravidez media, materna)	Los embriones presentan un tamaño pequeño, con un saco vitelino relativamente grande.
Sexto (Gravidez tardía, materna)	Los embriones están completamente formados, con un saco vitelino reducido o ausente, los embriones son fácilmente medidos y definidos sexualmente.

b. Machos

Para estimar el estado de madurez reproductiva en los machos se midió la longitud de los gonopterigios desde la base hasta la punta. Al mismo tiempo se registró su consistencia endurecida y el grado de calcificación (calcificado o sin calcificar), se verificó la rotación del gonopterigio y capacidad de rotación en 180° y la abertura en la punta distal (rifiodón). La presencia de semen en la punta del rifiodón es característica para determinar la madurez del organismo (Clark & von Schmidt, 1965). Los machos inmaduros se identificaron por los gonopterigios no calcificados, sin semen y sin rotación (Burgos-Vázquez, 2013); los

organismos maduros se caracterizan por los gonopterigios sobresalientes de las aletas pélvicas, y completamente calcificados con rotación de 180°. Los estadios de madurez serán validados a partir del análisis histológico(Clark & von Schmidt, 1965).

La valoración sexual de las gónadas en los machos se realizó con base en la condición anatómica de los testículos y los ductos seminales. Se utilizó como referencia la escala macroscópica de especies vivíparas de elasmobranquios (ICES, 2013) (Tabla 2).

Tabla 2. Estadios de desarrollo gonadal en machos (ICES, 2013). (Todos los estadios de madurez fueron validados a partir del análisis histológico).

Estadio	Descripción
Primer (inmaduro)	Gonopterigios: Flexibles y no calcificados. Generalmente más cortos que las aletas pélvicas. Testículos: Estos son pequeños y poco desarrollados. Ductos testiculares: rectos y filiformes.
Segundo (En desarrollo, inmadurez)	Gonopterigios: son flexibles y parcialmente calcificados. Estos son igual de largos o más largas que las aletas pélvicas. Testículos: se empiezan a desarrollar y en tiburones se pueden comenzar a segmentarse. Los lóbulos se empiezan a visualizar, no ocupa toda la superficie.
	Ductos testiculares: en desarrollo y se comienzan a enrollar.
Tercero (Maduros, capaz de reproducirse)	e Gonopterigios: duros, completamente calcificados y mucho más largos que las aletas pélvicas.
	Testículos: están desarrollados completamente, en algunas especies de tiburones los testículos estas segmentados.
	Ductos testiculares: Están enrollados totalmente y están llenos de esperma
Cuarto (Maduros, activos)	Gonopterigios: estos están similares a la etapa anterior, contienen las glándulas de los gonopterigios dilatadas y a veces hinchadas.
	Existe presencia de espermatozoide en el surco del gonopterigio o glándulas.
	Testículos: similar a la anterior etapa
	Ductos testiculares: Espermatozoides se observan totalmente.

5.7. Análisis histológico

Para llevar a cabo el análisis histológico se realizaron planos de corte en las secciones histológicas de los órganos reproductivos. En las hembras se hicieron cortes transversales del ovario izquierdo en la parte superior, medio e inferior. En el ovario derecho se realizaron cortes transversales en la parte media. En la glándula oviducal se realizaron cortes longitudinales en la parte media. Tanto en el útero izquierdo como el derecho se realizaron cortes transversales. En los machos se tomaron secciones histológicas transversales en la parte media del testículo, epidídimo y glándula de Leydig izquierda y derecha. En la vesícula seminal se realizaron cortes longitudinales, esto con el objetivo de observar el almacén de esperma, el desarrollo de la espermatogénesis y determinar el estado de madurez, cada una de las piezas de los órganos se introdujo en bolsas artesanas hechas con tela tipo "tul" en la cual se les coloco una etiqueta para identificarse en adelante, durante el proceso siguiente (Burgos, 2013; Soto-López, 2014; Bernal, 2017). En el procesamiento histológico de las submuestras de órganos, se lavaron en cambios frecuentes de agua corriente, durante seis a ocho horas, después se conservaron en alcohol al 70% durante tres días.

Se llevó a cabo la deshidratación en un procesado de tejidos marca KEDEE® por medio de cambios sucesivos de alcohol etílico, a concentraciones crecientes, en seguida se trasladaron a cloroformo y finalmente a parafina. Se utilizaron diferentes tiempos según el órgano y el tamaño del tejido. Finalmente, cada una de las piezas se incluyó en parafina. En el micrótomo rotatorio marca Microm HM 355 S, de cada una de las inclusiones, se realizaron cortes finos de 3.0µm de grosor. Para el montaje de los cortes se utilizó un baño de flotación marca Microm SB80, con temperatura controlada se preparó una mezcla de agua destilada con gelatina bacteriológica marca Bioxon, como adherente. Por último, cada uno de los cortes, extendidos por tensión superficial sobre la superficie del agua, se montaron en los porta objetos, debidamente etiquetados con clave (juliana) para identificación del órgano correspondiente.

Para el análisis histológico y citológico de los órganos al microscopio óptico, se procedió primero, a colocar las laminillas en una estufa EcoShel® a una temperatura de 60 °C, durante 24 horas. En seguida, para retirar el exceso de parafina se procedió a eliminar el exceso con Americlear en alcoholes en tiempos descendiente hasta agua destilada. Preparados para aplicar la coloración con la técnica de tinción Hematoxilina-Eosina, a fin de obtener un estudio topográfico general, también se aplicó la técnica Tricrómica de Mallory, y distinguir la anatomía microscópica, en general e identificación de las formas del tejido conjuntivo. Finalmente, se deshidrataron cada uno de los cortes teñidos y se montaron en definitiva con Cytoseal.

Después de 72 horas se procedió a observarlas las laminillas en un microscopio óptico marca Axio Kop, ZEISS. Las observaciones se realizaron en aumentos 10X, 40X y 100X. Finalmente las imágenes fueron procesadas en el programa AxioVision, ZEISS.

En el análisis de la ovogénesis se describieron los siguientes estadios: Ovogonia, ovocitos primarios, folículos primarios, folículos previtelogénicos y folículos vitelogénicos (Somsap et al., 2019a). En la espermatogénesis se describieron los siguiente estadios: Espermatogonia primaria, espermatogonia secundaria, espermatocito primario, espermatocito secundario, espermátidas, espermatozoide inmaduro y espermatozoide maduro (Burgos, 2013; Soto-López, 2014; Bernal, 2017).

6. Resultados

6.1. Estructura de tallas

Se utilizó información morfométrica de 2,659 organismos recolectados de *H. longus*, 1248 hembras y 1411 machos. Las hembras presentaron una talla promedio de 83.32 ± 22.34 cm de ancho de disco y un intervalo de talla de 41-178 cm AD. La talla promedio de los machos fue de 78.18 ± 10.46 cm AD. Y un intervalo de talla de 47.2-109 cm AD (Figura 3). Los datos del ancho de disco tanto de hembras como de machos, no se distribuyeron de manera normal (K-S p<0.01). Según la prueba no paramétrica de Mann-Whitney, no se encontraron diferencias estadísticas entre los AD de los dos sexos (p=0.235070). A pesar que no se presentaron diferencias estadísticas, el grupo de las hembras registró tallas más grandes en comparación con el grupo de individuos machos.

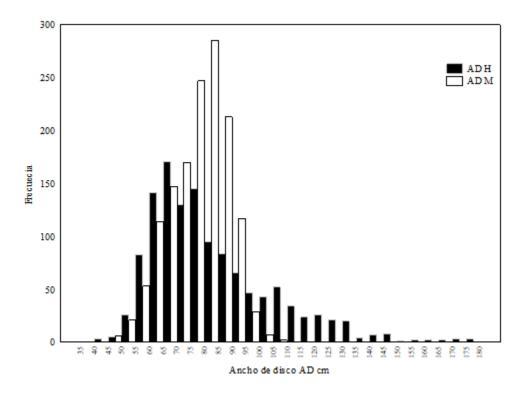


Figura 3. Distribución de frecuencias de tallas de machos y hembras de *Hypanus longus* en el Pacifico de Guatemala.

La proporción sexual resultó de 0.88:1 hembras por cada macho, mostraron diferencias estadísticas según la prueba de chi cuadrada ($\chi 2=10.12$; p<0.05), notándose que el grupo de los machos resultó más numeroso en comparación con el grupo de las hembras. Este resultado indica la existencia de una segregación por sexo en la zona donde los pescadores capturan a estos organismos.

Durante la temporada de muestreo los mayores promedios del parámetro ancho de disco de las hembras, se encontraron durante los meses de enero y julio de 2019, enero y junio de 2020 y enero de 2021. Y los valores promedios menores se presentaron durante marzo, mayo, junio, noviembre y diciembre de 2019 y marzo y abril de 2020 (Tabla 3). Según la prueba de Kruskal-Wallis (p=0.0023) se encontraron diferencias significativas entre las tallas colectadas en los diferentes meses.

Tabla 3. Promedios de anchos de disco AD de las hembras de *H. longus* por mes.

Mes	N	AD cm	AD Max	AD Min	S
2019-enero	13	88.46	173	48	35.58
2019-febrero	37	87.78	177.5	48	30.04
2019-marzo	25	79.68	131	56	19.34
2019-abril	6	66.00	90	44	14.68
2019-mayo	36	78.53	178	43	26.46
2019-junio	61	79.07	174	55	20.18
2019-julio	17	88.47	177	57	29.91
2019-agosto	41	84.10	167	46.5	26.66
2019-septiembre	35	82.40	123	55	20.28
2019-octubre	36	80.69	118	58	14.03
2019-noviembre	80	78.14	150	53	22.59
2019-diciembre	46	78.98	130	56	18.86
2020-enero	35	90.16	138	47	25.20
2020-febrero	41	87.76	126	53	21.14
2020-marzo	46	78.93	160	55	20.22
2020-abril	69	78.81	146	51	17.56
2020-mayo	42	80.29	116	52	15.09
2020-junio	120	91.25	160	61	23.81
2020-julio	64	82.80	173.5	56.5	20.32
2020-agosto	74	85.91	153	54	22.05
2020-septiembre	95	81.57	133	41	18.13
2020-octubre	80	83.83	144	54	21.86
2020-noviembre	80	87.33	165	56	25.13
2020-diciembre	50	80.34	133	50	20.83

2021-enero	11	91.18	149	58	32.78
2021-febrero	8	82.94	116	51	23.31

s= Desviación estándar

Los machos presentaron los promedios mayores de AD en los meses de febrero y julio de 2019 y febrero de 2021. Las tallas promedio menores de AD se registraron en junio, agosto, septiembre, octubre, noviembre y diciembre de 2019 (Tabla 4). Según la prueba de Kruskal-Wallis (p<0.05) indicaron diferencias significativas entre las tallas colectadas en los diferentes meses, el mes con más diferencias fue agosto de 2019.

Tabla 4. Promedio de ancho de disco AD de los machos de H. longus por mes.

2019-febrero 31 83.07 103 49 11.49 2019-marzo 34 79.79 96 56 11.60 2019-abril 3 64.67 69 59 5.13 2019-mayo 27 78.22 95 64 9.11 2019-junio 67 74.70 95 52 11.19 2019-julio 15 83.77 94 61.5 9.86 2019-agosto 64 72.94 91 50 9.88 2019-septiembre 41 74.10 87 53 8.44 2019-octubre 45 73.36 96 51 9.66 2019-noviembre 53 74.90 91 50 10.13 2019-diciembre 51 73.02 93 50 10.40 2020-enero 28 76.32 90.5 54 10.4 2020-febrero 38 80.47 98 56 9.96 2020-marzo	Mes	N	Promedio	AD Max	AD Min	s
2019-marzo 34 79.79 96 56 11.60 2019-abril 3 64.67 69 59 5.13 2019-mayo 27 78.22 95 64 9.11 2019-julio 67 74.70 95 52 11.19 2019-julio 15 83.77 94 61.5 9.86 2019-agosto 64 72.94 91 50 9.88 2019-septiembre 41 74.10 87 53 8.44 2019-septiembre 41 74.10 87 53 8.44 2019-octubre 45 73.36 96 51 9.66 2019-noviembre 53 74.90 91 50 10.13 2020-enero 28 76.32 90.5 54 10.4 2020-abril 51 73.02 93 50 10.4 2020-febrero 38 80.47 98 56 9.96 2020-marzo 34 77.03 93 61 10.09 2020-junio 105<	2019-enero	11	81.36	99	69	8.15
2019-abril 3 64.67 69 59 5.13 2019-mayo 27 78.22 95 64 9.11 2019-junio 67 74.70 95 52 11.19 2019-julio 15 83.77 94 61.5 9.86 2019-agosto 64 72.94 91 50 9.88 2019-septiembre 41 74.10 87 53 8.44 2019-octubre 45 73.36 96 51 9.66 2019-noviembre 53 74.90 91 50 10.19 2019-diciembre 51 73.02 93 50 10.49 2020-enero 28 76.32 90.5 54 10.49 2020-febrero 38 80.47 98 56 9.96 2020-marzo 34 77.03 93 61 10.09 2020-abril 71 80.42 100 50.5 10.66 2020-mayo 64 78.31 98 53 9.54 2020-junio 105 79.85 104 53 10.36 2020-agosto 77 79.31 102 51 10.99 2020-septiembre 102 79.61 97 55 9.83 2020-noviembre 105 79.91 106 56 10.76 2020-noviembre 105 79.91 106 56 10.76 2020-noviembre 158 80.72 103 55 9.33	2019-febrero	31	83.07	103	49	11.49
2019-mayo 27 78.22 95 64 9.11 2019-junio 67 74.70 95 52 11.19 2019-julio 15 83.77 94 61.5 9.86 2019-agosto 64 72.94 91 50 9.88 2019-septiembre 41 74.10 87 53 8.44 2019-octubre 45 73.36 96 51 9.66 2019-noviembre 53 74.90 91 50 10.11 2019-diciembre 51 73.02 93 50 10.40 2020-enero 28 76.32 90.5 54 10.40 2020-febrero 38 80.47 98 56 9.96 2020-marzo 34 77.03 93 61 10.09 2020-abril 71 80.42 100 50.5 10.60 2020-mayo 64 78.31 98 53 9.54 2020-junio 105 79.85 104 53 10.36 2020-julio <	2019-marzo	34	79.79	96	56	11.60
2019-junio 67 74.70 95 52 11.19 2019-julio 15 83.77 94 61.5 9.86 2019-agosto 64 72.94 91 50 9.88 2019-septiembre 41 74.10 87 53 8.44 2019-octubre 45 73.36 96 51 9.66 2019-noviembre 53 74.90 91 50 10.13 2019-diciembre 51 73.02 93 50 10.44 2020-enero 28 76.32 90.5 54 10.4 2020-febrero 38 80.47 98 56 9.96 2020-marzo 34 77.03 93 61 10.09 2020-abril 71 80.42 100 50.5 10.66 2020-mayo 64 78.31 98 53 9.54 2020-junio 105 79.85 104 53 10.36 2020-agosto 77 79.31 102 51 10.99 2020-agosto 77 79.31 102 51 10.99 2020-octubre 105 79.91 106 56 10.78 2020-noviembre 158 80.72 103 55 9.33	2019-abril	3	64.67	69	59	5.13
2019-julio 15 83.77 94 61.5 9.86 2019-agosto 64 72.94 91 50 9.88 2019-septiembre 41 74.10 87 53 8.44 2019-octubre 45 73.36 96 51 9.66 2019-noviembre 53 74.90 91 50 10.13 2019-diciembre 51 73.02 93 50 10.46 2020-enero 28 76.32 90.5 54 10.44 2020-febrero 38 80.47 98 56 9.96 2020-marzo 34 77.03 93 61 10.09 2020-abril 71 80.42 100 50.5 10.66 2020-mayo 64 78.31 98 53 9.54 2020-julio 92 77.72 109 47.2 10.49 2020-agosto 77 79.31 102 51 10.99 2020-agosto 77 79.31 102 51 10.99 2020-septiembre 102 79.61 97 55 9.83 2020-octubre 105 79.91 106 56 10.76 2020-noviembre 158 80.72 103 55 9.33	2019-mayo	27	78.22	95	64	9.11
2019-agosto 64 72.94 91 50 9.88 2019-septiembre 41 74.10 87 53 8.44 2019-octubre 45 73.36 96 51 9.66 2019-noviembre 53 74.90 91 50 10.1: 2019-diciembre 51 73.02 93 50 10.4: 2020-enero 28 76.32 90.5 54 10.4: 2020-febrero 38 80.47 98 56 9.96 2020-marzo 34 77.03 93 61 10.0! 2020-abril 71 80.42 100 50.5 10.60 2020-mayo 64 78.31 98 53 9.54 2020-junio 105 79.85 104 53 10.30 2020-julio 92 77.72 109 47.2 10.49 2020-agosto 77 79.31 102 51 10.97 2020-septiembre 102 79.61 97 55 9.83 2020-octubre	2019-junio	67	74.70	95	52	11.19
2019-septiembre 41 74.10 87 53 8.44 2019-octubre 45 73.36 96 51 9.66 2019-noviembre 53 74.90 91 50 10.13 2019-diciembre 51 73.02 93 50 10.44 2020-enero 28 76.32 90.5 54 10.44 2020-febrero 38 80.47 98 56 9.96 2020-marzo 34 77.03 93 61 10.09 2020-abril 71 80.42 100 50.5 10.66 2020-mayo 64 78.31 98 53 9.54 2020-junio 105 79.85 104 53 10.36 2020-julio 92 77.72 109 47.2 10.49 2020-agosto 77 79.31 102 51 10.99 2020-septiembre 102 79.61 97 55 9.83 2020-noviembre 158 80.72 103 55 9.33	2019-julio	15	83.77	94	61.5	9.86
2019-octubre 45 73.36 96 51 9.66 2019-noviembre 53 74.90 91 50 10.13 2019-diciembre 51 73.02 93 50 10.44 2020-enero 28 76.32 90.5 54 10.44 2020-febrero 38 80.47 98 56 9.96 2020-marzo 34 77.03 93 61 10.09 2020-abril 71 80.42 100 50.5 10.66 2020-mayo 64 78.31 98 53 9.54 2020-junio 105 79.85 104 53 10.36 2020-julio 92 77.72 109 47.2 10.49 2020-agosto 77 79.31 102 51 10.99 2020-septiembre 102 79.61 97 55 9.83 2020-noviembre 158 80.72 103 55 9.33	2019-agosto	64	72.94	91	50	9.88
2019-noviembre 53 74.90 91 50 10.13 2019-diciembre 51 73.02 93 50 10.40 2020-enero 28 76.32 90.5 54 10.40 2020-febrero 38 80.47 98 56 9.96 2020-marzo 34 77.03 93 61 10.09 2020-abril 71 80.42 100 50.5 10.60 2020-mayo 64 78.31 98 53 9.54 2020-junio 105 79.85 104 53 10.30 2020-julio 92 77.72 109 47.2 10.49 2020-agosto 77 79.31 102 51 10.99 2020-septiembre 102 79.61 97 55 9.83 2020-octubre 105 79.91 106 56 10.73 2020-noviembre 158 80.72 103 55 9.33	2019-septiembre	41	74.10	87	53	8.44
2019-diciembre 51 73.02 93 50 10.46 2020-enero 28 76.32 90.5 54 10.46 2020-febrero 38 80.47 98 56 9.96 2020-marzo 34 77.03 93 61 10.09 2020-abril 71 80.42 100 50.5 10.60 2020-mayo 64 78.31 98 53 9.54 2020-junio 105 79.85 104 53 10.36 2020-julio 92 77.72 109 47.2 10.49 2020-agosto 77 79.31 102 51 10.99 2020-septiembre 102 79.61 97 55 9.83 2020-octubre 105 79.91 106 56 10.73 2020-noviembre 158 80.72 103 55 9.33	2019-octubre	45	73.36	96	51	9.66
2020-enero 28 76.32 90.5 54 10.44 2020-febrero 38 80.47 98 56 9.96 2020-marzo 34 77.03 93 61 10.09 2020-abril 71 80.42 100 50.5 10.60 2020-mayo 64 78.31 98 53 9.54 2020-junio 105 79.85 104 53 10.30 2020-julio 92 77.72 109 47.2 10.49 2020-agosto 77 79.31 102 51 10.99 2020-septiembre 102 79.61 97 55 9.83 2020-octubre 105 79.91 106 56 10.73 2020-noviembre 158 80.72 103 55 9.33	2019-noviembre	53	74.90	91	50	10.15
2020-febrero 38 80.47 98 56 9.96 2020-marzo 34 77.03 93 61 10.09 2020-abril 71 80.42 100 50.5 10.60 2020-mayo 64 78.31 98 53 9.54 2020-junio 105 79.85 104 53 10.30 2020-julio 92 77.72 109 47.2 10.49 2020-agosto 77 79.31 102 51 10.99 2020-septiembre 102 79.61 97 55 9.83 2020-octubre 105 79.91 106 56 10.73 2020-noviembre 158 80.72 103 55 9.33	2019-diciembre	51	73.02	93	50	10.46
2020-marzo 34 77.03 93 61 10.09 2020-abril 71 80.42 100 50.5 10.60 2020-mayo 64 78.31 98 53 9.54 2020-junio 105 79.85 104 53 10.30 2020-julio 92 77.72 109 47.2 10.49 2020-agosto 77 79.31 102 51 10.99 2020-septiembre 102 79.61 97 55 9.83 2020-octubre 105 79.91 106 56 10.73 2020-noviembre 158 80.72 103 55 9.33	2020-enero	28	76.32	90.5	54	10.44
2020-abril 71 80.42 100 50.5 10.66 2020-mayo 64 78.31 98 53 9.54 2020-junio 105 79.85 104 53 10.36 2020-julio 92 77.72 109 47.2 10.49 2020-agosto 77 79.31 102 51 10.99 2020-septiembre 102 79.61 97 55 9.83 2020-octubre 105 79.91 106 56 10.78 2020-noviembre 158 80.72 103 55 9.33	2020-febrero	38	80.47	98	56	9.96
2020-mayo 64 78.31 98 53 9.54 2020-junio 105 79.85 104 53 10.36 2020-julio 92 77.72 109 47.2 10.49 2020-agosto 77 79.31 102 51 10.99 2020-septiembre 102 79.61 97 55 9.83 2020-octubre 105 79.91 106 56 10.73 2020-noviembre 158 80.72 103 55 9.33	2020-marzo	34	77.03	93	61	10.09
2020-junio 105 79.85 104 53 10.30 2020-julio 92 77.72 109 47.2 10.49 2020-agosto 77 79.31 102 51 10.99 2020-septiembre 102 79.61 97 55 9.83 2020-octubre 105 79.91 106 56 10.73 2020-noviembre 158 80.72 103 55 9.33	2020-abril	71	80.42	100	50.5	10.66
2020-julio 92 77.72 109 47.2 10.49 2020-agosto 77 79.31 102 51 10.99 2020-septiembre 102 79.61 97 55 9.83 2020-octubre 105 79.91 106 56 10.79 2020-noviembre 158 80.72 103 55 9.33	2020-mayo	64	78.31	98	53	9.54
2020-agosto 77 79.31 102 51 10.9° 2020-septiembre 102 79.61 97 55 9.83 2020-octubre 105 79.91 106 56 10.7° 2020-noviembre 158 80.72 103 55 9.33	2020-junio	105	79.85	104	53	10.36
2020-septiembre 102 79.61 97 55 9.83 2020-octubre 105 79.91 106 56 10.73 2020-noviembre 158 80.72 103 55 9.33	2020-julio	92	77.72	109	47.2	10.49
2020-octubre 105 79.91 106 56 10.73 2020-noviembre 158 80.72 103 55 9.33	2020-agosto	77	79.31	102	51	10.97
2020-noviembre 158 80.72 103 55 9.33	2020-septiembre	102	79.61	97	55	9.83
	2020-octubre	105	79.91	106	56	10.78
2020-diciembre 68 76.51 99 55 10.24	2020-noviembre	158	80.72	103	55	9.33
	2020-diciembre	68	76.51	99	55	10.24

