



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



**BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DEL PEZ
GUITARRA *Pseudobatos productus* (Ayres,
1856), EN BAHÍA TORTUGAS, BAJA
CALIFORNIA SUR, MÉXICO.**

TESIS

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

PRESENTA

DIEGO JUARISTI VIDEGARAY

LA PAZ, B.C.S., DICIEMBRE 2016



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

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 16 del mes de Noviembre del 2016 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis titulada:

"BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DEL PEZ GUITARRA *Pseudobatos productus* (Ayres, 1856),
EN BAHÍA TORTUGAS, BAJA CALIFORNIA SUR, MÉXICO"

Presentada por el alumno:

JUARISTI

Apellido paterno

VIDEGARAY

materno

DIEGO

nombre(s)

Con registro:

B	1	4	0	2	6	5
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante de:

MAESTRIA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

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

LA COMISION REVISORA

Directores de Tesis

DR. AGUSTÍN HERNÁNDEZ HERRERA
Director de Tesis

DR. FELIPE GALVÁN MAGAÑA
2º. Director de Tesis

DRA. ROSA ISABEL OCHOA BÁEZ

MC. MARCIAL TRINIDAD VILLALEJO FUERTE

DRA. MARCELA BEJARANO ÁLVAREZ

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

DRA. MARÍA MARGARITA CASAS VALDEZ



I.P.N.
CICIMAR
DIRECCIÓN



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

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 28 del mes de Noviembre del año 2016

El (la) que suscribe BM. DIEGO JUARISTI VIDEGARAY alumno (a) del Programa

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

con número de registro B140265 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

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

DR. AGUSTÍN HERNÁNDEZ HERRERA y DR. FELIPE GALVÁN MAGAÑA

y cede los derechos del trabajo titulado:

"BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DEL PEZ GUITARRA *Pseudobatos productus* (Ayes, 1856)

EN BAHÍA TORTUGAS, BAJA CALIFORNIA SUR, MÉXICO"

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

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la

siguiente dirección: juaris5@hotmail.com - ahndez@hotmail.mx - galvan.felipe@gmail.com

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

BM. DIEGO JUARISTI VIDEGARAY

Nombre y firma del alumno

DEDICATORIA

A MIS PADRES, QUE TODO LES DEBO.

A USTEDES, FAMILIA Y AMIGOS, QUE ME HAN APOYADO EN CADA PASO DE MI DESARROLLO.

GOYO, SIEMPRE OCUPADO; EMILIO, SIEMPRE POSITIVO; Y MAU, SIEMPRE PENDIENTE.

“Si quieres ir rápido, camina solo. Si quieres llegar lejos, ve acompañado.” Proverbio africano.

AGRADECIMIENTOS

De nuevo les agradezco a ustedes, mi familia, por ser la columna vertebral que me mantiene erguido.

Al Dr. Agustín Hernández y al Dr. Felipe Galván, por sus invaluable consejos, su tiempo y atención.

A la Dra. Marcela Bejarano, la Dra. Rosa I. Ochoa y el M. en C. Marcial Villalejo, por su tiempo, y comentarios.

A mis amigos, esos que tienen que aguantar mis buenos momentos, así como los otros en los que estoy de pesado y pesimista. A esos que estuvieron ahí cuando no me pude parar. A los que me vieron temblar y me dijeron que estaban ahí.

A mis compañeros de laboratorio, que aunque somos muchos, a veces logramos mantener un equilibrio dentro de esa entropía a la que llamamos laboratorio.

A ti CICIMAR, que me has hecho crecer mucho en “dos años”, y que me ofreciste una casa para trabajar. Gracias por tus instalaciones y por tu gente, que con tu diversidad generas un ambiente poco cotidiano de trabajo.

Gracias CONACyT, por darme la facilidad de llevar a cabo mi estudio, dándome la libertad de dedicarme exclusivamente al estudio, sin tener que preocuparme por cómo hacerle para llevar comida al plato.

A la comunidad de pescadores de Bahía Tortugas, que gracias a ustedes muchos de mis compañeros y yo, tenemos trabajo. Gracias por pensar en una pesca responsable y por ofrecer calor de hogar a los que vamos a trabajar con ustedes y su comunidad.

Y ni de broma dejo a los Vargas Ayala afuera de los agradecimientos, siempre agradecido de su apoyo y su cariño.

RESUMEN

Los elasmobranquios tienen un crecimiento lento, madurez tardía y número de crías reducido. La raya guitarra *Pseudobatos productus* una de las principales capturas comerciales de rayas, en la costa occidental de Baja California Sur; sin embargo, se desconoce acerca de la reproducción de esta especie en la zona de Bahía Tortugas, B.C.S. El objetivo del estudio fue realizar una descripción de la biología reproductiva de esta especie, incluyendo análisis morfométricos e histológicos de las gónadas, así como la estimación de la madurez poblacional ($L_{50\%}$). Las muestras se obtuvieron a partir de la captura en la pesca artesanal de Bahía Tortugas, B. C. S., México. Los muestreos se realizaron desde el verano de 2013 al verano de 2015. Se analizaron 189 organismos, con un intervalo de tallas de 59.8 cm hasta 162 cm (LT). La talla de primera madurez ($L_{50\%}$) estimada fue de 95.1cm LT para machos y 111.8 cm LT en hembras. En cuanto a la proporción de sexos se encontró 1.42 hembras por cada macho ($\chi^2 p < 0.05$), y en embriones proporción de 1:1 ($\chi^2 p = 0.17$). En el análisis morfométrico, no se encontraron diferencias significativas ($p < 0.05$) entre el alto y ancho de las siguientes estructuras; útero, ovario, glándula oviducal, testículo y epidídimo. Se encontraron correlaciones positivas significativas al contrastar la longitud total contra; número de oocitos ($r^2=0.28$, $p < 0.05$), diámetro de oocitos ($r^2=0.21$, $p < 0.05$), alto del útero ($r^2=0.30$, $p < 0.05$), alto de glándula oviducal ($r^2=0.45$, $p < 0.05$), ancho de glándula oviducal ($r^2=0.46$, $p < 0.05$) y longitud del gonopterigio ($r^2=0.11$, $p = 0.04$). Se encontraron hembras de mayor tamaño a comparación de los machos en la zona. Los valores observados de $L_{50\%}$ difieren con lo reportado por otros estudios en esta especie, se encontró que los organismos en esta zona maduran a una mayor longitud. Se observaron las cuatro zonas descritas para la glándula oviducal, sin registro de almacén de esperma.

Palabras clave; Biología reproductiva, *Pseudobatos productus*, proporción sexual, talla de primera madurez, morfometría.

ABSTRACT

Elasmobranchs have slow growth, late maturity and small number of offspring. The skate *Pseudobatos productus* is one of the main commercial catch of rays on the west coast of Baja California Sur, however, information about the reproduction in this species is unknown in the area of Bahía Tortugas, Baja California Sur. The objective of the study is to describe the reproductive biology of this species, incorporating morphometric and histological analysis of gonads, and estimation of population maturity ($L_{50\%}$). The samples come from artisanal fisheries catch in Bahía Tortugas, B. C. S., México. The samples were taken between summer of 2013 and summer of 2015. An amount of 189 organisms were analyzed, with an interval size between 59.8 cm to 162 cm (LT). The size of first maturity ($L_{50\%}$) was estimated in 95.1cm LT for males and 111.8 cm LT in females. Regarding sex ratio we found 1.42 females per male ($\chi^2 p < 0.05$), and in embryos a ratio of 1: 1 ($p = 0.17 \chi^2$). In morphometric analysis, no significant differences were found ($p < 0.05$) between the height and width of the following structures; uterus, ovary, oviducal gland, testis and epididymis. Significant positive correlations were found when contrasting, total length between; number of oocytes ($r^2 = 0.28$, $p < 0.05$), diameter of oocytes ($r^2 = 0.21$, $p < 0.05$), uterus height ($r^2 = 0.30$, $p < 0.05$), oviducal gland height ($r^2 = 0.45$, $p < 0.05$), oviducal gland width ($r^2 = 0.46$, $p < 0.05$) and clasper length ($r^2 = 0.11$, $p = 0.04$). Differences in size were found between females and males, observing bigger females in the area. Observed values of $L_{50\%}$ differ from other studies in these species, obtaining that organisms from this area mature in larger sizes. Four zones were found in the oviducal gland, with no sperm storage report.

Keywords; reproductive biology, *Pseudobatos productus*, sex ratio, size at maturity, morphometry.

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	I
AGRADECIMIENTOS.....	II
RESUMEN.....	III
ABSTRACT.....	IV
ÍNDICE.....	V
ÍNDICE DE FIGURAS.....	VII
INDICE DE TABLAS.....	X
GLOSARIO.....	XI
INTRODUCCION.....	1
ANTECEDENTES.....	2
JUSTIFICACION.....	5
OBJETIVO GENERAL.....	6
OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	6
ÁREA DE ESTUDIO.....	7
MATERIAL Y MÉTODOS.....	8
TRABAJO DE CAMPO.....	8
TRABAJO DE LABORATORIO.....	10
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	15
RESULTADOS.....	16
1) COMPOSICIÓN DE TALLAS.....	16
2) TALLA DE PRIMERA MADUREZ SEXUAL (L _{50%}).....	19
3) PROPORCIÓN DE SEXOS.....	21
4.1) DESCRIPCIÓN DE LA MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA DE LAS GÓNADAS.....	21

4.2) DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA DE LAS GÓNADAS.	26
5) FECUNDIDAD, TALLA Y ÉPOCA DE NACIMIENTO.	35
DISCUSIÓN	37
1) COMPOSICIÓN DE TALLAS.....	37
2) TALLA DE PRIMERA MADUREZ SEXUAL (L _{50%}).....	38
3) PROPORCIÓN DE SEXOS.	39
4.1) DESCRIPCIÓN DE LA MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA DE LAS GÓNADAS.	39
4.2) DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA DE LAS GÓNADAS.	41
5) FECUNDIDAD, TALLA Y ÉPOCA DE NACIMIENTO.	44
CONCLUSIONES.....	45
BIBLIOGRAFÍA	47
ANEXO I.- Deshidratación, aclaramiento, infiltración, desparafinación e hidratación, orden y tiempos.....	A
ANEXO II.- Metodologías de tinciones, tiempos y soluciones utilizadas.	B

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.- Descripción general de <i>Pseudobatos productus</i> , macho a la izquierda, vista dorsal al centro y hembra a la derecha.	3
Figura 2.- Distribución de <i>P. productus</i> , desde las costas de California en Estados Unidos de Norte América, hasta las costas del estado de Guerrero en México incluyendo el Golfo de California (Tomado de Fishbase, 2016).	4
Figura 3.- Mapa del área de estudio, Bahía Tortugas, Baja California Sur, México.	7
Figura 4.- Esquema de medidas de los organismos en campo.	8
Figura 5.- Aparato reproductor de hembra de <i>P. productus</i> . Se muestran las diferentes partes de la anatomía de esta, así como las medidas que se tomaron del ancho y alto del útero y el diámetro de los oocitos.	10
Figura 6.- Aparato reproductor de machos de <i>P. productus</i> . Se muestran las diferentes partes de su anatomía, así como las medidas que se tomaron del ancho y alto del epidídimo y el ancho y alto de los testículos.	11
Figura 7.- Procesador de tejidos, Histoquinete. Laboratorio de morfo fisiología del CICIMAR-IPN.	12
Figura 8.- Micrótopo rotatorio electrónico “Microm 355S”, los cortes se llevaron hasta un ancho de 3 micras.	13
Figura 9.- Baño de flotación.	14
Figura 10.- Distribución de tallas de <i>Pseudobatos productus</i> en Bahía Tortugas B.C.S.	16
Figura 11.- Distribución de tallas de <i>Pseudobatos productus</i> separada entre sexos en Bahía Tortugas B.C.S.	17
Figura 12.- Análisis de varianza comparando machos contra hembras en la localidad de Bahía Tortugas B.C.S.	17

Figura 13.- Relación longitud - peso para las hembras de <i>P. productus</i> en Bahía Tortugas, B.C.S.....	18
Figura 14.- Relación longitud - peso para machos de <i>P. productus</i> en Bahía Tortugas, B.C.S.....	19
Figura 15.- Primera madurez sexual poblacional L _{50%} en hembras de <i>P. productus</i> en Bahía Tortugas, B.C.S.....	20
Figura 16.- Primera madurez sexual poblacional L _{50%} en machos de <i>P. productus</i> en Bahía Tortugas, B.C.S.....	20
Figura 17.- Comparación entre la longitud total y el alto del útero (mm).	23
Figura 18.- Comparación entre la longitud total y el alto de la glándula oviducal (mm).....	23
Figura 19.- Comparación entre la longitud total y el ancho de la glándula oviducal (mm).....	24
Figura 20.- Comparación entre la longitud total y la longitud del gonopterigio (mm).	24
Figura 21.- Comparación entre la longitud total y la longitud del gonopterigio de <i>P. productus</i> . Se muestran los grados de calcificación encontrados en los individuos. Entre las barras se observa la zona de traslape.	25
Figura 22.- Corte de ovario inmaduro, a la izquierda con un aumento de 2.5X y a la derecha un acercamiento a 40X en la cual se aprecian solo células germinales (Cg) (PAS).....	27
Figura 23.- Ovario maduro con oocitos en distintos estadios de maduración, a la izquierda en 40X folículo previtelogenético rodeado por su respectivo epitelio folicular (Ef), y a la derecha oocito con gránulos vitelogenéticos (Gv) (PAS).....	27
Figura 24.- Corte del mismo ovario en diferentes zonas del mismo, a la izquierda la parte superior del ovario con oocitos (Oo) de gran tamaño y estadio en vitelogénesis (2.5X), a la derecha la zona posterior del ovario (40X) con únicamente células germinales (PAS).	28

Figura 25.- Corte longitudinal de la glándula oviducal de <i>Pseudobatos productus</i> (2.5X) con sus respectivas zonas de diferenciación histológica (PAS).	29
Figura 26.- Corte transversal de útero (2.5X) en el cual se observa en la parte interna de este una capa de mucosa (Mc), la parte media con tejido muscular (Tm) y la externa con tejido conjuntivo (Tc) (PAS).....	30
Figura 27.- Organización espacial de la espermatogénesis de tipo compuesta encontrada generalmente en testículos de rayas. (Tomado de Pratt, 1988).....	31
Figura 28.- Testículo inmaduro (10X) en el cual solo se aprecian células germinales (Feulgen).....	32
Figura 29.- Testículo maduro (2.5X) con los diferentes estadios de madurez presentados durante la espermatogénesis (Feulgen).	33
Figura 30.- Corte transversal del epidídimo de <i>P. productus</i> , a la izquierda a 2.5 x con almacén de esperma (E) rodeado por epitelio columnar (Ec). A la derecha un acercamiento a 40X con mayor detalle de los elementos anteriormente mencionados (Feulgen).....	34
Figura 31.- Corte transversal de los conductos deferentes, en los cuales se observa la glándula de Leydig (Gl) con almacén de esperma (E) y rodeado por epitelio columnar (Ec) (Feulgen).....	35
Figura 32.- Comparación entre la longitud total y el número de oocitos de <i>P. productus</i>	36
Figura 33.- Comparación entre la longitud total y el diámetro de oocitos de <i>P. productus</i>	36

INDICE DE TABLAS

Tabla 1.- Comparación entre las medidas de los órganos pareados del aparato reproductor femenino de <i>P. productus</i> . Marcados con asteriscos prueba de t-Student.....	22
Tabla 2.- Comparación entre las medidas de los órganos pareados del aparato reproductor masculino de <i>P. productus</i>	22

GLOSARIO

Anatomía: 1. El estudio, la clasificación y la descripción de las estructuras y de los órganos del cuerpo. 2. Ciencia que tiene por objeto dar a conocer el número, estructura, situación y relaciones de las diferentes partes del cuerpo de los animales y de las plantas.

Anatomía comparada: Estudio de la morfología y funciones de todos los animales vivos, desde el más simple hasta el más especializado.

Atresia: Proceso de reabsorción de gametos no desovados. Normalmente ocurre en gametos posvitelogénicos, pero puede ocurrir en previtelogénesis. Las células foliculares adquieren propiedades fagocitarias, reabsorbiendo al ovocito.

Basófilo: Célula o tejido que se tiñe con colorantes básicos o alcalinos. Se emplea específicamente para denominar a los leucocitos sanguíneos, que llevan gránulos basofílicos.

Célula germinal: 1. Célula sexual reproductora en cualquier fase de desarrollo, desde la forma embrionaria primordial hasta el gameto maduro. 2. Ovulo o espermatozoide o cualquiera de sus formas precursoras. 3. Cualquier célula sometida a gametogénesis.

Célula polar: Las células polares son pares de células foliculares especializadas en cada polo de la cámara del huevo.

Célula de sertoli: Células epiteliales, eosinófilas alargadas y estriadas, que se encuentran en el epitelio seminífero de los testículos. Están relacionadas con los espermatozoides en proceso de crecimiento.

Ciclo: Evento que se repite.

Ciclo gonádico: Evento repetitivo dentro de las gónadas que conduce a la producción de gametos.

Ciclo ovárico: Serie de estadios de desarrollo por los que pasa la gónada femenina desde el reposo hasta el desove.

Ciclo reproductivo: Evento periódico en el que las gónadas producen gametos y los organismos se reproducen.

Cigoto: Huevo en desarrollo desde el momento en que es fecundado hasta que, como blastocisto, es implantado en el útero. Huevo fertilizado.

Desove parcial: los organismos no desovan una sola vez, y se pueden encontrar gametos, ya sea en maduración y en fases muy diferentes de desarrollo, antes y durante el desove.

Dimorfismo: Existencia de dos clases de individuos diferentes en cuanto a forma o apariencia, en una misma especie. Es sexual cuando los machos presentan un aspecto diferente al de las hembras, estacional cuando la forma, el color y la talla de un mismo individuo o de la especie varía con respecto a la época del año.

Diploide: perteneciente o relativo al individuo, organismo, cepa o célula que tiene un par de juegos completos de cromosomas homólogos.

Espermatogénesis: Proceso de desarrollo de los espermatozoides, incluyendo la primera fase, llamada espermatogénesis, en la cual la espermatogonia se convierte en espermatocitos que se desarrollan hacia espermatides, y una segunda fase, llamada espermiogénesis, en la cual las espermatides se convierten en espermatozoides.

Espermatozoides: célula germinal masculina madura, que se desarrolla en los túbulos seminíferos de los testículos. Parecido a un renacuajo, tiene una longitud aproximada de 50 $\mu\text{m.}$, y presenta una cabeza con un núcleo, un cuello y una cola que le permite la propulsión.

Fecundidad: Es la capacidad reproductiva de un organismo. Está basada en la tasa de producción de huevos en especies ovíparas y el número de embriones en los úteros de especies vivíparas.

Fecundidad indeterminada: Estrategia reproductiva en la cual no se encuentra definido el número de oocitos que serán desovados en la temporada de puesta, ya que el epitelio germinal del ovario se mantiene activo, lo que significa que la producción, madurez y puesta de oocitos se presenta durante toda la temporada de reproducción

Fecundidad parcial: Producción de oocitos en cada desove parcial.

Fecundidad relativa: Número de oocitos por unidad de peso somático

Fertilización: La fusión del espermatozoide y el ovulo para formar un cigoto.

Gametogénesis: Origen y maduración de los gametos, que se produce a través del proceso de meiosis.

Gestación: Periodo de tiempo comprendido entre la fertilización del óvulo y el nacimiento.

Glándula oviducal: Es una modificación del oviducto del tracto reproductivo de las hembras, en la cual se almacena el esperma, se fertiliza el oocito y se produce la tercera membrana o la capsula del huevo en las especies ovíparas.

Gónada: Glándula productora de gametos; en las hembras produce huevos y en los machos espermatozoides.

Gonopterigio: Órganos copuladores del macho, que son modificaciones de los bordes internos de las aletas pélvicas y se prolongan hacia atrás, mucho más que las aletas mismas, son característicos de los elasmobranquios.

Oocito: Célula sexual femenina en fase de crecimiento y que experimenta la meiosis.

Ovogénesis: Proceso de crecimiento y maduración de los gametos femeninos u óvulos.

Ovario: Estructura en que se forman los óvulos, o sea el órgano genital primordial femenino.

Reproducción: 1. Proceso por el cual animales y plantas generan descendencia; procreación; suma total de los fenómenos celulares y genéticos que participan en la transmisión de vida orgánica desde un organismo a las generaciones sucesivas, de forma similar a los padres, de forma que se mantenga la perpetuación y continuidad de la especie. Algunos tipos de reproducción son: reproducción asexual, reproducción citogénica y reproducción sexual. 2. Creación de una estructura, situación o fenómeno similar; duplicación; replicación.

