



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología

Universidad Nacional Autónoma de México



**BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DE LA RAYA *Raja velezi*
(CHIRICHIGNO, 1973) EN EL SUROESTE DE LA COSTA
OCCIDENTAL DE BAJA CALIFORNIA SUR**

T E S I S

**Que para obtener el grado académico de
Maestro en Ciencias del Mar y Limnología
(Biología Marina)**

p r e s e n t a

BIOL. KATHERIN SOTO LÓPEZ

Director de Tesis: Dr. Felipe Galván Magaña

**Comité Tutorial: Dr. Xavier Chiappa Carrara
Dr. Javier Tovar Ávila
Dr. Vicente Anislado Tolentino
Dr. Agustín Hernández Herrera**

México Distrito Federal, 2014

PARA TI MAMA

Cesilia López Solorio

Gracias por tu ejemplo.

A mi hermana

Erika Nathali Soto López

Espero que puedas leerla toda

Gracias por apoyarme.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Felipe Galvan Magaña por permitirme trabajar con usted y entrar al mundo de los elasmobranquios, le agradezco todo su apoyo y confianza que me dio.

A mi comité tutorial: Dr. Xavier Chiappa Carrara, Dr. Javier Tovar Ávila, Dr. Vicente Anislado Tolentino y al Dr. Agustín Hernández Herrera por sus comentarios y apoyo en el desarrollo de la tesis.

A la Dra. Rosa Isabel Ochoa Báez por todos sus comentarios y apoyo tanto personal como profesional durante el desarrollo de esta tesis.

A la Dra. Olga Marcela Bejarano Álvarez por su amistad y apoyo en la realización de la tesis.

A Nancy por enseñarme y apoyarme en el procesamiento de mis muestras en el área de histología, me salvaste muchas veces, Gracias.

A mis tíos y primos que me brindaron la hospitalidad y apoyo durante toda la tesis, gracias tía Ana, tío Ramón, Gabriel y Rafael.

A mis amigos que me estuvieron apoyando y aconsejando en las diferentes etapas de la tesis, gracias Juan, Ziania, Ingrid, Rosario, Cea, Yassir, Vanessa.

A Alfredo que me apoyo y aguanto durante toda la tesis, gracias por tu apoyo, por estar al pendiente y por muchas cosas más.

A CONACYT por el apoyo económico dado para la realización de la tesis.

A los pescadores del campo pesquero de Punta Lobos, por la facilitación de las muestras que sin ellas no habría tesis.

Al posgrado del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología de la UNAM, Dra. Gloria Vilaclara Fatjo, M. en C. Diana Juárez Bustos, Guadalupe Godoy Medina y Mtra. Chantal G. Ruiz Guerrero gracias por todas las facilidades que me dieron para los trámites administrativos en el desarrollo de la tesis

ÍNDICE

INDICE DE FIGURAS Y TABLAS	i
GLOSARIO	vi
RESUMEN	viii
ABSTRACT	ix
INTRODUCCION	1
• Importancia pesquera	1
• Reproducción.....	2
ANTECEDENTES	4
JUSTIFICACIÓN	6
OBJETIVO GENERAL	8
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	8
AREA DE ESTUDIO	9
MATERIALES Y MÉTODOS	10
• Colecta e identificación de organismos	10
• Análisis histológico	11
• Análisis estadísticos	15
RESULTADOS	17
• COMPOSICIÓN DE TALLAS	17
○ Composición de tallas para machos.....	18
○ Composición de tallas para hembras.....	18
• DISTRIBUCIÓN TEMPORAL DE LOS ORGANISMOS CAPTURADOS	19
○ Distribución temporal de machos	20
○ Distribución temporal de hembras	21
• PROPORCIÓN DE SEXOS	22
• MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA DEL APARATO REPRODUCTOR	23
○ Machos	23
○ Hembras	25
• TALLA DE MADUREZ	30
○ Hembras	30
○ Machos	32
• DETERMINACIÓN DE LA TALLA DE LAS CÁPSULAS OVÍGERAS	34

• PROCESO DE ESPERMATOGÉNESIS Y OVOGENESIS	35
○ Espermatogénesis	35
○ Ovogénesis	44
• PRESENCIA DE ESPERMA EN MACHOS Y HEMBRAS	47
○ Machos	47
○ Hembras	50
• DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA DE LA GLÁNDULA OVIDUCAL	51
○ Hembras en maduración	51
○ Hembras maduras	57
○ Hembras maduras con capsulas ovígeras	67
DISCUSIÓN	68
• Composición de tallas	68
• Distribución temporal de los organismos capturados	70
• Proporción de sexos	71
• Morfología macroscópica del aparato reproductor	72
• Talla de madurez	74
• Determinación de la talla de las cápsulas ovígeras	76
• Proceso de espermatogénesis y ovogénesis	78
• Presencia de esperma en machos y hembras	81
• Descripción histológica de la glándula oviducal	84
CONCLUSIONES	89
LITERATURA CITADA	91

INDICE DE TABLAS

Tabla 1. Estados de madurez sexual para machos de <i>Raja velezi</i>	25
Tabla 2. Estados de madurez sexual para hembras de <i>Raja velezi</i>	30