2021-enero	15	81.98	94	67	7.53
2021-febrero	12	83.42	98	65	9.47

s= Desviación estándar

El cálculo de la proporción sexual por mes, únicamente para noviembre de 2019, mayo, julio y noviembre de 2020, mostró diferencias estadísticas según la prueba de chi cuadrada. Únicamente, en el mes de noviembre de 2019 la proporción de hembras fue mayor, en los otros tres meses la proporción de machos fue mayor. Finalmente, en los otros 22 meses muestreados la proporción sexual no presento diferencias (Tabla 5).

Tabla 5. Proporción de sexos por mes de H. longus.

Mes	Н:М	χ2
2019-enero	1.18:1	0.04
2019-febrero	1.19:1	0.37
2019-marzo	0.74:1	1.08
2019-abril	2.0:1	93.44
2019-mayo	1.33:1	1.02
2019-junio	0.91:1	0.2
2019-julio	1.13:1	0.03
2019-agosto	0.96:1	0.03
2019-septiembre	0.85:1	0.33
2019-octubre	0.80:1	0.79
2019-noviembre	1.51:1	5.08
2019-diciembre	0.90:1	0.16
2020-enero	1.25:1	0.57
2020-febrero	1.08:1	0.05
2020-marzo	1.35:1	1.51
2020-abril	0.97:1	0.01
2020-mayo	0.66:1	4.16
2020-junio	1.14:1	0.87
2020-julio	0.70:1	4.67
2020-agosto	0.96:1	0.03
2020-septiembre	0.93:1	0.18
2020-octubre	0.76:1	3.11
2020-noviembre	0.51:1	24.91
2020-diciembre	0.74:1	2.45

2021-enero	0.73:1	0.35	
2021-febrero	0.67:1	0.45	

6.2. Relación Talla (ancho de disco)-peso

Se utilizó el peso (g) de cada uno de 274 organismos para estimar la relación entre ancho de disco-peso, de estos 132 eran hembras y 142 machos. Las hembras presentaron un peso promedio de 16296 ± 15175.4 g, el intervalo de 1811.4-133930 g. El peso promedio de los machos fue de 13313.33 ± 5676.06 g, y un intervalo de peso de 1293.9-37228 g.

El análisis de covarianza realizado a fin de verificar si el crecimiento era diferente o igual en los dos sexos, el resultado no mostro diferencias entre la pendiente (b; p=0.06855), ni en el intercepto (a; p=0.6377). La relación del ancho de disco-peso, utilizándose los datos combinados de machos y hembras resulto de la siguiente manera: b=2.0296263; los límites de confianza de b fueron 1.891259 a 2.167993, a=1,924776, con límites de confianza de 1.057469 a 3.503421, con valor de significancia de p<0.05, indica la existencia de una relación lineal significativa entre los valores del ancho de disco y el peso. El valor de la r² fue de 0.7525 (Figura 4).

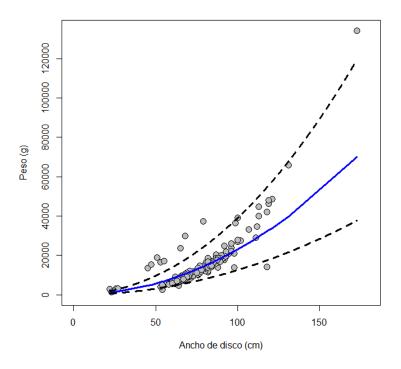


Figura 4. Relación ancho de disco cm - peso g de H. longus en el Pacífico de Guatemala.

Según lo observado en el grupo combinado de machos y hembras, la prueba t de Student demostró el valor de b=2.0296, significativamente diferente de 3 (p<0.05). Este resultado, significa y comprueba que *H. longus* crece de forma alometrica negativa.

6.3. Morfometría de las gónadas

a. Gónadas de machos

Para el análisis de los parámetros reproductivos de los machos de $H.\ longus$, se emplearon las gónadas de 276 individuos. El testículo derecho en su longitud total promedio 92.43 \pm 27.71 mm, en tanto, el izquierdo alcanzó 113.48 \pm 29.59 mm. El ancho promedio del testículo derecho fue de 28.34 \pm 12.56 mm, el izquierdo fue de 31.60 \pm 11.12 mm. Finalmente, el testículo derecho peso en promedio 34.45 \pm 22.45 g., mientras el izquierdo el peso promedio fue 43.78 \pm 27.01 g. Los datos de los testículos no presentaron distribución normal (K-S p<0.05). Resultaron diferencias estadísticas entre los datos de las tallas y pesos de los testículos izquierdo y derecho (Mann-Whitney p<0.05), donde, el testículo izquierdo es más grande en comparación con el derecho.

b. Gónadas de hembras

Para el análisis de los parámetros reproductivos de las hembras de H. longus se analizaron las gónadas de 219 individuos. La glándula oviducal registró una longitud promedio de 28.53 \pm 10.60 mm, el ancho promedio midió 21.86 \pm 8.98 mm y el peso promedio 16.23 \pm 18.01 g. La longitud promedio del útero izquierdo midió 67.99 \pm 41.73; mm mientras que el ancho promedio 30.53 \pm 28.14 mm y el peso promedio 119.44 \pm 278.75 g.

El ovario derecho presentó un largo promedio de 87.28 ± 32.20 mm, mientras que el izquierdo fue de 113.58 ± 32.43 mm. El ancho promedio del ovario derecho midió 18 ± 6.30 mm, el izquierdo de mayor tamaño, 38.23 ± 16.33 mm. Finalmente, el peso promedio del ovario derecho alcanzó 21.89 ± 29.48 g, en cambio el ovario izquierdo pesó 57.85 ± 38.12 g. Los datos relativos al tamaño de los ovarios se distribuyeron de manera normal (K-S p>0.05), hubo diferencias en el tamaño promedio entre el ovario derecho y el izquierdo (T-tes; p<0.05), donde, el ovario izquierdo suele ser más grande. Los datos de los pesos no presentaron distribución normal (K-S p<0.05). Tuvieron diferencias estadísticas entre los datos de los pesos de los ovarios izquierdo y derecho (Mann-Whitney p<0.05), destacó el ovario izquierdo de mayor peso en comparación que el derecho.

6.4. Determinación de la condición de madurez sexual

a. Madurez sexual en machos

Los indicadores que mejor describieron el estado de madurez sexual en los machos, en relación al ancho de disco fueron: la longitud de gonopterigio y la longitud del testículo izquierdo. La longitud del gonopterigio comparada con el ancho de disco de los machos con valor de r²=0.7589 (Figura 5). En tanto, la longitud del testículo izquierdo el valor de r²=0.4741 (Figura 6). Con base en los resultados antes descritos se establecieron tres estadios de maduración sexual: organismos inmaduros (Im) un 10.87%, organismos en desarrollo (Ed) un 25% y organismos maduros (Ma) un 64.13%, estos últimos son los más abundantes (Figura 7). El intervalo de talla de los organismos considerados como inmaduros tuvo 56-74 cm AD. Aquellos considerados como individuos en desarrollo midieron 54-81 cm AD. Finalmente, los organismos maduros variaron entre 63-100 cm AD. Según esta clasificación se presentaron diferencias entre las tallas promedio de la longitud total del testículo izquierdo (p<0.05). Los organismos clasificados como maduros fueron diferentes a los inmaduros y en desarrollo (p Tukery; p=0.000022)

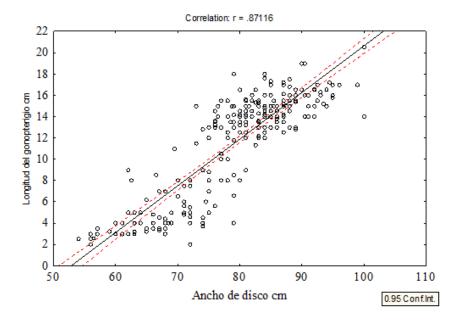


Figura 5. Regresión lineal entre el ancho de disco en cm y la longitud del gonopterigio en cm de los machos de *H. longus*.

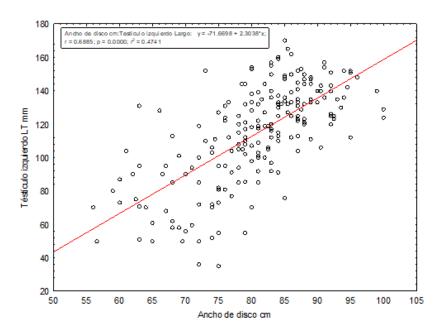


Figura 6. Regresión lineal entre el ancho de disco en cm y la longitud del testículo izquierdo en mm de los machos de *H. longus*.

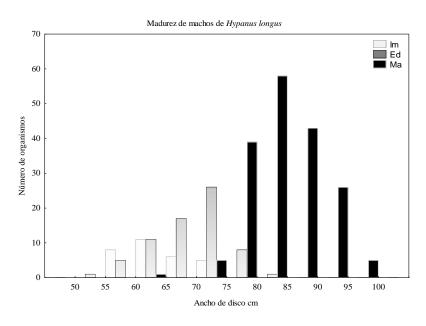


Figura 7. Estadios de madurez de machos de *H. longus* (Im= inmaduros, Ed= en desarrollo y Ma= maduros).

Con base a la clasificación del desarrollo de madurez de los machos se calculó la talla media de madurez sexual (L_{50}), esta talla explica la probabilidad de encontrar organismos maduros, en este caso la L_{50} , indica la probabilidad de un 50% de encontrar organismos maduros a la

talla estimada. En este caso la L_{50} calculada según el modelo de Walker (2005) fue de 75.72 cm AD con un error estándar de 0.2263208 y la L_{95} calculada fue de 79.94 cm AD con un error estándar de 0.6241868 (Figura 8).

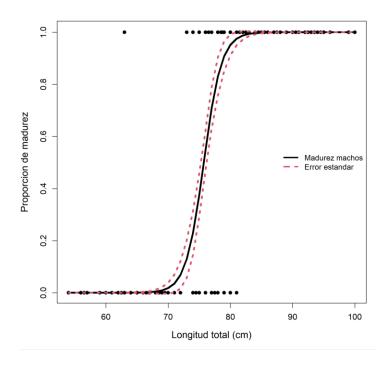


Figura 8. Longitud a la cual el 50% de los organismos machos de *H. longus* tienen la probabilidad de estar maduros.

b. Madurez sexual en hembras

La variable reproductiva que mejor describió el estado de madurez sexual en las hembras, tomándose en cuenta su desarrollo con respecto al ancho de disco fue: la longitud del útero izquierdo. La longitud del útero comparada con el ancho de disco de las hembras presento una r²=0.7471 (Figura 9). Con base en éstas características se establecieron cuatro estadios de madurez sexual: organismos inmaduros (Im) con 43.45 %, organismos en desarrollo (Ed) con un 31.78%, organismos maduros (Ma) con un 16.36% y la hembras preñadas (Pre) un 8.41%, notándose los organismos inmaduros más abundantes (Figura 10). El intervalo de talla de los organismos inmaduros fue de 51-95 cm AD, y en desarrollo fue de 61-110 cm AD, los organismos maduros variaron de 91-141 cm AD, finalmente las hembras preñadas variaron entre 98-160 cm AD. Según esta clasificación se presentaron diferencias entre las tallas del largo del útero (Kruskall-Wallis; p<0.05). Los organismos clasificados como maduros evidentemente son diferentes a los inmaduros y en desarrollo (p<0.05).

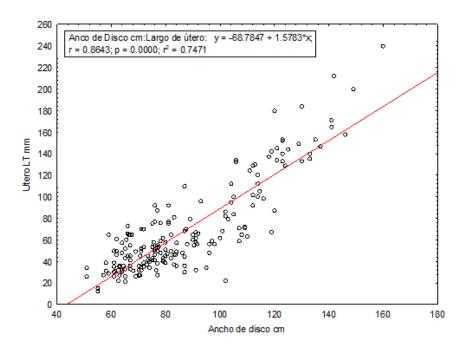


Figura 9. Regresión lineal entre el ancho de disco en cm y la longitud del útero izquierdo en mm de las hembras de *H. longus*.

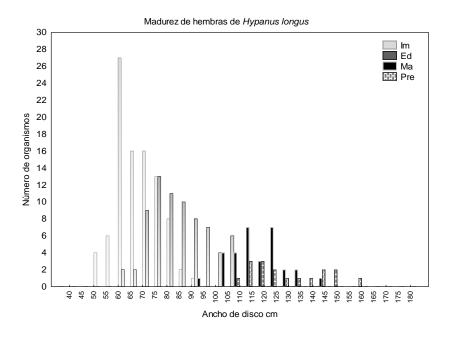


Figura 10. Estadios de madurez de hembras de *H. longus* (Im= inmaduros, Ed= en desarrollo, Ma= maduros y Pre= preñadas).

Con base a la clasificación del desarrollo de madurez de las hembras se calculó la talla media de madurez sexual (L_{50}). En este caso la L_{50} calculada según el modelo de Walker (2005) se

obtuvo en 105.42 cm AD con un error estándar de 0.635 y la L₉₅ calculada fue de 117.15 cm AD con un error estándar de 1.7947068 (Figura 11).

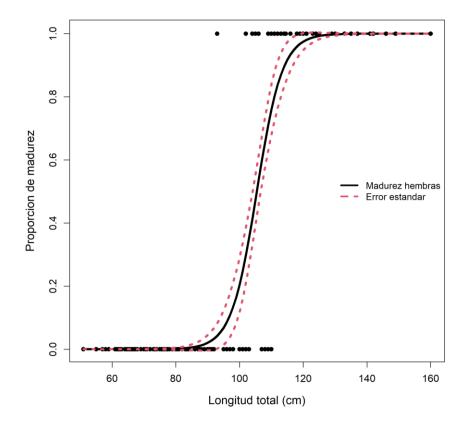


Figura 11. Longitud a la cual, el 50% de los organismos hembras de *H. longus* tienen la probabilidad de estar maduras.

La L50 de maternidad, la cual es la talla a la cual existe la probabilidad de que el 50% de las hembras estén preñadas fue de 131.34 cm AD con un error estándar de 5.607. Y la L95 de maternidad fue de 173.7338 cm AD con un error estándar de 21.6743. No se encontró la asíntota en la gráfica para estas variables, pero fueron significativas (p<0.005).