Seminífero: Numerosos túbulos o canales alojados en los testículos, de los cuales constituyen la mayor parte, en las paredes internas de estos túbulos se originan las células germinales que, tras la espermatogénesis, se convierten en elementos fecundantes masculinos.

Sexo: Condición de los animales que los distingue en machos o hembras de acuerdo con sus órganos genitales.

Sexual: 1. Lo relativo o perteneciente al sexo. 2. Reproducción en la que intervienen gametos femeninos y masculinos. 3. Órgano que interviene en la reproducción, testicular en machos y ovárico en hembras.

Talla de primera madurez: se define como la talla y/o edad a la cual un individuo se reproduce por primera vez.

Talla de reclutamiento a la reproducción: Se define cuando un grupo de individuos dentro de una población entran a la etapa reproductiva en el mismo tiempo y espacio, es a lo que estadísticamente se le conoce como la $L_{50\%}$.

Testículo: Órgano reproductor masculino en donde se producen los espermatozoides.

Tubos seminíferos: Conductos en la gónada masculina donde se lleva a cabo la espermatogénesis; estos conductos convergen en un conducto en común que lleva a los espermatozoides al exterior.

Viviparidad: Modo de reproducción que involucra fertilización interna y desarrollo del embrión es dentro del útero materno

Viviparidad aplacentaria: El desarrollo embrionario se realiza dentro del cuerpo de la madre; el embrión se alimenta de vitelo del ovocito y también puede recibir alimento por parte de la madre, pero sin que exista una conexión directa con ella.

Viviparidad placentaria: El desarrollo embrionario se realiza en el cuerpo de la madre y existe una conexión entre el embrión y la madre a través de una pseudoplacenta por la cual le transmite alimento y a su vez el embrión expulsa sus desechos metabólicos.

Vitelo: Material nutritivo, rico en grasas y proteínas, contenido en el huevo para nutrir el embrión durante el desarrollo.

INTRODUCCION

La clase Chondrichthyes (peces cartilaginosos), es el grupo más antiguo de vertebrados acuáticos mandibulados vivos; es un grupo diverso que incluye aproximadamente de 900 a 1100 especies de tiburones, rayas y quimeras (Wourms, 1977). Los elasmobranquios (tiburones y rayas) son actualmente el grupo dominante de la clase condriactios, con 60 familias (185 géneros y 1164 especies), aproximadamente el 96% son elasmobranquios y 1% quimeras (holocéfalos) (Hamlett, 1999).

De acuerdo con Ebert y Van Hees (2015), las rayas o batoideos incluyen cerca de 648 especies. Entre ellos se encuentran los pertenecientes a los órdenes Rajiformes, Myliobatiformes, Torpediniformes y Pristiformes.

Generalmente las características del ciclo de vida en los elasmobranquios son, un crecimiento lento, número reducido de crías por camada y madurez tardía (Bejarano-Álvarez, 2007). Debido a estas características se ha planteado que los elasmobranquios son susceptibles a una sobrepesca, ya que la tasa de remplazo de las poblaciones es mínima (Hoening y Gruber, 1990; Bejarano-Álvarez, 2007; Downton-Hoffman, 2007).

La pesquería mexicana de elasmobranquios ha crecido desde los años sesenta hasta mediados de los noventa, donde el desembarco anual llegó a estar en aproximadamente a las 45 mil toneladas (Bonfil-Sanders, 1994; CONAPESCA-IPN, 2004). Sin embargo, la disminución de capturas medias anuales ha causado preocupación respecto al estado de las poblaciones de elasmobranquios explotados en aguas mexicanas (DOF, 2010). Se han reportado evidencias cualitativas en las que se sugiere que la composición de tallas y especies, pudieron ser alteradas debido a la alta explotación del recurso (Sala *et al.*, 2004; Sáenz-Arroyo *et al.*, 2005; Smith *et al.*, 2009).

La pesca de mantas y rayas ha cobrado importancia en la última década, especialmente en áreas de la costa occidental de la península de Baja California y el Golfo de California (CONAPESCA-IPN, 2004). La raya guitarra *Pseudobatos*

productus es una de las especies más representativas en la producción de la región (CONAPESCA-INP, 2004).

Una población impactada por la pesquería tendrá una recuperación lenta y tardará varias décadas en alcanzar sus antiguos niveles poblacionales (Pratt y Casey, 1990). Según la lista roja de la IUCN *P. productus* se encuentra catalogada como una especie casi amenazada (IUCN, 2016).

Por lo que el objetivo del trabajo es realizar una descripción de la biología reproductiva de *P. productus*, incluyendo análisis morfométricos e histológicos de las gónadas, así como la estimación de la madurez poblacional ($L_{50\%}$).

ANTECEDENTES

La familia Rhinobatidae, está comprendida dentro del suborden Rajoide. La familia está comprendida por 7 géneros, de los cuales, tres especies de *Pseudobatos* se distribuyen en el Pacífico mexicano (Castro-Aguirre, 1965 y Nelson, 1994). El género *Pseudobatos* (Last *et al.*, 2016) se caracteriza por tener una forma alargada y aplanada con torso grueso, dos aletas dorsales pequeñas y una aleta caudal, dentículos dérmicos en la parte media del dorso y un rostro angular (Fig. 1) (Eschmeyer *et al.*, 1983).

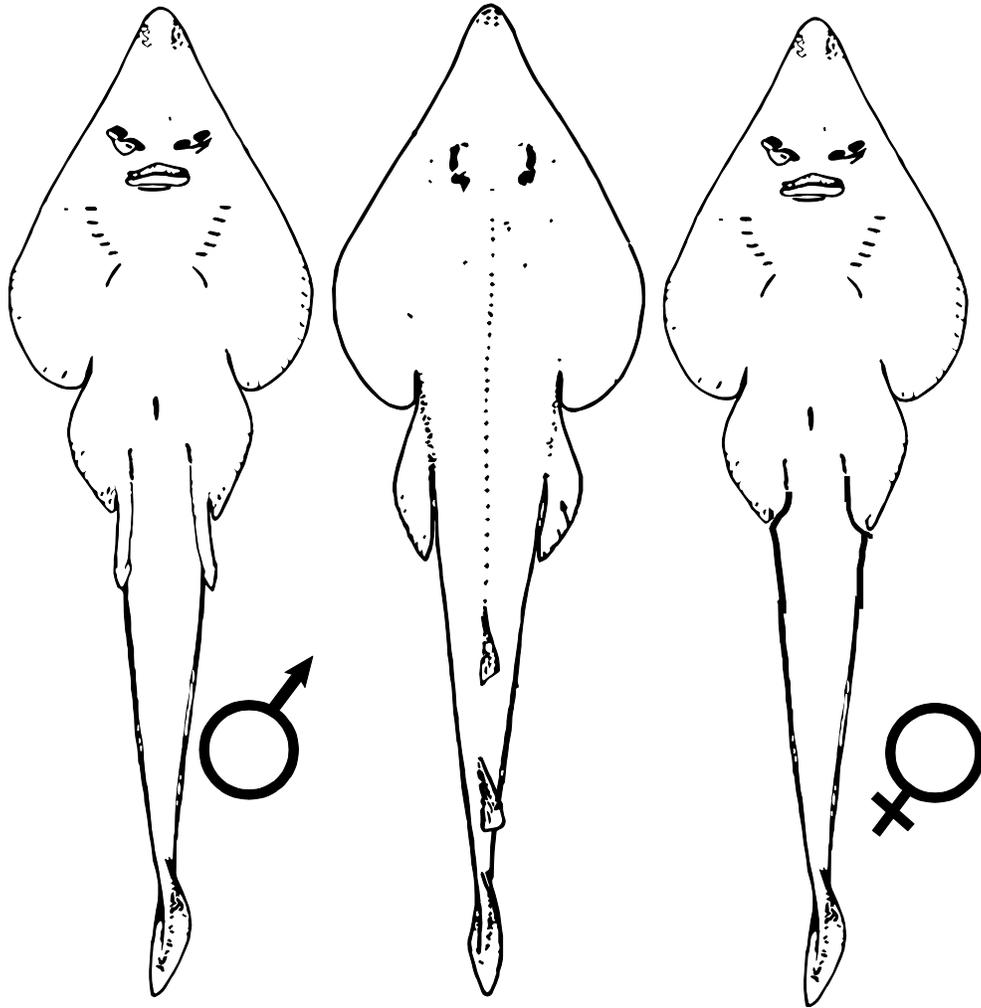


Figura 1.- Descripción general de *Pseudobatos productus*, macho a la izquierda, vista dorsal al centro y hembra a la derecha.

Pseudobatos productus habita en fondos arenosos y lodosos, de aguas templadas frías a cálidas, es común en zonas litorales y costeras de la plataforma continental, se alimenta principalmente de crustáceos, así como de peces y calamares de forma minoritaria en su dieta (Downton-Hoffmann, 2007).

Se distribuye desde las costas de California en Estados Unidos de Norte América hasta las costas del estado de Guerrero en México (Fig. 2) (Márquez-Farías, 2007; Fishbase, 2016).



Figura 2.- Distribución de *P. productus*, desde las costas de California en Estados Unidos de Norte América, hasta las costas del estado de Guerrero en México incluyendo el Golfo de California (Tomado de Fishbase, 2016).

P. productus es una especie vivípara aplacentada, que presenta dos ovarios y dos oviductos funcionales (Timmons, 1991), características que se presentan en otras especies dentro del género *Pseudobatos* (Melouk, 1949; Rossouw, 1984; Lessa *et al.*, 1986; Wenbin y Shuyuan, 1993).

Los reportes para los machos en las costas de California indican una madurez entre los 91-100 cm LT (Timmons y Bray, 1997), y de 92 cm LT (Dubois, 1981), 110 cm LT (Talent, 1985); para la costa occidental de Baja California Sur, < 67 cm LT (Villavicencio-Garayzar, 1993c) y 80 cm LT (Downton-Hoffmann, 1996), mientras que para el Golfo de California, en las costas de Sonora es de 53 cm LT (Márquez-Farías, 2007).

Para las hembras se reportaron las tallas de madurez en las costas de California de 99 cm LT (Timmons y Bray, 1997). Para la costa occidental de Baja

California Sur de 66 cm y 87 cm LT (Downton-Hoffmann, 1996). Para el Golfo de California en las costas de Sonora de 57 cm LT (Márquez-Farías, 2007).

Los periodos de gestación propuestos para *P. productus* van desde los 9 a 14 meses según Timmons (1991); mientras que Villavicencio-Garayzar (1993c) y Downton-Hoffmann (1996) plantean un periodo de 12 meses en la costa occidental de Baja California Sur.

Por otra parte se han sugerido tallas de nacimiento en el Océano Pacífico y las costas de Baja California de 15 cm de LT (Eschemeyer *et al.*, 1983); mientras que en la Bahía de Monterey, California, y en Bahía Almejas Baja California Sur, los autores Timmons (1991), Villavicencio-Garayzar (1993c) y Downton-Hoffmann (1996) reportan una talla de nacimiento de entre 20 y 24 cm de LT.

En cuanto a la parte de histología, Márquez-Farías (2007), realizó cortes en la parte media del testículo, únicamente para corroborar la madurez de los organismos, y reportando el arreglo radial de los espermatozoides en los folículos seminíferos.

Según la Carta Nacional Pesquera, del Diario oficial de la Federación (2010), *P. productus* o guitarra payaso, comprende el 35% de las capturas de la pesquería en el Noroeste de la república, de la cual la pesca reporta que para el 2007 la producción de raya y manta para el litoral del pacífico fue de 3,499 toneladas.

La pesca en la zona de estudio es realizada exclusivamente de forma artesanal, utilizando como arte de pesca redes agalleras con una luz de maya de 8 pulgadas. La mayoría de las veces puede llegar a tocar fondo, pero la profundidad de la red puede variar dependiendo la especie a la que se está dirigiendo la pesca. Se utilizan embarcaciones menores de 28 pies de eslora aproximadamente.

JUSTIFICACION

El presente estudio se realizó en la zona de Bahía Tortugas, Baja California Sur, con lo que se complementa la información de aspectos reproductivos para la

zona Norte de la distribución de esta especie. Bahía Tortugas se puede considerar como un sitio intermedio, ya que estudios previos se han realizado al norte en California (cerca de San Francisco, California) y al sur, en Bahía Almejas (cerca del sur de la costa occidental de Baja California Sur) lo cual permitirá aportar información de una especie de amplia distribución.

La condición reproductiva de cada especie es particular y aún en una misma especie existen cambios latitudinales que se deben documentar, por lo cual la biología reproductiva deberá determinarse utilizando las herramientas más adecuadas, entre otras, la histología, que permite identificar la presencia de productos sexuales totalmente formados (Hoyos-Padilla, 2003). Por lo tanto, los estudios con análisis histológicos aportan una descripción más detallada de los órganos reproductivos, aportando un conocimiento preciso de la biología reproductiva de esta especie.

OBJETIVO GENERAL

Describir la biología reproductiva del pez guitarra *Pseudobatos productus* en la zona de Bahía Tortugas, Baja California Sur, México.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Determinar la composición de tallas.
2. Determinar la proporción de sexos.
3. Describir la morfología macroscópica (externa e interna) y microscópica del aparato reproductor de machos y hembras.
4. Estimar la talla de primera madurez sexual $L_{50\%}$.
5. Estimar la fecundidad, talla y época de nacimiento.

ÁREA DE ESTUDIO

Bahía Tortugas se localiza en la región Pacífico Norte en Baja California Sur, México (Fig. 3). Compreendida entre los 27°41' y 27°47' N; y los 114°39' y 115°04' O. Bahía Tortugas se encuentra expuesta al océano abierto, el oleaje producido por las tormentas tropicales en verano afecta la costa pero durante la mayoría del año prevalece el oleaje del oeste. Los vientos dominantes son del norte, siendo estos los más fuertes durante el invierno y la primavera (Turrubiates-Morales, 1989)

El clima es cálido-seco durante el verano y parte del otoño, y es fresco y húmedo durante el invierno y la primavera. La temperatura ambiental varía entre los 14°C y 36°C en verano y otoño; y entre los 10°C y 26°C durante la primavera y el invierno. La costa que circunda a la bahía es muy heterogénea, en su mayor parte con playa de rocas, así como playas arenosas de origen cuarzoso (Turrubiates-Morales, 1989).

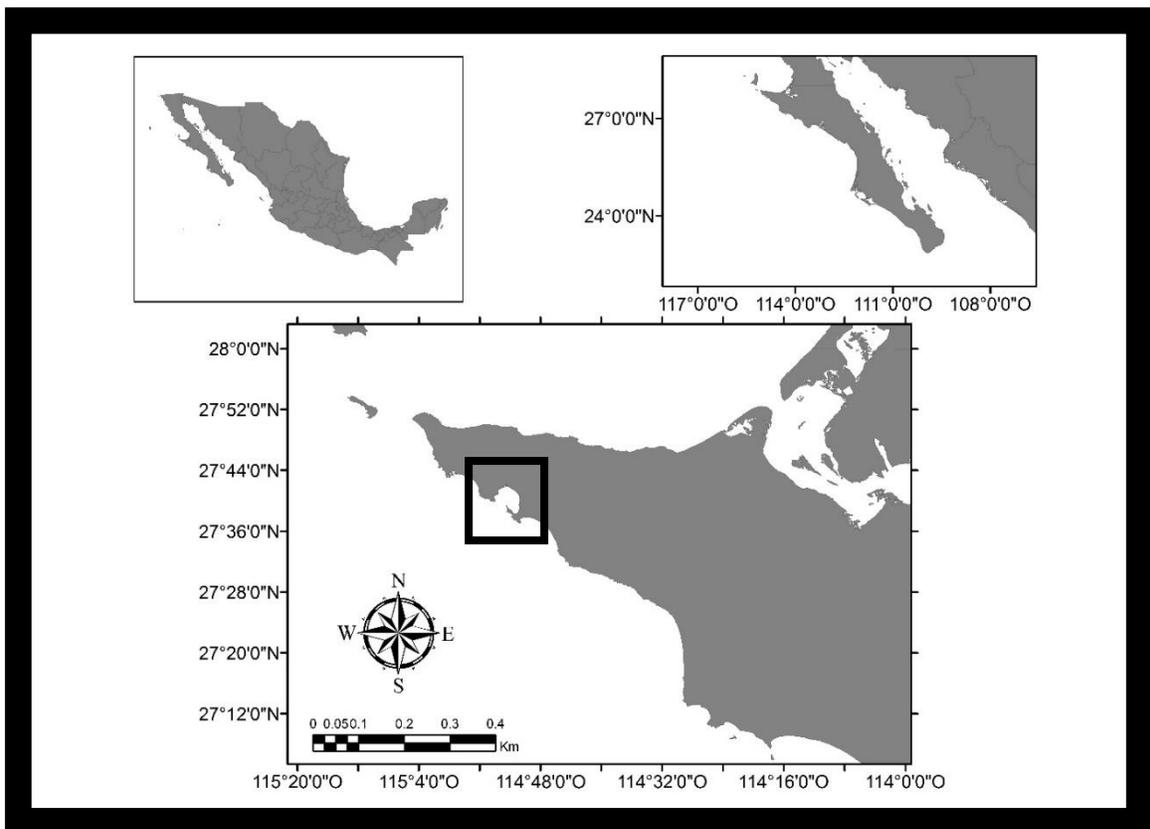


Figura 3.- Mapa del área de estudio, Bahía Tortugas, Baja California Sur, México.

MATERIAL Y MÉTODOS

TRABAJO DE CAMPO

Los muestreos se realizaron desde el verano de 2013 hasta el verano de 2015 en campos pesqueros cercanos a Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. Obteniendo las muestras a partir de la pesca artesanal en la zona.

Cada organismo fue medido con una cinta métrica (centímetros) desde la punta del hocico hasta la parte terminal de la aleta dorsal (Longitud Total, LT), posteriormente se midió el ancho de disco (AD) (Fig. 4). El sexo de cada organismo se diferenció por la presencia de gonopterigios en machos y la ausencia de estos en hembras (Fig.1).

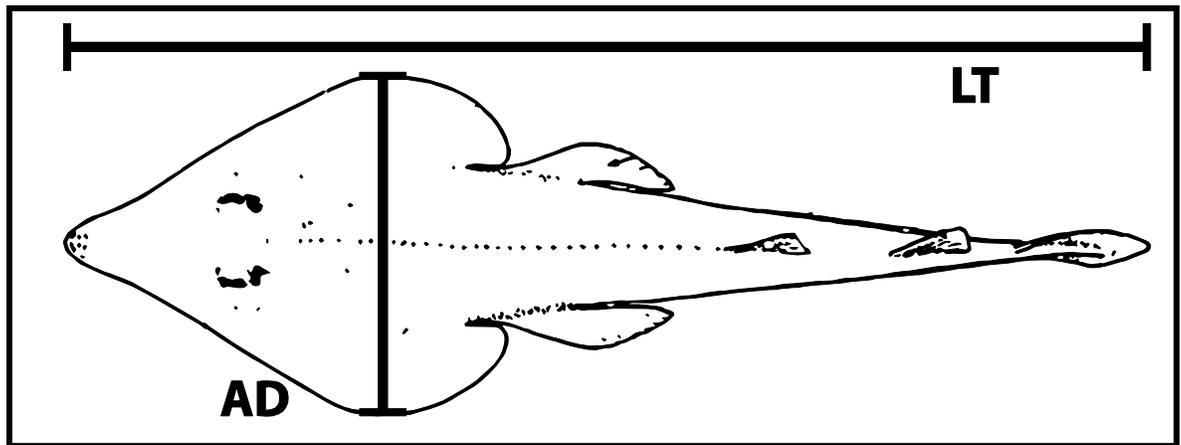


Figura 4.- Esquema de medidas de los organismos en campo.

La madurez sexual en machos se determinó utilizando el criterio de Pratt (1979), en el cual se comparó el largo del gonopterigio a distintas longitudes totales, así como el grado de calcificación y la presencia o ausencia de semen.

Para las hembras, la madurez sexual se determinó realizando una incisión en la cavidad abdominal, para así poder revisar los ovarios y oviductos, midiendo el diámetro de estos con un vernier (precisión de 0.1 mm). El grado de madurez sexual

fue estimado con base al desarrollo de los ovocitos y la condición del oviducto (Lessa, 1982; Simpfendorfer, 1992). Se consideraron inmaduras aquellas en las que se encontraron oocitos no visibles o pequeños y oviductos no diferenciados; y maduras, aquellas en las que se observaron oocitos grandes y oviductos con huevos o embriones en desarrollo.

La talla de primera madurez en las hembras fue estimada cuando el 50% de los individuos en la muestra se encontraron sexualmente maduros (Pratt y Otake, 1990).