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Captura histórica de elasmobranquios en Baja California Sur de 1997 a 2010	4
Figura 2. Distribución de <i>Raja velezi</i>	5
Figura 3. Área de estudio; campo pesquero Punta Lobos, Todos Santos, Baja California Sur	9
Figura 4. Distribución de tallas (AD en cm) para machos y hembras de <i>Raja velezi</i> durante el periodo de abril del 2008 a mayo del 2012 en Punta Lobos.	17
Figura 5. Distribución de tallas de <i>Raja velezi</i> durante los meses de captura.	17
Figura 6. Distribución de tallas (ancho de disco en cm) en machos de <i>Raja velezi</i>	18
Figura 7. Distribución de tallas (ancho de disco en cm) en hembras de <i>Raja velezi</i>	19
Figura 8. Distribución temporal de machos y hembras.....	20
Figura 9. Distribución de los estadios de desarrollo para machos de <i>Raja velezi</i>	20
Figura 10. Distribución de los estadios de maduración para hembras de <i>Raja velezi</i>	21
Figura 11. Proporción de sexos de <i>Raja velezi</i>	22
Figura 12. Proporción de sexos por estadio de desarrollo de <i>Raja velezi</i>	22
Figura 13. Aparato reproductor de machos de <i>Raja velezi</i> en estado inmaduro.....	23
Figura 14. Aparato reproductor de machos de <i>Raja velezi</i> en estado en maduración.....	24
Figura 15. Aparato reproductor de machos de <i>Raja velezi</i> en estado maduro..	25
Figura 16. Aparato reproductor de hembras en estado inmaduro de <i>Raja velezi</i>	26

Figura 17. Aparato reproductor de hembras en estado en maduración de <i>Raja velezi</i>	27
Figura 18. Aparato reproductor de hembras en estado maduro sin cápsulas ovígeras de <i>Raja velezi</i>	27
Figura 19. Diámetro de los ovocitos en hembras maduras sin cápsulas ovígeras durante los meses de muestreo.	28
Figura 20. Aparato reproductor de hembras en estado maduro con cápsulas ovígeras de <i>Raja velezi</i>	29
Figura 21. Diámetro de los ovocitos en hembras con cápsulas ovígeras durante los meses de muestreo	29
Figura 22. Relación ancho de disco (cm) y ancho de la glándula oviducal (cm) en diferentes estadios de desarrollo de la raya <i>Raja velezi</i>	31
Figura 23. Talla de primera madurez (ancho de disco en cm) para hembras de <i>Raja velezi</i>	31
Figura 24. Relación ancho de disco y longitud del gonopterigio en <i>Raja velezi</i>	32
Figura 25. Relación ancho de disco con respecto al ancho del testículo y largo del testículo en <i>Raja velezi</i>	33
Figura 26. Talla de primera madurez (AD en cm) para machos de <i>Raja velezi</i>	34
Figura 27. Cápsula ovígera de <i>Raja velezi</i> mostrando las medidas registradas.....	34
Figura 28. Contenido de las cápsulas ovígeras de <i>Raja velezi</i>	35
Figura 29.- Desarrollo folicular del testículo de la raya <i>Raja velezi</i> en un macho en maduración de 73 cm de ancho de disco.....	36
Figura 30. Corte transversal del testículo vista de un folículo seminífero al microscopio, mostrando el desarrollo compuesto.....	36
Figura 31.- Proceso de espermatogénesis en la periferia de los lóbulos testiculares de machos maduros, de 65 cm de ancho, la raya <i>Raja velezi</i>	37
Figura 32.- Diferenciación de los lóbulos testiculares en machos inmaduros de la raya <i>Raja velezi</i>	38
Figura 33.- Primeros estadios de espermatogénesis en machos inmaduros de la raya <i>Raja velezi</i>	38

Figura 34: Estadio I, gonocitos en machos inmaduros de la raya <i>Raja velezi</i> ..	39
Figura 35.- Estadio II, espermatogonia en machos en maduración, de 68 cm de ancho de disco, de la raya <i>Raja velezi</i>	40
Figura 36.- Estadio III, espermatocitos primarios en machos en maduración de la raya <i>Raja velezi</i>	41
Figura 37.- Estadio IV, espermatocitos secundarios en machos en maduración, de 68 cm de ancho de disco, de la raya <i>Raja velezi</i>	42
Figura 38.- Estadio V, espermatidas en machos en maduración, de 68 cm de ancho de disco, de la raya <i>Raja velezi</i>	42
Figura 39.- Estadio VI, esperma inmaduro en machos maduros de la raya <i>Raja velezi</i>	43
Figura 40.- Estadio VII, esperma maduro en machos en maduración, de 68 cm de ancho de disco, de la raya <i>Raja velezi</i>	43
Figura 41.- Folículos previtelogénicos en estadio temprano en hembra inmadura de 65 cm de ancho de disco, de la raya <i>Raja velezi</i>	44
Figura 42.- Folículos previtelogenicos en estadio tardío en hembras inmaduras de la raya <i>Raja velezi</i>	45
Figura 43.- Folículos vitelogénicos en hembras maduras de la raya <i>Raja velezi</i>	46
Figura 44.- Folículo post-ovulatorio en una hembra madura de 72 cm de ancho de disco, de la raya <i>Raja velezi</i>	46
Figura 45. Corte transversal del tracto reproductivo de un macho de 67 cm de ancho de disco, clasificado como en maduración, de la raya <i>Raja velezi</i> al nivel del epidídimo.....	47
Figura 46. Presencia de esperma en cortes transversales del tracto reproductivo de un macho de 68 cm de ancho de disco, clasificado como en maduración, de la raya <i>Raja velezi</i> a nivel de los ductos deferentes.....	48
Figura 47. Presencia de asociaciones definidas de espermatozoides en cortes transversales del tracto reproductivo de un macho de 68 cm de ancho de disco, clasificado como en maduración, de la raya <i>Raja velezi</i> , a nivel de los ductos deferentes.....	49
Figura 48. Corte transversal de la glándula oviducal de una hembra de 76 cm de ancho de disco, zona terminal.....	50