6.5. Fecundidad, estructura de talla, talla de nacimiento y proporción de sexo de los embriones

Se registró información morfométrica de 30 embriones, 13 hembras y17 machos. Las hembras presentaron una talla promedio de 16.284 ± 19.653 cm AD, el intervalo de talla fue entre 9.5-26.0 cm AD. La talla promedio de los machos resultó de 17.688 ± 30.947 cm AD, el intervalo de talla de 8.5-27.10 cm AD (Figura 12). Los valores del ancho de disco tanto de embriones hembras como de machos se distribuyeron de manera normal (K-S p>0.20). Según la prueba paramétrica de T-test, no se encontraron diferencias estadísticas entre los promedios de los anchos de discos de hembras y machos (p=0.462).

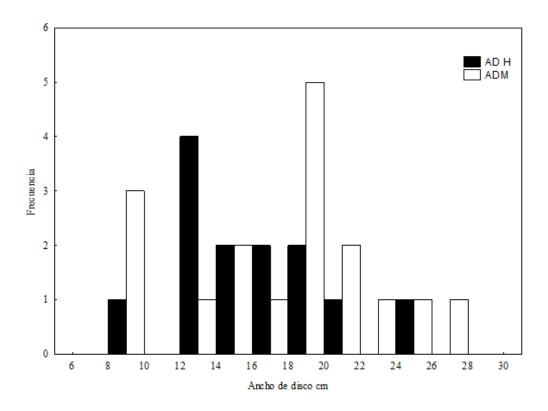


Figura 12. Distribución de frecuencias de tallas de los embriones de machos y hembras de *H. longus* en el Pacifico de Guatemala.

.

Entre los embriones la proporción sexual estimada fue de 0.76:1 hembras por cada macho, sin diferencias estadísticas según la prueba de chi cuadrada (χ 2=0.83; p>0.05), por lo tanto, ambos grupos son iguales.

En total se obtuvieron 33 embriones en 15 úteros. La fecundidad promedio fue de 2.2 ± 1.52 embriones por cada hembra, en un intervalo de 1-6 embriones, la moda fue de en 1 embrión.

La talla de nacimiento calculada fue de 35 cm AD, esta resultó de dividir el ancho de disco del organismo más pequeño recolectado en campo, dentro del ancho de disco del embrión de mayor tamaño encontrado.

Se encontró una relación lineal estadísticamente significativa entre el ancho de disco de las hembras y el número de embriones (p<0.05), aunque el porcentaje de la variabilidad solo se explica en un 35% por lo que no podemos concluir que la fecundidad de las hembras dependan de la talla (Figura 13).

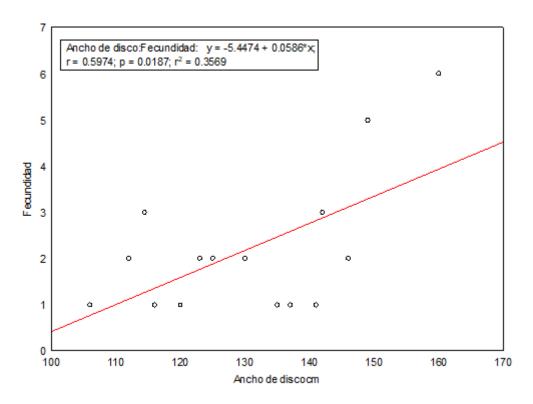


Figura 13. Correlación entre el ancho de disco de las hembras preñadas y el número de embriones.

6.6. Ciclo reproductivo

a. Ciclo ovárico

El diametro promedio de los foliculos ováricos de mayor tamaño de las hembras preñandas, fue de con 18.84 ± 2.30 mm con un intervalo de 15-22 mm. El diametro promedio de los foliculos ováricos mas grandes en caso de las hembras maduras llegó a 21.74 ± 7.11 mm, con un intervalo de 7-37 mm, distinguiéndose por poseer los ovocitos de mayor tamaño. El diametro promedio de los foliculos ováricos de las hembras en desarrollo alcanzó 16.18 ± 2.30 mm con un intervalo de 15-22. Finalmente, el diametro promedio de los foliculos ováricos de mayor tamaño en las hembras inmaduras midieron 13.45 ± 3.13 mm con un intervalo de 6-27.

No se observó una tendencia clara en el crecimiento del foliculo ovárico de mayor tamaño a lo largo del periodo de muestreo, esto sugiere que esta especie es asincrónica, por tanto, los folículos pueden alcanzar su madurez en cualquier mes del año (Figura 14), ademas se presentaron embriones en los difrentes meses del año. Por esta razón, no fue posible determinar la duración del ciclo ovárico.

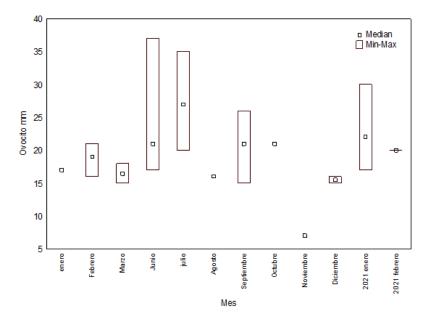


Figura 14. Desarrollo del folículo ovárico de mayor tamaño (diámetro) durante la temporada de muestreo.

No se pudo estimar la duración del tiempo de gestación debido al menor número de úteros con embriones por tanto, no fue posible detectar una tendencia en el crecimiento de los embriones a lo largo del periodo de muestreo (Figura 15).

Asímismo, no se encontró una correlación entre el tamaño de los foliculos ovaricos con respecto al ancho de disco de los embriones, si se observo que el diametro de los foliculos ovaricos de hembras consideradas como preñadas son de menor tamaño a los foliculos de hembras consideradas como maduras. Esto puede sugerir que el desarrollo de los foliculos ovaricos coinciden con el desarrollo de los embriones dentro del utero.

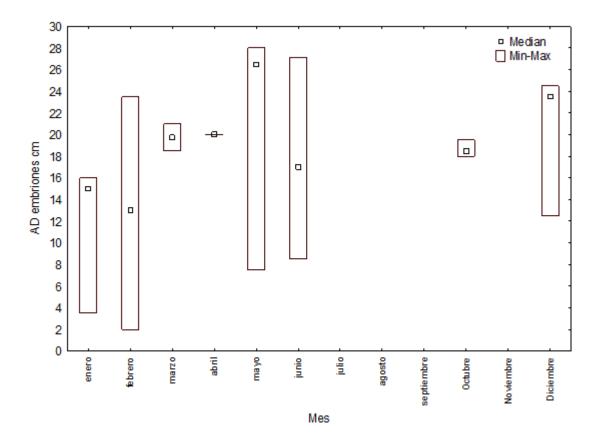


Figura 15. Variación del tamaño (AD) de los embriones durante la temporada de muestreo.

6.7. Anatomía externa del aparato reproductor de las hembras

El aparato reproductor de las hembras de *H. longus* tiene un desarrollo pareado, únicamente la parte izquierda presenta órganos funcionales y diferenciados (ovario, oviducto, glándula oviducal, útero y cloaca), en el lado derecho los órganos son vestigiales, el ovario no es funcional (Figura 16). Las gónadas de las hembras se encuentran ubicadas en la parte dorsal de la cavidad visceral, contigua a la columna vertebral en la parte posterior está conectado con tejido epitelial y conectivo. Los dos lóbulos del ovario, derecho e izquierdo se ubican en esta región del cuerpo. En cambio, la glándula oviducal y el útero izquierdo se encuentran entre la vértebra y el riñón izquierdo (Figura 17). Tanto el ovario derecho como izquierdo presentan órgano epigonal y ambos están cubiertos por una membrana mesotelial.

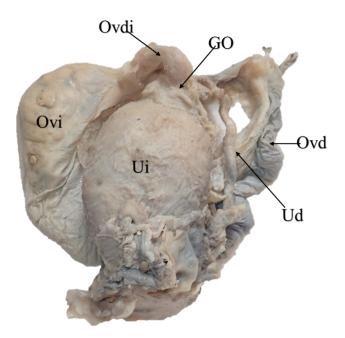


Figura 16. Anatomía externa del aparato reproductor de las hembras de *H. longus*. Vista dorsal. (Ovi= Ovario izquierdo, Ovdi= Oviducto izquierdo, GO= Glándula Oviducal, Ui= Útero izquierdo, Ovd= Ovario derecho, Ud= Útero derecho)

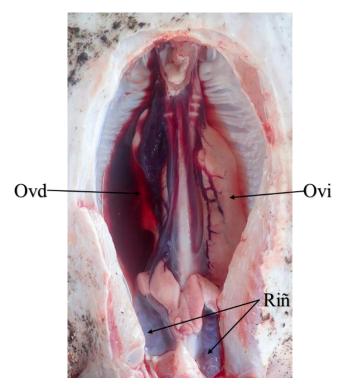


Figura 17. Posición de la gónada de una hembra dentro de la cavidad visceral de *H. longus*. Vista ventral. (Ovd= Ovario derecho, Ovi= Ovario izquierdo, Riñ= Riñones)Y EL ÚTERO NO LO REPRESENTASTE

6.8. Fases de madurez sexual en las gónadas de las hembras

a. Inmaduras

Los organismos considerados como inmaduros presentan folículos en desarrollo de tamaño pequeño (Tabla 7) y no se observa mayor desarrollo en el ovario izquierdo (Tabla 6). No se distingue la zona germinal.

La glándula oviducal y el útero no muestran una diferenciación aparente, sugiere que están fusionados en un solo órgano (Figura 18). En este estadio el útero es angosto y pequeño, aún no se observa la trofonemata. Debido a esto en este estadio, las medidas se registraron como un solo órgano (Tabla 6).

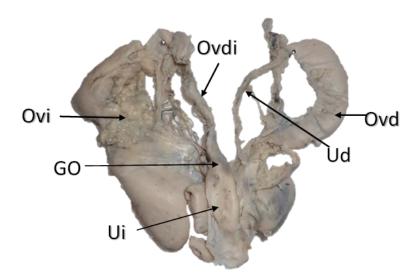


Figura 18. Gónada de una hembra inmadura de *H. longus* de 67 cm AD. (Ovi= Ovario izquierdo, Ovdi= Oviducto izquierdo, GO= Glándula Oviducal, Ui= Útero izquierdo, Ovd= Ovario derecho, Ud= Útero derecho)

Tabla 6. Medidas morfométricas de las gónadas del lado izquierdo de las hembras de H. longus.

Market Adam Ed. 1		Ovario izquierdo			Útero izquierdo			Glándula oviducal					
Morfometría	Estado	Promedio	σ	Max	Min	Promedio	σ	Max	Min	Promedio	σ	Max	Min
	Inmadura	84.5	29.93	131	36	45.2	17.2	92	12				
Largo mm	En desarrollo	101.11	14.36	121	70	53.01	16.22	110	22	21.08	6.26	35	10
	Madura	133.15	13.65	166	117	113.84	30.03	171	59	35.78	8.05	54	21
	Preñada	140.71	49.85	206	58	149.31	42.35	240	56	38.63	7.41	52	25
	Inmadura	23.5	7.48	32	9	14.77	5.1	35	6				
Ancho mm	En desarrollo	32.82	8.34	45	10	20.67	6.25	39	11	15.83	6.58	52	7
	Madura	51.46	20.2	114	31	61.84	25.83	161	26	27.18	6.19	46	17
	Preñada	44.5	8.01	57	35	88.05	25.52	145	31	30.84	5.23	42	22
	Inmadura	36.85	33.9	105	16.15	6.085	5.68	32	0.29				
Peso g	En desarrollo	40.65	23.27	94.9	8.56	21.62	17.82	90.6	1.37	5.59	6.094	41.19	0.38
	Madura	82.95	34.21	131.23	15.2	290.91	188.61	781.73	34.03	23	10.44	47.25	5.66
	Preñadas	87.35	54.72	149.99	48.85	685.97	566.7	2151.86		27.83	9.48	48.96	9.28

Tabla 7. Diámetro de los oocitos de hembras de H. longus.

E-4- J-				
Estado	Promedio	σ	Max	Min
Inmadura	12.38	3.73	19	1
En desarrollo	14	5.2	21	2
Madura	19.36	6.87	34	2.3
Preñada	18.42	2.10	22	15

b. Hembras en maduración

En las hembras en desarrollo se muestra un aumento de tamaño de las gónadas. El ovario izquierdo es evidentemente más grande que el derecho (Tabla 6), los folículos ováricos son de mayor tamaño en comparación de las inmaduras (Tabla 7).

El útero izquierdo, glándula oviducal y oviducto se diferencian fácilmente. Esta especie tiene la glándula oviducal embebida en la parte superior del útero (Figura 19), independientemente de esto se pude diferenciar este órgano respecto al útero. El útero es de mayor tamaño que la glándula oviducal, tanto en largo, ancho y peso (Tabla 6). Se comienza a observa el desarrollo de la trofonemata.

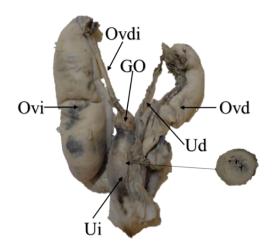


Figura 19. Gónada de una hembra en desarrollo de *H. longus* de 79 cm AD. (Ovi= Ovario izquierdo, Ovdi= Oviducto izquierdo, GO= Glándula Oviducal, Ui= Útero izquierdo, Ovd= Ovario derecho, Ud= Útero derecho)

c. Maduras

El ovario izquierdo muestra oocitos vitelogénicos de mayor tamaño (Tabla 7), en diferentes estadios, todos presentan una coloración amarillenta. La zona germinal se puede observar a simple vista. El desarrollo de los folículos ováricos es evidente desde la parte media del ovario a la parte superior de este, adoptan un desarrollo asimétrico o sesgado. Los oocitos ubicados en el centro son pequeños, en cambio, los de la parte superior tienen mayor tamaño, en esta zona se encuentran los oocitos maduros. El órgano epigonal se encuentra en mayor parte en la zona inferior del ovario izquierdo, es de mayor tamaño en comparación de los demás estadios (Tabla 6).

El útero se encuentra totalmente desarrollado, con la capacidad de almacenar oocitos fecundados. En la pared interna del útero se puede observar la presencia de trofonemata desarrollada (Figura 20). La glándula oviducal aumenta su tamaño comparada con los otros estadios (Tabla 6).

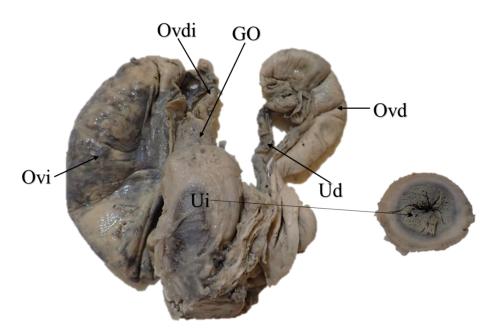


Figura 20. Aparato reproductor de una hembra madura de *H. longus* de 107 cm AD. (Ovi=Ovario izquierdo, Ovdi=Oviducto izquierdo, GO=Glándula Oviducal, Ui=Útero izquierdo, Ovd=Ovario derecho, Ud=Útero derecho)

d. Preñadas

Los oocitos de las hembras preñadas son de menor tamaño comparados con los oocitos de las hembras consideradas maduras (Tabla 7). El ovario izquierdo puede ser más grande en las hembras maduras (Tabla 6).

La característica principal de este estadio de preñez es la presencia de embriones dentro del útero y el desarrollo evidente de la trofonemata en el endometrio, se muestran alargadas y engrosadas. Se detectó que a medida del incremento de tamaño de los embriones las paredes del útero se adelgazaban y el órgano se estira (Figura 21) (Tabla 6).

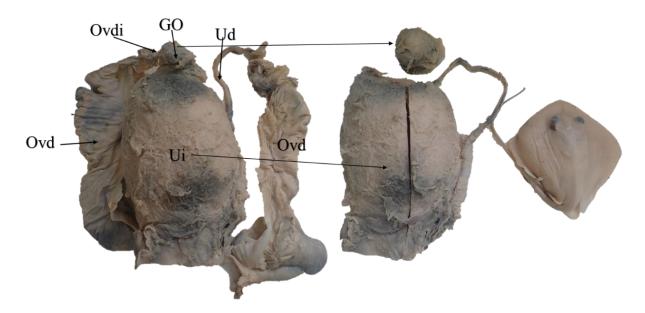


Figura 21. Anatomía externa del aparato reproductor de una hembra preñada de *H. longus* de 141 cm AD. (Ovi= Ovario izquierdo, Ovd= Oviducto izquierdo, GO= Glándula Oviducal, Ui= Útero izquierdo, Ovd= Ovario derecho, Ud= Útero derecho)

6.9. Histología del ovario

El ovario de *H. longus* en un órgano globoso, en la anatomía microscópica se distinguen dos partes: la corteza (Epitelio germinativo, la "Túnica albugínea") y la porción medular. En la corteza se localiza el epitelio germinativo y una capsula conjuntiva (=Túnica albugínea). Ambos tejidos rodean la parte medular del órgano. Los oocitos desarrollados están sostenidos por un tejido conjuntivo junto con el órgano epigonal. Los oocitos en crecimiento se desarrollan de la zona periférica del estroma en la parte media del ovario hacia el centro (Figura 22). El tejido germinal se distingue principalmente en la parte de la periferia del

ovario, el resto corresponde a la capsula conjuntiva. La mayoría de tejido germinal se encuentra en la parte media del ovario. Desde la parte media el tejido germinal va disminuyendo, en cambio en la parte superior del ovario se encuentran oocitos vitelogénicos de mayor tamaño y disminuye el área del órgano epigonal. El órgano epigonal ocupa en su mayoría la posición central del estroma del ovárico, sobre todo en organismos inmaduros. Los cambios durante la ovogénesis corresponden solo en la parte media en el ovario izquierdo. El estroma de la parte baja del ovario izquierdo, únicamente presenta órgano epigonal. El lóbulo ovárico derecho no se desarrolla, aunque presenta únicamente órgano epigonal.

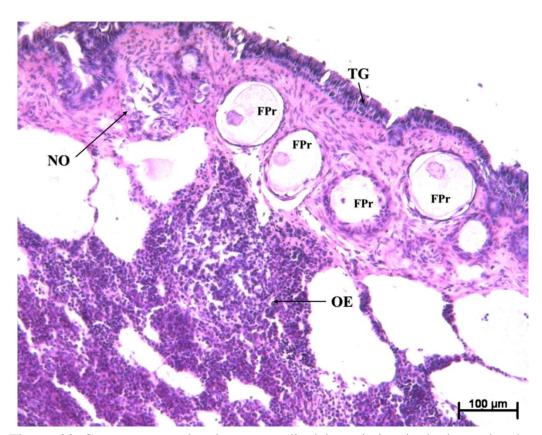


Figura 22. Corte transversal en la parte media del ovario izquierdo de una hembra inmadura de 79 cm AD (Órgano epigonal=OE, Tejido epitelial germinal=TG, Nido de ovocitos=NO, Folículo primario=FPr). Técnica Hematoxilina-Eosina. 10x.

a. Oogénesis

La oogénesis se describe con base a lo observado en la periferia del ovario en el tejido epitelial germinal. Este tejido está compuesto por un tejido cúbico simple, en algunas partes

se encuentra tejido cilíndrico pseudoestratificado, localizado en la parte media de la periferia del ovario (Figura 23). En esta zona se ubicaron los diferentes estadios de los folículos ováricos y se identificó de la siguiente forma: En las hembras inmaduras y en desarrollo, se encontraron únicamente ovogonias, oocitos primarios, folículos primarios, folículos pre vitelogénicos y folículos vitelogénicos en estadios tempranos. En las hembras maduras se encontraron ovogonias, oocitos primarios, folículos primarios, folículos pre vitelogénicos y folículos vitelogénicos en estadios tempranos y folículos vitelogénicos totalmente desarrollados.

b. Oogonia

Las oogonias son células de forma poligonal con núcleos esféricos, localizados al centro del citoplasma de la célula, estas son las células germinales más pequeñas (

Figura 23B). Algunas se desarrollan de manera solitaria y otras en grupos forman nidos de ovogonias. Las capas foliculares se empiezan a formar, son visibles los núcleos de las células de las capas foliculares (

Figura 23A). Estos se separan del epitelio germinal y ocupan la periferia del estroma.