El análisis de $L_{50\%}$ se realizó ajustando la ecuación logística a la proporción de organismos maduros respecto a la longitud total del organismo siguiendo lo descrito por Mollet *et al.* (2000), de acuerdo a la siguiente relación:

$$Pm = 1/[1 + EXP - (a + b * LT)]$$

Donde;

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

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

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

LT = Longitud total.

Las estructuras reproductivas de los organismos fueron extraídas y fijadas en formol al 10% para su posterior análisis en laboratorio.

TRABAJO DE LABORATORIO

Las muestras fueron lavadas con agua corriente durante 6 a 8 horas con el fin de eliminar residuos de arena, posteriormente se preservaron nuevamente en formol al 10%.

A cada muestra se le registró sus valores de morfometría, que posteriormente se utilizaron para realizar distintos análisis estadísticos. En hembras se midió el diámetro del ovocito más grande, el ancho y alto de los úteros, así como el ancho y alto de las glándulas oviducal (Fig. 5). Asimismo se realizaron cortes histológicos de forma longitudinal y transversal de la parte media de la glándula oviducal. En caso de encontrar embriones, se contaron, midieron y se estableció su sexo. Para los machos, se midió el largo y ancho de los testículos, largo y ancho del epidídimo (Fig. 6), y se realizaron cortes histológicos en la parte media del testículo, en el epidídimo, conductos deferentes y vesícula seminal, para observar el almacén de esperma y así determinar el estado de madurez (Pratt y Tanaka, 1994)

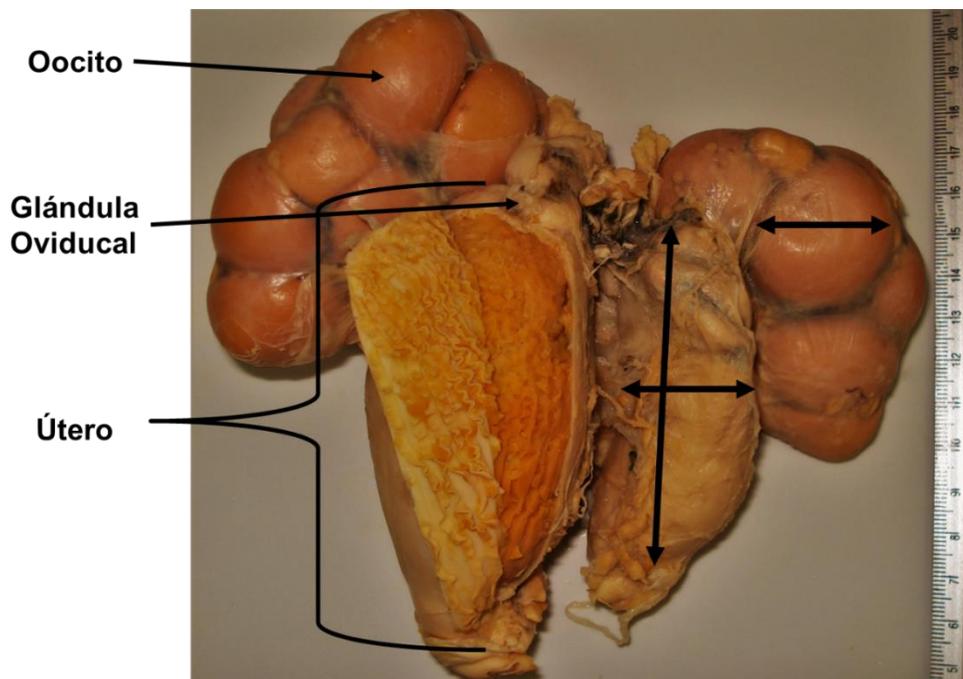


Figura 5.- Aparato reproductor de hembra de *P. productus*. Se muestran las diferentes partes de la anatomía de esta, así como las medidas que se tomaron del ancho y alto del útero y el diámetro de los oocitos.

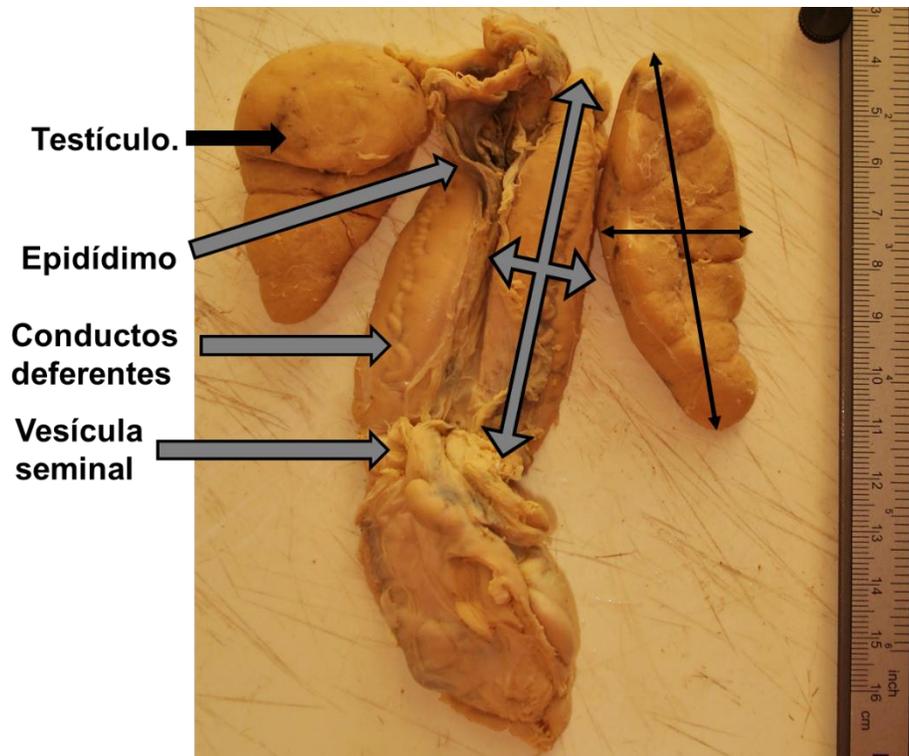


Figura 6.- Aparato reproductor de machos de *P. productus*. Se muestran las diferentes partes de su anatomía, así como las medidas que se tomaron del ancho y alto del epidídimo y el ancho y alto de los testículos.

El análisis histológico se realizó en el Laboratorio de Morfofisiología del CICIMAR, tomando en cuenta la técnica descrita por Martoja y Martoja (1970); las muestras fueron lavadas para eliminar el exceso de formol y se colocaron en alcohol al 70% para su posterior análisis.

Para cada uno de los organismos se tomó una muestra (1cm X 1cm) de los respectivos órganos de interés, se almacenaron y etiquetaron, dentro de una bolsa de TUL, manteniéndolos dentro de una solución de alcohol al 70%. Los tejidos se introducen en una canasta de metal, que a su vez es colocada en el procesador de tejidos "Histoquinete" (Fig. 7). En el procesador de tejidos las muestras se deshidrataron gradualmente pasando por distintas concentraciones de alcohol, iniciando en alcohol al 70% hasta alcohol absoluto. Terminada la deshidratación se procedió al aclaramiento, para este trabajo se utilizó el alcohol-cloroformo (1:1) para después terminar el aclaramiento con cloroformo al 100%. Finalmente se llevó a

cabo la infiltración con tres baños de parafina con grado de fusión de 58 a 60 °C. El detalle de concentraciones y tiempos se encuentran señalados en el anexo 1.



Figura 7.- Procesador de tejidos, Histoquinete. Laboratorio de morfo fisiología del CICIMAR-IPN.

Una vez que el tejido se encuentra infiltrado se procede con la inclusión, la cual consiste en colocar el tejido dentro de un molde de papel previamente elaborado, rodearlo con parafina y dejar que se solidifique para almacenarlo hasta que se procede al corte.

Previo a realizar los cortes en el micrótopo, se procede a rebajar las esquinas de los cubos de parafina, para realizar los cortes. En este trabajo se utilizó un micrótopo rotatorio electrónico marca "Microm" (modelo; 355S) (Fig. 8). Se fijó el cubo entre las pinzas, se procedió a rebajar el cubo, con cortes de 15 μm , una vez que se llegó a la zona de interés en el tejido, se ajustó el grosor del corte a 3 μm .



Figura 8.- Micrótopo rotatorio electrónico “Microm 355S”, los cortes se llevaron hasta un ancho de 3 micras.

Los cortes se montaron en un portaobjetos. Los cortes fueron estirados y adicionados con gelatina para adherencia del tejido sobre el porta objetos, esto por medio de un baño de flotación (Fig. 9), manteniendo una temperatura del agua entre los 30 y 35 °C, temperatura que se considera adecuada para mantener la dureza de la parafina sin romper los cortes. Se coloca el corte en el baño de flotación y con las pinzas se estira por los extremos cuidadosamente hasta lograr el aislamiento del corte y se recolecta directamente del baño con ayuda del portaobjetos.



Figura 9.- Baño de flotación.

El penúltimo paso para la obtención de las laminillas, es la tinción, el objetivo de esto es contrastar y destacar el cambio natural que hay entre varios tipos de células, tejidos y material extracelular. A lo largo del tiempo se han diseñado varias metodologías y distintas tinciones, estas suelen estar en soluciones acuosas, por lo tanto para poder lograr que los colorantes penetren se requiere remover la parafina del tejido. Por lo que se realizó un proceso de desparafinación (Anexo I), el cual consiste en la eliminación de la parafina por medios físicos (eliminación del exceso de parafina en el horno) y químicos (por medio de solventes) y la re hidratación de los tejidos por medio de una serie de alcoholes con concentraciones descendentes. Una vez que se terminó con esto, y se considera que los tejidos se encuentran hidratados, se procede a las tinciones.

En este trabajo se realizaron distintas metodologías y técnicas de tinción, para observar los tiempos y orden del proceso dirigirse al Anexo II. Las tinciones utilizadas para este trabajo fueron; Hematoxilina-Eosina, tricrómica de Mallory, técnica de ácido periódico de (PAS), técnica de Feulgen, azul alciano y azul de toluidina (Anexo II).

Una vez que termina la tinción se procede a montar la muestra con resina sintética, para este trabajo se utilizó la resina marca "Citoseal", que tiene un índice

de refracción semejante a la del cristal, la preparación es cubierta rápidamente por un cubre objetos y se deja secar hasta que se solidifique en su totalidad para entonces limpiar, etiquetar y almacenar.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico, se utilizaron los software SigmaPlot 12.0, el paquete estadístico de "R" 3.2.0 y StatSoft Statistica Versión 10.

Para los análisis de Normalidad y homocedasticidad de los datos, fue utilizado el software SigmaPlot 12.0, tomando utilizando los valores obtenidos en la parte de morfometría de los órganos reproductivos de ambos sexos. Una vez obtenidos los resultados de análisis de normalidad y homocedasticidad, se procedió al análisis de diferencias entre los lados de las gónadas, por medio de estadística paramétrica (t-student) para los datos normales, y no paramétrica (U-Mann Whitney) para los datos que no presentaron normalidad, con la ayuda del software StatSoft Statistica Versión 10.

Después se realizaron regresiones lineales para comparar distintos aspectos de la morfometría de las gónadas contra la longitud total del organismo. Para obtener la proporción de sexos tanto en adultos como en embriones, se utilizó el análisis de χ^2 (Chi cuadrada) basándose en que la hipótesis nula es que hay una proporción de 1:1, a un nivel de confianza de 95%. Con el paquete estadístico de "R" 3.2.0 se calculó la talla de primera madurez poblacional tanto en hembras como en machos.

RESULTADOS

1) COMPOSICIÓN DE TALLAS.

Se recolectaron 147 organismos, con un intervalo entre los 58.9 cm. a los 162 cm. de longitud total (Fig. 10). De los cuales 98 fueron hembras y 49 machos. La mayoría de los organismos se encuentran entre los 85 y los 136 cm de LT (Fig. 11). Al aplicar un ANDEVA, contrastando las tallas entre machos y hembras, se observaron diferencias significativas ($p < 0.05$). Siendo las hembras más grandes que los machos (Fig. 12).

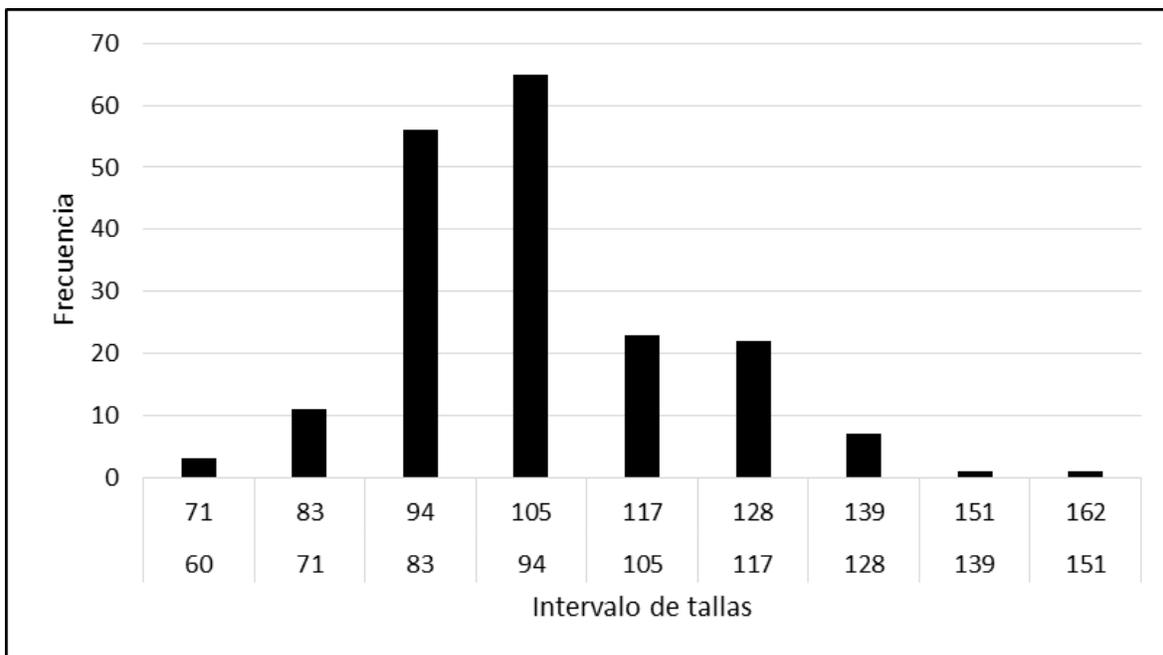


Figura 10.- Distribución de tallas de *Pseudobatos productus* en Bahía Tortugas B.C.S.

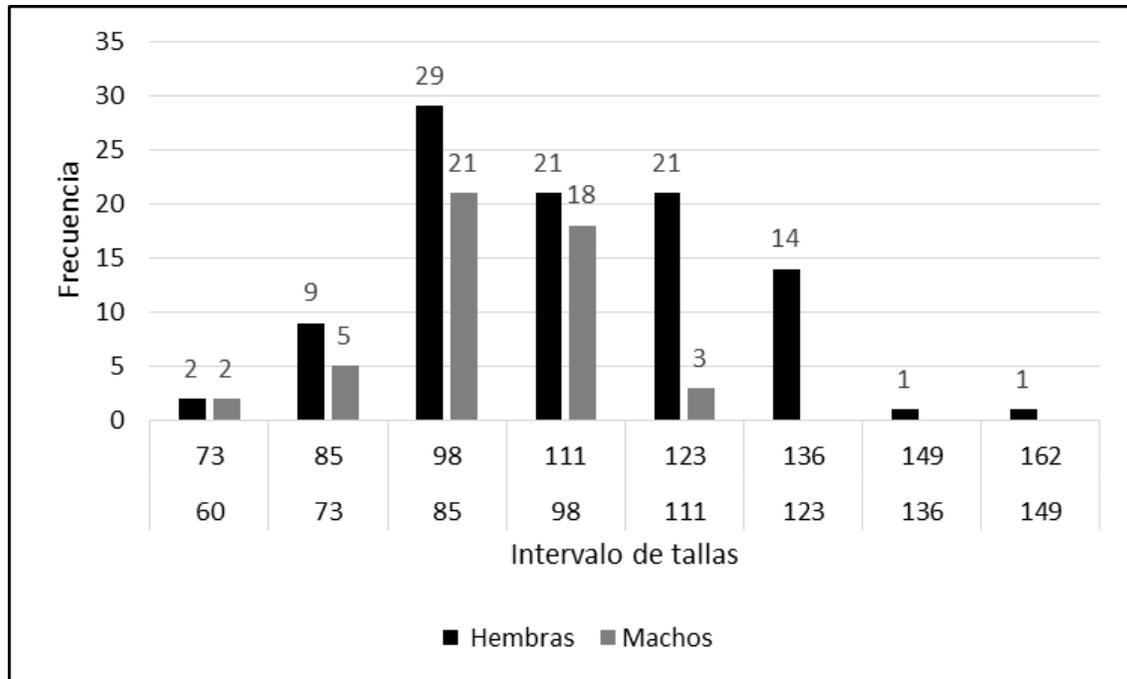


Figura 11.- Distribución de tallas de *Pseudobatos productus* separada entre sexos en Bahía Tortugas B.C.S.

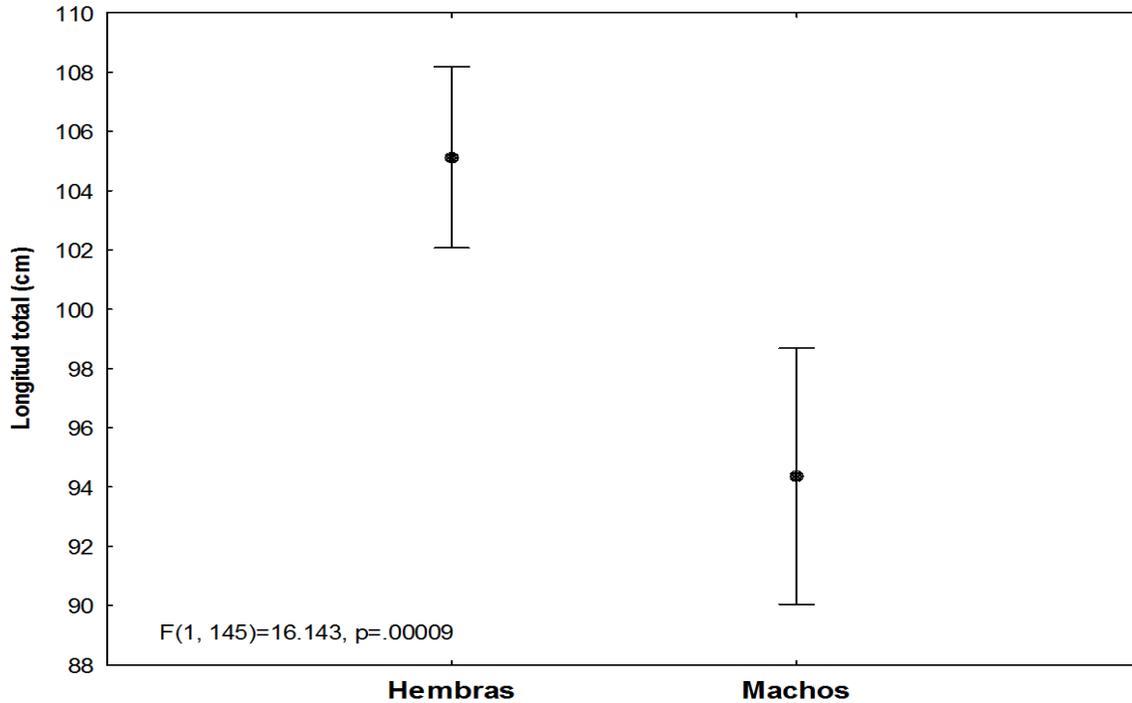


Figura 12.- Análisis de varianza comparando machos contra hembras en la localidad de Bahía Tortugas B.C.S.

Al graficar la longitud total los organismos respecto al peso, se pudo observar que tanto para hembras como para machos, se presenta una relación exponencial con un coeficiente menor a 3. Para hembras, la relación tuvo una pendiente de 2.79 (Fig. 13); mientras para machos el exponente fue de 2.22 (Fig. 14). Lo que indica un crecimiento alométrico para ambos sexos.