Figura 49. Corte longitudinal de la glándula oviducal de una hembra clasificada como en maduración de 65 cm de ancho de disco de raya <i>Raja velezi</i> , mostrando su diferenciación histológica.....	51
Figura 50. Zona “club” de la glándula oviducal de una hembra en maduración de 65 cm de ancho de disco de raya <i>Raja velezi</i> mostrando el epitelio columnar y los ácinos.....	52
Figura 51. Zona “papillary” de la glándula oviducal de una hembra en maduración de 65 cm de ancho de disco de raya <i>Raja velezi</i>	53
Figura 52. Disposición de las laminillas de la zona “Baffle” hacia la zona “terminal” en la glándula oviducal de una hembra en maduración de 65 cm de ancho de disco de raya <i>Raja velezi</i>	54
Figura 53. Zona “papillary” de la glándula oviducal en una hembra en maduración de 65 cm de ancho de disco de raya <i>Raja velezi</i>	54
Figura 54. Zona “Terminal” de la glándula oviducal de una hembra en maduración de 65 cm de ancho de disco de raya <i>Raja velezi</i>	55
Figura 55. Ácinos de la zona “Terminal” de la glándula oviducal de una hembra de 65 cm de ancho de disco de raya <i>Raja velezi</i>	56
Figura 56. Corte longitudinal de la glándula oviducal de una hembra madura de <i>Raja velezi</i> de 75 cm de ancho de disco mostrando las diferentes zonas.....	57
Figura 57. Zona club de una hembra madura de 75 cm de ancho de disco de raya <i>Raja velezi</i>	58
Figura 58. Ácinos de la zona “club” mostrando la transición entre esta y la zona “papillary” en una hembra madura de 74 cm de ancho de disco de la raya <i>Raja velezi</i>	58
Figura 59. Secreciones presentes en la región externa más periférica de la glándula oviducal a nivel de la zona “club” en una hembra madura de 74 cm de ancho de disco de <i>Raja velezi</i>	59
Figura 60. Secreciones presentes en la periferia de la región externa de la zona “club” en un hembra de 73 cm de ancho de disco de <i>Raja velezi</i>	60
Figura 61. Zona “papillary” de una hembra de <i>Raja velezi</i> de 75 cm de ancho de disco.....	61
Figura 62. Ácinos de la zona “papillary” de una hembra de <i>Raja velezi</i> de 73 cm de ancho de disco.....	61
Figura 63. Zona “baffle” de una hembra de <i>Raja velezi</i> de 75 cm de ancho de disco.....	62

Figura 64. Ácinos de la zona “baffle” en una hembra madura de <i>Raja velezi</i> de 75 cm de ancho de disco.....	62
Figura 65. Secreciones presentes en la región externa más periférica de la glándula oviducal en una hembra madura de 75 cm de ancho de disco de <i>Raja velezi</i> a nivel de la zona “bafle”.....	63
Figura 66. Secreciones presentes la región anterior de la zona de “baffle” en la glándula oviducal en una hembra madura de 75 cm de ancho de disco de la raya <i>Raja velezi</i>	64
Figura 67. Secreciones formadoras de cápsulas ovígeras presentes en la zona “bafle” de la glándula oviducal en una hembra madura de 75 cm de ancho de disco de raya <i>Raja velezi</i>	65
Figura 68. Epitelio de la zona “terminal” en una hembra madura de 75 cm de ancho de disco de <i>Raja velezi</i>	66
Figura 69. Ácinos presentes en la zona “terminal” de una hembra de 75 cm de ancho de disco de <i>Raja velezi</i>	66
Figura 70. Secreciones en una hembra madura de 78 cm de ancho de disco de <i>Raja velezi</i> , con cápsulas ovígeras	67
Figura 71. Esquema de espermatozeugmata de tipo compuesto	83

GLOSARIO

ÁCINO: saco constituido de células secretoras. El término ácino designa a la unidad secretora de las glándulas salivales (Leeson y Leeson 1985).

CÉLULAS DE SERTOLI: células ubicadas en los túbulos seminíferos en los testículos, que brindan soporte estructural y metabólico a las células durante la espermatogénesis (Leeson y Leeson 1985).

CÉLULAS GERMINALES: conjunto de células localizadas en las gónadas, que se convierten en gametos (óvulos y espermatozoides) a través de una división meiótica (Babin *et al.* 2007).

CÉLULAS PIRIFORMES: células que forman un puente intercelular a través del cual los componentes citoplasmáticos son transferidos en el ovocito (Babin *et al.* 2007).

EPITELIO: tejido formado por una o varias capas de células yuxtapuestas que constituyen la capa externa de la mucosa que recubre las cavidades externas, los conductos del cuerpo y la piel (Leeson y Leeson 1985).

ESPERMÁTIDA: célula haploide formada por división de un espermatozocito secundario en el testículo que da lugar a un espermatozoide (Leeson y Leeson 1985).