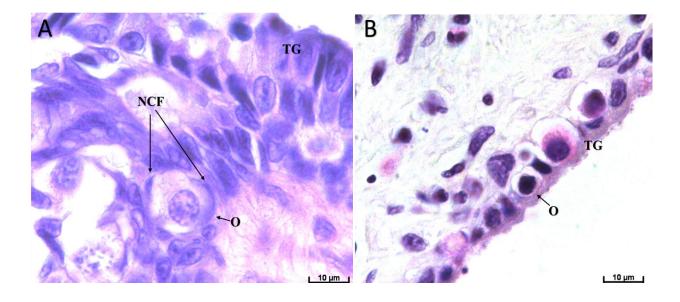


Figura 23. (A) Oogonia rodeadas por células foliculares de una hembra inmadura de 79 cm AD. (B) Oogonia de una hembra inmadura de 79 cm AD. (Tejido epitelial germinal=TG, Oogonia=O, Núcleo de célula folicular=NCF). Técnica Hematoxilina-Eosina. 100x.

Cada célula presenta un núcleo al centro del ooplasma. Estos están unidos a una capa incompleta de las células foliculares iniciales, aun no se observan las capas del tejido folicular. En tamaño son más grandes que las oogonias, y el citoplasma empieza a ocupar la mayoría del espacio (Figura 25 y Figura 24).

OPr

c.

Figura 25. Nido de 4 oogonias con células foliculares en una hembra inmadura de 79 cm AD. (Ovocito primario=OPr). Técnica Hematoxilina Eosina. 100x.

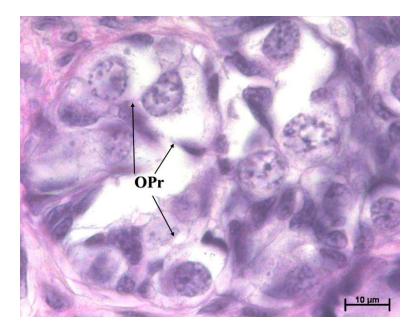


Figura 24. Nido de oocitos. (Ovocito primario=OPr). Técnica Hematoxilina Eosina. 100x

Folículos primarios

Al inicio presentan un epitelio folicular cúbico simple (Figura 26A), se empieza a formar la zona pelúcida y una capa incompleta se forma junto a la membrana basal de los folículos, las capas tecales se forman, no se distinguen. En la fase final del desarrollo de los folículos primarios la capa granulosa se convierte en un tejido epitelial plano simple (Figura 26B,C y D), está presente la zona pelúcida y las capas de la teca se empiezan a formar.

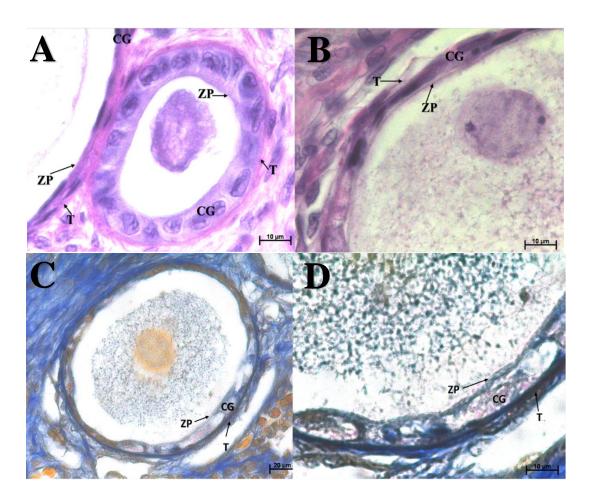


Figura 26. (A) Folículo primario inicial, Técnica Hematoxilina Eosina. 100x. (B) Folículo primario en una etapa avanzada donde la capa granulosa, se convierte en epitelio aplanado simple, Técnica Hematoxilina Eosina. 100x. (C, D) Folículo primario inicial en etapa a avanzada. Técnica Tricrómica de Mallory. (Zona pelúcida= ZP, Teca= T, Capa Granulosa= CG). 40x y 100x.

d. Folículos previtelogénicos

En todas las etapas del desarrollo el epitelio folicular al principio está formado por células aplanadas, poco después al madurar es cúbico simple. La zona pelúcida se observa de mejor forma (Figura 27). Los folículos previtelogénicos en etapa media son aproximadamente el doble de tamaño de los folículos previtelogénicos tempranos. En la previtelogénesis tardía aún se ve el núcleo, se distinguen en teca interna y la teca externa.

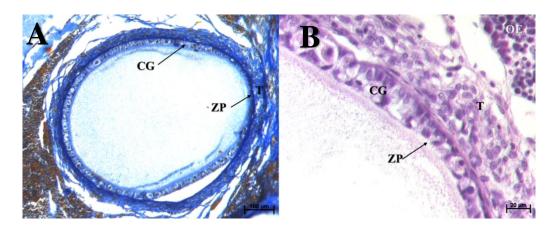


Figura 27. (A) Folículo previtelogénico, Técnica Tricrómica de Mallory. 10x. (B) Folículo previtelogenico, Técnica Hematoxilina Eosina. 40x. (Zona pelúcida=ZP, Teca=T, Capa Granulosa=CG, Órgano epigonal= OE).

e. Folículos vitelogénicos

Se caracterizan por la presencia de glóbulos esféricos de vitelo en el ooplasma (Figura 28B). Durante la etapa media existe una mayor acumulación de vitelo y protrusión del epitelio folicular y de la teca interna hacia el centro del folículo lo que resulta en la generación de numerosos pliegues y una apariencia corrugada del epitelio folicular véase en la figura 14. Estos pliegues se alargan y se vuelven vascularizados, luego se ramifican para volverse secundarios. Finalmente, en los folículos maduros los pliegues foliculares se ramifican aún más y se amontonan entres si, y alcanzan el mayor diámetro del ooplasma por los glóbulos vitelinos (Figura 30AB).

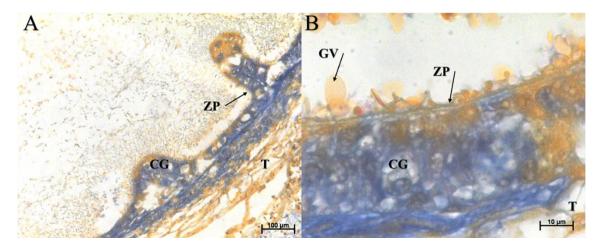


Figura 28. (AB) Folículo vitelogénico (FV), Técnica Tricrómica de Mallory. (Zona pelúcida=ZP, Teca=T, Capa Granulosa=CG, Gránulos de vitelo=GV) 10x y 100x.

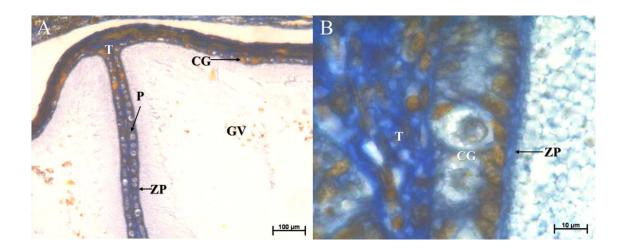


Figura 29. (AB) Folículo vitelogénico con pliegues, Técnica Tricrómica de Mallory. (Zona pelúcida=ZP, Teca=T, Capa Granulosa=CG, Gránulos de vitelo=GV, P= Pliegues) 10x y 100x.

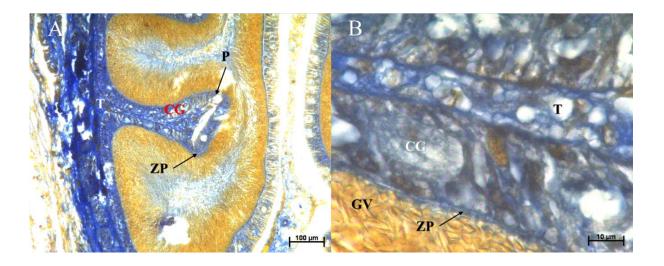


Figura 30. Folículo vitelogénico totalmente maduro, Técnica Tricrómica de Mallory (Zona pelúcida=ZP, Teca=T, Capa Granulosa=CG, Gránulos de vitelo=GV, P= Pliegues) 10x y 100x.

6.10. Útero

El útero es un órgano tubular y está compuesto de tres tipos de tejidos: epitelial, muscular y conjuntivo. De fuera hacia adentro, la primera capa es un tejido conjuntivo denso, la segunda un tejido muscular liso y luego presenta una capa con tejido epitelial y conjuntivo laxo, en este tejido se presenta una extensión del endometrio conocida como trofonemata, la cual consiste en vellosidades que se extienden por toda la parte interna del útero, se les atribuye la función de secretar leche uterina (Figura 32AB).

El grosor de cada una de las capas varía conforme avanza la madurez, en los úteros pequeños, las capas son delgadas y este tipo de útero está presente en etapas inmaduras y en desarrollo. Aumentando el tamaño de las capas en hembras maduras y finalmente en hembras preñadas las capas del útero se adelgazan debido a que los embriones crecen, entonces el útero necesita aumentar de tamaño, pero en este caso la trofonemata está desarrollada totalmente. Esta proliferación se puede observar debido a que los acinos están totalmente formados (Figura 31A,B) y se puede observar la secreción de la "leche uterina" (Figura 33A,B).

Las vellosidades del trofonemata son ramificaciones, en la parte del centro están compuestas por tejido conjuntivo laxo de fibras colágenas y células sanguíneas. El epitelio que recubre las elongaciones es cilíndrico simple.

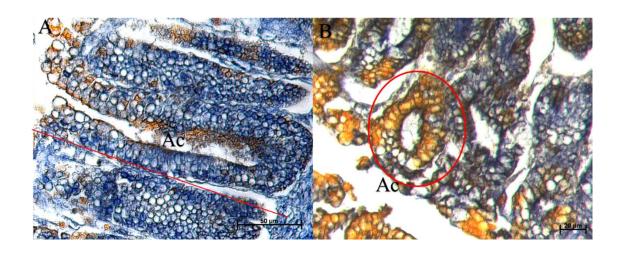


Figura 31. (A) Acino o cripta totalmente formada en la trofonemata, corte longitudinal del acino. (B) Acino o cripta en corte transversal. Hembra de 137 cm de AD preñada. Técnica Tricomica de Mallory. (Acino=Ac) 40x.

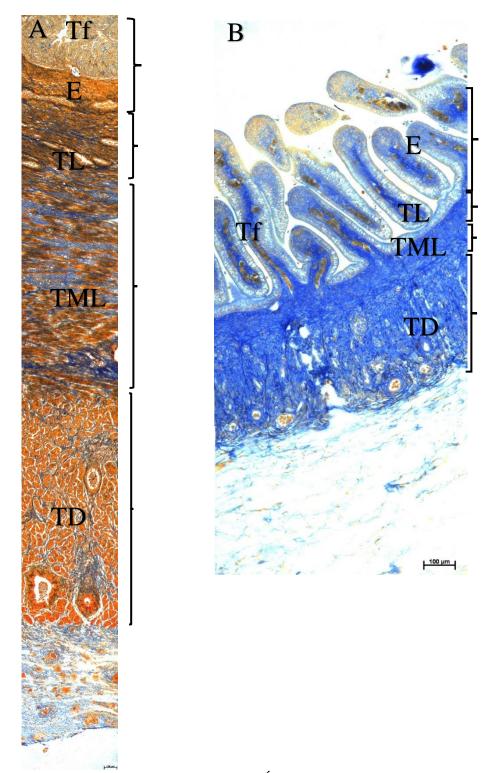


Figura 32. (A) Corte de la pared del Útero de una hembra preñada de 118 cm de AD. (B) útero de una hembra inmadura de 79 cm AD. Técnica Tricrómica de Mallory. 10x. (Tejido conjuntivo denso= TD, Tejido muscular liso= TML, Tejido conjuntivo laxo= TL, Endometrio= E, Trofonemata= Tf).

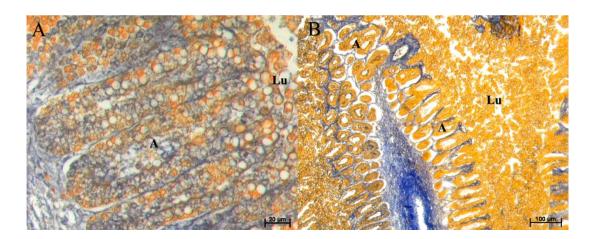


Figura 33. (A) Cripta totalmente formada presenta leche uterina, corte longitudinal del acino. (B) Trofonemata con leche uterina con acinos en diferentes planos de corte. Hembra de 137 cm de AD preñada. Técnica Tricrómica de Mallory. (Acino=Ac, Leche U) 40x y 10x.

En el caso de las hembras el útero fue el órgano en donde se verifico y validó la escala de madurez sexual propuesta a nivel macroscópica con la observación histológica. En las hembras inmaduras las criptas no se encontraron desarrollados (Figura 34AB), en las hembras en desarrollo las criptas estaban parcialmente desarrollados, ya que no se encontraban totalmente abiertos (Figura 36), y en las hembras maduras y preñadas las criptas estaban desarrolladas totalmente (Figura 35AB).

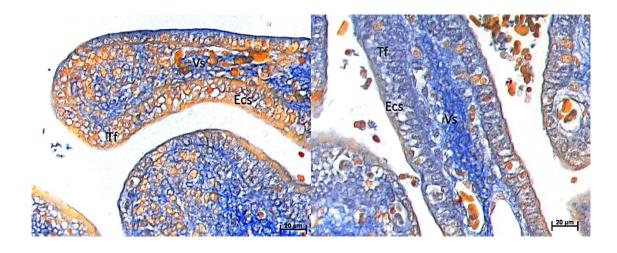


Figura 34. Trofonemata de una hembra inmadura de 79 cm AD, Técnica. Tricomica de Mallory. 40x. (Trofonemata=Tf, Vaso sanguíneo=Vs, Epitelio cilíndrico simple=Ecs).

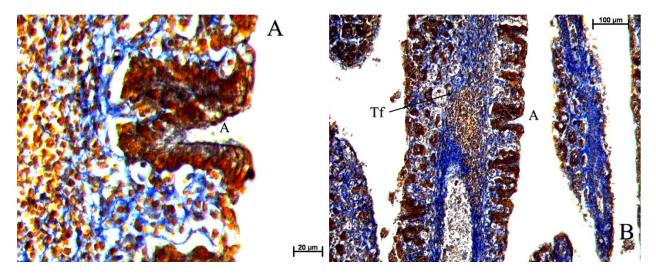


Figura 35.Trofonemata de una hembra madura de 104 cm AD, Técnica Tricrómica de Mallory. (Acino=Ac, Trofonemata=Tf, Vaso sanguíneo=Vs, Epitelio cilíndrico simple=Ecs). 40x y 10x.

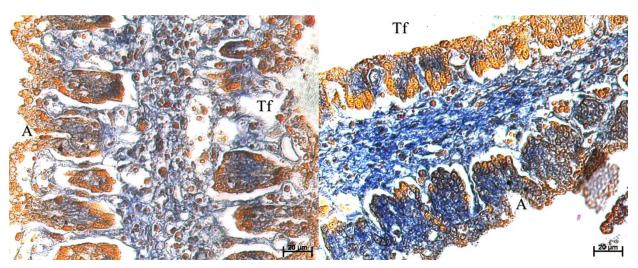


Figura 36. Trofonemata de una hembra en desarrollo de 101 cm AD, Técnica Tricrómica de Mallory. 40x. (Acino=Ac, Trofonemata=Tf, Vaso sanguíneo=Vs, Epitelio cilíndrico simple=Ecs).

6.11. Glándula oviducal

La glándula oviducal de *H. longus* tiene una estructura en la que se distinguen tres zonas, tanto en organismos maduros, en desarrollo e inmaduros. Se identificó en su estructura microscópica la zona club, zona papillary y la zona terminal. El tejido que forma las células es un parénquima glandular formado de tejido epitelial glandular, estructurado en un sistema de glándulas excretoras con acinos. No se encontró evidencia del almacén de esperma en las zonas que conforman esta glándula.

Los acinos presentes en cada sección de la glándula se pueden observar en su mayoría en un plano de corte trasversal, en algunos se encuentran de manera longitudinal y de forma oblicua. Cada una de estas zonas presenta lamelas de diferente forma. Al centro se encuentra el lumen, el cual tuvo una distancia promedio de 0.28 ± 0.20 cm, este es el espacio vacío por donde pasa el ovocito, no existió diferencia entre el tamaño promedio de la abertura del lumen entre hembras maduras y en desarrollo (T-tes, p=0.3455).

a. Zona Club

Esta es una zona pequeña, se encuentra en la parte superior de la glándula oviducal. No se pudo contar las lamelas debido a que el corte que se realizó para histología, no siempre coincidía con esta zona. Esta zona fue la que presento menor coloración positiva para la técnica de Hematoxilina -Eosina y Mallory. Las lamelas de esta zona se ensanchan entre más se acercan al lumen, son delgadas en la base y en la punta incrementan su tamaño (Figura 37). Las lamelas de esta zona están formadas por un epitelio de revestimiento simple o

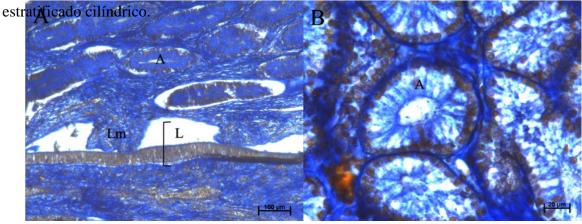


Figura 37. Zona club, Técnica Tricrómica de Mallory. (A) Lumen en la zona club. (B) Achino, con células ciliadas (Acino=A, Lumen=L, Lamela=Lm). 10x y 40 x.

b. Zona papillary

Fue la zona más extensa de la glándula oviducal, tanto en organismos maduros como inmaduros. El área promedio de esta zona fue de 2.41±0.62 cm². Esta zona presento entre 31 y 69 lamelas. No hubo diferencias en el área de esta zona entre organismos maduros y en desarrollo (Mann-Whitney, p=0.37). En esta zona se demostró mayor coloración positiva para la técnica de Hematoxilina - Eosina y Mallory. La forma de las lamelas es uniforme y es en donde más se alargan (Figura 38). El epitelio de revestimiento es simple cilíndrico ciliado.

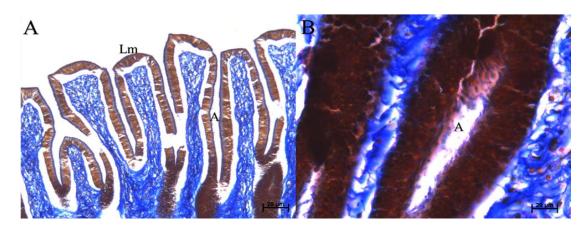


Figura 38. Zona papillary. (A) Lumen en la zona papillary 20X. (B) Acino, con células ciliadas, Técnica Tricrómica de Mallory. 40X. (Acino=A, Lamela=Lm).

c. Zona terminal.