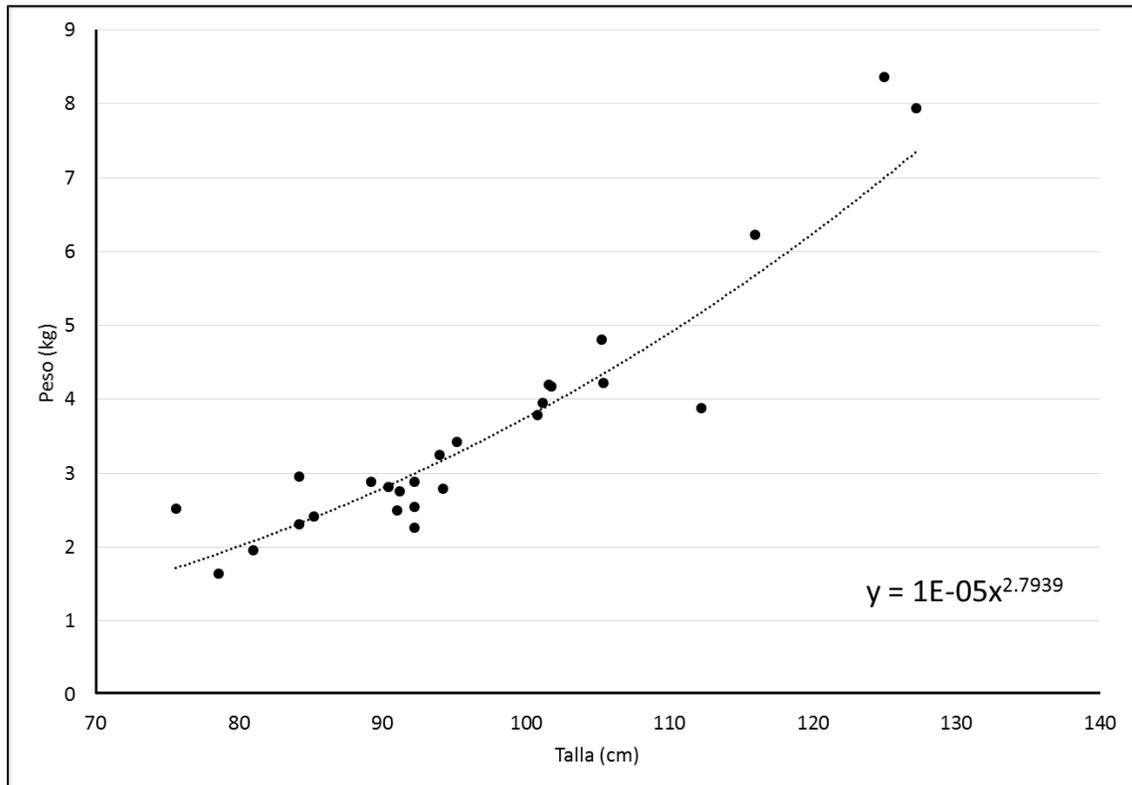


Figura 13.- Relación longitud - peso para las hembras de *P. productus* en Bahía Tortugas, B.C.S.

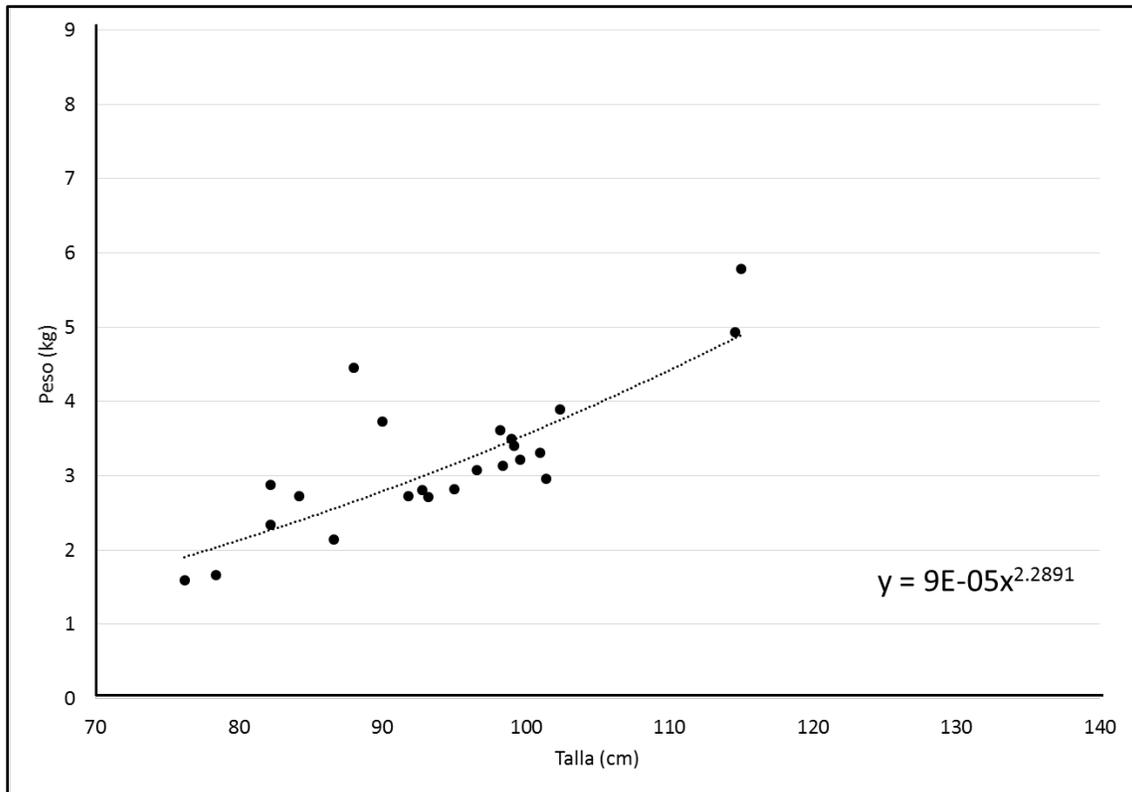


Figura 14.- Relación longitud - peso para machos de *P. productus* en Bahía Tortugas, B.C.S.

2) TALLA DE PRIMERA MADUREZ SEXUAL (L_{50%}).

Para la obtención de la talla de primera madurez sexual poblacional (L_{50%}) se utilizaron distintos parámetros. Para las hembras se utilizó el diámetro de los oocitos, ya que según Downton-Hoffman (1996 y 2007), los oocitos mayores a 21 mm son característicos de las hembras maduras. Y para machos se utilizó, el grado de calcificación que presenta el gonopterigio, tomando como organismos maduros a aquellos que presentan grado de calcificación 2.

Se obtuvo una L_{50%} de 111.8 cm. de LT. para hembras, con un intervalo de confianza (95%) entre los 104.3 cm. y los 119 cm de LT. (Fig. 15). Y para machos se encontró que la madurez se obtiene en una menor longitud total, obteniendo un valor de L_{50%} de 95.1 cm. de LT. con un intervalo de confianza (95%) entre los 87.1 cm y los 103.1 cm de LT. (Fig. 16).

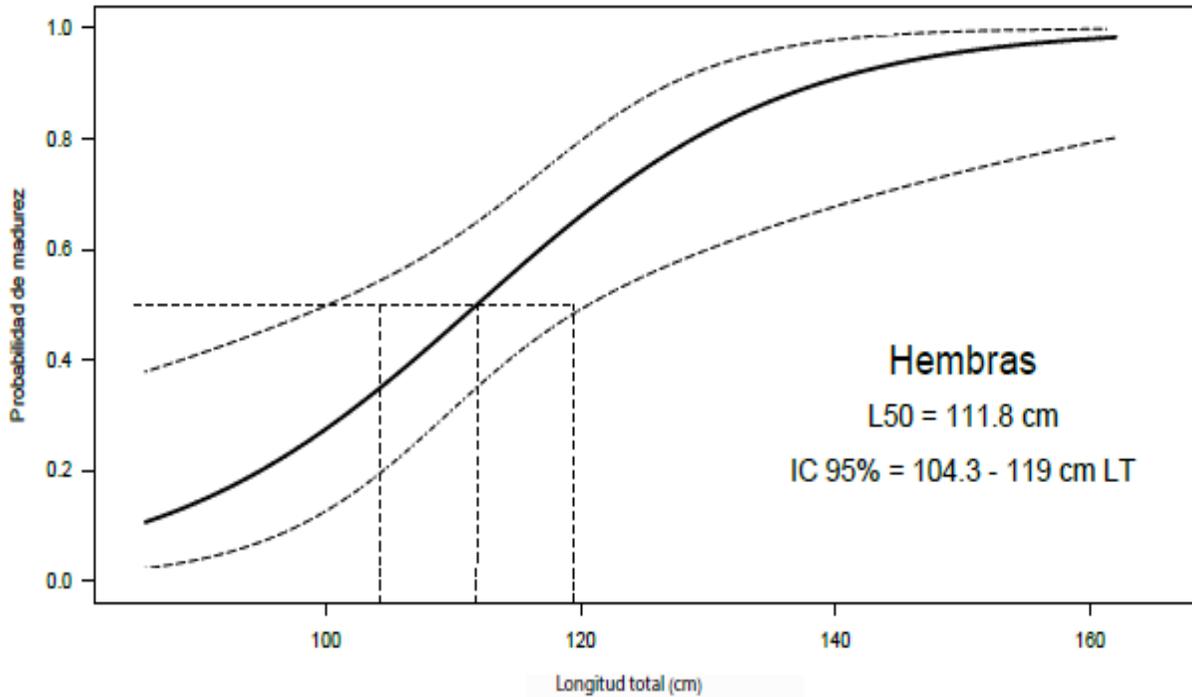


Figura 15.- Primera madurez sexual poblacional $L_{50\%}$ en hembras de *P. productus* en Bahía Tortugas, B.C.S.

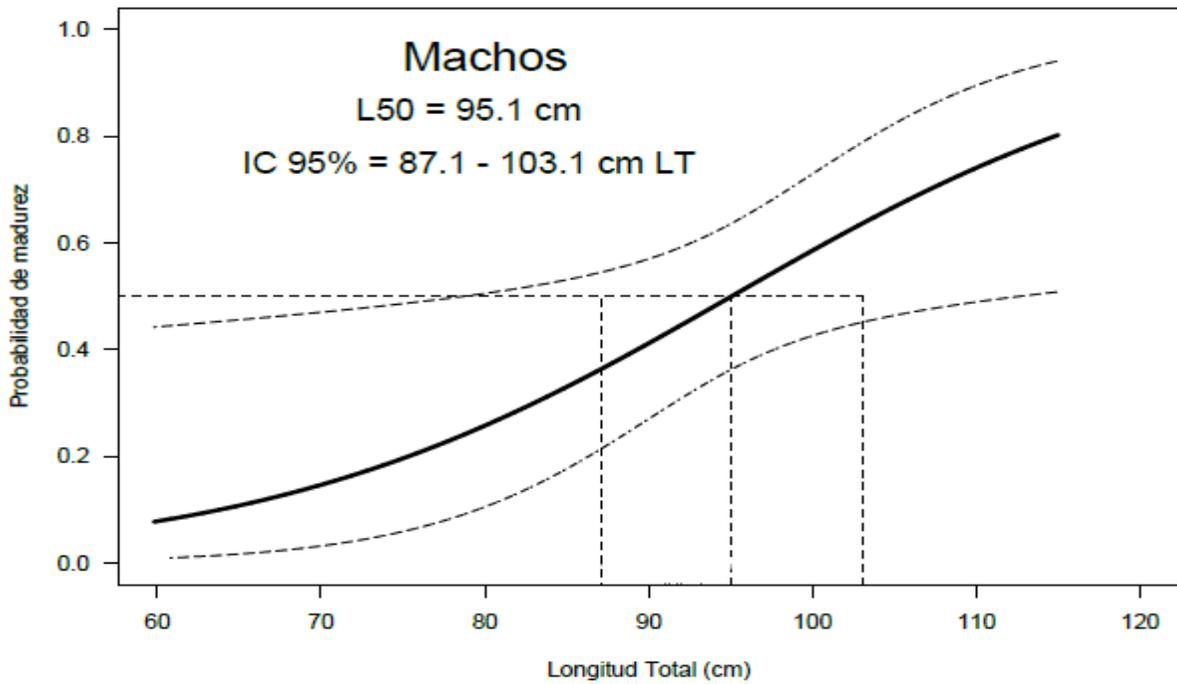


Figura 16.- Primera madurez sexual poblacional $L_{50\%}$ en machos de *P. productus* en Bahía Tortugas, B.C.S.

3) PROPORCIÓN DE SEXOS.

La proporción sexual total fue de 1.42:1 hembra macho, y por medio del análisis de χ^2 (Chi-cuadrada) se encontró diferencias significativas entre sexos con una $p < 0.05$. La proporción sexual en embriones no mostró diferencias entre sexos, (1:1), con un valor de $p = 0.17$.

4.1) DESCRIPCIÓN DE LA MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA DE LAS GÓNADAS.

La gónada de las hembras en esta especie presenta dos ovarios funcionales, cuya forma y tamaño suele variar ya que depende directamente del número de oocitos y la cantidad de vitelo que estos tengan, todo esto relacionado directamente con la etapa reproductiva en la que se encuentren.

El ovario es conectado a la glándula oviducal por medio del oviducto, la glándula oviducal se encuentra embebida dentro de una membrana que rodea al útero, su tamaño no es muy grande, ya que dentro de sus funciones solo se encuentran, el probable almacenamiento de esperma y la fertilización de los oocitos. Una vez que el huevo es fecundado continua hacia el útero, donde se lleva a cabo el desarrollo embrionario. El útero cuenta con una pared vascularizada y elástica (pero resistente), por dentro tiene unos pliegues que responden a la exigencia de tamaño dependiendo si el organismo se encuentra en gestación o no (Fig. 5). Por último se tiene la cloaca, que conecta al útero con el exterior del organismo.

El aparato reproductor de los machos (Fig. 6) consta de un par de testículos funcionales alargados, que se encuentran en la parte anterior de la cavidad abdominal, los cuales están formados de varios lóbulos que varían en tamaño y forma. Se continúa con el epidídimo, hasta los conductos deferentes y llegar a la vesícula seminal, que se conectará posteriormente con los gonopterígitos.

Al realizar la comparación entre los dos lados de la gónada de las hembras se observa que no existen diferencias significativas ($p > 0.05$) entre cualquiera de los parámetros tomados en cuenta, como: alto y ancho del útero, por medio de una T-

Student; alto y ancho del ovario, y alto y ancho de la glándula oviducal, analizadas por medio de una prueba de U Mann-Whitney (Tabla, 1).

Tabla 1.- Comparación entre las medidas de los órganos pareados del aparato reproductor femenino de *P. productus*. Marcados con asteriscos prueba de t-Student.

Órgano	U Mann-Whitney	P
*Alto Útero	-	0.88
*Ancho Útero	-	0.89
Alto Ovario	2148	0.78
Ancho Ovario	2088.5	0.58
Alto G. Oviducal	1752.5	0.92
Ancho G. Oviducal	1746	0.90

Al realizar la comparación entre los órganos de cada lado en las gónadas de macho, tampoco se obtuvieron diferencias significativas entre estos (Tabla, 2).

Tabla 2.- Comparación entre las medidas de los órganos pareados del aparato reproductor masculino de *P. productus*.

Órgano	U Mann-Whitney	P
Alto Testículo	445	0.95
Ancho Testículo	443	0.60
Alto Epidídimo	521	0.77
Ancho Epidídimo	516	0.89

Al comparar la longitud total de cada individuo con las medidas de diferentes estructuras del aparato reproductor. Para las hembras, se obtuvieron correlaciones positivas significativas; el alto del útero tuvo un valor de $r=0.65$ (Fig. 17); el alto de la glándula oviducal tuvo un valor de $r=0.76$ (Fig. 18) y el ancho de la glándula oviducal tuvo un valor de $r=0.77$ (Fig. 19). Para los machos la única estructura que se comparó fue la longitud del gonopterigio para la cual tuvo un valor de r de 0.443 (Fig. 20).

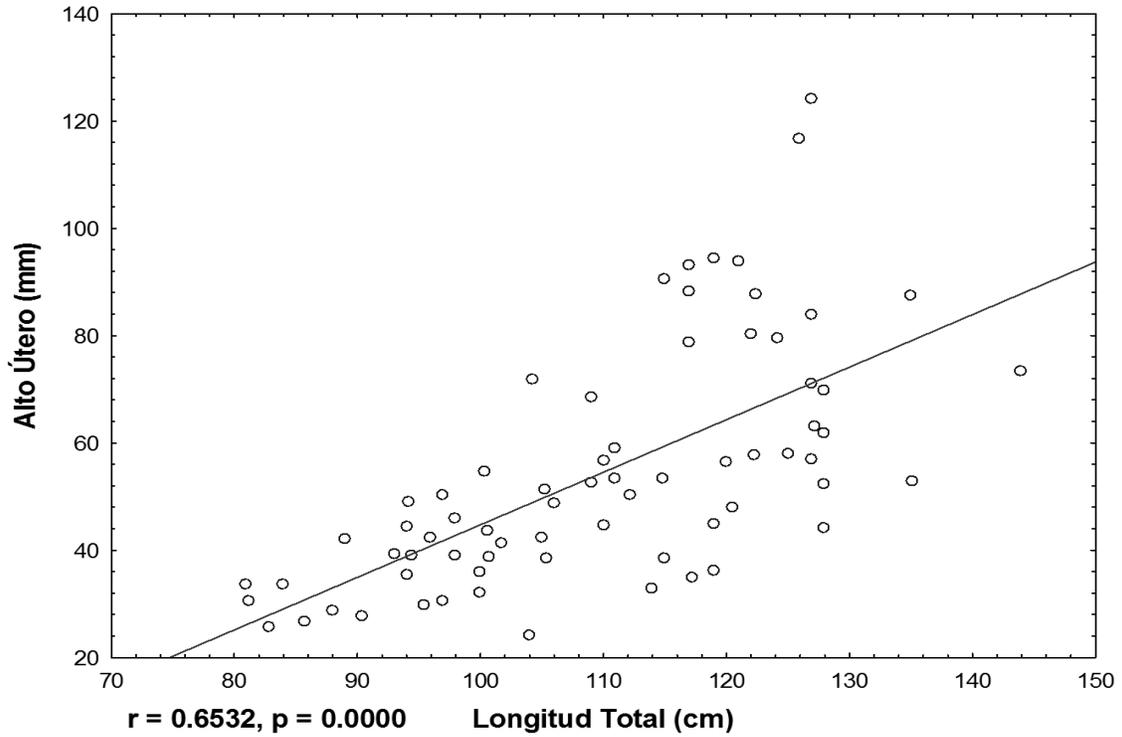


Figura 17.- Comparación entre la longitud total y el alto del útero (mm).

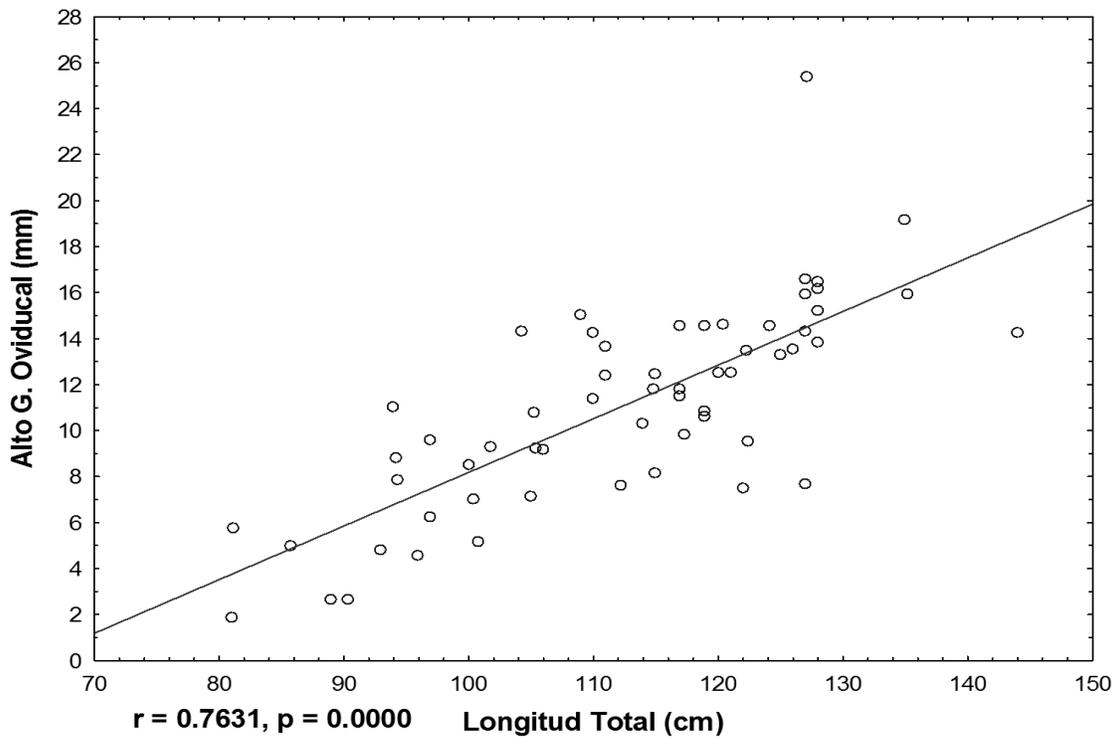


Figura 18.- Comparación entre la longitud total y el alto de la glándula oviducal (mm).