ESPERMATOCITO: célula germinal masculina que se encuentra en proceso de maduración (Lender *et al.* 1982).

ESPERMATOCISTO: unidades esféricas compuestas de células germinales y células de Sertoli rodeadas de una lámina basal (Serra- Pereira *et al.* 2001).

ESPERMATOGÉNESIS: proceso biológico en el cual se producen los espermatozoides en las gónadas de organismos machos (Lender *et al.* 1982).

ESPERMATOGONIA: célula germinal masculina en su estado diploide que se encuentra en multiplicación activa por mitosis en la zona germinativa de los testículos (Lender *et al.* 1982).

ESPERMATOZEUGMATA: conjunto de masas organizadas de espermatozoides unidos por una matriz cohesiva para formar masas ovoides o amorfas (Pratt y Tanaka 1994).

ESPERMATOZOIDE: gameto masculino maduro que se caracteriza porque presenta movilidad (Lender *et al.* 1982).

ESPERMIOGÉNESIS: fase en que el espermatozoide sufre una diferenciación para adquirir su forma final (Houillon 1978).

FECUNDIDAD: 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 (Dood 1983).

FOLÍCULO POSTOVULATORIO: membrana externa que rodea al ovocito (teca y granulosa) que permanece como residuo después de que el ovocito ha sido liberado (Leeson y Leeson 1985).

GONOPTERIGIOS: órganos copuladores característicos de los machos en elasmobranchios. Son modificaciones de los bordes internos de las aletas pélvicas y se prolongan hacia atrás, mucho más que las aletas mismas (Álvarez del Villar 1978).

LUMEN: región central de los folículos, hacia el cual ocurre la maduración de los gametos (Babin *et al.* 2007).

MEIOSIS: proceso de división celular en el que el número de cromosomas en las células diploides se reduce a la mitad para formar los gametos (Leeson y Leeson 1985).

MITOSIS: proceso de división celular característica de las células somáticas que produce dos células hijas con el mismo número de cromosomas y de la misma clase de la célula madre (Leeson y Leeson 1985).

OVOCITO: célula sexual femenina en fase de crecimiento (Curtis *et.al.*, 2001).

OVARIOS CON DESARROLLO ASINCRÓNICO: hay presencia simultánea de ovocitos en varios estados de desarrollo dentro del ovario (Babin *et al.* 2007).

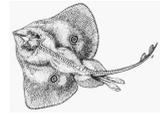
OVOGÉNESIS: proceso mediante el cual los gametos femeninos se multiplican y maduran hasta la formación de ovocitos maduros (Curtis *et.al.* 2001).

RESUMEN

Raja velezi (Chirichigno 1973) es una raya ovípara de la familia Rajidae, capturada por la pesca artesanal en la costa suroccidental de Baja California Sur. La biología de esta especie es poco conocida, existiendo únicamente registros de su presencia en el Pacífico mexicano. El presente estudio aporta información de la biología reproductiva de *R. velezi*, para conocer su capacidad reproductiva y recomendar medidas que contribuyan a su manejo pesquero. Se analizó un total de 105 rayas, 56 machos y 49 hembras, capturadas de marzo a julio. El tamaño de las rayas varió de 53 a 96 cm de ancho de disco (AD). Los machos midieron de 53 a 94 y las hembras de 59 a 96 cm de AD. Se identificaron tres estadios de madurez sexual: inmaduros, en maduración y maduros, siendo las hembras en maduración poco comunes en las capturas. Las hembras presentaron mayor tamaño que los machos, tal diferencia se presenta en los organismos maduros pero no en organismos inmaduros y en maduración. La proporción de sexos fue de 0.87H:1M no mostrando diferencias significativas. Ambos ovarios fueron funcionales, siendo visible el inicio del desarrollo de los ovocitos de forma asincrónica en la parte media de los ovarios. El ovario fue clasificado de tipo externo. El tamaño máximo de la glándula oviducal (GO) fue de 5 cm de diámetro y 3 cm de largo, existiendo una relación lineal entre el crecimiento de la GO y el AD. La descripción histológica de la GO permitió identificar cuatro zonas: "club", "papillary", "baffle" y "terminal". Las zonas "club" y "baffle" mostraron el desarrollo de secreciones, mientras que se localizó el almacenamiento de esperma en la zona "terminal". El útero mostró segmentación estructural al alcanzar la madurez, que es el inicio de la aparición de ovocitos vitelogénicos en los ovarios. Ambos testículos fueron también funcionales, siendo el testículo derecho más grande. Aunque los testículos presentaron diferencias significativas del tamaño, el área de desarrollo de los lóbulos testiculares fue similar. El máximo tamaño testicular fue de 10 cm de largo y 5 cm de ancho, no existiendo relación entre el crecimiento del testículo y el AD. Se caracterizó histológicamente el desarrollo de la espermatogénesis. La primera madurez sexual en las hembras se alcanza a los 68.7 cm de AD y en los machos a los 65.1 cm de AD. Las hembras grávidas fueron registradas en abril y mayo, presentando la formación de dos cápsulas ovígeras, una por cada glándula oviducal, lo cual es descrito como oviparidad simple. Las cápsulas ovígeras midieron de 7 a 9.5 cm de largo (sin contar los tendrillos) y 7 cm de ancho.