Es la zona que se encuentra antes de llegar al útero. Ya no se forman lamelas debido a que los acinos están más espaciados y las lamelas se convierten en laminillas anchas y pequeñas (Figura 39). La mayor parte de esta zona está formada por fibras colágenas.

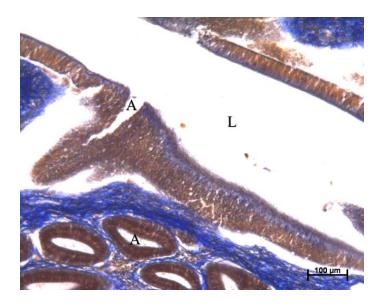


Figura 39. Zona terminal, Técnica Tricrómica de Mallory. (Acino=A, Lumen=L) 40x.

6.12. Anatomía externa del aparato reproductor de los machos

El aparato reproductor de los machos de *H. longus* tiene un desarrollo pareado, esto quiere decir que tanto el lado derecho como el izquierdo presentan órganos funcionales y diferenciados. Las zonas que se diferencian son: Testículos, epidídimos, glándula de Leydig y vesícula seminal (Figura 40). Las gónadas de los machos se encuentran ubicadas en la parte dorsal de la cavidad visceral. Se ubican debajo de la columna vertebral en la parte posterior de esta, conectada con tejido epitelial conectivo. Los ductos testiculares se encuentran justo debajo de la columna vertebral y el testículo derecho e izquierdo a la par de los ductos. El testículo derecho e izquierdo presentan órgano epigonal y están cubiertos por una membrana mesotelial.

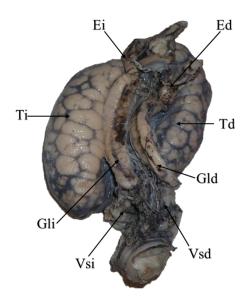


Figura 40. Anatomía externa del aparato reproductor de los machos de *H. longus*. Vista dorsal. (Ei= Epididimio izquierdo, Ti= Testículo izquierdo, Gli= Glándula de Leydig izquierda, Vsi= Vesícula seminal izquierda, Ed= Epididimio derecho, Td= Testículo derecho, Gld= Glándula de Leydig derecha, Vsd= Vesícula seminal derecha).

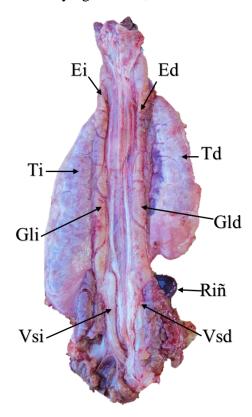


Figura 41. Gónada fresca de un macho de *H. longus*. Vista dorsal. (Ei= Epididimio izquierdo, Ti= Testículo izquierdo, Gli= Glándula de Leydig izquierda, Vsi= Vesícula seminal izquierda, Ed= Epididimio derecho, Td= Testículo derecho, Gld= Glándula de Leydig derecha, Vsd= Vesícula seminal derecha, Rin=Riñón).

6.13. Fases de madurez sexual en las gónadas de los machos

a. Inmaduros

Los organismos considerados como inmaduros presentaron lóbulos testiculares muy delgados y pequeños (Tabla 8) los cuales están rodeados considerablemente por órgano epigonal. Los ductos testiculares fueron muy delgados y se diferencian claramente entre el epididimio, glándula de leydig y vesícula seminal. La vesícula seminal se encontraba totalmente estirada (Figura 42).

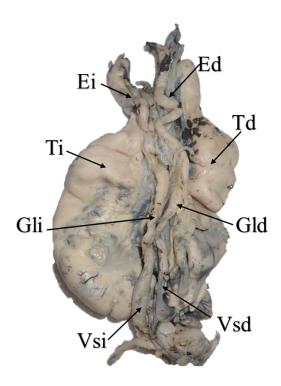


Figura 42. Gónada de un macho inmaduro de *H. longus* de 59 cm AD. (Ei= Epididimio izquierdo, Ti= Testículo izquierdo, Gli= Glándula de Leydig izquierda, Vsi= Vesícula seminal izquierda, Ed= Epididimio derecho, Td= Testículo derecho, Gld= Glándula de Leydig derecha, Vsd= Vesícula seminal derecha, Rin=Riñón).

b. En desarrollo

Los lóbulos testiculares se empiezan a desarrollar, son más gruesos y largos que los considerados inmaduros (Tabla 8), la relación órgano epigonal y testículos disminuye. Los ductos testiculares aumentan de grosor, se sigue diferenciando el epididimio, glándula de Leydig y vesícula seminal. La vesícula seminal empieza a tomar la forma de Z (Figura 43).

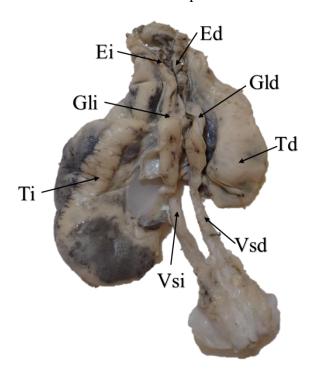


Figura 43. Gónada de un macho en desarrollo de *H. longus* de 72 cm AD. (Ei= Epididimio izquierdo, Ti= Testículo izquierdo, Gli= Glándula de Leydig izquierda, Vsi= Vesícula seminal izquierda, Ed= Epididimio derecho, Td= Testículo derecho, Gld= Glándula de Leydig derecha, Vsd= Vesícula seminal derecha).

c. Maduros

Los lóbulos testiculares de los organismos maduros se presentan totalmente desarrollados y vascularizados, el órgano epigonal es mucho menor en comparación que los testículos. A simple vista se observa que el testículo izquierdo es de mayor tamaño que el derecho (Tabla 8). Los ductos testiculares, epidídimo y glándula de Leydig se encuentran totalmente ensanchados y son de mayor tamaño en comparación con los estadios anteriores. La vesícula seminal está totalmente formada y toma forma de Z (Figura 44). Es posible encontrar semen en la cloaca.

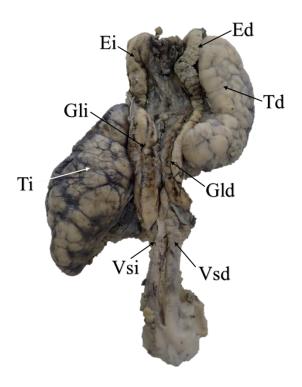


Figura 44. Gónada de un macho maduro de *H. longus* de 88 cm AD. (Ei= Epididimio izquierdo, Ti= Testículo izquierdo, Gli= Glándula de Leydig izquierda, Vsi= Vesícula seminal izquierda, Ed= Epididimio derecho, Td= Testículo derecho, Gld= Glándula de Leydig

Tabla 8. Medidas morfométricas de los testículos de los machos de H. longus

Morfometría	Estado	Tes	tículo izo	quierdo		Testículo derecho			
Moriometria		Promedio	σ	Max	Min	Promedio	σ	Max	Min
Largo mm	Inmaduro	70.5	19.67	104	51	56.14	24.42	96	32
	En desarrollo	78.68	22.45	128	35	63.49	21.15	115	24
	Maduro	125.87	20.31	170	40	103.899	20.38	146	24
Ancho mm	Inmaduro	14.5	2.84	20	12	16.16	6.91	26	9
	En desarrollo	19.63	7.31	39	9	16.66	6.48	33	4
	Maduro	35.95	8.66	81	12	31.56	9.55	110	12
Peso g	Inmaduro	4.12	1.5	6.15	2.3	3.72	3.69	9.72	0.77
	En desarrollo	13.27	9.75	35.7	0.88	7.037	5.61	30.15	0.3
	Maduro	55.26	21.54	123.93	5.1	43.31	18.22	90.29	2.43

6.14. Anatómica microscópica e histológica del testículo

En cuanto al tamaño, el testículo izquierdo es de mayor tamaño en comparación con el derecho (Tabla 8), y en la producción de espermatozoides, en organismos totalmente maduros el lado izquierdo presenta una mayor cantidad de espermatocitos con espermatozoides maduros en comparación con el derecho. El órgano epigonal es más abundante en tallas inmaduras que en tallas maduras. El tiempo de maduración en el testículo izquierdo es menor en comparación que el derecho, por ejemplo, los testículos derechos de organismos inmaduros presentan espermatogonias en estadios tempranos, en tanto el testículo izquierdo ya tiene estadios de espermatidas avanzadas.

El tipo de testículo mostrado por los machos de *H. longus* es compuesto. Los tubos seminíferos se distribuyen en todo el testículo dentro de lóbulos, sin ningún orden aparente, únicamente en los espermatocitos en desarrollo avanzado de la espermatogénesis se observa espermatozoides maduros localizados en la periferia del testículo (Figura 45).

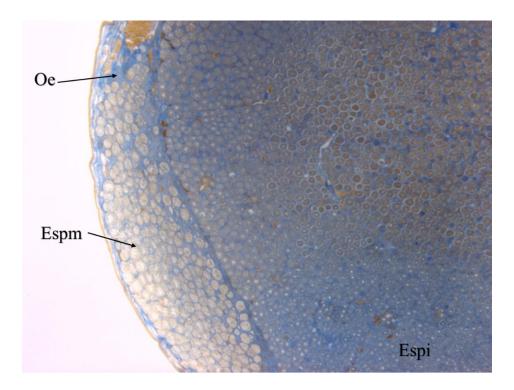


Figura 45. Testículo de macho maduro de *H. longus*. Técnica Tricomica de Mallory. 800 x. (Oe= Órgano epigonal, Espm= Espermatozoides maduros, Espi= Espermátidas inmaduras)

a. Espermatogonia primaria

Las espermatogonias primarias son las células gaméticas más pequeñas en los machos. Estas provienen de un tejido germinal. Estas empiezan a formar un espermatocito de muy pocas células presenta una única capa de espermatogonias. Estas células se acomodan en la periferia de lo que empieza a ser un espermatocito (Figura 46)

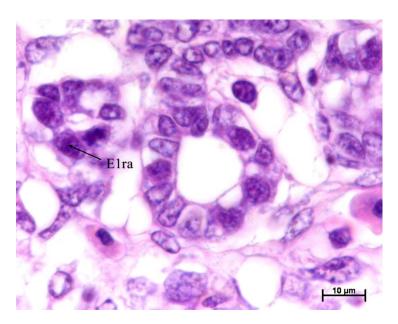


Figura 46. Espermatogonia primaria. (Espermatogonia primaria=E1ra) Técnica Hematoxilina-Eosina. 100x.

b. Espermatogonia secundaria

Las espermatogonias se reproducen por mitosis e incrementan en número y forman más capas dentro del espermatocito el cual incrementa su tamaño. El lumen del tubo seminífero se observa de manera clara en la Figura 47.

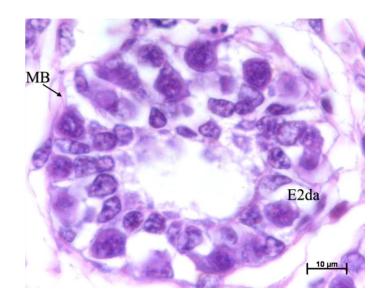


Figura 47. Espermatogonias secundarias dentro de la membrana basal. (Espermatogonia secundaria=E2da, Membrana basal=MB) Técnica Hematoxilina-Eosina. 100x.

c. Espermatocito primario

El espermatocito contiene un mayor número de células. El lumen de este empieza a desaparecer y las células se empiezan a esparcir en toda la circunferencia del espermatocito al mismo tiempo que aumenta de tamaño. En esta etapa se completa la primera división meiótica (Figura 48).

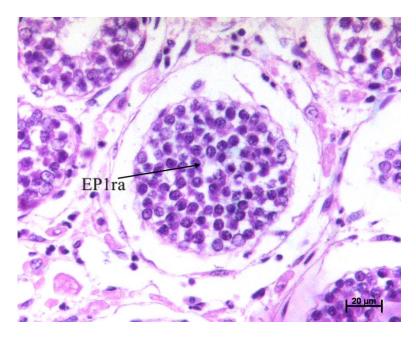


Figura 48. Espermatocito primario. (Espermatocito primario=EP1ra) Técnica Hematoxilina-Eosina. 40x.

d. Espermatocito secundario

En esta etapa los espermatocitos aumentan de tamaño considerablemente y las células disminuyen su tamaño debido a la división celular. Las células de Sertoli se pueden observar en la periferia del espermatocisto (Figura 49).

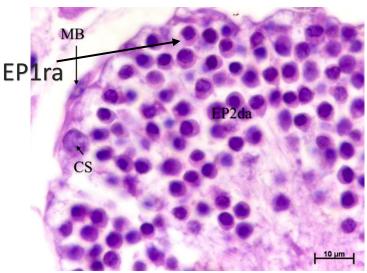


Figura 49. Espermatocitos secundarios (Espermatocitos secundarios=EP2da, Membrana basal=MB, Células de Sertoli=CS) Técnica Hematoxilina-Eosina. 100x.

e. Espermátida

Las espermátidas se empiezan a diferenciar por la presencia del núcleo, notablemente disminuye su tamaño y toma una forma alargada como la forma de la célula fusiforme. En esta etapa se empieza a formar la cola del espermatozoide (Figura 50).

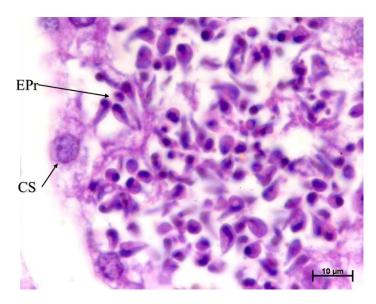


Figura 50. Espermátidas (Espermátidas=EPr, Células de Sertoli=CS) Técnica Hematoxilina-Eosina. 100x.

f. Espermatozoide inmaduro

La cabeza del espermatozoide inmaduro se dirige hacia la membrana basal y la cola se empieza a acomodar hacia el lumen de espermatocisto. El núcleo del espermatozoide se alarga, pero aún es posible observar una parte de este de forma redonda. Al mismo tiempo la cola se alarga (Figura 51).

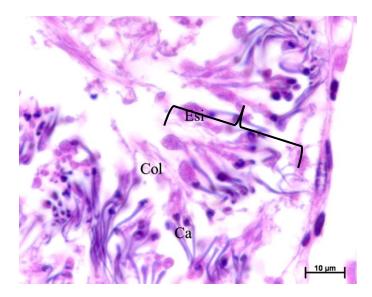


Figura 51. Espermatozoides inmaduros (Espermatozoides inmaduros=Esi, Cola del espermatozoide=Col, Cabeza del espermatozoide=Ca) Técnica Hematoxilina-Eosina. 100x.

g. Espermatozoide maduro

Finalmente, el espermatozoide maduro se distingue por la cabeza orientada hacia la membrana basal y la cola hacia el lumen del espermatocisto. Los espermatozoides se forman completamente, estos se alargan en forma de espiral y se organizan a manera de paquetes (Figura 52).

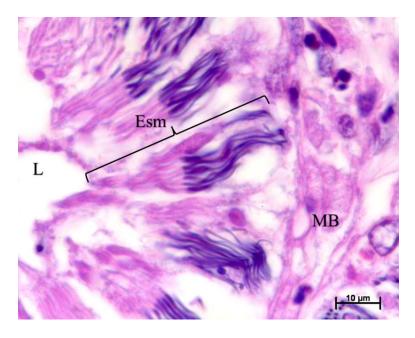


Figura 52. Espermatozoides maduros (Espermatozoides maduros=Esm, Lumen=L, Membrana basal=MB) Técnica Hematoxilina-Eosina. 100x.

6.15. Epidídimo

Este órgano consiste en una serie de tubos, en todos los organismos considerados como maduros se observó el flujo de espermatozoides en el lumen de los tubos del epidídimo los cuales están ubicados por todo el órgano. Las paredes internas del epidídimo están recubiertas por un tejido pseudoestratificado y un tejido conjuntivo de fibras de colágeno que le da soporte. Los espermatozoides no presentaron un acomodo específico (Figura 53).

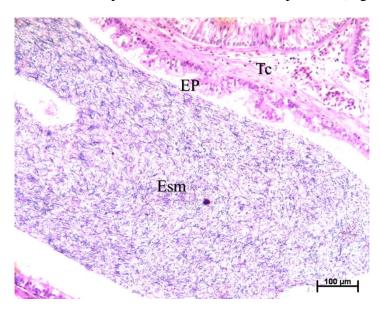


Figura 53. Sección de epidídimo en corte transversal con evidencia de acumulación de espermatozoides (Espermatozoides=Esm, Tejido conjuntivo de colágeno=Tc, Epitelio pseudoestratificado=EP). Técnica Hematoxilina-Eosina. 10x.

6.16. Glándula de Leydig

La glándula de Leydig consiste en un único tubo donde se transporta el flujo seminal, se forma dónde termina el epidídimo, hacia la vesícula seminal. La glándula está rodeada por acinos secretores de sustancias de carácter mucoso que ayudan al transporte de los espermatozoides. Este tuvo está revestido en su interior por un tejido epitelial pseudoestratificado y una capa de fibras colágenas (Figura 54). En todos los organismos considerados como maduros mostro evidencia de flujo de espermatozoides sin mostrar ningún tipo de acomodamiento.

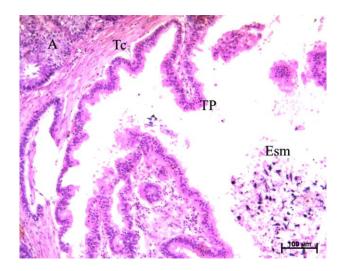


Figura 54. Sección de glándula de Leydig en un corte transversal con evidencia de flujo de espermatozoides (Acino= A, Tejido conjuntivo de colágeno=Tc, Epitelio pseudoestratificado=EP, Espermatozoide=Esm). Técnica Hematoxilina-Eosina. 40x.

6.17. Vesícula seminal

Esta sección de los conductos testiculares presentó elongaciones perpendiculares las cuales provenían del tejido que recubre a toda la estructura formándose pliegues. Toda la zona está rodeada de un tejido epitelial pseudoestratificado y una capa de tejido conjuntivo de fibras colágenas como soporte a la estructura. Se observó espermatozoides maduros en todos los organismos considerados como maduros, estos se almacenaron en forma de espermatóforo (Figura 55).