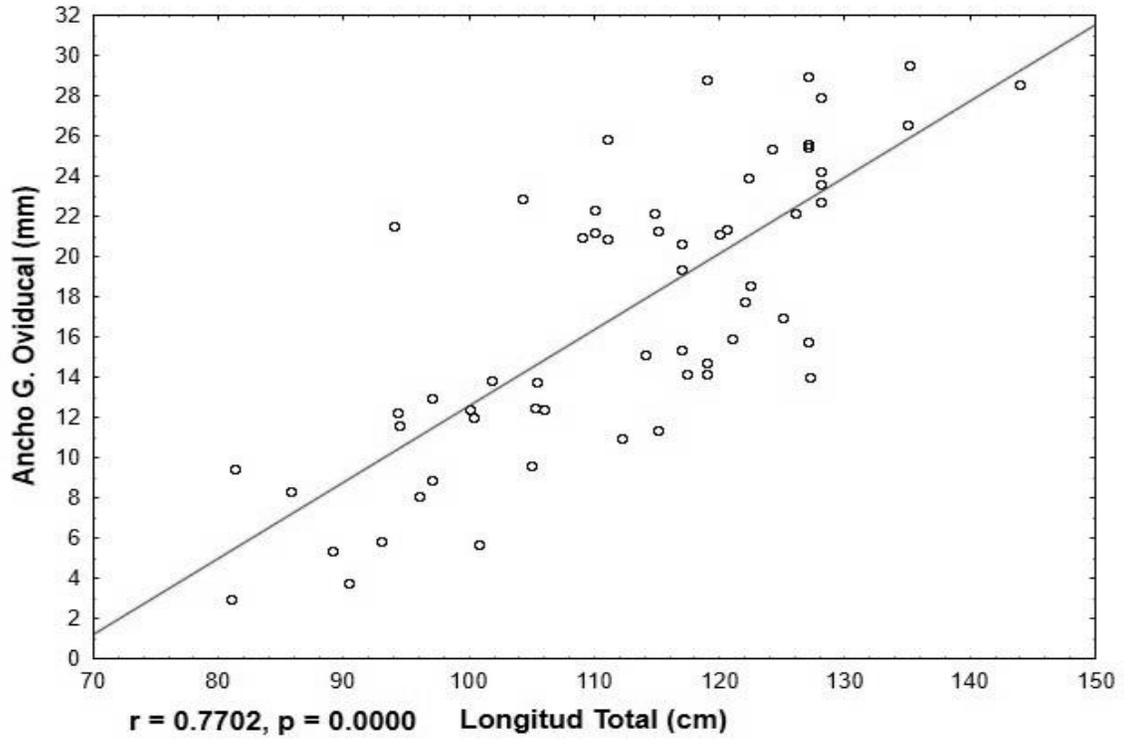


Figura 19.- Comparación entre la longitud total y el ancho de la glándula oviducal (mm).

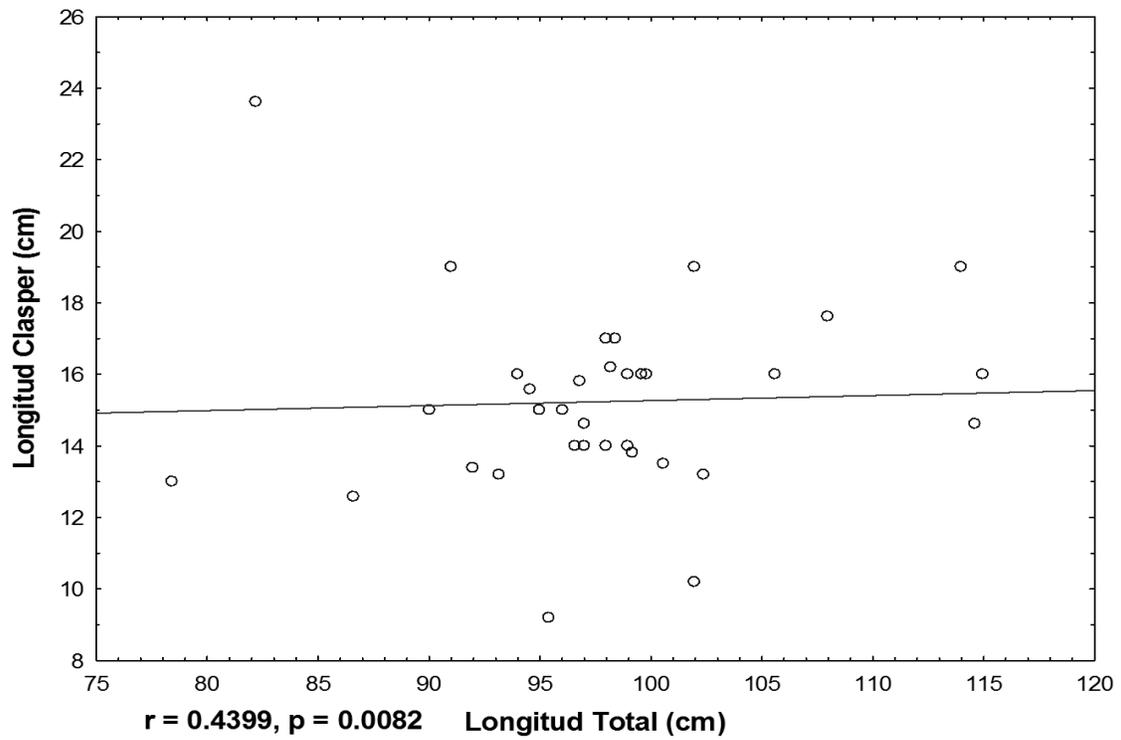


Figura 20.- Comparación entre la longitud total y la longitud del gonopterigio (mm).

El grado de calcificación del gonopterigio es utilizado en machos como aspecto importante en la madurez, considerando como organismos maduros a los que se encuentran en grado de calcificación 2. En la figura 21, se observó que la medida del gonopterigio no está directamente relacionada al grado de madurez. Pero se observa que existe un traslape de grado de maduren entre los 87cm y 103 cm de longitud total, resultado que comprueba lo observado en el análisis de primera madurez sexual poblacional ($L_{50\%}$), en el que se muestran estas longitudes dentro del intervalo de confianza en la madurez (Fig. 16).

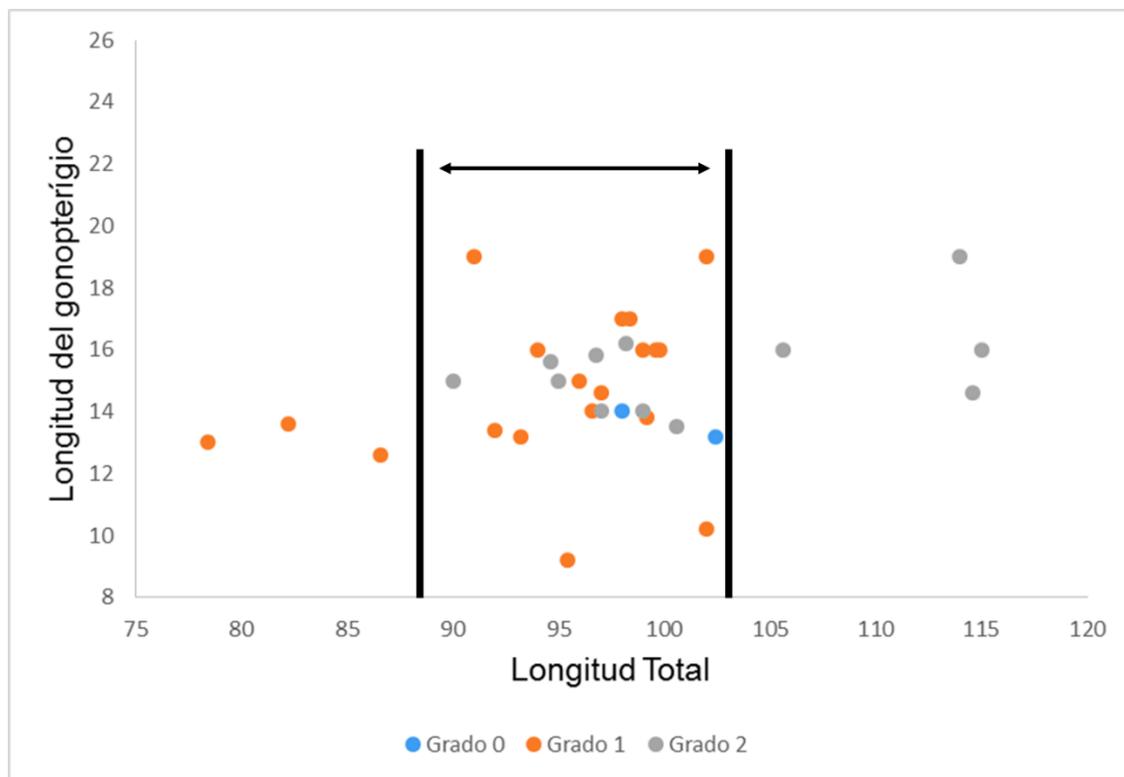


Figura 21.- Comparación entre la longitud total y la longitud del gonopterigio de *P. productus*. Se muestran los grados de calcificación encontrados en los individuos. Entre las barras se observa la zona de traslape.

4.2) DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA DE LAS GÓNADAS.

Hembra

OVARIO

P. productus presentó dos ovarios funcionales. Dentro de los cortes realizados en los ovarios, se clasificó entre maduros e inmaduros. En la figura 22, se observa un corte transversal del ovario de un organismo inmaduro, en el cual es difícil apreciar oocitos, ya que en general se observan únicamente células germinales y folículos primarios. A diferencia de los cortes realizados en ovarios maduros (Fig. 23), en donde ya se pueden observar fases más avanzadas de la ovogénesis.

En la figura 23, se observa el acercamiento (a la izquierda) de un folículo previtelogenético, en el cual ya se nota claramente un epitelio folicular, y en la imagen de la derecha, se ve un oocito previtelogenético que ya comienza con el proceso de vitelogénesis, se aprecia una zona en la cual los gránulos de vitelo se comienzan a formar. Por último se puede distinguir un oocito ya en etapa avanzada de vitelogénesis, en el cual se pueden ver los gránulos de vitelo en gran cantidad, de un color rojo marcado, este vitelo está rodeado de epitelio folicular.

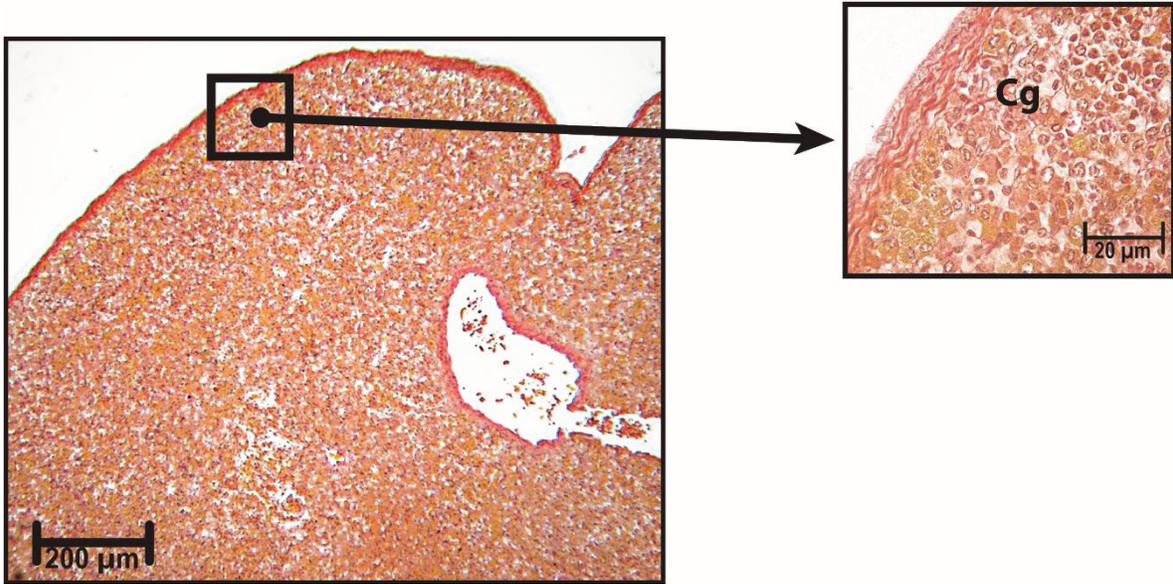


Figura 22.- Corte de ovario inmaduro, a la izquierda con un aumento de 2.5X y a la derecha un acercamiento a 40X en la cual se aprecian solo células germinales (Cg) (PAS).

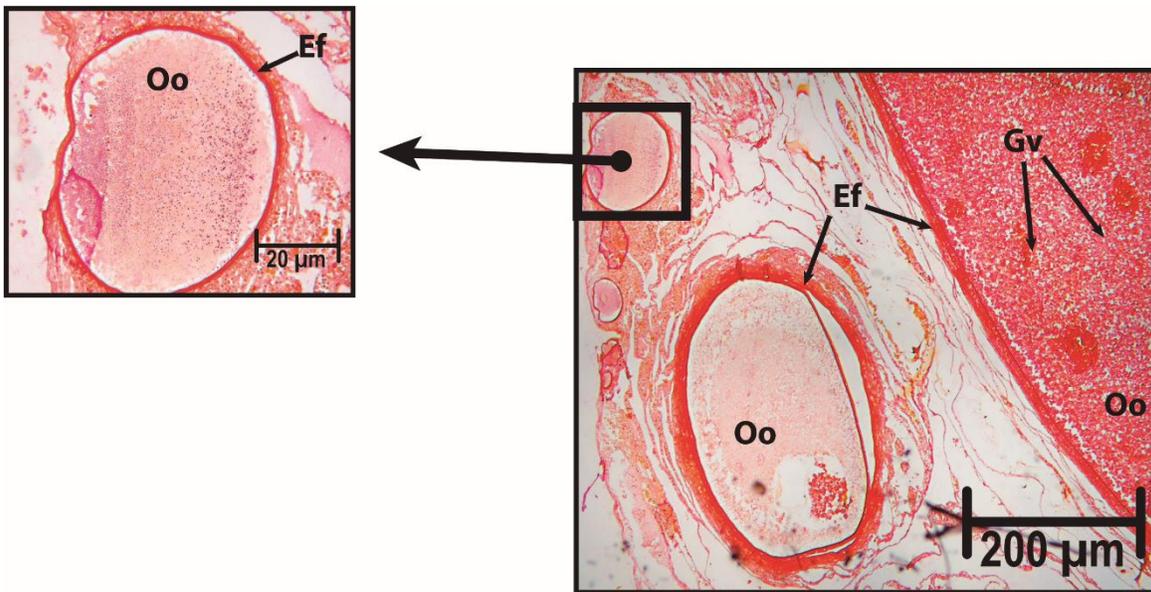


Figura 23.- Ovario maduro con oocitos en distintos estadios de maduración, a la izquierda en 40X folículo previtelogenético rodeado por su respectivo epitelio folicular (Ef), y a la derecha oocito con gránulos vitelogenéticos (Gv) (PAS).

Es importante resaltar que se realizaron cortes en diferentes zonas del ovario, y se observó que existe una diferenciación entre zonas, ya que el área superior del ovario es donde se encuentran los oocitos más desarrollados, mientras que en la zona posterior del ovario se pueden encontrar únicamente células germinales y folículos primordiales. En la figura 24, se observaron cortes en las distintas zonas de un mismo ovario, y se observó claramente que la zona superior del ovario ya cuenta con folículos previtelogenéticos y en fase de vitelogénesis (izquierda), mientras que el corte en la zona posterior muestra un ovario con folículos primordiales y células germinales (derecha).

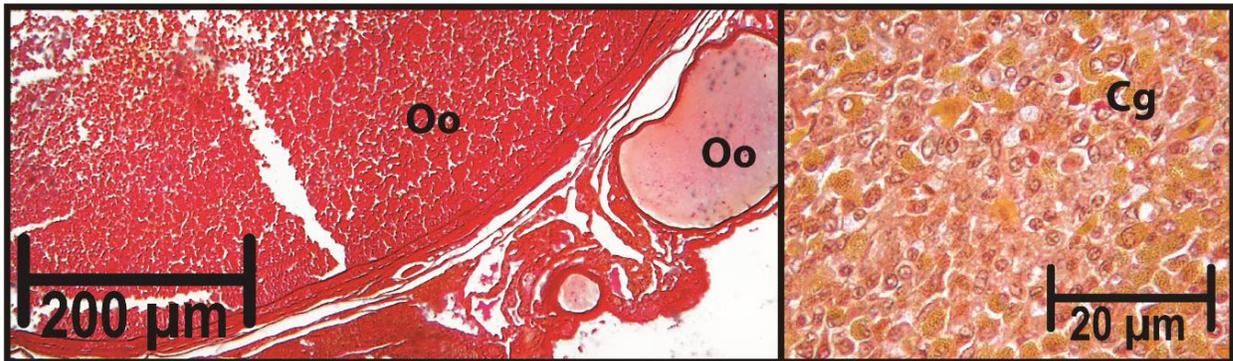


Figura 24.- Corte del mismo ovario en diferentes zonas del mismo, a la izquierda la parte superior del ovario con oocitos (Oo) de gran tamaño y estadio en vitelogénesis (2.5X), a la derecha la zona posterior del ovario (40X) con únicamente células germinales (PAS).

GLÁNDULA OVIDUCAL

En la glándula oviducal se identificaron las cuatro zonas descritas por Hamlett (2005). En la figura 25 se observa el compilado de 108 fotografías en las cuales se logró un conjunto que representa una glándula oviducal completa, en la cual se aprecian las diferencias entre las zonas. Comenzando por la zona “Club”, posteriormente le sigue la zona “Papillary”, la zona “Baffle” y por último la zona “Terminal”. Así como un acercamiento hacia los acinos.

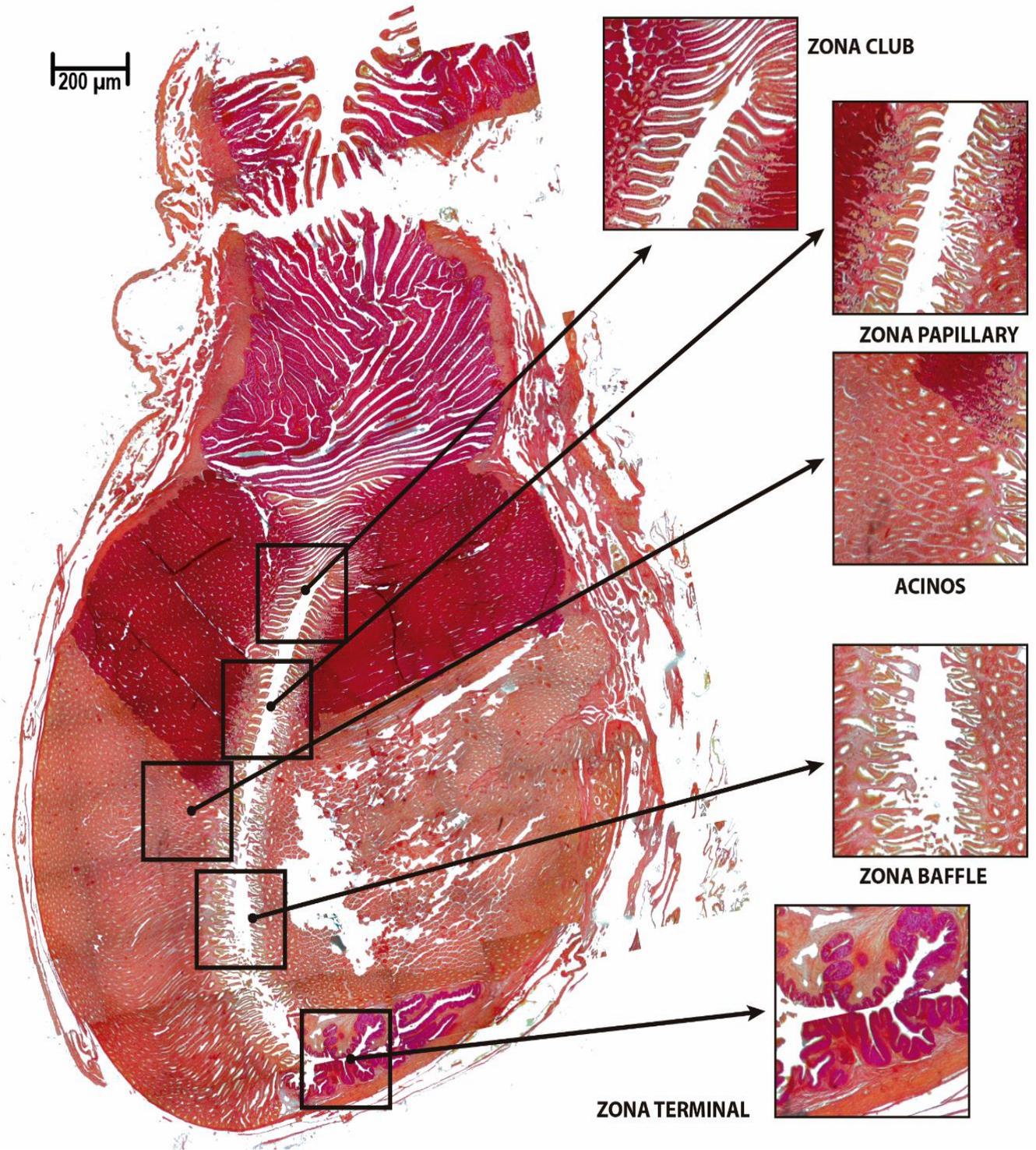


Figura 25.- Corte longitudinal de la glándula oviducal de *Pseudobatos productus* (2.5X) con sus respectivas zonas de diferenciación histológica (PAS).