ABSTRACT

Raja velezi (Chirichigno 1973) is an oviparous ray from the Rajidae family, caught by the artisanal fishery in the southwest coast of Baja California Sur. The biology of this species is poorly known, being recorded only in the Mexican Pacific coast. The present study provides information on the reproductive biology of *R. velezi* to assess its reproductive potential, in order to recommend possible measurements to help with its fishery management. A total of 105 rays was analyzed, 56 males and 49 females, caught from March to July. The sizes ranged from 53 to 96 cm of disc width (AD). Males ranged from 53 to 94 cm of AD whereas females ranged from 59 to 96 cm of AD. Three stages of sexual development were identified: immature, maturing and mature, though maturing females were uncommon in the landings. Females attained larger sizes than males; such difference was presented only in mature organisms but not in immature and maturing organisms. The sex ratio was 0.87H:1M, showing no significant differences by sex. Both ovaries were functional, with a visible asynchronously oocyte development in the middle of the ovary. The ovary was classified as an outer type. The maximum oviducal gland (GO) size reached was 5 cm of diameter and 3 cm of length, with a linear relationship between GO and AD increments. The histological description of the GO allowed identifying four zones: "club", "papillary", "baffle" and "terminal". The "club" and "baffle" zones showed the development of secretions, whereas sperm storage was located in the "terminal" zone. The uterus showed structural segmentation when maturity is reached, at the beginning of vitellogenic oocytes development in the ovaries. In males both testis were functional as well, but the right testicle presented larger development. Although significant differences were found between testis sizes, the development area of testicular lobes was similar in both. Maximum testis size reached was 10 cm of length and 5 cm of width without relationship between testis size and AD. The description of histologically development spermatogenesis is presented. First maturity of females is reached at 68.7 cm of AD and 65.1 cm of AD for males. Gravid females were registered during April and May, presenting two ovigerous capsules, one for each oviducal gland, thus being classified as simple oviparity. Ovigerous capsules measured 7 to 9.5 cm of length (excluding tendrils) and 7 cm of width.



INTRODUCCIÓN

Los elasmobranquios pertenecen a la clase Chondrichthyes y comprenden a los tiburones y rayas (Wourms 1977, Camhi *et al.* 1998, Márquez 2002). Son un grupo muy diverso, contando aproximadamente con 9 órdenes, 57 familias, 178 géneros y 1170 especies (Compagno 2005).

Dentro de los elasmobranquios, las rayas o peces batoideos incluyen a los peces sierra, rayas, peces guitarra y rayas eléctricas (torpedos). Todos estos se caracterizan por tener el cuerpo aplanado dorso–ventralmente adquiriendo la forma de un disco circular a ovalado y las aberturas branquiales en posición ventral (Fischer *et al.* 1995, Camhi *et al.* 1998, Valadez 2007). Se conocen alrededor de 635 especies, distribuidas en 9 sub-órdenes, 23 familias y 72 géneros (Compagno 2005).

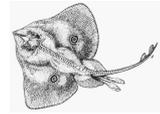
Los batoideos constituyen un grupo que se extiende desde el Ecuador hasta el círculo polar Ártico y Antártico, y se distribuyen en todos los océanos. Viven a diversas profundidades: desde las aguas someras de la costa hasta las grandes fosas, entre 2600 y 3000 metros. Son primordialmente marinos, aunque también se encuentran en las bocas de ríos, lagunas y estuarios (Castro 1965, Wourms y Demski 1993, Fischer *et al.* 1995, Valadez 2007). La gran mayoría de las rayas viven en aguas cálidas y templadas; sin embargo hay ciertas rayas que habitan en aguas frías (Castro 1965, Fischer *et al.* 1995).

Del grupo de los batoideos, la familia Rajidae tiene representantes en todas las latitudes y profundidades (Castillo 2007, Fischer *et al.* 1995, Valadez 2007). Es un grupo muy diverso tanto morfológicamente, distribución geográfica y en especies, contando con un total de 13 géneros y 162 especies (FAO 1995, Compagno 2005). Los Rajidae incluyen a las rayas que no presentan una espina caudal y son ovíparas. Los huevos tienen una cubierta córnea y con filamentos del mismo material (Castro 1965).

- **Importancia pesquera**

A través de la historia, los tiburones y rayas han sido utilizados como recurso pesquero por diferentes culturas alrededor del mundo. En México, a partir de 1981 la pesquería de los elasmobranquios se expandió de manera notable y se convirtió en una de las principales pesquerías en América, produciendo un aproximado de 30,000 toneladas por año (Castillo *et al.* 1996, Villavicencio-Garayzar 1996a). En 2007, fue la sexta nación de mayor captura de elasmobranquios a nivel mundial (FAO 2009), representando el 4.3% de la captura mundial con un total de aproximadamente 34 mil toneladas (Sosa-Nishizaki 2008, FAO 2009)

La pesquería de rayas ha tenido auge en los últimos años, siendo una actividad sustentada en especies estacionales (Meza-Castillo *et al.* 2012). De igual



manera son una alternativa de empleo y fuente de alimento, cuando otros recursos costeros de mayor importancia económica, como el camarón, la jaiba y la langosta, se encuentran en veda.