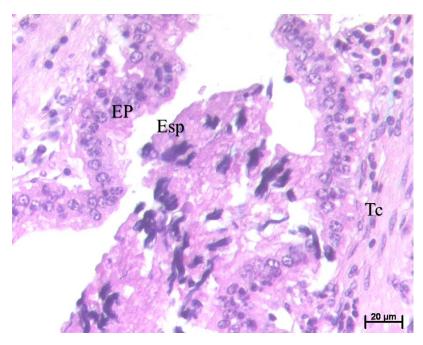


Figura 55. Sección de vesícula seminal en un corte longitudinal con evidencia de flujo de espermatozoides almacenados en forma de espermatóforo (Espermatóforo=Esp, Tejido conjuntivo de colágeno=Tc, Epitelio pseudoestratificado=EP). Técnica Hematoxilina-Eosina. 40

7. DISCUSIÓN

7.1. Estructura poblacional

Actualmente de todos los trabajos publicados de *H. longus* en la zona de distribución de la especie, es necesario resaltar para esta investigación, el logro de una información más completa en cuanto al número de organismos y temporadas de muestreo, durante 26 meses, más de 2500 organismos entre machos y hembras. Para el análisis de la reproducción se seleccionó una submuestra abarcándose muestras de 14 meses, de 492 gónadas entre machos y hembras. Contribuye con una mejor valoración de la composición poblacional en el Pacífico tropical de la especie en su estado actual en cuanto a: las tallas, proporción sexual, parámetros reproductivos y su comportamiento, según la temporada de muestreo. Es relevante, por tratarse de una especie de importancia comercial en países como Guatemala, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica y el Sur de México (Arauz et al., 2007; Galdámez, 2014; López-Garro et al., 2015; Gonzáles et al., 2017; DIPESCA & PNUD, 2018; Pineda, 2019; Castillo & Morales, 2021a).

En este trabajo la talla promedio (del AD) de las hembras y machos no demostró diferencias estadísticas entre los dos sexos, este resultado sin diferencias estadísticas en la estructura de tallas se ha reportado en todos los estudios realizados en la zona de distribución de la especie y en las comparaciones estadísticas entre machos y hembras (Bohórquez-Herrera, 2006; Arauz et al., 2007; Jiménez, 2017; Morales, 2021).

Aunque no se presenten diferencias estadísticas en la estructura de las tallas de machos y hembras, es evidente en el intervalo de tallas que las hembras (41-178 cm AD), pueden alcanzar tallas más grandes en comparación con los machos (47.2-109 cm AD). Esta característica se ha observado en especies del mismo género como *H. americanus*, *H. guttatus* (Ramírez-Mosqueda, Carlos Pérez-Jiménez, et al., 2012; Tagliafico et al., 2013), *H. marianae* (Onodera et al., 2019) e *H. dipterurus* (Smith et al., 2007). Se confirma, ya que en todas las investigaciones reportadas para *H. longus* en la zona de distribución, las hembras demuestran una talla más grande, en relación con el grupo de los machos (Villavicencio et al., 1994; Perez-Jimenez, 2001; Arauz et al., 2007; Bohórquez-Herrera, 2006; López, 2009; Torres-Huerta, 2012; Galdámez, 2014; Gonzáles et al., 2017; Hernández et al., 2021; Jiménez, 2017; Morales, 2021). Esta característica generalizada en las especies del género

Hypanus, podría ser indicador que las hembras necesitan un mayor tamaño corporal durante el proceso de la reproducción (Walker, 2005). La ausencia de diferencias estadísticas entre las tallas de machos y hembra en este estudio se podría atribuir al número reducido hembras maduras de tallas grandes en el periodo de muestreo.

Las tallas promedio resultado de este estudio, son similares a lo reportado por otros trabajos en países como: Costa Rica, Michoacán, México y el Pacífico de Guatemala (López-Garro et al., 2015; INIFAP, 2018; Pineda, 2019M; Morales, 2021; Castillo & Morales, 2021b). En cuanto a las tallas reportadas al centro y el norte del Pacífico de México estas son de menor tamaño a lo encontrado en este estudio, bien se podría atribuir a: la selectividad de los artes de pesca utilizadas, al tamaño de muestra y a la latitud de la zona donde se realizó el muestreo (Villavicencio et al., 1994; Santana, 2005; Jiménez, 2017; Gonzáles, 2018). En el caso de las tallas reportadas en Costa Rica y Ecuador en 2007, estas son mayores a las reportadas en este estudio (Arauz et al., 2007; Guerrón, 2007). Todo lo anterior se resume en el (Tabla 9).

La proporción sexual encontrada (0.88:1 hembras/machos, n=2,659), más grande la porción de los machos. Este resultado difiere a lo reportado en el Pacífico de Guatemala en la misma zona y temporada de muestreo, (proporción 1.01:1 hembras/machos (n=336), sin diferencias estadísticas (Morales, 2021). En este caso el tamaño de la muestra y el tiempo de muestreo que Morales (2021) realizó en la colecta de datos fue menor a lo realizado en el presente estudio, por lo que se puede inferir que estos factores afectan al determinar la proporción de sexos de la población.

La proporción sexual encontrada en este estudio, mayor número de machos en relación con las hembras, sugiere la existencia de segregación por sexos. Según los pescadores de la zona donde se realizó este trabajo, las hembras de mayor tamaño son capturadas en zonas lejanas de la costa, a la vez son más profundas (Comunicación personal), este comportamiento también lo reportan para *H. americana* en las costas de Campeche y en islas del océano Atlántico (Aguiar et al., 2009; J. Hernández, 2009). En el caso de Guatemala al encontrarse las hembras en zonas más alejadas de la costa, significa para los pescadores que la operación sea más costosa para acceder a esas hembras y, por lo tanto, se capturen solo eventualmente.

Este comportamiento de segregación por sexos es común en elasmobranquios, por ejemplo, se ha reportado para varias especies de rayas y tiburones en el Golfo de California (Bizzarro

et al., 2007). En el caso del género *Hypanus* se ha reportado para *H. americanus* en Campeche, donde la porción de machos era mayor a las hembras (Hernández, 2009). También se ha reportado para *H. marianae* donde la porción de hembras fue mayor a la de machos (Onodera et al., 2019).

En cuanto a la relación talla-peso, en este trabajo no se presentaron diferencias estadísticas entre las hembras y los machos, la relación es presentada en la ecuación conjunta de machos y hembras, se obtuvo que *H. longus* en el Pacifico de Guatemala, tiene un crecimiento de tipo alometrico negativo (b=2.0296), esto difiere a lo reportado en Colombia, demostrándose un crecimiento del tipo isométrico (b=3.22) para ambos sexos (Bohórquez-Herrera, 2006). También en Colombia se reporta para machos (b=2.817) y hembras (b=3.034) un crecimiento isométrico (López, 2009) y en Baja California Sur, México reporta un crecimiento isométrico para machos (b=2.97) y hembras (b=2.94) (Jiménez, 2017), tampoco se encontró diferencias entre sexos.

Tabla 9. Talla reportadas para H. longus en la zona de distribución.

AD cm			Proporción	Sexo	No. De organismos	Localidad	Autor		
Promedio	σ	Min	Max	sexual	БСАО	analizados	Locandad	Autoi	
83.32	±22.34	41	178	0.88:1	Н	1248	Guatemala	Presente estudio	
78.18	±10.46	47	109	0.00.1	M	1411	Guatemaia		
82.53	± 22.24	22	150	H 169		169	Guatemala	Morales, 2021	
76.85	± 11.86	23	98	1.1	M	167	Guatemaia	wiorates, 2021	
76.74				1.4:1	Н	70	Guatemala	Dinada 2010	
74.32					M	50	Guatemaia	Pineda, 2019.	
		53	145	0.57:1	Н	40	El	Galdámez, 2014.	
		40	126	0.37.1	M	70	Salvador		
		42.1	147	0.92:1	Н	180	El	Gonzáles et al	
		12	132	0.92.1	M	100	Salvador	2017.	
		29.4	170	0.00.1	Н	65	Oaxaca,	Torres-Huerta,	
		29.6	92.2	0.90:1	M	65	México	2012.	
		45	141	0.61.1	Н	8	Nicomogue	Hernández, et al.	
		55	97	0.61:1	M	13	Nicaragua	2021.	

84.63	± 12.11	60	119	0.75:1	H/M	84	Costa Rica	López-Garro & Zanella 2015.	
96.3	24.7	49	162	1.625:1	Н	78	Costa Rica	Arauz, López, Zanella, 2007.	
85.7	11.4	42	106		M	48	Costa Rica		
68.97		41	156		Н	23	México	Villavicencio-	
72.55		46	98	0.82:1	M	28	BCS	Garayzar, et al. 1994	
60.3	$\pm~20.4$	29	102	1.1	Н	27	México	Liména 2017	
63.1	± 16	39.4	97	1:1	M	30	BCS	Jiménez, 2017.	
60.6	-0	7 2 0.1	110		Н	16	México,	G 1 2010	
60.6	16.5	30.1	110		M	46	BCS	Gonzales, 2018.	
80.4		38	139	0.02.1	Н	13	San Felipe,	M1 2005	
59.4		35	95	0.92:1	M	14	ВС	Morales, 2005.	
		54	134		Н	21	Nayarit,	Perez-Jimenez,	
		77	97	1.90:1	M	11	México	2001.	
90.12	13.94	59.2	178.6	1 1	Н	223	г 1	Guerron, 2007	
96.85	21.98	53.2	114.8	1:1	M		Ecuador		
		13	180	2.1	Н	20	0.1.1:	D 17 2006	
				3:1	M	38	Colombia	Bohórquez, 2006.	
	158		1 1 1	Н	107	0.1.1.	López-García,		
				1.1:1		97	Colombia	2009.	

Mientras que en El Salvador, se reporta también para la especie un crecimiento de tipo alométrico negativo, para ambos sexos, con la diferencia que se utilizó el largo de disco para relacionarlo con el peso (Galdámez, 2014).

7.2. Aspectos reproductivos

En cuanto al desarrollo de las estructuras reproductivas fue similar a lo ya reportado en otros estudios donde se realizó evaluación de la reproducción para *H. longus* (Villavicencio et al., 1994; López, 2009; Jiménez, 2017). En el caso de los machos presentan desarrollado pareado de las gónadas, por esta condición, se observa una sección izquierda y derecha totalmente desarrolladas, donde se muestran los testículos, epidídimo, glándula de Leydig y vesícula seminal. En el caso de las hembras no presentan estructuras pareadas, únicamente el lado

izquierdo está completamente desarrollado, el cual está compuesto por un ovario totalmente funcional el cual muestra desarrollo de ovocitos, oviducto, glándula oviducal la cual se encuentra embebida en el útero y útero con presencia de trofonemata. Del lado derecho presenta un ovario no funcional y únicamente un conducto que conecta del ovario a la cloaca directamente (Villavicencio et al., 1994; López, 2009; Jiménez, 2017). Este tipo de desarrollo es una característica de especies vivíparas (Wourms, 1977).

En Baja California Sur, México se reportó para los machos los testículos bien desarrollaron de manera similar, sin diferencias estadísticas entre el tamaño del testículo izquierdo y derecho (Jiménez, 2017). En el caso en el presente trabajo, se mostró una diferencia en el tamaño de los testículos, de mayor tamaño el izquierdo al comprarse con el derecho tanto en talla como en peso. En otras especies del mismo género como *H. marianae*, muestra esta misma característica, donde el testículo izquierdo es más grande que el derecho (Onodera et al., 2019).

En este estudio por primera vez se presenta la morfometría de cada una de las estructuras reproductivas para cada uno de los diferentes estadios de madurez, longitud, ancho y peso testículos derechos e izquierdo, longitud, ancho y peso de ovario izquierdo y derecho, talla de los ovocitos, altura, ancho y peso de la glándula oviducal y altura, ancho y peso del útero. Esto es importante ya que estas medidas morfométricas se pueden tomar como referencia para poder complementar otros estudios reproductivos y explicar la madurez sexual de esta especie para el Pacífico de Guatemala o zonas aledañas.

Las variables macroscópicas que describieron mejor la madurez sexual en organismos machos fueron: la longitud de gonopterigio y la longitud del testículo izquierdo según el ancho de disco. Para la misma especie se reportó este mismo resultado en Colombia, donde el gonopterigio fue la característica que mejor explico la madurez sexual (r²=0.53) (López, 2009). *H. marinae*, otra especie que pertenece al mismo género presentó el mismo comportamiento, donde la longitud y el ancho del testículo izquierdo fueron las variables que se utilizaron para describir la madurez en machos (Onodera et al., 2019). Por lo que podemos concluir que tanto los gonopterigios como el testículo izquierdo se pueden utilizar como referencia de madurez sexual.

Con base a las características de madurez sexual para machos maduros (64.13%), este resultado, demuestra que la fracción más abundante que contribuye a la pesquería son estos organismos.

En el caso de las hembras, la variable macroscópica de la longitud del útero describió mejor la madurez sexual (r²=0.7471). Para *H. longus* en el Pacífico Colombiano el diámetro del útero fue la variable que describió mejor la madurez sexual (r²=0.61). Igual para una especie del mismo género *H. marinae* la longitud y ancho del útero describen mejor la madurez sexual en hembras (Onodera et al., 2019). Por lo que podemos concluir que la morfometría del útero se puede utilizar como referencia de madurez sexual en las hembras de esta especie y hembras del género.

La proporción de hembras consideradas como maduras y preñadas por medio del útero como variable, característica de madurez sexual (24.77%), permite concluir que la mayoría de los organismos capturados son hembras juveniles o en desarrollo, por tanto, muestra una proporción de 0.38:1 hembras maduras por cada macho maduro. Es evidente la existencia de una segregación en la porción de hembras y machos maduros. Como ya se mencionó anteriormente es un carácter común entre elasmobranquios, este tipo de segregaciones.

Las variables como la longitud de gonopterigio, longitud de testículo izquierdo y longitud de útero se pueden utilizar ya que del pleno desarrollo dependen de que se lleve a cabo la reproducción. El desarrollo de estas se correlaciona directamente con el crecimiento en masa de machos y hembras. Esto coincide con que el incremento en peso está directamente relacionado con la reproducción (Walker, 2005).

En este estudio el valor de L50 para machos y hembras fue de 75.72 y 105.42 cm AD respectivamente. Esta variable solo había sido reportada por dos trabajos, para el Pacífico de Colombia donde para machos y hembras (90 y 120 cm AD respectivamente), en este reporte se utilizó un modelo logístico para calcularla (López, 2009). Para el Pacifico de Guatemala, machos y hembra 79.3 y 89.2 cm AD respectivamente, en este trabajo también se utilizó un modelo logístico (Morales, 2021). Se puede observar que lo reportado por este trabajo no coincide con lo reportado en estos dos trabajos. El resto de los estudios donde reportan tallas de madurez sexual para machos y hembras de *H. longus* únicamente, lo hicieron mediante observaciones directas, donde los organismos presentaban alguna característica de madurez

como gonopterigios calcificados, úteros completamente desarrollados o presencia de embriones, sin utilizar modelos logísticos para el cálculo de la L(50) (Villavicencio et al., 1994; Guerrón, 2007; Torres-Huerta, 2012; Gonzáles et al., 2017; Jiménez, 2017).

En el caso de los machos el presente trabajo presenta la L50 más baja encontrada en la zona de distribución de la especie. En cuanto a las hembras la L50 la talla más baja reportada (89.3 cm AD), en la misma zona, y en la misma temporada fue por Morales (2021). Según los resultados obtenidos la hembra más pequeña considerada como madura presentada en esta investigación fue de 91 cm AD. En este sentido, se deben revisar los criterios utilizados para considerar madura a una hembra por Morales (2021). Según la información publicada hasta el momento y los criterios utilizados, la L50 de machos y hembras publicadas por este trabajo, bien pueden ser utilizadas como referencia en el Sur de México, Pacifico de Guatemala y El Salvador.

La fecundidad encontrada en este trabajo de 2.2 embriones por hembra, coincide con lo reportado (2 a 2.14) para la zona de distribución (Villavicencio et al., 1994; Bohórquez-Herrera, 2006; López, 2009; Jiménez, 2017). En cuanto al intervalo de fecundidad, en este trabajo obtuvo 6 embriones por hembra, anteriormente se había reportado de 1 a 5 embriones, dado nuestros resultados el intervalo de fecundidad se amplía para la especie. En general, para el género *Hypanus* reporta fecundidad baja (Smith et al., 2007; Ramírez-Mosqueda, Pérez-Jiménez, et al., 2012; Lopes Da Silva et al., 2018; Onodera et al., 2019). Si se considera que *H. longus* es una especie que está en riesgo ecológico, es vulnerable debido a la pesca de arrastre de camarón, dentro de uno de los aspectos que se toman en cuesta es su baja fecundidad (Clarke et al., 2018).

Varios autores sugieren que la fecundidad esta subestimada, debido a que las especies de esta familia, tienden a abortar los embriones por el estrés generado al momento de la pesca. Por tanto, es complicado encontrar hembras con embriones en los muestreos de los campos pesqueros (Ramírez-Mosqueda, Pérez-Jiménez, et al., 2012; Lopes Da Silva et al., 2018; Onodera et al., 2019). En el análisis histológico de este trabajo se encontraron úteros maduros, donde se detectó la producción de leche uterina. Aunque, estos úteros no presentaron embriones, esto es un indicador probable de que estas hembras abortaron al momento de ser capturadas. Por esto mismo, no fue posible calcular la duración de la

gestación, se necesitan obtener una mayor cantidad de embriones para ubicar cohortes a lo largo de la temporada de muestreo y observar alguna tendencia de crecimiento.

La relación ancho de disco de las hembras con número de embriones por útero, presento una relación lineal significativa y una la variabilidad explicada en un 35%. Esta baja variabilidad explicada se puede concluir que pudiese ser debido a abortos propiciados al momento de la captura.

En relación con el ciclo reproductivo se consideró de tipo asincrónico, al encontrarse hembras maduras y preñadas durante todo el año. Sin tendencia, con la temporada de reproducción, es similar para la misma especie en el Pacifico de Colombia (López, 2009). De forma general en la zona tropical se muestra comparable por ejemplo *H. americanus*; mostró un ciclo asincrónico (Ramírez-Mosqueda, Pérez-Jiménez, et al., 2012). Las especies de la familia Dayastidae presentan este patrón de ciclo reproductivo asincrónico por lo que se sugieren que se trata de una característica de la familia (Lopes Da Silva et al., 2018).

Dado que se tuvo dificultades para la obtención de registros de medidas de los ovarios izquierdos, significo la carencia de datos de los diámetros de los ovocitos en varias hembras. Si se consideran como organismos que provienen de la pesca, al pasar un tiempo prolongado en congelación, o ser golpeados, los ovarios no resisten, se revientan los tejidos epiteliales que los recubren. En este sentido no se pudo obtener evidencia del crecimiento de los ovocitos, congruentes con el desarrollo embrionario. Aunque no lo pudimos evidenciar en esta investigación, en el Pacífico de Colombia, se ha comprobado que el desarrollo de los ovocitos es congruente con el periodo de desarrollo del embrión en *H. longus* (López, 2009), si bien, se asume para las hembras la capacidad de ovular, al momento de alumbrar los embriones totalmente desarrollados.

7.3. Anatomía externa del aparato reproductor de las hembras

Las hembras de *H. longus* presentaron gónadas pareadas, pero solo el lado izquierdo (ovario, glándula oviducal y útero) se encontraron funcional, esto valida lo que se ha reportado para la especie en la zona de distribución (Villavicencio et al., 1994; López, 2009; Jiménez, 2017). También es similar a lo reportado para otras especies de la familia y el mismo género como *H. sabinus*, *H. americana*, *H. marianae* y *Pateobatis bleekeri* (Lewis, 1982; Maruska et al., 1996; Chatchavalvanich & Rachain, 1997; Ramírez-Mosqueda, Pérez-Jiménez, et al., 2012; ;Onodera et al., 2019).