ÚTERO

En este organismo se presentaron dos úteros funcionales, órgano donde se lleva a cabo la gestación de las crías. En los cortes transversales realizados se observan tres áreas en general, en la parte interna del útero se observa una capa de mucosa, seguida por una zona de tejido muscular, y terminando con tejido conjuntivo en la zona externa del útero (Fig. 26). Estos tejidos tienen gran capacidad elástica, y se observa que cuando el organismo se encuentra preñado, las paredes del útero se estiran y los pliegues se hacen más cortos.

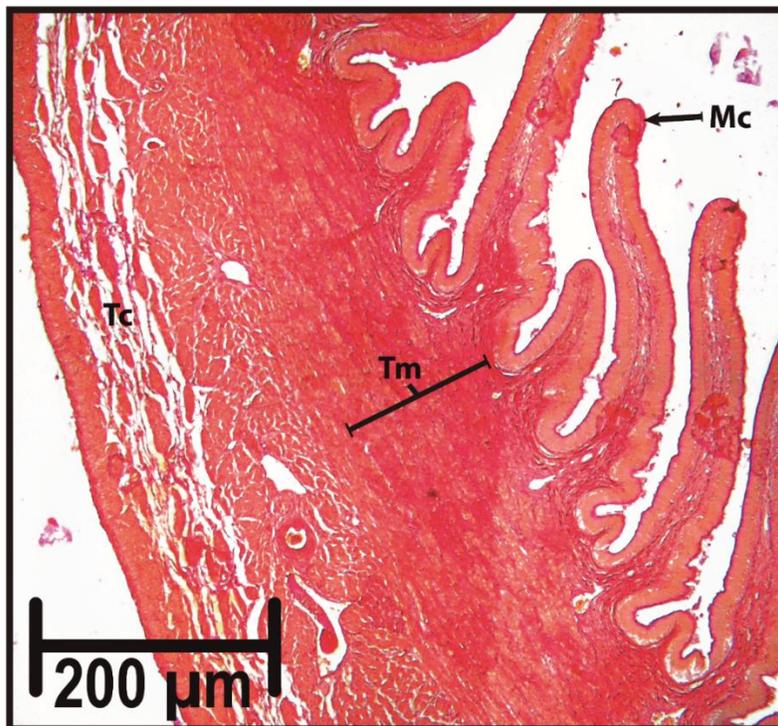


Figura 26.- Corte transversal de útero (2.5X) en el cual se observa en la parte interna de este una capa de mucosa (Mc), la parte media con tejido muscular (Tm) y la externa con tejido conjuntivo (Tc) (PAS).

MACHOS

TESTÍCULO

A partir de los cortes histológicos realizados en el testículo, se observó que su desarrollo es de forma “compuesta” (Fig. 29) caracterizada por la presencia de

múltiples zonas germinativas localizadas en la superficie del testículo, los espermatocistos derivan de cada zona germinal y se arreglan en columnas que radian desde el centro y a de forma transversal en el testículo. El desarrollo sucede dentro de cada uno de los lóbulos y al mismo tiempo hacia la periferia del testículo como se muestra en la figura 27.

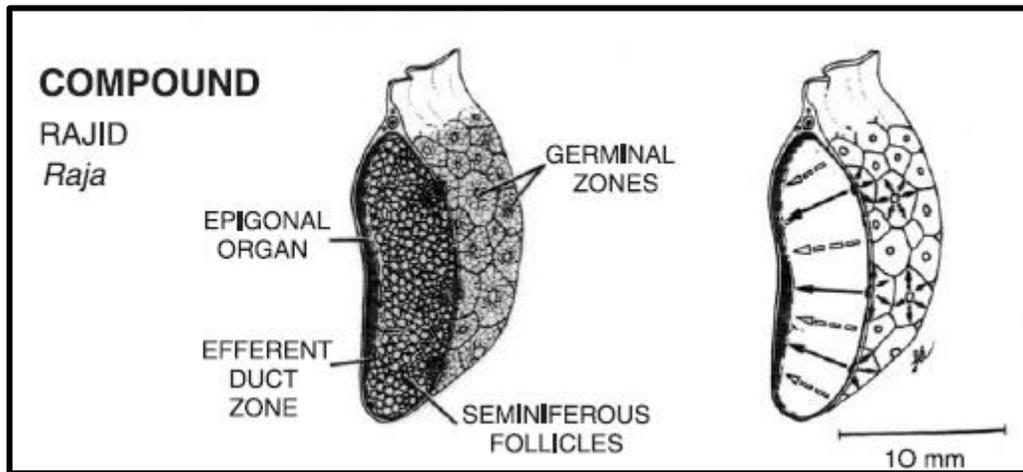


Figura 27.- Organización espacial de la espermatogénesis de tipo compuesta encontrada generalmente en testículos de rayas. (Tomado de Pratt, 1988)

ESPERMATOGENESIS

A partir de los cortes histológicos transversales del testículo se observan las diferencias que existen entre un organismo inmaduro y un organismo maduro. Dentro del corte de un testículo inmaduro no se logró observar algún orden en las células, solo se logran observar células germinales (Fig. 28). Mientras que en el corte de un testículo maduro (Fig. 29), se identificaron las distintas etapas de la espermatogénesis. En el estadio I se observan los gonocitos, primera etapa de la espermatogénesis, los gonocitos se encuentran en la periferia del lóbulo testicular y no muestran ningún acomodo. El estadio II consiste en células de sertoli que inician su migración hacia la periferia del espermatocito y las espermatogonias están alineadas a la membrana basal, los espermatocistos aumentan de tamaño.

El estadio III o espermatocito primario son el resultado de la primera división meiótica de la espermatogonia, y se observan núcleos más grandes ahora las células de sertoli se ordenan en la periferia. Más adelante en el estadio IV los espermatocitos secundarios se muestran con núcleos pequeños y redondeados. Continúa con el estadio V que consiste en la formación de espermatidas a partir de la segunda división meiótica de los espermatocitos secundarios, se observan núcleos elípticos con la aparición de los flagelos, no se encuentran ordenados dentro de los espermatocistos.

Después en el estadio VI se pueden observar ya espermias inmaduros, siendo estos de forma alargada, ordenados de forma que el acrosoma está dirigido hacia la membrana basal y los flagelos dirigidos hacia el lumen. Por último el estadio VII consiste de espermatozoides maduros ya organizados en manojos compactos a la periferia, con los acrosomas dirigidos hacia la membrana basal.

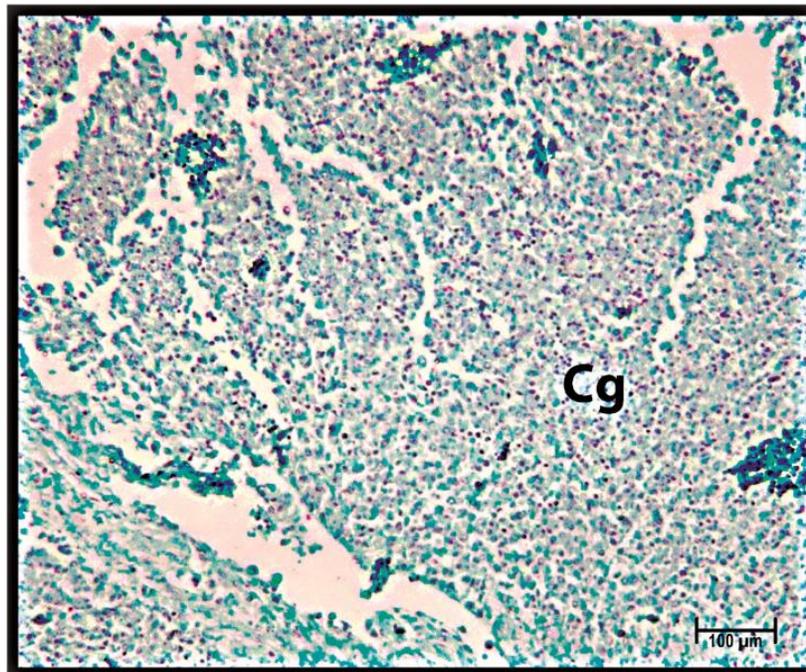


Figura 28.- Testículo inmaduro (10X) en el cual solo se aprecian células germinales (Feulgen).

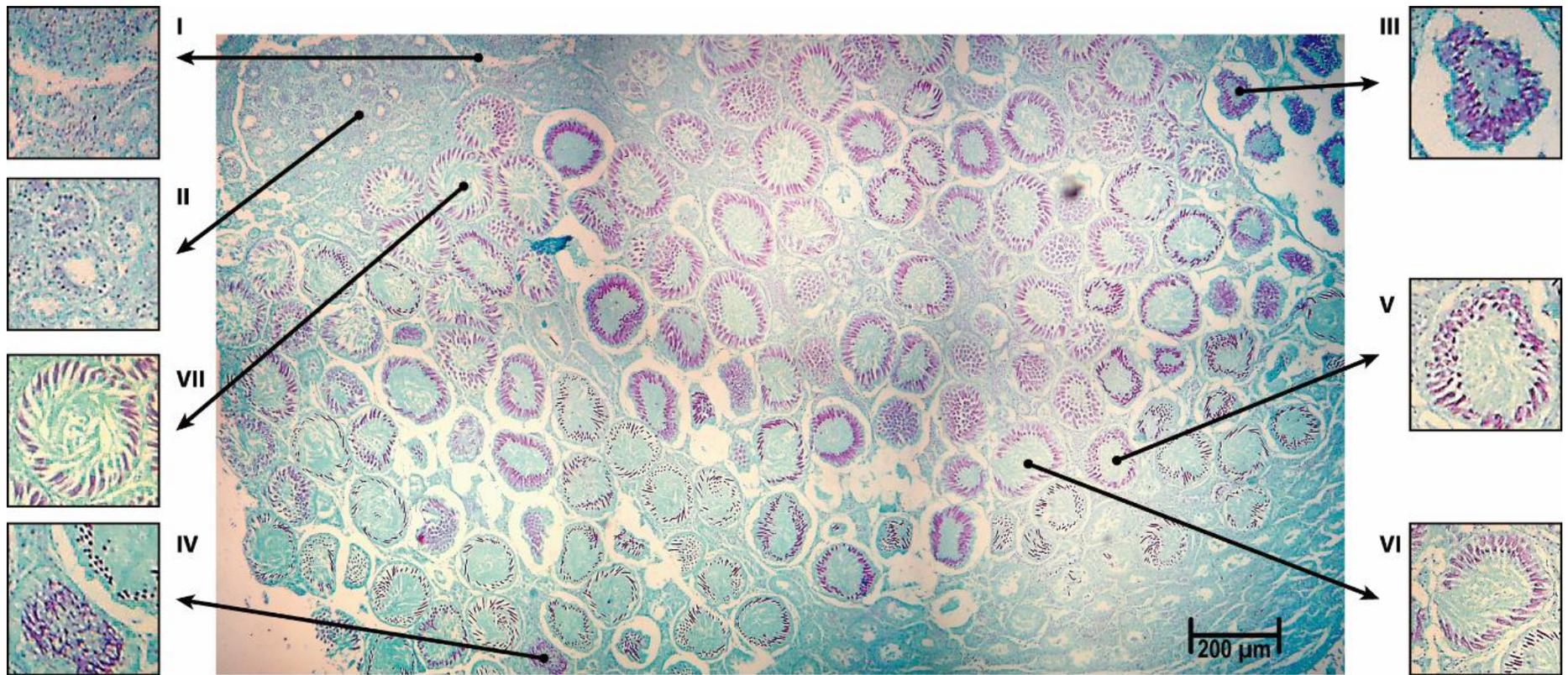


Figura 29.- Testículo maduro (2.5X) con los diferentes estadios de madurez presentados durante la espermatogénesis (Feulguen).

EPIDÍDIMO

Para el epidídimo se realizaron los cortes en la parte media y se observó que el cuerpo del epidídimo está conformado por un epitelio columnar, y en el lumen de estas estructuras se encuentra el almacenamiento del esperma (Fig. 30).

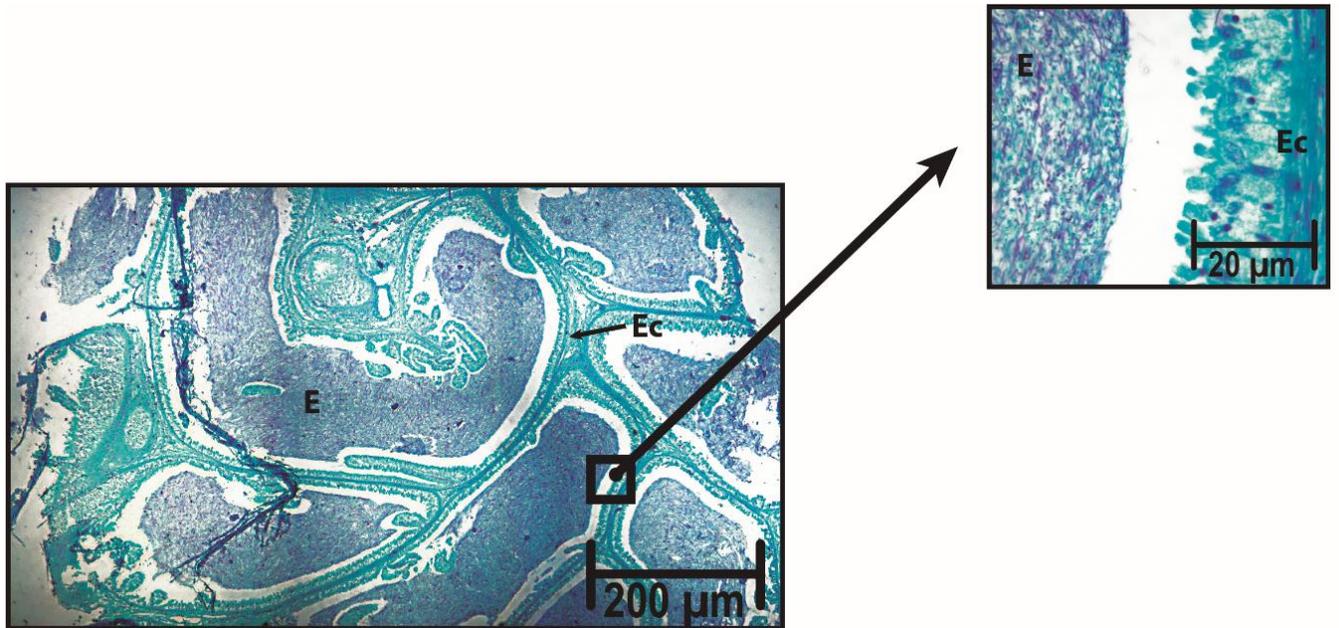


Figura 30.- Corte transversal del epidídimo de *P. productus*, a la izquierda a 2.5 x con almacén de esperma (E) rodeado por epitelio columnar (Ec). A la derecha un acercamiento a 40X con mayor detalle de los elementos anteriormente mencionados (Feulguen).

CONDUCTOS DEFERENTES Y GLÁNDULA DE LEYDIG

Los conductos deferentes son la continuación del epidídimo, dentro de estos cortes se encontró la glándula de Leydig (Gl) en la que se observó un epitelio columnar simple. En el lumen se observó el almacenamiento de esperma dentro de la glándula (Fig. 31).

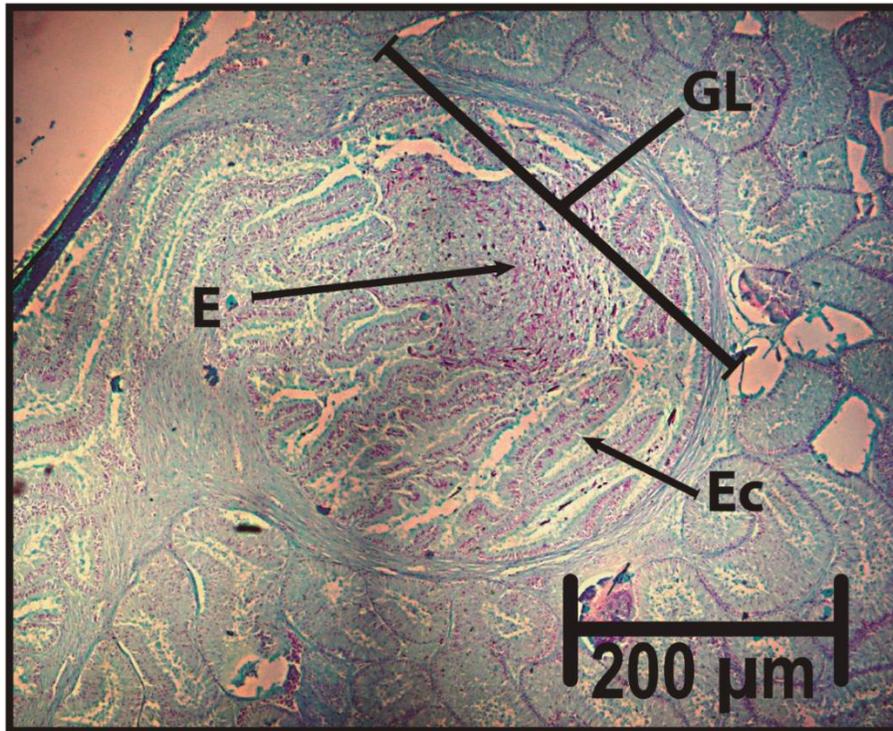


Figura 31.- Corte transversal de los conductos deferentes, en los cuales se observa la glándula de Leydig (GL) con almacén de esperma (E) y rodeado por epitelio columnar (Ec) (Feulguen).

5) FECUNDIDAD, TALLA Y ÉPOCA DE NACIMIENTO.

Se observó una fecundidad intra-ovárica de 4 a 44 oocitos. Una fecundidad real de 7 a 18 embriones en las hembras con crías. Los embriones más grandes se observaron durante el mes de agosto, con una longitud total de 190 mm.

En cuanto a las regresiones lineales realizadas para comparar la longitud total del organismo contra el número de oocitos y el diámetro de estos mismos, se observan correlaciones positivas significativas. En ambos casos se tiende a que entre mayor longitud del organismo mayor es el diámetro de los oocitos ($r=0.64$), (Fig. 32) así como su número ($r=0.5$) (Fig. 33).

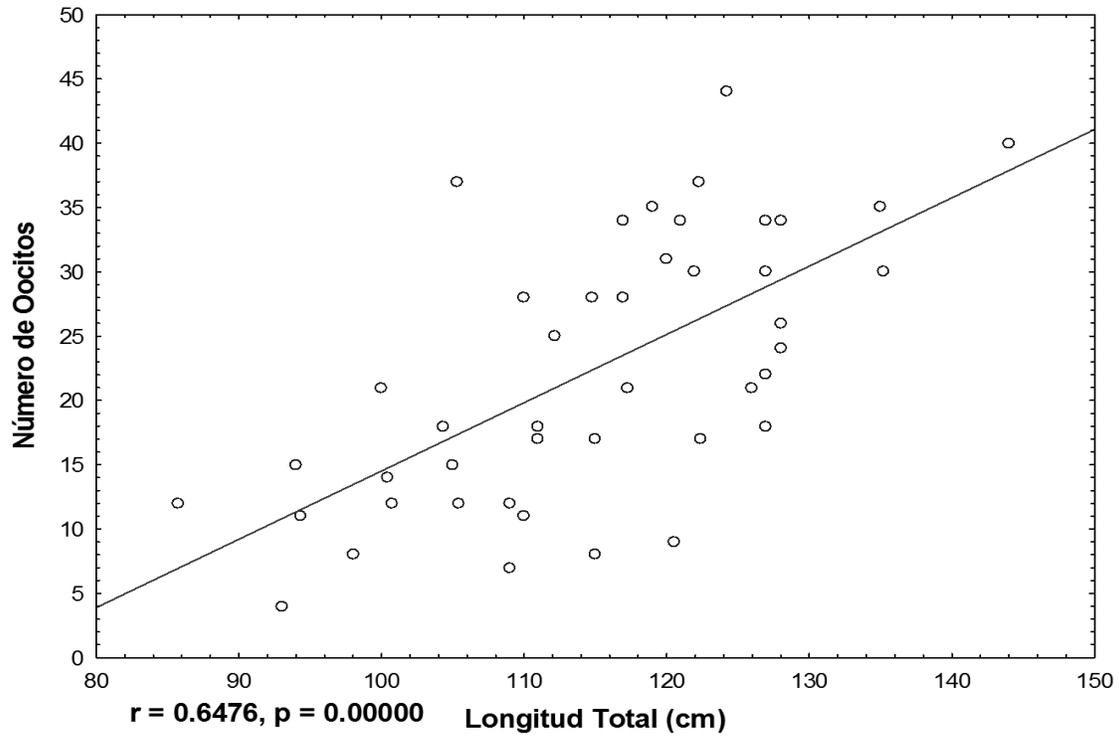


Figura 32.- Comparación entre la longitud total y el número de oocitos de *P. productus*.