En las costas mexicanas se han identificado un total de 87 especies de rayas distribuidas en cinco órdenes, 14 familias y 27 géneros. La abundancia de rayas en las costas de México hace importante el desarrollo de una pesquería controlada. Si bien existe información general de la taxonomía, biogeografía, distribución y diagnóstico del grupo, los estudios biológicos sobre batoideos son escasos, en especial aquellos enfocados a su biología reproductiva (Castro-Aguirre *et al.* 1996).

Las rayas se explotan para consumo fresco, congelado, salado o ahumado (Fischer *et al.* 1995). Los usos industriales son extensos: carnada, harinas, fertilizantes y extracción de aceites (Castro 1965, Valadez 2007).

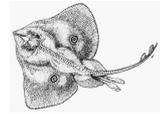
Las rayas son también capturadas frecuentemente en los lances camaroneros, cuando estos operan con sus redes de arrastre, por lo que se le considera como fauna de acompañamiento. Igualmente son capturadas con chinchorros playeros, atarrayas y cimbras (CONAPESCA-INP 2004).

En el año 2007, la captura incidental de rayas en el Pacífico mexicano fue de 3499 toneladas, con un aproximado de 29 especies, siendo menor a los años anteriores, como el 2002 que fue de 4766 toneladas de 24 especies. Estos datos pueden ser conservadores, debido a que el monitoreo de la flota pesquera es deficiente (SAGARPA 2010).

Históricamente, más del 85% de la producción de rayas proviene de los estados del noroeste (Sonora, Baja California, Baja California Sur y Sinaloa). Las mayores capturas se observan en los meses de primavera y verano, siendo la mayoría de ellas, hembras grávidas. Una prospección de la pesquería de tiburones y rayas del Golfo de California, realizada durante 1998-1999, indicó que algunas zonas del Noroeste de México son utilizadas por estos grupos de especies para la reproducción (apareamiento, nacimiento y crianza), incluyendo Bahía Almejas en Baja California Sur (SAGARPA 2006, SAGARPA 2010).

- **Reproducción**

Los elasmobranchios a diferencia de los peces óseos producen relativamente pocas crías, tienen baja fecundidad (con algunas excepciones) y un crecimiento lento colocándolos como organismos vulnerables. Sin embargo, han tenido éxito como grupo, debido a diversos factores, entre los cuales el desarrollo de estrategias reproductivas eficientes, que incluyen la fertilización interna, la nutrición materna de embriones y el nacimiento de organismos



completamente desarrollados (Castro 1965, Wourms 1977, Wourms y Demski 1993, Hamlett 2005, Galván-Tirado 2007, Hoyos-Padilla *et al.* 2012).

Según Walker (1998), la capacidad de resistencia de los elasmobranquios está relacionada con la productividad biológica, siendo aquellos que poseen ciclos reproductivos anuales y que producen un importante número de crías los que soportan en mejores condiciones la explotación.

Los elasmobranquios pueden presentar diferentes tipos de reproducción divididos en dos categorías con base en la nutrición del embrión: lecitotrófico (donde el desarrollo del embrión es subsanado por medio del saco vitelino) o matotrófico (donde la alimentación del embrión es por medio de la conexión directa con la madre); Los tipos de reproducción pueden dividirse también por el lugar donde se desarrolla el embrión: ya sea fuera de la madre (ovíparo) o dentro de la madre (vivíparo) (Wourms y Demski 1993, Hamlett 2005). Todos los batoideos (a excepción de la familia Rajidae que son ovíparos) son vivíparos (Castro 1965).

El aparato reproductor de los elasmobranquios ha presentado modificaciones y/o adaptaciones como estrategias evolutivas. Las hembras presentan dos ovarios que pueden o no ser funcionales. En los batoideos predomina la funcionalidad de ambos ovarios. La glándula oviducal es una región del oviducto que produce las capas duras o gelatinosas que recubren a las cápsulas ovígeras y además es un receptáculo en el almacén de espermatozoides, lugar donde también ocurre la fertilización (Hamlett 2005).

Los machos presentan testículos pareados, elongados y aplanados dorsoventralmente. Los espermatozoides maduros, salen de los testículos por medio de los conductos eferentes, pasando a través del epidídimo y vasos deferentes hasta la vesícula seminal (Hamlett 2005). El almacenamiento de espermatozoides se realiza en el tercio final del epidídimo y la vesícula seminal por tiempo indefinido, hasta el momento de la eyaculación, la cual sucede por medio de los gonopterigios, que son un par de apéndices ubicados en la parte ventral de los organismos en el margen interno de las aletas pélvicas por debajo de la cloaca (Pratt 1988, Hamlett 1999).

En años recientes, el estudiar la biología reproductiva ha sido uno de los objetivos de los esfuerzos de investigación, con la finalidad de establecer el estado de madurez, desarrollo de los organismos capturados (adultos y juveniles), así como el número de crías y periodo de gestación para incorporar dicha información en modelos demográficos que además incluyen estudios de edad y crecimiento, mortalidad por pesca, fecundidad, etc. para aportar elementos biológicos para el manejo de la pesquería (Holts *et al.* 1998).



ANTECEDENTES

La captura de batoideos en México es una actividad relativamente nueva en comparación a la pesquería de tiburones que comenzó en la década de 1930. A finales de la década de 1980 aumentó la captura de los batoideos, debido a la elevada pesca incidental en las embarcaciones camaroneras (Márquez-Farías *et al.* 2006).