El no desarrollo del ovario derecho y el funcionamiento del ovario izquierdo puede ser un carácter apomorfico de este tipo de rayas, y la no presencia de un útero derecho funcional podría ser una característica del género (Lovejoy, 1996). Otra razón del no desarrollo del ovario derecho podría ser debido al pequeño tamaño de la cavidad visceral de algunas especies de elasmobranquios y al espacio que es necesario para el desarrollo de los órganos internos puede ser una de las razones del porque no se desarrollan ambos ovarios (Borcea, 1906; Gudger, 1937).

El tipo de ovario que presenta *H. longus* es del tipo interno, pudiéndose encontrar diferentes etapas del desarrollo folicular en un mismo ovario, esto coincide con lo que se ha descrito para la especie (Jiménez, 2017) y lo descrito por Pratt (1988) sobre el desarrollo de los ovarios en elasmobranquios.

Los ovarios de *H. longus* se desarrollan de forma sesgada, esto quiere decir que no existe un desarrollo uniforme de los ovocitos a lo largo del ovario. El tejido germinal se encuentra del centro hacia la parte superior del ovario, esto es similar a lo reportado por Jiménez (2017) para la especie. El desarrollo de los folículos ováricos no es uniforme en el ovario, los estadios tempranos de los oocitos se encuentran en el centro del ovario en la periferia, a medida que los ovocitos maduran van subiendo de posición en el ovario y finalmente en la parte superior se encuentran los ovocitos maduros. Esta descripción es importante ya que en hembras maduras se recomienda realizar los cortes transversales para histología en la parte superior del ovario izquierdo si el objetivo es validar la madurez sexual utilizando los ovocitos como referencia.

7.4. Histología del aparato reproductor de las hembras

Para la especie no se había descrito todas las fases de la ovogénesis, únicamente tres fases: Folículos primordiales, folículos primarios y folículos previtelogenicos (Jiménez, 2017) esto debido a que no pudieron obtener suficientes muestras de organismos maduros (Jiménez, 2017). En este trabajo por primera vez se reportan cinco fases de la ovogenesis: Ovogonia, ovocitos primarios, folículos primarios, folículos previtelogénicos y folículos vitelogénicos, estas fases son similares a las encontradas para *Fluvytrigon signifer*, especie de raya dulceacuícola que pertenece a la familia Dasyatidae, aunque en esta especie reportan otras dos fases: folículos preovulatorios atrésicos y folículos postovulatorios (Somsap et al., 2019b) las cuales no pudimos encontrar para *H. longus*.

Durante la fase de ovogonia y ovocitos primarios las capas foliculares aún no se distinguen y solo se puede observar una capa de pocas células foliculares. En la fase de folículos primarios la capa granulosa se convierte de células cubicas simples a tejido plano simple. En la fase de folículos previtelogéncios la capa granulosa vuelve a ser un tejido cúbico simple. Finalmente, los folículos vitelogenicos presentan una capa granulosa con un tejido cilíndrico pseudoestratificado, esta descripción es similar a lo reportado por Jiménez (2016) para *H. longus* para la fase de folículos vitelogenicos.

En elasmobranquios el epitelio folicular de los ovocitos se compone de diferentes combinaciones de tipos de células, pueden ser células pequeñas, medinas o grandes, células columnares. En general depende de la especie y la etapa de maduración del folículo (Somsap et al., 2019b). Los ovocitos en la fase de ovogonia y ovocitos primarios se pueden encontrar en la medula de forma solitaria o juntos en colonias llamadas cordones sexuales, esto se ha reportado para otras especies de la misma familia *F. signifer* e *H. sabinus* (Grier et al., 2016; Somsap et al., 2019b).

Una característica encontrada en la fase de folículos vitelogénicos es que el epitelio folicular empieza a desarrollarse y se forman invaginaciones que se ramifican y se extienden hacia todo el ovocito formando múltiples pliegues formados de la capa granulosa y zona pelúcida. Esta característica de esta etapa de la ovogénesis es un rasgo común de los Myliobatiformes (Somsap et al., 2019b).

La glándula oviducal de *H. longus* mostro tres zonas: zona club, zona papillary y la zona terminal, esto difiere a lo reportado por Hamlett (1998) donde describe cuatro zonas: Zona club, papillary, terminal y bafle, esta última zona en esta especie no se pudo ubicar. Por primera vez se hace una descripción de la glándula oviducal para la especie en su zona de distribución. La zona club fue la que más dificultad se tuvo para describir ya que debido a la posición de la glándula en varias muestras no se pudo realizar el corte de una forma adecuada para poder describir la zona. La zona papillary y la zona terminal fueron las que mejor se pudieron representar. Finalmente, no se encontró un rasgo característico para describir la madurez en la glándula oviducal, se intentó verificar diferencias en la abertura o lumen de la glándula entre organismos maduros e inmaduros pero no se encontraron diferencias. Como se mencionó anteriormente no se pudieron realizar cortes uniformes que tomaran cada una de las secciones de la glándula, ya que esta no se encuentra en una posición uniforme, por ejemplo, en algunas glándulas el lumen se mostró curvo por lo que no se pudieron realizar cortes que tomaran toda la longitud de este.

El útero de *H. longus* se utilizó de referencia para tomar la madurez sexual. La longitud de este fue la variable que mejor se relacionó con el ancho de disco de las hembras para describir la madurez sexual, esto es similar a lo reportado para otras especies del mismo género (López, 2009; Onodera et al., 2019).

El útero de *H. longus* está formado por tres capas: Una capa en la periferia de tejido conjuntivo denso, una capa intermedia de tejido muscular liso y luego presenta una capa de tejido epitelial y tejido conjuntivo laxo que es donde se encuentra la trofonemata. La trofonemta son extensiones vellosas presentes en la pared de la mucosa uterina y esta son aplanadas y son más anchas en la punta que en la base, cada trofonemata tiene un vaso central que se ramifica para irrigar (Hamlett et al., 2011). La descripción de la pared del útero de *H. longus* es similar a lo descrito para *H. americanus* donde mencionan que está formado por una capa interna llamada endometrio donde se forman las extensiones vellosas (trofonemata), existe una capa intermedia que es un músculo liso (miometrio) y existe una capa externa llama piometrio (Hamlett et al., 2011).

Las trofonematas presentan criptas secretoras de leche uterina, esta está compuesta de lípidos (triglicéridos) y proteinas (Hamlett et al., 2011). El tejido de la trofonemata cambia durante el proceso de gestación; En úteros que presentan embriones en estados avanzados la

vascularización cambia en la trofonemata, esta aumenta considerablemente y los vasos en el borde de la trofonemata son de gran diámetro, además el epitelio cubico que recubre los vasos se reemplaza por epitelio escamoso (Hamlett et al., 2011). Para *D. sabina* también se reporte este comportamiento, las células epiteliales de las glándulas uterinas y trofonematas aumentaron de tamaño. Las trofonematas se alargaron considerablemente y el tejido conjuntivo central se degrado. El adelgazamiento del tejido conectivo en las trofonematas acercó la red de capilares a la superficie. La vascularización aumento conforme aumentaba el desarrollo del embrión (Lewis, 1982). Para *H. longus* se observó el mismo comportamiento, hembras preñadas y maduras mostraron trofonemata más grandes y con criptas totalmente formadas en comparación de hembras inmaduras, esto nos indica que este tejido ya debe de estar formado para poder considerar a una hembra como madura, por lo que se recomienda obtener dados morfométricos de las trofonemata así como una descripción general.

7.5. Anatomía externa del aparato reproductor de los machos

La anatomía macroscópica del aparato reproductor de los machos de *H. longus* fue similar a los reportado por otros estudios para la misma especie (Villavicencio et al., 1994; López, 2009; Jiménez, 2017) donde se reporta que esta especie presenta un desarrollado pareado de los testículos, esto quiere decir que muestra desarrollo en el lado izquierdo y derecho, validando lo reportado anteriormente por estos autores.

En este trabajo el tamaño de los testículos fue diferente, el testículo izquierdo es más grande que el derecho. Esto es similar a lo reportado para otras especies del mismo género (Maruska et al., 1996; Onodera et al., 2019). Esto se pudo observar a nivel histológico ya que en organismos inmaduros cuando el testículo izquierdo empieza a formar los espermatocitos el derecho no, a nivel macroscópico esta característica se ha reportado para *Rhinoptera bonasus* donde el testículo izquierdo empieza a formar lóbulos antes que el derecho (Poulakis, 2013). En organismos maduros se observó que los testículos izquierdos presentaban más espermatocistos con espermatozoides maduros en la periferia del testículo en comparación que los derechos. Esta característica se puede explicar debido al acomodamiento de los órganos en la cavidad visceral, el intestino espiracular y el estómago, necesitan más espacio y quitan área de desarrollo al testículo derecho (Maruska et al., 1996).

En Baja California Sur (BCS) para la misma especie se reportó que el tamaño de los testículos de los machos de *H. longus* no presentó diferencias significativas (Jiménez, 2017). Estas diferencias se pueden explicar debido al tamaño de muestra, ya que en el trabajo realizado en BCS únicamente utilizaron 30 gónadas de machos y la mayoría de estos organismos fueron inmaduros.

7.6. Histología del aparato reproductor de machos

El tipo de desarrollo de la espermatogénesis encontrado en esta especie es radial, esto también es reportado para *H. longus* en Baja California Sur y Colombia (López, 2009; Jiménez, 2017). En esta forma de desarrollo la zona germinal se encuentra al centro de los lóbulos, y el desarrollo de la espermatogénesis se lleva de forma radial hacia la periferia del lóbulo, encontrándose las etapas más avanzadas de la espermatogénesis en la periferia del testículo (Pratt, 1988). Este tipo de desarrollo también se reporta para *Dasyatis sabina* (Maruska et al., 1996).

En este trabajo se identifican siete estadios de la espermatogénesis: Espermatogónias primarias, espermatogónias secundaria, espermatocito primario, espermatocito secundario, espermátida, espermatozoide inmaduro y espermatozoides maduros. Para la misma especie solo se había realizado la descripción de Jiménez (2017) donde de forma similar se reportan siete estadios de la espermatogénesis.

Algunas diferencias a lo reportado por Jiménez (2017) es que en este trabajo se describen dos estadios de espermatogónias y únicamente dos estadios de espermátidas. En lo reportado para Baja California Sur únicamente se reportan un estadio de espermatogónias y tres estadios de espermátida. En este sentido, se consideró necesario dividir entre espermatogónias primaria y secundaria ya que hay diferencias evidentes. Por ejemplo, en las espermatogónias primarias son pocas células en el espermatocisto y este no está formado, en cambio en las espermatogónias secundarias ya el espermatocisto está formado con un lumen evidente y la cantidad de células aumenta considerablemente.

Para la especie *Hypanus sabina* hacen una descripción extra de una fase de la espermatogénesis, la cual es la zona degenerada, este consiste en que los espermatocistos son vaciados luego de la expulsión de los espermatozoides maduros (Maruska et al., 1996). En estos organismos no encontramos evidencia de esta etapa.

En organismos inmaduros, en desarrollo y maduros se encontraron todas las etapas de la espermatogénesis, la diferencia fue la cantidad de espermatozoides maduros encontrados. En organismos inmaduros los espermatocitos con espermatozoides maduros eran menos en comparación con organismos maduros. Esto es similar a lo reportado para la especie de tiburón *Cephaloscyllium ventriosusm*, donde los machos presentaron todas las etapas de la espermatogénesis en todos los estadios de desarrollo (Bernal, 2017). Por lo que para *H. longus* aunque los machos presenten espermatozoides maduros la madurez sexual depende en mayor medida de los gonopterigios, los cuales deben de estar listos para poder ingresar al aparato reproductor femenino.

Por primera vez se hace una descripción del epidídimo, glándula de Leydig y vesícula seminal para la especie. En los organismos maduros se encontró evidencia de flujo continuo de espermatozoides en el epidídimo y glándula de Leydig ya que en todos los organismos considerados como maduros se encontraron espermatozoides en el lumen del epidídimo y la glándula de Leydig, estos espermatozoides no se presentaron en un orden aparente, esta descripción es similar a los reportado por Hamlett (2002) donde describe el flujo de esperma en los ductos testiculares. En la vesícula seminal se encontró el almacén de esperma en forma de espermatozeugmata (H. L. Pratt & Tanaka, 1994).

El epidídimo de *H. longus* mostro un epitelio pseudoestratificado, esto difiere a lo descrito para otras especies de otras especies (Hamlett, 2002; Burgos, 2013) y de especies del mismo género como *Dasyatis sabina*(Piercy et al., 2003), pero es similar a lo reportado para el tiburón *Cephaloscyllium ventriosum* (Bernal, 2017).

La descripción de la vesícula seminal corresponde a lo descrito en otros estudios donde menciona que en las paredes de la vesícula se encuentran elongaciones del tejido epiteleal que van en dirección del lumen, entre estas elongaciones en donde se encuentran el almacén de esperma en forma de espermatozeugmata (Hamlett, 2002; Piercy et al., 2003; Burgos, 2013). El tejido epitelial de revestimiento de esta zona es del tipo pseudoestratificado, siendo similar a lo reportado para *Gymnura marmorata* en Baja California Sur (Burgos, 2013).

8. CONCLUSIONES

- 1) *H. longus* es la especie más capturada con palangres de fondo costeros en el sur de México el Pacífico de Guatemala, El Salvador, Honduras, Nicaragua y Costa Rica.
- 2) La especie mostro dimorfismo sexual en cuanto el crecimiento, las hembras alcanzan un intervalo de tallas mayor en comparación que los machos.
- 3) En cuanto a la proporción de sexos los machos son más numerosos que las hembras, esto sugiere que existe segregación por sexos.
- 4) En la morfometría de las gónadas en las hembras se encontró desarrollo de los órganos izquierdos (ovario, oviducto, glándula oviducal y útero), el lado derecho fue vestigial.
- 5) Los testículos son pareados, pero es más grande el testículo izquierdo que el derecho, esto se reporta por primera vez para los machos de *H. longus*.
- 6) La madurez sexual se evidencia por el gonopterigios calcificados y la longitud del testículo izquierdo relacionado con el ancho de disco. En el caso de las hembras la longitud del útero izquierdo relacionado con el ancho de disco definió la madurez sexual.
- 7) Los machos presentaron un flujo continuo de esperma en los ductos testiculares. Los testículos derechos son más pequeños en comparación que los izquierdos, también a nivel histológico se observó más desarrollo en el testículo izquierdo.
- 8) Las hembras presentaron el ovario izquierdo con un desarrollo sesgado, de la parte media a la parte superior del ovario, donde el epitelio germinal está al centro de estos órganos.
- 9) Los primeros estadios de la oogénesis se encuentran en la zona media en la periferia del ovario izquierdo, conforme se desarrolla la oogénesis los ovocitos van moviéndose a la parte superior del ovario.
- 10) Para validar la madurez en hembras utilizando el ovario izquierdo, se debe de muestrear los oocitos ubicados en la parte superior del ovario ya que aquí se encuentran los folículos vitelogénicos.

- 11) Este estudio valido la madurez sexual por medio de características del útero, las hembras consideradas como maduras presentaban una trofonemata desarrollada, a nivel de histología las hembras maduras presentaron criptas secretoras y en las que se encontraron preñadas también mostraron leche uterina.
- 12) En la glándula oviducal se pudieron describir tres zonas: Zona club, papillary y terminal. No se encontró evidencia de almacenamiento de esperma en la zona terminar de la glándula.
- 13) El órgano epigonal se encontró tanto en hembras como en machos. Se encontró más abundante en organismos inmaduros y en desarrollo que en organismos maduros.
- 14) La L50 de machos y hembras fue de 75 y 105cm AD respectivamente. Para ambos sexos es la menor talla de L50 reportada en la zona de distribución de la especie.
- 15) La mayoría de los machos colectados fueron organismos maduros, en tanto las hembras la mayoría fueron organismos inmaduros o en desarrollo. Sugiere una segregación por madurez sexual, si se considera que la mayoría de los organismos maduros colectados fueron machos.
- 16) Se encontró una fecundidad promedio de 2 embriones por hembra, es similar a lo reportado en la zona de distribución de la especie. La talla de nacimiento calculada de los embriones alcanzó 34.05 cm AD.
- 17) Finalmente se concluye que *H. longus* tiene una reproducción asincrónica. En cualquier mes del año existen embriones de diferente tamaño, de igual manera los oocitos de mayor diámetro se pudieron encontrar a lo largo del año, no presentando una tendencia en la reproducción.

9. RECOMENDACIONES

- 1) Se recomienda continuar el monitoreo de desembarques de esta especie para seguir cambios en la proporción de sexos y estructura de tallas de la especie a lo largo del tiempo, con miras a la regulación pesquera de la especie.
- 2) Para próximos estudios de biología reproductiva de *H. longus* en el Pacifico de Guatemala, Sur de México y El Salvador se recomienda en el caso de los machos basarse en el desarrollo del testículo izquierdo. Con las hembras se debe de tomar de referencia el útero y el ovario izquierdo.
- 3) Se debe de realizar un mayor esfuerzo en muestrear úteros de hembras preñadas esto con el objetivo de medir de mejor manera la fecundidad uterina real. También se debe de realizar el monitoreo en un mayor periodo de tiempo para poder establecer si existen cohortes de nacimiento.
- 4) Se debe de dirigir un estudio específico para el Pacífico de Guatemala para poder comprender de mejor manera el fenómeno de la segregación sexual, sobre todo entender donde se ubican las hembras maduras, ya que en este estudio se demostró que la mayoría de los organismos maduros son los machos, mientras que las hembras la mayoría son organismos inmaduros y juveniles.