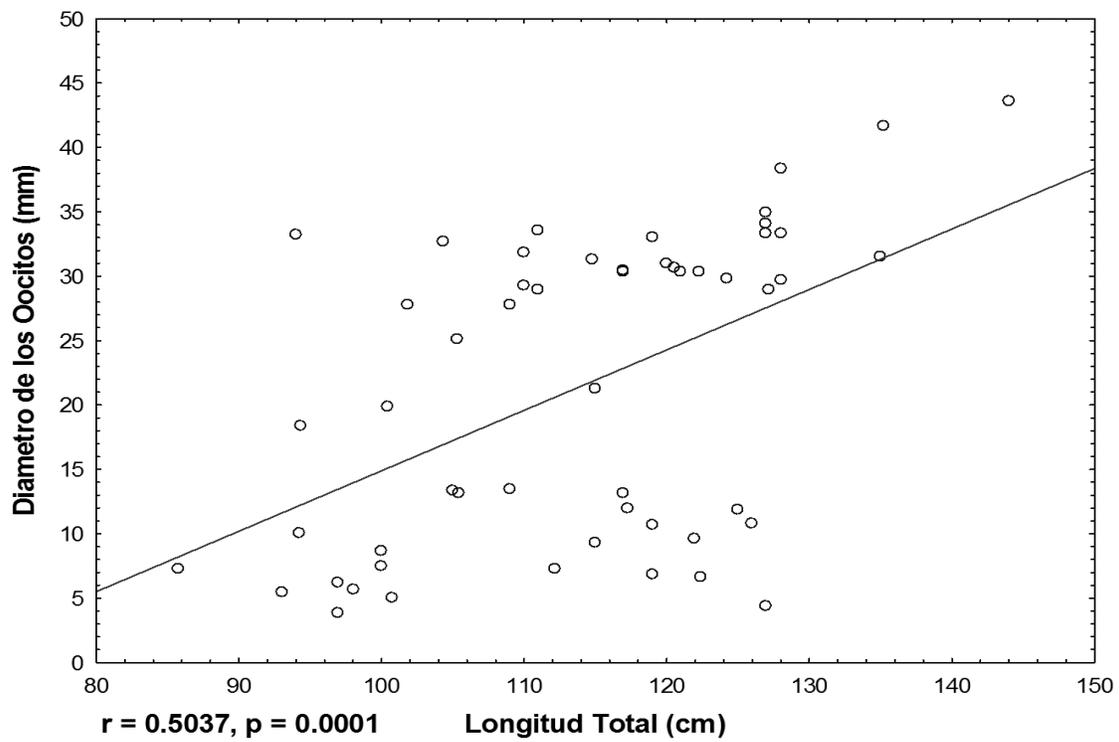


Figura 33.- Comparación entre la longitud total y el diámetro de oocitos de *P. productus*.

DISCUSIÓN

1) COMPOSICIÓN DE TALLAS.

Se encontró un intervalo de talla que va desde los 58.9 cm hasta los 162 cm de longitud total, observando una talla máxima de 115 cm para machos y de 162 cm para hembras. Castro-Aguirre (1965) reportó una talla máxima de 80 cm de LT en organismos desde San Francisco hasta isla Cedros, observando una gran diferencia a lo obtenido dentro de este estudio. Mientras que Talent (1985) y Timmons (1991) reportaron organismos desde los 90 cm hasta 150 cm de LT en la Bahía de Monterey en California. Villavicencio-Garayzar (1993c) registró las tallas máximas de 98 cm en machos y 137 para hembras en Bahía Almejas B.C.S, mientras que Downton-Hoffmann (2007) obtuvo registros de 112 cm y 141.5 cm para machos y hembras, respectivamente en la misma zona. Medidas que se aunque menores a lo obtenido en esta investigación, se encuentran más cercanos a los intervalos observados. En contraste con el estudio realizado por Márquez-Farías (2007) en el Golfo de California encontró organismos con una talla máxima menor (66.4 cm en machos y 105 cm en hembras).

Se observó que la mayoría de los organismos capturados se encontraban entre los 85 cm y los 136 cm de LT. Esto podría estar directamente relacionado al arte de pesca utilizado, que para este estudio fue la red de enmalle con una luz de malla de 8 cm. Márquez-Farías (2007) menciona que este tipo de redes, al funcionar como un sistema de captura "pasiva", dependen en gran medida de que el pez nade por ahí y sea capturado, de tal modo que la selectividad de la red es el resultado de la probabilidad del encuentro con la red y la probabilidad de ser retenido (Regier y Robson, 1966; Hamley y Regier, 1973; Hamley, 1975; Kirkwood y Walker, 1986). Y esto afecta más a los organismos con un crecimiento lento, ya que son vulnerables por más tiempo, comparado con organismos que tienen un crecimiento rápido (Walker *et al.*, 1998; Márquez-Farías, 2007).

Resultado del análisis de varianza entre la talla de hembras y machos, se encontraron diferencias significativas, obteniendo que las hembras presentan tallas mayores que los machos. Downton-Hoffmann (2007) menciona que es común, en

elasmobranquios y otros grupos, encontrar hembras de mayor tamaño que los machos. Cortés (2000), después de analizar a 230 poblaciones de tiburones determinó que las hembras tienden a madurar más tarde e incluso ser más longevas que los machos. Downton-Hoffmann (2007) observó que para la zona de Bahía Almejas B.C.S. las hembras son un 20% más grandes en comparación con los machos. A su vez, esta diferencia en tallas es reportada para distintas especies de rayas como; *Rhinoptera bonasus*, *Myliobatis californica*, *Narcine brasiliensis* y *Gymnura marmorata* (Smith y Merriner, 1987; Martin y Cailliet, 1988; Villavicencio-Garayzar, 1993 a, b).

La relación longitud-peso presentó una tendencia exponencial, al analizarlo entre sexos se encontraron valores de determinación menores a 3, valores que nos expresan que tanto para machos como para hembras se encontró que existe un crecimiento alométrico. Resultado que difiere con lo reportado para las poblaciones de Bahía Almejas y Laguna San Ignacio B.C.S. por Downton-Hoffmann (1996 y 2007) ya que encontraron valores de b entre los 2.99 y 3.14 equivalentes a crecimiento isométrico.

2) TALLA DE PRIMERA MADUREZ SEXUAL ($L_{50\%}$).

A partir del análisis de factores morfológicos característicos de los organismos maduros de *P. productus*, se obtuvo una talla de primera madurez ($L_{50\%}$) de 111.8 cm y de 95.1 cm de longitud total en hembras y machos, respectivamente. Timmons y Bray (1997) reportaron una madurez sexual para los organismos en California, E.U. de 99 cm para las hembras, y para machos con un intervalo entre los 91 – 100 cm de LT. Downton-Hoffmann (2007) obtuvo que para Laguna San Ignacio y Bahía Almejas B.C. S. la talla de primera madurez es de 100 cm y 80 cm de longitud total en hembras y machos, respectivamente. Por último, Márquez-Farías (2007) reportó una talla de madurez de 57 cm para hembras y 53 cm de LT para machos, en las cosas de Sonora en el Golfo de California.

3) PROPORCIÓN DE SEXOS.

La proporción sexual ayuda a inferir una probable segregación espacial por sexos, respondiendo a una fase del ciclo reproductivo que se presente en el momento (Grijalba-Bendeck *et al.*, 2008; Soto-López, 2014). Se encontró que para esta localidad existe una diferencia significativa en la proporción de sexos, teniendo 1.42 hembras por cada macho. Esto podría indicar que dentro de Bahía tortugas existe una segregación de sexos, que si se analizara durante periodos mensuales podría llegar a disminuir por la entrada de machos a la zona para llevar a cabo la cópula. Wourms (1977) menciona que existe una tendencia en los elasmobranchios a segregarse después de haber llegado a la madurez sexual (Downton-Hoffmann, 2007). Según Downton-Hoffmann (2007) este tipo de segregaciones han sido observadas para *P. productus* en distintas zonas como California E.U. (Herald y Dempster, 1952; Herald, 1952; Herald *et al.*, 1960) y en Bahía Almejas (Villavicencio-Garayzar, 1993 c).

Debido a esta probable segregación por sexo, Pratt y Otake (1990) recomiendan obtener la proporción sexual con base en las crías intrauterinas. En este estudio se obtuvo la igualdad (1:1) por lo que se puede inferir que existe una segregación por sexos en la zona.

4.1) DESCRIPCIÓN DE LA MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA DE LAS GÓNADAS.

Para las hembras, se identificaron dos ovarios funcionales, con un desarrollo característico de los batoideos, denominado por Pratt (1988) como desarrollo externo, igual a lo observado por Downton-Hoffmann (2007) y Márquez-Farías (2007), en los cuales se presentaron oocitos en distintas etapas de desarrollo, lo que indica que llevan un desarrollo asincrónico en el desarrollo de los oocitos (Soto-López, 2014). Dos oviductos por los cuales los oocitos se transportan por la glándula oviducal donde se lleva a cabo la fertilización, se conectaban con los úteros finalizando en la cloaca donde se conectaban ambos úteros. Hamlet (1999) describe que el útero en la mayoría de los elasmobranchios funciona como regulador en el

ambiente intrauterino, proveer oxígeno para la demanda de los embriones, proveer de nutrientes y mediar la distribución de desechos metabólicos de los embriones.

En machos se identificaron los testículos, epidídimos y conductos deferentes. Hamlet (1999) menciona que los testículos son los responsables de la generación de células germinales, así como la síntesis y secreción de hormonas. Al igual que Downton-Hffmann (2007) y Márquez-Farías (2007), se observó que los testículos de estos organismos presentan un tipo de lobulación, y se observa más marcado en organismos maduros.

No se encontraron diferencias significativas entre las estructuras de las gónadas de *P. productus*, tanto para las hembras como para los machos. Esto es de gran ayuda, ya que este estudio, como otros realizados anteriormente, están sujetos a lo obtenido de la pesca artesanal. En varias ocasiones no se cuenta con la gónada completa, por lo que al saber que son estadísticamente iguales se puede realizar un análisis utilizando cualquier lado de la gónada con el que se cuente.

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

Para machos al comparar la longitud total del organismo con la longitud del gonopterigio, se observó cierta tendencia de proporcionalidad, sin embargo el valor de correlación es bajo.

Aunque al ser utilizados estos mismos factores de comparación, pero agregando el grado de calcificación de los gonopterigios, se observó que existe un traslape de grados de calcificación entre los 87 cm y los 103 cm de longitud total, resultado que reafirma lo obtenido por el análisis de $L_{50\%}$ en este estudio, remarcando que entre estas longitudes es donde se lleva a cabo la madurez de los machos en esta zona.

4.2) DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA DE LAS GÓNADAS.

OVARIO

Koob *et al.* (1986) mencionan que los peces guitarra, en su mayoría, cuentan con ovarios pareados y funcionales. Para batoideos es común que se encuentre en inicio de ovogénesis incluso en hembras inmaduras, por lo tanto se puede observar algunas etapas iniciales de la ovogénesis en hembras inmaduras y en maduración (Serra-Pereira, 2011; Soto-López, 2014). Esto concuerda con lo observado en este trabajo, ya que los cortes en distintas zonas del ovario se apreciaron oocitos en diferentes etapas del desarrollo, e incluso con gran diferencia de tamaño entre estos mismos así como ovarios que se asume están en reposo, ya que aunque tienen el tamaño de hembras maduras, sus ovarios se observaban oocitos en etapas muy tempranas de la ovogénesis.

A lo largo del desarrollo del oocito, el epitelio folicular cambia continuamente su organización y se divide en capas que presentan tres tipos de células (pequeñas, intermedias y piriformes). Este tipo de formación se mantiene hasta que termina el crecimiento del oocito, pero la actividad de estas cambia (Prisco *et al.*, 2007; Soto-López, 2014).

La vitelogenesis consiste en la formación de plaquetas de vitelo, la pseudoestratificación del epitelio folicular y el aumento en la vascularización de las capas. Esta vascularización está relacionada con el transporte de los precursores del vitelo en el oocito (Andreuccetti *et al.*, 1999; Soto-López, 2014). Se lograron observar oocitos en el inicio de la vitelogenesis, con solo una pequeña cantidad de gránulos de vitelo, y a su lado ya se observaba un oocito de gran tamaño, con un cuerpo repleto de vitelo. Las hembras maduras fueron las que mostraron mayor número de folículos vitelogenéticos. Pero no se observaron cuerpos lúteos o atrésicos.

GLANDULA OVIDUCAL

La glándula oviducal, también conocida como glándula nidamental es una región especializada y discreta del oviducto en los peces cartilagosos, que producen componentes que rodean los huevos fertilizados hasta los cascarones en organismos ovíparos (Hamlett, 2005). También han sido relacionados con el almacenamiento de esperma en varias especies, en este estudio no logró la observación de almacenamiento de esperma en la glándula oviducal.

Con respecto a la estructura microscópica, se observaron las cuatro zonas de la glándula oviducal por medio de un corte longitudinal de toda la glándula. Para la “Zona Club”, que es la primera zona posterior al oviducto, es caracterizada por la forma del epitelio, así como la reacción positiva hacia el método de tinción del ácido peryodico de Schiff (PAS+), cosa que es reportado desde Threadgold (1957) y mencionado por Hamlett (2005).

Después de la zona club, se comienza a ver una diferencia en la estructura del epitelio en el lumen de la glándula (Fig. 26) y así se define la “Zona Papillary” que al igual que la zona anterior, tiene una reacción positiva hacia la tinción de PAS, y Hamlet (2005) menciona que éstas dos primeras capas son participes en la formación de una especie de “capa gelatinosa” que en organismos vivíparos funciona para separar y proteger a cada uno de los huevos fecundados y a los embriones durante su desarrollo dentro del útero.

Más abajo en la glándula oviducal, se nota un cambio en la estructura del epitelio en el lumen, y de nuevo se observa un cambio en la coloración de los acinos, y esto indica el comienzo de la tercera zona, denominada “Zona Baffle”. Ésta zona está caracterizada como la encargada de la formación del cascarón en organismos ovíparos, mientras que para especies con el tipo de reproducción vivípara, como *P. productus*, la estructura es muy parecida entre las distintas especies, y la naturaleza con la cual se cubren los oocitos es muy variada (Hamlett *et al.*, 1998 a; Hamlett y Koob, 1999).

Por último en la “Zona Terminal”, se ve un gran cambio en la estructura del epitelio hacia el lumen, en el cual también se nota una reacción hacia la tinción, ya que de nuevo denota tonos más oscuros, y eso puede ser una reacción directa a la cantidad de mucosa que se tiene en esa zona.

ÚTERO

Se observaron pliegues a lo largo de la pared del útero, estos pueden variar dependiendo del estado en el que se encuentre la hembra, ya que si está preñada, los pliegues se vuelven menos prominentes, pero aun así están presentes. Varios autores están de acuerdo en que la presencia de estos pliegues es una característica principal presente en el útero para especies de la familia Rhinobatidae, que presentan el tipo de reproducción vivípara aplacentada (Lessa *et al.*, 1986; Hamlett y Hysell, 1998; Meza-Castillo *et al.*, 2012). También es importante resaltar que se aprecia la presencia de una capa mucosa que recubre al útero.

TESTÍCULO

Los testículos se caracterizaron por la presencia de las distintas fases de la espermatogénesis, dentro de cada uno de los lóbulos, en los cuales se podían observar desde espermatogonias hasta espermias maduros, lo que corresponde con el tipo de desarrollo del testículo descrito por Pratt (1988) para batoideos. Este tipo de estructura es similar en las especies de la familia Rajidae y en tiburones ovíparos (Stehmann, 2002; Meza-Castillo, *et al.*, 2012; Soto-López, 2014). El desarrollo de los testículos se ve caracterizado por la diferenciación celular, así como los cambios asociados a la composición y el diámetro de los espermatozoides (Maruska *et al.*, 1996; Soto-López, 2014).

EPIDÍDIMO

Se encontró que el cuerpo del epidídimo está conformado por un epitelio columnar simple, cosa que se ha observado en otras especies de rayas (Maruska *et al.*, 1996; Hamlett, 2005; Soto-López, 2014; Pelmatti, 2015). Dentro del lumen se observa el almacenamiento de esperma, Maruska menciona que dependiendo del

estado en el que se encuentra el esperma en almacenamiento, dependerá de que tan inminente sea la inseminación al encuentro de un macho con la hembra. A su vez Serra-Pereira *et al.* (2011) mencionan que los espermatozoides están rodeados de un líquido que probablemente es secretado por las células de sertoli (Soto-López, 2014)

CONDUCTOS DEFERENTES

En los conductos deferentes se encontró un epitelio columnar simple, con la diferencia de que la células se encuentran ciliadas, en otras especies se ha observado un cierto orden en el acomodo de los espermatozoides dentro de los conductos (Hamlett, 2005); mientras que para esta especie, no se logró observar algún acomodo en específico, ni como espermatóforo, ni como espermatozeugmata (Pratt y Tanaka, 1994). Esto podría ser el reflejo de un corte en una zona muy temprana de los conductos deferentes, o una característica específica de la especie.

5) FECUNDIDAD, TALLA Y ÉPOCA DE NACIMIENTO.

Se encontró una fecundidad intra-ovárica de 4 a 44 oocitos, y al realizar la regresión lineal comparando el número de oocitos y el diámetro de estos mismos, contra el tamaño del organismo, se observó una relación positiva significativa. Según Pratt y Casey (1990) esta tendencia existe en varias especies de elasmobranquios, en las cuales se observa que entre más grande sea el organismo mayor es su fecundidad (Downton-Hoffmann, 2007). Márquez-Farías (2007) encuentra que el diámetro de los organismos en las costas de Sonora son menores, esto puede estar relacionado a que la longitud total de esos organismos es menor.

En cuanto a los valores de fecundidad real, se encontró de 7 a 18 embriones. Downton-Hoffmann (2007) encontró un número de embriones similar, entre los 4 y 18 embriones. Al igual que en este estudio Downton-Hoffmann (2007) comparte el resultados de que en *P. productus* existe una relación directa entre el número de embriones y el tamaño total de las hembras. Ya que los organismos con mayor talla

fueron los que presentaron el mayor número de embriones. Esto también fue observado para distintas especies de la familia Rhinobatidae, como en; *R. horkelii* (Lessa *et al.*, 1986) y en *R. annulatus* (Rossouw, 1984) y en *R. hynnicephalus* (Wenbin y Shuyuan, 1993).

CONCLUSIONES

- ~ Se encontró un intervalo de tallas desde los 58.9 cm hasta los 162 cm de longitud total, tamaño que se infiere está sesgada por el arte de pesca utilizado. A su vez se observa que se encuentran hembras de mayor tamaño a comparación de los machos en la zona.
- ~ Se presentó una tendencia de crecimiento exponencial, donde los valores obtenidos indican que tanto machos como hembras se lleva a cabo un crecimiento de tipo alométrico, coincidiendo con lo reportado para otros elasmobranquios.
- ~ La talla de primera madurez poblacional ($L_{50\%}$) es de 111.8 cm de longitud total para hembras y de 95.1 cm en machos. Valores que difieren con lo reportado por otros estudios para esta especie (Downtton-Hofmann, 2007; Márquez-Farias, 2007), se encontró que los organismos en esta zona maduran a una mayor longitud.
- ~ La fecundidad intra-ovárica de *P. productus* es de 4 a 44 oocitos, y la fecundidad real observada fue de 7 a 18 embriones, con una proporción sexual de 1:1. Mientras que para adultos se obtuvo diferencias significativas en la proporción de sexos, teniendo 1.42 hembras por cada macho (1.42 H: 1 M), se infiere una segregación sexual en la zona.