En la industria pesquera mexicana, la captura de batoideos contribuye solo con el 4.2% del total de pesca. Sin embargo, desde el punto de vista de la pesca artesanal y considerando la generación de datos recientes de captura de campos pesqueros, se demuestra que es un recurso pesquero importante a nivel nacional, incluyendo la costa occidental de la península de Baja California Sur (Márquez-Farías *et al.* 2006, Serrano-López 2009).

Baja California Sur es uno de los estados del litoral del Pacífico mexicano con mayor captura de elasmobranquios; en 2009 fue el segundo estado con más capturas representando el 22.9% de la captura total del Pacífico Mexicano (3,499 toneladas), superado por el estado de Sinaloa (SAGARPA 2010). Los desembarques analizados de la costa occidental de Baja California Sur estuvieron dominados por los tiburones, ya que contribuyeron con el 61%; mientras que los batoideos contribuyeron con el 39% de las capturas totales (Fig. 1) (Ramírez-Amaro *et al.* 2012).

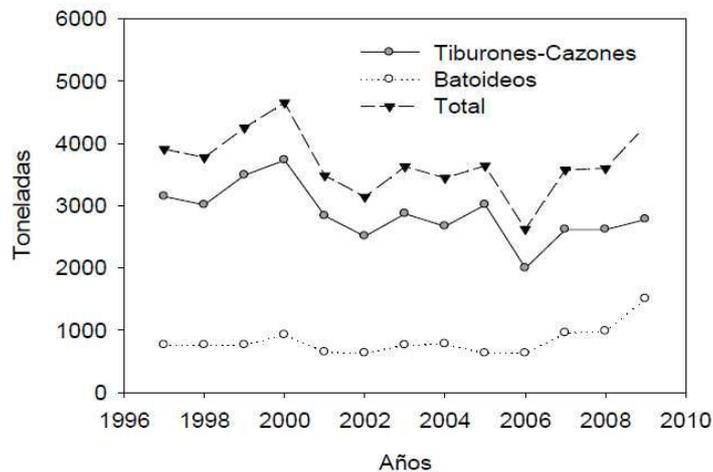
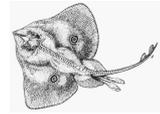


Figura 1. Captura histórica de elasmobranquios en Baja California Sur de 1997 a 2010 (Tomada de Ramírez-Amaro *et al.* 2012).

Entre las rayas, la familia más diversa en aguas mexicanas es la Rajidae, con 27 especies documentadas (Castro-Aguirre *et al.* 1996).

Raja velezi (Chirichigno, 1973) pertenece a esta familia y al orden Rajiformes. Su nombre común es raya chillona. La talla máxima reportada es de 100 cm de longitud total (LT) (Castillo 2007). Entre sus características anatómicas se



encuentran los siguientes: márgenes anteriores del disco convexos, ápices de las aletas pectorales agudos, contando con aguijones en la línea media del cuerpo, coloración dorsal café-pardo, aletas pectorales con un ocelo central bien demarcado (siendo un anillo oscuro rodeado de un área de color amarillo claro), y vientre de color blanco (Santana *et al.* 2004).

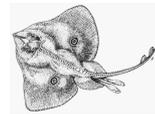
Se trata de una especie bentónica de aguas templado-tropicales que se le puede encontrar entre los 35 a 300 m de profundidad, comúnmente de los 35 a los 140 metros. Se alimenta principalmente de crustáceos, poliquetos y teleosteos. Se distribuye desde el Golfo de California hasta Costa Rica, Colombia y Perú (Fig. 2) (McEachran y Notarbartolo 1995, Santana *et al.* 2004; Castillo 2007, Valenti y Kine 2009).



Figura 2. Distribución de *Raja velezi*. Fuente del mapa Valenti y Kine 2009, fotografía Katherin Soto 2012

La lista roja de la IUCN no tiene catalogada a esta raya debido a la falta de información biológica de esta especie, encontrándose en el estatus de información insuficiente (Data Deficient, DD) (Valenti y Kyne 2009).

En términos generales son pocos los trabajos que se han realizado específicamente sobre rayas en las costas del Pacífico mexicano, cabe señalar los que abordan aspectos de distribución y abundancia (Villavicencio-Garayzar 1991;1993a), biología reproductiva (Villavicencio-Garayzar 1993b, 1995a, 1995b, 1996a, 1996b, Bejarano-Álvarez 2011, Blanco-Parra *et al.* 2009a, 2011b, Meza-Castillo *et al.* 2012), listados taxonómicos (Villavicencio-Garayzar *et al.* 1994) y alimentación (Castro-Aguirre *et al.* 1993) entre otros, que



constituyen un importante aporte al conocimiento de la biodiversidad y aspectos ecológicos de las rayas para la región.

Hasta la fecha la información disponible de *Raja velezi* se basa en organismos registrados en campos pesqueros. En el norte del Golfo de California se ha registrado la presencia de esta especie con tallas de 22.3 a 100 cm de LT para hembras y de 26.6 a 90 cm para machos (Castillo 2007).

La talla de madurez sexual, con base a características macroscópicas, ha sido estimada para machos a los 65 cm y para hembras a los 90 cm de longitud total (Castillo 2007).

Debido a que los elasmobranquios son organismos de baja tasa reproductiva en comparación con los peces teleósteos (Bonfil 1994, Mejía-Salazar 2007), y por lo tanto más susceptibles de ser sobreexplotados. Por lo anterior, es necesario conocer la biología reproductiva de las especies para recomendar medidas de conservación que ayuden a mitigar la pesca sobre la especie.