10. BIBLIOGRAFIA

- Aguiar, A. A., Valentin, J. L., & Rosa, R. S. (2009). Habitat use by Dasyatis americana in a south-western Atlantic oceanic Island. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 89(6), 1147–1152. https://doi.org/10.1017/S0025315409000058
- Arauz, R., López, A., & Zanella, I. (2007). Informe Final: Análisis de la descarga anual de tiburones y rayas en la pesquería pelágica y costera del Pacífico de Costa Rica PDF Free Download. https://docplayer.es/91326890-Informe-final-analisis-de-la-descarga-anual-de-tiburones-y-rayas-en-la-pesqueria-pelagica-y-costera-del-pacífico-de-costa-rica.html
- Bejarano, O. (2011). *Morfología funcional de los modos reproductivos en elasmobranquios del Pacífico mexicano*. Instituto Politécnico Nacional.
- Bernal, S. (2017). Biología reproductiva del tiburón Cephaloscyllium ventriosum (Carcharhiniformes: Scyliorhinidae) en Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. Instituto Politécnico Nacional.
- Bizzarro, J., Smith, W., Hueter, R., Tyminski, J., Márquez-Farías, F., Castillo-Géniz, L., Cailliet, G., & Villavicencio-Garayzar, C. (2007). *The status of shark and ray fishery resources in the Gulf of California: applied research to improve management and conservation*. https://aquadocs.org/bitstream/handle/1834/20225/MLML_Tech_Pub_09_01.pdf?sequ ence=1&isAllowed=y
- Bohórquez-Herrera, J. (2006). Aspectos biológicos y pesqueros de elasmobranquios capturados en el Parque Nacional Natural Gorgona y su área de influencia entre 2004 y 2005. Fundación Universidad Jorge Tadeo Lozano.
- Borcea, I. (1906). Recherches Sur La Systeme Uro-Genitai Des Elasmobranches. *Arch. Zool. Expér. Gén.*, 4, 199–484.
- Burgos, M. I. (2013). Biología reproductiva de la raya mariposa Gymnura marmorata (Cooper 1864) en la costa occidental de Baja California Sur, México. Instituto Politécnico Nacional.
- Carpenter, K. E. (2002). FAO SPECIES IDENTIFICATION GUIDE FOR FISHERY PURPOSES THE LIVING MARINE RESOURCES OF THE WESTERN CENTRAL ATLANTIC VOLUME 2 Bony fishes part 1 (Acipenseridae to Grammatidae) edited by FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (Vol. 2).
- Castillo, C. G. A., & Morales, O. S. (2021a). Characterization of the artisanal elasmobranch fisheries off the pacific coast of Guatemala. *Fishery Bulletin*, *119*(1), 3–9. https://doi.org/10.7755/FB.119.1.2

- Castillo, C. G. A., & Morales, O. S. (2021b). Characterization of the artisanal elasmobranch fisheries off the pacific coast of Guatemala. *Fishery Bulletin*, *119*(1), 3–9. https://doi.org/10.7755/FB.119.1.2
- Chatchavalvanich, K., & Rachain, V. (1997). Gross and Microscopic Structures of the Female Reproductive System in the Whip-Tail Stingray (Dasyatis bleekeri). *Science & Technology Asía*, 2, 47–55. https://ph02.tci-thaijo.org/index.php/SciTechAsia/article/view/42028
- Clark, E., & von Schmidt, K. (1965). Sharks of the Central Gulf Coast of Florida: Ingenta Connect. *Bulletin of Marine Science*, *15*(1), 13–83. https://www.ingentaconnect.com/content/umrsmas/bullmar/1965/00000015/00000001/art00002
- Clarke, T. M., Espinoza, M., Romero Chaves, R., & Wehrtmann, I. S. (2018). Assessing the vulnerability of demersal elasmobranchs to a data-poor shrimp trawl fishery in Costa Rica, Eastern Tropical Pacific. *Biological Conservation*, 217, 321–328. https://doi.org/10.1016/j.biocon.2017.11.015
- del Cid, A. (2011). Evaluación Biológica Pesquera de Elasmobranquios Capturados por la Pesca Artesanal en el Golfo de Chiriquí. http://up-rid.up.ac.pa/2422/1/annissamyde_delcid.pdf
- DIPESCA, & PNUD. (2018). Diseño de arte de pesca para la reconversión de prácticas no amigables con la diversidad Biológica Marino-Costera en el Área de Conservacicón Marino-Costera Sipacate-Naranjo. www.undp.org
- Ebert, D., Dando, M., & Fowler, S. (2021). Sharks of the World. *Sharks of the World*. https://doi.org/10.1515/9780691210872/HTML
- Fischer, W., Krupp, F., Schneider, W., Sommer, C., Carpenter, K., & Niem, V. (1995). Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico centro-oriental. Volumen II. Vertebrados Parte 1. In *Guia FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico Centro-Oriental: Vol. II.* http://www.fao.org/docrep/010/t0852s/t0852s00.htm
- Galdamez, N. (2014). Aspectos biológicos y pesqueros de las principales especies de la famiia Dasyatidae desembarcadas en el puerto artesnaal de Acajutla, Sonsonate, El Salvador 2012-2013. Universidad de El Salvador.
- Gonzáles, J., Morán, J., & Chicas, F. (2017). Pesca artesanal y madurez sexual del tiburón gris Carcharhinus falciformis, tiburón martillo Sphyrna lewini y raya látigo Hypanus longus en El Salvador. *Ciencia Pesquera*, 25(1), 63–73. https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/270435/7_Ciencia_Pesquera_25-1.pdf

- Gonzáles, L. (2018). *Diversidad de los peces batoideos de la zona sur de la isla Espíritu Santo, BCS, México* [Instituto Politécnico Nacional]. https://www.repositoriodigital.ipn.mx/bitstream/123456789/26219/1/gonzalezgo1.pdf
- Grier, H. J., Uribe, M. C., lo Nostro, F. L., Mims, S. D., & Parenti, L. R. (2016). Conserved form and function of the germinal epithelium through 500 million years of vertebrate evolution. *Journal of Morphology*, 277(8), 1014–1044. https://doi.org/10.1002/JMOR.20554
- Gudger, E. (1937). Bathytoshia, the Giant Stingaree of Australia: The Largest of the Stingray Tribe in the Seven Seas. *Australian Museum. Mag*, *6*, 2–10.
- Guerrón, J. (2007). La nueva pesquería de rayas en Puerto López, zona de amortiguamiento del Parque Nacional Machalilla.
- Hamlett, W. C. (2002). Ultrastructure of sperm storage and male genital ducts in a male holocephalan, the elephant fish, Callorhynchus milii. *Journal of Experimental Zoology*, 292(2), 111–128. https://doi.org/10.1002/JEZ.1148
- Hamlett, W. C. (2005). *Reproductive biology and phylogeny of Chondrichthyes: sharks, batoids and chimaeras* (1st ed.). Science Publishers.
- Hamlett, W. C., Musick, J. A., Eulitt, A. M., Jarrell, R. L., & Kelly, M. A. (2011). Ultrastructure of uterine trophonemata, accommodation for uterolactation, and gas exchange in the southern stingray, Dasyatis americana. *Https://Doi.Org/10.1139/Z96-157*, 74(8), 1417–1430. https://doi.org/10.1139/Z96-157
- Hamlett, W., Kormanik, G., Storrie, M., Stevens, B., & Walker, T. (2011). Chondrichthyan Parity, Lecithotrophy and Matrotrophy. *Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes*, 405–421. https://doi.org/10.1201/9781439856000-29
- Hemidia, F., Seridji, R., Ennajar, S., Bradad, M. N., Collier, E., Guélorget, O., & Capapé, C. (2003). New observations on the reproductive biology of the pelagic stingray, Dasyatis violacea Bonaparte, 1832 (Chondrichthyes: Dasyatidae) from the Mediterranean Sea. *Acta Adriatica*, 44(2), 193–204. https://acta.izor.hr/ojs/index.php/acta/article/view/73
- Hernández, G., Quintana, B., Lara, S., & Santamaria, F. (2021). Captura de peces elasmobranquios provenientes de la pesca artesanal en las playas de Poneloya y las Peñitas, León, Nicaragua. *Revista Iberoamericana de Bioeconomía y Cambio Climático*, 7(14), 1766–1774. https://doi.org/10.5377/ribcc.v7i14.13007
- Hernández, J. (2009). *Pesquería de Dasyatis americana en el oeste del Banco de Campeche, México*. El Colegio de la Frontera Sur .
- Hobday, A. J., Smith, A. D. M., Stobutzki, I. C., Bulman, C., Daley, R., Dambacher, J. M., Deng, R. A., Dowdney, J., Fuller, M., Furlani, D., Griffiths, S. P., Johnson, D., Kenyon, R., Knuckey, I. A., Ling, S. D., Pitcher, R., Sainsbury, K. J., Sporcic, M.,

- Smith, T., ... Zhou, S. (2011). Ecological risk assessment for the effects of fishing. *Fisheries Research*, 108(2–3), 372–384. https://doi.org/10.1016/J.FISHRES.2011.01.013
- ICES. (2013). Report of the workshop on Sexual Maturity Staging of Elasmobranchs (WKMSEL).

 https://www.ices.dk/sites/pub/Publication%20Reports/Expert%20Group%20Report/acom/2012/WKMSEL/WKMSEL%202012.pdf
- INIFAP. (2018). Reunión Nacional. Reuniones Nacionales de Investigación e Innovación Pecuaria, Agrícola, Forestal y Acuícola Pesquera. https://docplayer.es/164098933-Reunion-nacional-reuniones-nacionales-de-investigacion-e-innovacion-pecuaria-agricola-forestal-y-acuicola-pesquera.html
- Jiménez, Y. (2017). Aspectos reproductivos y de crecimiento de la raya látigo Hypanus longus (Garman, 1880) en la Bahía de La Paz, BCS, México. Universidad Autónoma de Baja California Sur.
- Last, P. R., Naylor, G. J. P., & Manjaji-Matsumoto, B. M. (2016). A revised classification of the family Dasyatidae (Chondrichthyes: Myliobatiformes) based on new morphological and molecular insights. *Zootaxa*, 4139(3), 345–368. https://doi.org/10.11646/zootaxa.4139.3.2
- Last, P., Naylor, G., Séret, B., White, W., de Carvalho, M., & Stehmann, M. (2016). *Rays of the World* (Vol. 1).
- Lewis, T. (1982). The reproductive anatomy, seasonal cycles, and development of the Atlantic Stingray, Dasyatis sabina (lesueur) (Pisces, Dasyatidae) From The Northeastern Gulf of México. The Florida State University.
- Lopes Da Silva, V. E., Teixeira, E., Fabré, N. N., & Batista, V. S. (2018). Reproductive biology of the longnose stingray Hypanus guttatus (Bloch & Schneider, 1801) from the northeastern coast of Brazil. https://doi.org/10.21411/CBM.A.C4BC192C
- López, J. (2009). Aspectos biológicos de la raya látigo Dasyatis longa (PICES: Dasyatidae) de la zona central del Pacífico colombiano. [Universidad del Valle]. https://www.yumpu.com/es/document/read/46431749/aspectos-biolagicos-de-la-raya-latigo-dasyatis-longa-
- López-Garro, A., Zanella, I., López-Garro, A., & Zanella, I. (2015). Capturas de la raya Dasyatis longa (Myliobatiformes: Dasyatidae) en las pesquerías artesanales de Golfo Dulce, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, *63*, 319–327. https://doi.org/10.15517/RBT.V63I1.23111
- Lovejoy, N. R. (1996). Systematics of myliobatoid elasrnobranchs: with emphasis on the phylogeny and historical biogeography of neotropical freshwater stingrays (Potamotrygonidae: Rajiformes). 117, 207–257. https://academic.oup.com/zoolinnean/article/117/3/207/2684299

- Maruska, K. P., Cowie, E. G., & Tricas, T. C. (1996). Periodic Gonadal Activity and Protracted Mating in Elasmobranch Fishes. *THE JOURNAL OF EXPERIMENTAL ZOOLOGY*, 276219–276232. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-010X(19961015)276:3
- Mollet, H., Cliff, G., Pratt, H., & Stevens, J. (2000). Reproductive biology of the female shortfin mako, Isurus oxyrinchus Rafinesque, 1810, with comments on the embryonic development of lamnoids. *Fish. Bull.*, *98*(2), 299–318. https://www.researchgate.net/publication/297483225_Reproductive_biology_of_the_f emale_shortfin_mako_Isurus_oxyrinchus_Rafinesque_1810_with_comments_on_the_embryonic_development_of_lamnoids
- Morales, J. (2021). Aspectos reproductivos de la raya látigo Hypanus longus (Garman, 1880) de los desembarques de la pesca artesnaal en el Pacífico de Guatemala. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Navia, A. F., & Mejía-Falla, P. A. (2016). Fishing effects on elasmobranchs from the Pacific Coast of Colombia. *Universitas Scientiarum*, 21(1), 9–22. https://doi.org/10.11144/JAVERIANA.SC21-1.FEOE
- Onodera, A. R., Nunes, P., Rincon, G., de Souza Rosa, R., Luiz, J., & Nunes, S. (2019). ReproduCtive Biology of the stingray Hypanus marianae, an endemic species from Southwestern Tropical Atlantic Ocean Biologia Reprodutiva da raia Hypanus marianae, uma espécie endêmica do SudOeste do Oceano Atlântico Tropical Biología reproductiva de la raya Hypanus marianae, una especie endémica del suROeste del Océano Atlântico Tropical. *Revista Nordestina de Biologia* /, 27(1), 2236–1480.
- Perez-Jimenez, C. (2001). Analisis de la pesqueria artesanal de tiburones y rayas de Isla Isabel, Nayarit, México. Centro de Investigación Cientifia y de Educación Superior de Ensenada.
- Piercy, A., Gelsleichter, J., & Snelson, F. F. (2003). Morphological and histological changes in the genital ducts of the male Atlantic stingray, Dasyatis sabina, during the seasonal reproductive cycle. *Fish Physiology and Biochemistry*, 29(1), 23–35. https://doi.org/10.1023/B:FISH.0000035894.45256.59
- Pineda, E. A. (2019). *Informe Final Integrado de EDC*. Universidad de San Carlos de Guatemala.
- Pollom, R., Avalos, C., Bizzarro, J., Burgos-Vásquez, M., Cevallos, A., Espinoza, M., Gonzales, A., Hernan, K., Mejía-Falla, P., Morales-Saldaña, J., Navia, A., Perez Jiménez, J., & Sosa-Nishizaki, O. (2020). *Hypanus longus. The IUCN Red List of Threatened Species*. https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2020
- Poulakis, G. R. (2013). Reproductive Biology of the Cownose Ray in the Charlotte Harbor Estuarine System, Florida. *Https://Doi.Org/10.1080/19425120.2013.795509*, *5*(5), 159–173. https://doi.org/10.1080/19425120.2013.795509

- Pratt, H. (1979). Reproduction in the blu shark, Prionace glauca. *Fishery Bulletin*, 77(2), 445–470.
 - https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=1YiqSInWOaQC&oi=fnd&pg=PA445&dq=Reproduction+in+the+blue+shark,+Prionace+glauca&ots=JVMr8gqfok&sig=0Oxi5gUxJ0roc6Vm0GrWDE-
 - 35rQ#v=onepage&q=Reproduction%20in%20the%20blue%20shark%2C%20Prionace%20glauca&f=false
- Pratt, H. L. (1988). Elasmobranch Gonad Structure: A Description and Survey. *Copeia*, 1988(3), 719. https://doi.org/10.2307/1445394
- Pratt, H. L., & Tanaka, S. (1994). Sperm storage in male elasmobranchs: A description and survey. *Journal of Morphology*, 219(3), 297–308. https://doi.org/10.1002/JMOR.1052190309
- Ramírez-Mosqueda, E., Carlos Pérez-Jiménez, J., & Mendoza-Carranza, M. (2012). Reproductive parameters of the southern stingray Dasyatis americana in southern gulf of Mexico. *Lat. Am. J. Aquat. Res*, 40(2), 335–344. https://doi.org/10.3856/vol40-issue2-fulltext-8
- Ramírez-Mosqueda, E., Pérez-Jiménez, J., & Mendoza-Carranza, M. (2012). Reproductive parameters of the southern stingray Dasyatis americana in southern gulf of México. *Lat. Am. J. Aquat. Res.*, 40(2), 335–344. https://www.redalyc.org/pdf/1750/175024254008.pdf
- Santana, O. (2005). Catálago de tiburones, rayas y quimeras (Pisces Chondrichthyes) que habitan en las aguas del Norte del Golfo de California. Universidad de Guadalajara.
- Smith, W. D., Cailliet, G. M., & Melendez, E. M. (2007). Maturity and growth characteristics of a commercially exploited stingray, Dasyatis dipterura. *Marine and Freshwater Research*, *58*(1), 54–66. https://doi.org/10.1071/MF06083
- Somsap, N., Srakaew, N., & Chatchavalvanich, K. (2019a). Microanatomy of the female reproductive system of the viviparous freshwater whipray Fluvitrygon signifer (Elasmobranchii: Myliobatiformes: Dasyatidae). I. The ovary. *Zoologischer Anzeiger*, 280, 52–64. https://doi.org/10.1016/j.jcz.2019.04.002
- Somsap, N., Srakaew, N., & Chatchavalvanich, K. (2019b). Microanatomy of the female reproductive system of the viviparous freshwater whipray Fluvitrygon signifer (Elasmobranchii: Myliobatiformes: Dasyatidae). I. The ovary. *Zoologischer Anzeiger*, 280, 52–64. https://doi.org/10.1016/J.JCZ.2019.04.002
- Soto-Lopez, K. (2014). *Biología reproductiva de la raya Raja velezi (Chirichigno, 1973)* en el Suroeste de la Costa Occidental de Baja California Sur [Universidad Nacional Autónoma de México]. http://132.248.9.195/ptd2014/febrero/0708914/0708914.pdf
- Sparre, P., & Venema, S. C. (1997). Introducción a la evaluación de recursos pesqueros tropicales. Parte 1: Manual. In *FAO Documento Técnico Pesca Nº 306.1 Rev. 2*.

- Tagliafico, A., Rago, N., & Salomé Rangel, M. (2013). Aspectos biológicos de las rayas Dasyatis guttata y Dasyatis americana (Myliobatiformes: Dasyatidae) capturadas por la pesquería artesanal de la isla de Margarita, Venezuela. *Revista de Biologia Marina y Oceanografia*, 48(2), 365–373. https://doi.org/10.4067/S0718-19572013000200015
- Torres-Huerta, A. M. (2012). *INFORME FINAL DEL PROYECTO HJ031 Peces batoideos de la plataforma continental del Golfo de Tehuantepec*. http://www.conabio.gob.mx/institucion/proyectos/resultados/InfHJ031.pdf
- Torres-Huerta, A. M., López-Pérez, R. A., Tapia-García, M., & Gracía, A. (2019). Distribution of batoid demersal assemblages on the continental shelf of the Gulf of Tehuantepec. *Marine and Freshwater Research*. https://doi.org/10.1071/MF18464
- Vazzoler, A. M. (1979). Manual de metodos para estudos biologicos de populacoes de peixes.
- Vega, Á., Robles, Y., & Mate, J. (2016). La pesca artesanal en el Parque Nacional Coiba y su Zona de Influencia: Biología y pesquería de sus principales recursos, con recomendaciones de manejo.

 https://www.researchgate.net/publication/306473151_La_pesca_artesanal_en_el_Parq ue_Nacional_Coiba_y_su_Zona_de_Influencia_Biologia_y_pesqueria_de_sus_princip ales_recursos_con_recomendaciones_de_manejo
- Villavicencio, C., Downton, C., & Melendez, E. (1994). Tamaño y reproducción de la raya Dasyatis longus (Pisces: Dasyatidae), en Bahía Almejas, Baja California Sur, México. *Revista de Biología Tropical*, 42, 375–377. https://revistas.ucr.ac.cr/index.php/rbt/article/view/23215/23552
- Walker, T. I. (2005). Reproduction in Fisheries Science, p. 82–127. In: Hamlett WC (Ed.). Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, Batoids and Chimaeras. *Science Publishers Inc.* https://www.researchgate.net/publication/296704350
- Weigmann, S. (2016). Annotated checklist of the living sharks, batoids and chimaeras (Chondrichthyes) of the world, with a focus on biogeographical diversity. *Journal of Fish Biology*, 88(3), 837–1037. https://doi.org/10.1111/JFB.12874
- White, W. T., Platell, M. E., & Potter, I. C. (2001). Relationship between reproductive biology and age composition and growth in Urolophus lobatus (Batoidea: Urolophidae). *Marine Biology 2001 138:1*, *138*(1), 135–147. https://doi.org/10.1007/S002270000436
- Wourms, J. P. (1977). *Reproduction and Development in Chondrichthyan Fishes* (Vol. 17). https://academic.oup.com/icb/article/17/2/379/163593
- Zar, J. H. (1996). *Biostatistical analysis* (Prentice Hall, Ed.; 3rd ed.). Prentice Hall. https://books.google.com/books/about/Biostatistical_Analysis.html?hl=es&id=bNgPA QAAMAAJ