- ~ Las hembras de *P. productus* presentan dos ovarios y dos úteros funcionales, el desarrollo de los oocitos es asincrónico, los oocitos más grandes se presentan en la zona superior del ovario. Los machos presentaron dos testículos funcionales, con una organización espacial de tipo compuesta. No se encontraron diferencias significativas comparando los lados en las gónadas.

- ~ Se encontraron relaciones positivas significativas en el tamaño de estructuras de las gónadas, la talla materna y el número de embriones comparadas con la longitud total de las hembras.

- ~ Se observaron las cuatro zonas descritas para la glándula oviducal, sin registro de almacén de esperma.

BIBLIOGRAFÍA

- Andreuccetti, P., Iodice M., Prisco M. y Gualtieri R. 1999. Intercellular bridges between granulosa cells and the oocyte in the elasmobranch *Raja asterias*. *Anat Rec* 255:180-187.
- Bejarano-Álvarez M. 2007. Biología reproductiva del tiburón martillo *Sphyrna lewini* (Griffith y Smith, 1834) en Salina Cruz, Oaxaca, México. Tesis Doctoral. CICIMAR-IPN. La Paz, Baja California Sur, México. 74pp.
- Bonfil-Sanders, S. R. 1994. Overview of world elasmobranch fisheries. FAO Fish. Tech. Pap. 341, 119 p.
- Castro-Aguirre, J. L. 1965. Peces sierras, rayas, mantas y peces afines de México. *Anal. Inst. Nac. Invest. Biol.Pesq.* 1:171-256.
- CONAPESCA-INP, 2004. Plan de Acción Nacional para el Manejo y Conservación de Tiburones, Rayas y Especies Afines en México. Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca e Instituto Nacional de la Pesca, Secretaría d Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Mazatlán, México. 80 p.
- Cortes, E. 2000. Life-history patterns and correlations in sharks. *Rev. Fish. Sci.* 8:299-344.
- Diario Oficial de la Federación. 2010. Carta nacional pesquera. México D.F. 17-19
- Downton-Hoffmann, C. A. 1996. Estrategia reproductiva de la guitarra *Rhinobatos productus* (Ayres 1856) en la costa Occidental de Baja California Sur, México. Tesis de licenciatura. UABCS. La Paz, B.C.S., México. 51 pp.
- Downton-Hoffmann, C.A. 2007. Biología del pez guitarra *Rhinobatos productus* (Ayres, 1856), en Baja California Sur, México. IPN Tesis Doctoral, p 213.
- Dubois, A.J. 1981. Studies on fishes in Maguu Lagoon, California. M.A. thesis, University of California Santa Barbara, Santa Barbara, CA.

- Ebert, D. A. y Van Hees, K. E. 2015. Beyond Jaws: rediscovering the 'lost sharks' of southern Africa. *African Journal of Marine Science* 37, 141–156. 10.2989/1814232X.2015.1048730
- Eschmeyer, W. N., Herald E. S. y Hammann H. 1983. A field guide to Pacific coast fishes of North América from the Gulf of Alaska to Baja California. Peterson Field guide Series. Houghton Mifflin Co. Boston. 336 pp.
- FISHBASE. 2016. <http://www.fishbase.org/summary/Rhinobatos-productus.html>
- Grijalba-Bendeck, M., Acero A.P. y González E. 2008. Biología reproductiva de *Rhinobatos percellens* (Walbaum, 1792) (Batoidea: Rajiformes) en el Caribe colombiano. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 43(3): 469-481.
- Hamlett W.C. y Hysell M.K. 1998. Reproductive accommodations for gestation in the atlantic guitarfish, *Rhinobatos lentiginosus*, Rhinobatidae. *The journal of the Elisa Mitchell Scientific Society* 114: 199-208.
- Hamlett, W. C., Knight, D. P., Koob, T., Jezior, M., Luong, Rozycki, T., Brunette, N. y Hysell, M. 1998a. Survey of oviducal gland structure and function in elasmobranchs. *Journal of Experimental Zoology* 282: 399-420.
- Hamlett, W. C. 1999. Male reproductive system. En: *Sharks, skates and rays the biology of elasmobranch fishes*. Hamlett, W. C. (Ed). The Johns Hopkins Univ. Press, E.U.A. 444-469 pp.
- Hamlett, W. C. y Koob, T. 1999. Female reproductive system. Pp. 398-443. In W. C. Hamlett (ed.), *Sharks, Skates and Rays: Biology of Elasmobranch Fishes*, The Johns Hopkins University Press, Baltimore, Maryland.
- Hamlett, W.C. 2005. Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, batoids and chimaeras. Science Publishers. Tercera edition.
- Hamley, J.M. 1975. Review of gillnet selectivity. *J. Fish. Res. Board. Can.* 32:1943-1969
- Hamley, J.M. y Reiger H.A. 1973. Direct estimates of gillnets selectivity to walleye (*S.vitreum*) *J. Fish. Res. Board. Can.* 30: 817-830

- Herald, E.S. 1952. The 1952 Shark derbies at Elkhorn slough, Monterey Bay, and at Coyote Point, San Francisco Bay. Calif. Dept. Fish and Game. 2:237-243.
- Herald, E.S. y Dempster R.P. 1952. The 1951 Shark Derby at Elkhorn Slough, California. Dept. Fish and Game. 38(1):133-134.
- Herald, E.S., Schneebeli W., Green N. y Innes K. 1960. Catch records for seventeen shark derbies held at Elkhorne Slough. Monterey Bay, California. Calif. Dept. Fish and Game 1:59-67.
- Hoening, J.M. y Gruber S.H. 1990. Life-history patterns in the elasmobranchs: implications for fisheries management. NOAA Tech. Rep. NMFS 90:1-16.
- Hoyos-Padilla, E.M. 2003. Biología reproductiva del tiburón piloto *Carcharhinus falciformis* (Bibron, 1839) de Baja California Sur. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas. La Paz, B.C.S, México. 58pp.
- IUCN Red List of Threatened Species. Version 2015-4. <www.iucnredlist.org>. Downloaded on 07 March 2016.
- Kirkwood, G.P. y Walker T.I. 1986. Gill net mesh selectivities for gummy shark, *Mustelus antarcticus* Günter, taken in south-eastern Australian waters. Aust. J. Mar. Freshw. Res., 37: 689–697.
- Koob, T.J., Tsang, P. and Callard, I.P. 1986. Plasma estradiol, testosterone, and progesterone levels during ovulatory cycle of the skate (*Leucoraja erinacea*). Biology of Reproduction 35: 267-275.
- Last, P.R., Séret, B., y Naylor, G.J. 2016. A new species of guitarfish, *Rhinobatos borneensis* sp. nov. with a redefinition of the family-level classification in the order Rhinopristiformes (Chondrichthyes: Batoidea). Zootaxa, 4117(4), 451-475.
- Lessa, R.T. 1982. Biologie et dynamiques des populations de *Rhinobatos horkelii*, du plateau continental du Río Grande de Sul (Brasil). Universidad do Bretagne Occidentale, (Brasil). Tesis Doctoral, 238 pp.

- Lessa, R.T., Vooren C.M. y Lahaye J. 1986. Desenvolvimento e ciclo sexual das Fêmeas, migrações e fecundidade de viola *Rhinobatos horkelii* (Müller y Henle, 1841) Do Sul Do Brasil. Atlântica, Río Grande. 8:5-34.
- Márquez-Farías, J.F. 2007. Demografía del pez guitarra *Rhinobatos productus*. Tesis Doctoral. Centro de investigaciones Biológicas del Noroeste. La Paz, Baja California Sur. México. 147pp.
- Martin, L.K. y Cailliet G.M. 1988. Age and growth determination of the bat ray *Myliobatis californica* Gill, in central California. Copeia, 3:762-773.
- Martoja, R. y Martoja P.M. 1970. Técnicas de Histología Animal. Toray-Masson, S.A. Editores, Barcelona, España. 350pp.
- Maruska, K.P., Cowie E.G. y Tricas T.C. 1996. Periodic Gonadal Activity and Protracted Mating in Elasmobranch Fishes. The Journal of Experimental Zoology. 276:219-232.
- Melouk, M.A. 1949. The external features in the development of the Rhinobatidae *In: Publications of the Marine Biological Station Ghardaqa (Red Sea).* , Univ. Press, 7: 98 pp.
- Meza-Castillo, J.H., Carrera- Fernández M. y Galván-Magaña F. 2012. Descripción morfológica del aparato reproductor de la raya *Zapteryx exasperata* (Jordan & Gilbert, 1880) en Bahía Tortugas, Baja California Sur. En: Díaz Sánchez A.W., C. G. Aguilar, O. U. Mendoza Vargas (Editores). Libro de Resúmenes V Simposium Nacional de Tiburones y Rayas. SOMEPEC. México.
- Mollet, H., Cliff J., Pratt Jr. H. y Stevens J. 2000. Reproductive biology of the female shortfin mako, *Isurus oxyrinchus* Rafinesque, 1810, with comments on the embryonic development of Lamnoids. Fishery Bulletin 98(2): 299-318.
- Nelson, S. 1994. Fishes of the World. 3rd. ed. John Wiley & Sons, Inc. New York, USA, 600 pp.
- Pellamati T. 2015. Reproductive Biology of the Bat Ray *Myliobatis californica* off the west coast of Baja California Sur, México. Università Politecnica delle Marche. 101pp

- Pratt, L.H. 1979. Reproduction in the blue shark, *Prionace glauca*. Fish.Bull, 77(2):445-470.
- Pratt, H.L. Jr. 1988. Elasmobranch gonad structure: a descriptive survey. Copeia (3): 719-729.
- Pratt, L.H. y Casey J.G. 1990. Shark reproductive strategies as a limiting factor in directed fisheries, with a review of Holden's method of estimating growth parameters. pp. 97-110. *In*: Elasmobranchs as Living Resources: Advances in the biology, ecology, systematic, and the status of the fisheries. NOAA Tech. Rep. NMFS 90.
- Pratt, H.L. y Otake T. 1990. Recommendations for work needed to increase our knowledge of reproduction relative to Fishery management. pp. 509-510. *In*: Elasmobranchs as Living Resources: Advances in the biology, ecology, systematics, and the status of the fisheries. NOAA Tech. Rep. NMFS 90.
- Pratt, H.L. y Tanaka, S. 1994. Sperm Storage in Male Elasmobranch: A Description and Survey. Journal of Morphology. 219: 297-308.
- Prisco, M., Liguoro A., Ricchiari L., Del Giudice G. y Andreuccetti P. 2007. Oogenesis in the spotted ray *Torpedo marmorata*. Rev. Fish. Biol. Fisheries 17: 1-10.
- R Core Team 2012. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org/>
- Regier, H.A. y Robson D.S., 1966. Selectivity of gillnets, especially to the lake whitefish. J. Fish. Res. Board. Can., 23:423-454
- Rossouw, G.J. 1984. Age and growth of the sand shark *Rhinobatos annulatus*, in Algoa Bay, South Africa. J. Fish. Biol., 25(2):213-222.
- Sala, E., Aburto-Oropeza, O., Reza, M., Paredes, G., y López-Lemus, L. G. 2004. Fishing down coastal food webs in the Gulf of California. Fisheries, 29(3), 19-25.

- Saenz-Arroyo, A., Roberts, C., Torre, J., Cariño-Olvera, M., y Enríquez-Andrade, R. 2005. Rapidly shifting environmental baselines among fishers of the Gulf of California. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 272(1575), 1957-1962.
- Serra-Pereira, B., Figueiredo I. y Serrano L.G. 2011. Maturation of the Gonads and Reproductive Tracts of the Thornback Ray *Raja clavata*, with Comments on the Development of a Standardized Reproductive Terminology for Oviparous Elasmobranchs, *Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science*. 3(1):160- 175.
- SigmaPlot for Windows Version 12.0 Build 12.2.0.45 copyright 2011 Systat Softwares, Inc.
- Simpfendorfer, C. A. 1992. Reproductive strategy of the australian sharpnose shark, *Rhizoprionodon taylori* (Elasmobranchii: Carcharhinidae), from Cleveland Bay, Northern Queensland. *Aust. J. Mar. Freshwater Res.*, 43: 67-75.
- Smith, J.W. y Merriner, J.V. 1987. Age and growth, movements and distribution of the cownose ray, *Rhinoptera bonasus*, in Chesapeake Bay. *Estuaries*, 10(2):153-164.
- Smith, W.D., Bizzarro, J.J. y Cailliet, G.M. 2009. The artisanal elasmobranch fishery on the east coast of Baja California, Mexico: Characteristics and management considerations La pesca artesanal de elasmobranquios en la costa oriental de Baja California, México: Características y consideraciones de manejo. *Ciencias Marinas*, 35(2), 209-236.
- Soto-López K. 2014. Biología reproductiva de la raya *Raja velezi* en el sureste de la Costa Occidental de Baja California Sur. Tesis de maestría. UNAM y CICIMAR-IPN. 100pp
- StatSoft, Inc. 2011. STATISTICA (data analysis software system), version 10. www.statsoft.com.

- Stehmann, M. 2002. Proposal of a maturity stages scale for oviparous and viviparous cartilaginous fishes (Pisces, Chondrichthyes). Archives of Fisheries and Marine Research 50:23–48.
- Talent, L.G. 1985. The occurrence seasonal distribution and reproductive condition of elasmobranch fishes in Elkhorne Slough, California, Calif. Fish Game, 71(4):210-219.
- Threadgold, L.T. 1957. A histochemical study of the shell gland of *Scyliorhinus canicula*. Journal of Histochemistry and Cytochemistry 5: 159-166.
- Timmons, M. 1991. Age, growth and sexual maturity of the shovelnose guitarfish, *Rhinobatos productus* (Ayres). Calif. State University. Masters Thesis. Long Beach. Calif. 84 pp.
- Timmons, M. y Bray N.B. 1997. Age, growth and sexual maturity of the shovelnose guitarfish, *Rhinobatos productus* (Ayres). Fish. Bull. 94:349-359.
- Turrubiates–Morales. 1989. Edad, crecimiento y reproducción de *Haliotis fulgens* (Philppi, 1845) (Mollusca; Gastropoda), en Bahía Tortugas B.C.S. México. Manuscrito sin publicar. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional. 56pp.
- Villavicencio-Garayzar, C.J. 1993 a. Observaciones sobre la biología reproductiva de *Narcine brasiliensis* (Olfers) (Pisces: Narcinidae), en Bahía Almejas, Baja California Sur, México. Rev. Inv. Cient., 4(1):95-99.
- Villavicencio-Garayzar, C.J. 1993 b. Notas sobre *Gymnura marmorata* (Cooper) (Pisces: Dasyatidae), Bahía Almejas, B.C.S., México. Rev. Inv. Cient. 4(1):91-94.
- Villavicencio-Garayzar, C.J. 1993 c. Biología reproductiva de *Rhinobatos productus* (Pisces: Rhinobatidae), en Bahía Almejas, Baja California Sur, México. Rev. Biol. Trop., 41(3):441-446.
- Walker, T.I., Taylor B.L., Hudson R.J y Cottier J.P. 1998. The phenomenon of apparent change of growth rate in gummy shark (*Mustelus antarcticus*), harvested by gill net and hooks off southern Australia. Fish Res 39:139–163

Wenbin, Z. y Shuyuan Q. 1993. Reproductive biology of the guitarfish, *Rhinobatos hynnicephalus*. *Env. Biol. of Fish.* 38:81-39.

Wourms, J.P. 1977. Reproduction and development in chondrichthyan fishes. *American Zoologist*, 17: 379 – 410.

ANEXO I.- Deshidratación, aclaramiento, infiltración, desparafinación e hidratación, orden y tiempos.

DESHIDRATACIÓN	Tiempo
Alcohol 70%	60 minutos
Alcohol 80%	60 minutos
Alcohol 96% I	60 minutos
Alcohol 96% II	60 minutos
Alcohol 96% III	60 minutos
Alcohol 100% I	60 minutos
Alcohol 100% II	60 minutos
Alcohol 100% III	60 minutos

ACLARAMIENTO E INFILTRACIÓN	Tiempo
Alcohol-Cloroformo 1:1	15 minutos
Cloroformo 100%	7 minutos
Parafina I	30 minutos
Parafina II	90 minutos
Parafina III	90 minutos

DESPARAFINACIÓN	Tiempo
Americlear I	2 minutos
Americlear II	2 minutos
Americlear III	2 minutos
Americlear-Alcohol	2 minutos

HIDRATACIÓN	Tiempo
Alcohol al 96% I	2 minutos
Alcohol al 96% II	2 minutos
Alcohol al 70%	2 minutos
Agua destilada	2 minutos

ANEXO II.- Metodologías de tinciones, tiempos y soluciones utilizadas.

Técnica Hematoxilina-Eosina.	
Sustancia	Tiempo empleado
Desparafinar laminillas	Anexo I
Hematoxilina de Harris	1:45 minutos
Lavar en agua destilada	Quitar exceso
Diferenciar en alcohol ácido	10 segundos
Lavar en agua corriente	1 o 2 veces
Agua amoniacal	Hasta ver coloración azul
Lavar en agua destilada	1 o 2 minutos
Eosina al 1% en solución acuosa	1 minutos
Lavar en alcohol 96%	Enjuage
Alcohol Absoluto	2 minutos
Acetona	2 minutos
Acetona – Americlear (1:1)	2 minutos
Americlear I	2 minutos
Americlear II	2 minutos
Xilol	>2 minutos

Técnica Tricrómica de Mallory.	
Sustancia	Tiempo empleado
Desparafinar laminillas	Anexo I
Fucsina ácida al .25% en agua destilada	30 segundos
Lavar en agua destilada	2 veces
Ácido fosfomolibdico al 1% (diferencia y fija la fucsina)	2:30 minutos
Lavar en agua destilada	Enjuague
Mezcla de Mallory	5 minutos
Lavar en agua destilada	Observar al microscopio si los elementos conjuntivos son azules.
Lavar en alcohol 96%	Enjuague
Alcohol Absoluto	2 minutos
Acetona	2 minutos
Acetona – Americlear (1:1)	2 minutos
Americlear I	2 minutos
Americlear II	2 minutos
Xilol	>2 minutos

Técnica Ácido Peryódico de Sciff (PAS).	
Sustancia	Tiempo empleado
Desparafinar laminillas	Anexo I
Solución de ácido peryódico al 0.6%	10 minutos
Lavar en agua destilada	Enjuague rápido
Reactivo de Schiff (A oscuras y temperatura ambiente)	>30 minutos
Agua sulfurosa	2 minutos
Lavar en agua destilada	2 veces
Hematoxilina de Harris	1:45 minutos
Lavar en agua corriente	5 minutos
Amarillo de metanilo	1 minuto
Lavar en agua acética	Enjuague rápido
Lavar en alcohol 96%	Enjuague rápido
Alcohol Absoluto	2 minutos
Acetona	2 minutos
Acetona – Americlear (1:1)	2 minutos
Americlear I	2 minutos
Americlear II	2 minutos
Xilol	> 2 minutos

Técnica de Feulgen.	
Sustancia	Tiempo empleado
Desparafinar laminillas	Anexo I
Ácido clorhídrico 1N (a temperatura ambiente)	1 minuto
Ácido clorhídrico 1N a 60°C (dentro del horno a temperatura constante)	10 minutos
Ácido clorhídrico 1N (a temperatura ambiente)	2 minutos
Lavar con agua destilada	2 veces
Reactivo de Schiff	35 minutos
Agua sulfurosa	10 minutos
Lavar con agua destilada	2 veces
Contrastar con verde luz	10 segundos
Lavar con agua destilada	Enjuague rápido
Lavar en alcohol 96%	1 minuto
Alcohol Absoluto	2 minutos
Acetona	2 minutos
Acetona – Americlear (1:1)	2 minutos
Americlear I	2 minutos
Americlear II	2 minutos
Xilol	>2 minutos

Técnica de Azul Alciano.	
Sustancia	Tiempo empleado
Desparafinar laminillas	Anexo I
Azul Alciano al 1%	3 minutos
Lavar en agua destilada	Enjuague rápido
Rojo neutro al 1%	20 segundos
Alcohol al 70% I	< 10 segundos
Alcohol al 70% II	< 10 segundos
Alcohol absoluto	2 minutos
Acetona – Americlear (1:1)	2 minutos
Americlear I	2 minutos
Americlear II	2 minutos
Xilol	>2 minutos

Técnica de Azul Toluidina.	
Sustancia	Tiempo empleado
Desparafinar laminillas	Anexo I
Solución acuosa de azul de toluidina al 1%	1 minuto
Lavar con agua destilada	De 2 a 5 min
Dejar secar perfectamente en la estufa a 60°C	Secado completo
Alcohol Absoluto	2 minutos
Acetona	2 minutos
Acetona – Americlear (1:1)	2 minutos
Americlear I	2 minutos
Americlear II	2 minutos
Xilol	>2 minutos