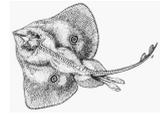
JUSTIFICACIÓN

La investigación biológica de los recursos pesqueros ha tenido poca atención en nuestro país, aun cuando México es parte de los siete países que reportan la mayor producción pesquera a nivel mundial, las limitaciones que se presentan en la información biológica de las especies han hecho que no se tenga una explotación sustentable a largo plazo (Smith *et al.* 2009), lo que implicaría una posible sobreexplotación de los recursos pesqueros y la posible extinción de especies o la disminución de sus poblaciones a números que las ponga en riesgo, por lo que es importante conocer su biología para recomendar medidas de conservación o manejo adecuado de las especies.

La poca información que existe sobre las capturas de elasmobranquios en México por parte de las pesquerías de pequeña escala se encuentra fragmentada en lapsos cortos de tiempo y áreas geográficas muy limitadas. Además la información documentada en la Carta Nacional Pesquera es considerada poco confiable, debido a que no considera factores importantes como el esfuerzo pesquero (Arce *et al.* 2012).

Los batoideos representan un valioso recurso potencial en México, pero debido a sus características de las historias de vida, han demostrado ser vulnerables a intensos y prolongados periodos de pesca (Castillo 2007).

Raja velezi es una especie explotada de manera comercial, principalmente en el uso de las aletas pectorales para consumo humano; sin embargo es casi nula la información sobre sus aspectos biológicos, no solo a nivel nacional sino en todos los lugares donde es un recurso explotado, por lo que es de suma importancia conocer con mayor detalle sobre la biología de esta especie. En



este sentido la biología reproductiva aporta información importante para los modelos de manejo pesquero para la sustentabilidad del recurso.

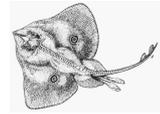
Los componentes claves del estudio de la reproducción son: proporción de sexos al nacer, relación entre la talla o edad materna, número de descendientes y la proporción de hembras de la población que contribuyen al reclutamiento anual con respecto de su talla o edad, esta última a su vez, requiere conocer la periodicidad del ciclo ovárico y la gestación (Hoyos-Padilla 2003).

Para determinar la biología reproductiva, generalmente son usados datos morfométricos y características externas de los organismos, tomando medidas de las estructuras reproductivas para categorizar a hembras y machos como adultos o juveniles. Asimismo, se estima la fecundidad mediante el conteo de embriones (en el caso de especies vivíparas) (Bejarano-Álvarez 2007).

Se utilizan diferentes técnicas en los estudios de biología reproductiva, ya sean métodos empíricos a escala macroscópica, como las escalas de madurez, o métodos más precisos, como las técnicas histológicas, las que permiten demostrar a escalas más pequeñas los procesos que ocurren dentro de las células, tejidos, órganos y sistemas. Usando en conjunto los dos tipos de métodos es posible obtener mejores resultados (Pilling *et al.* 2006, Cruz 2010).

Actualmente, se realizan más estudios que utilizan el método histológico como una herramienta complementaria para conocer la biología reproductiva, con énfasis en el proceso de gametogénesis, el tipo de almacén de esperma, el tiempo que está almacenado y de esta manera poder determinar periodos definidos de actividad reproductiva como el apareamiento, la fertilización de los oocitos y el inicio de la gestación, estableciendo estados de madurez más específicos (Bejarano-Álvarez 2007, Galindez y Estecondo 2008).

Esta investigación aporta información sobre la biología reproductiva de la raya *Raja velezi*, permitiendo conocer la capacidad reproductiva de la especie usando bases histológicas más precisas para esta descripción y consecuentemente proporcionará bases para recomendar medidas pesqueras que contribuyan a una correcta administración de este recurso pesquero.

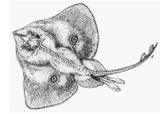


OBJETIVO GENERAL

Describir la biología reproductiva de la raya *Raja velezi* en el suroeste de Baja California Sur.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Analizar la composición de tallas y distribución temporal de los organismos capturados.
- Determinar la proporción de sexos.
- Describir la morfología macroscópica del aparato reproductor en machos y hembras.
- Determinar y caracterizar la talla de madurez para ambos sexos.
- Determinar la talla de las cápsulas ovíferas.
- Describir el proceso de espermatogénesis y ovogénesis.
- Describir la presencia de esperma para machos y hembras.
- Describir histológicamente la glándula oviducal.



ÁREA DE ESTUDIO

Las muestras se obtuvieron de la pesca artesanal en el suroeste de la península de Baja California Sur (B.C.S.), en el campo pesquero de Punta Lobos, perteneciente al poblado de Todos Santos, municipio de la Paz, B.C.S. (Fig. 3).

La costa occidental de la península de Baja California Sur está dominada por aguas frías de la corriente de California, y que también entran al Golfo de California a través de mezcla por mareas, y aguas templadas de la corriente Norecuatorial (Ochoa-Díaz 2009). La temperatura media anual es de 22 a 24°C y la precipitación anual es de menos de 100 mm (Robles 1985). Se han observado surgencias a lo largo de la costa occidental de Baja California Sur, pero hay ciertos lugares y épocas del año en que es más probable que ocurran. Las surgencias son más frecuentes al sur de Bahía Magdalena, durante los primeros meses del año y en primavera (Hernández-Aguilar 2008).

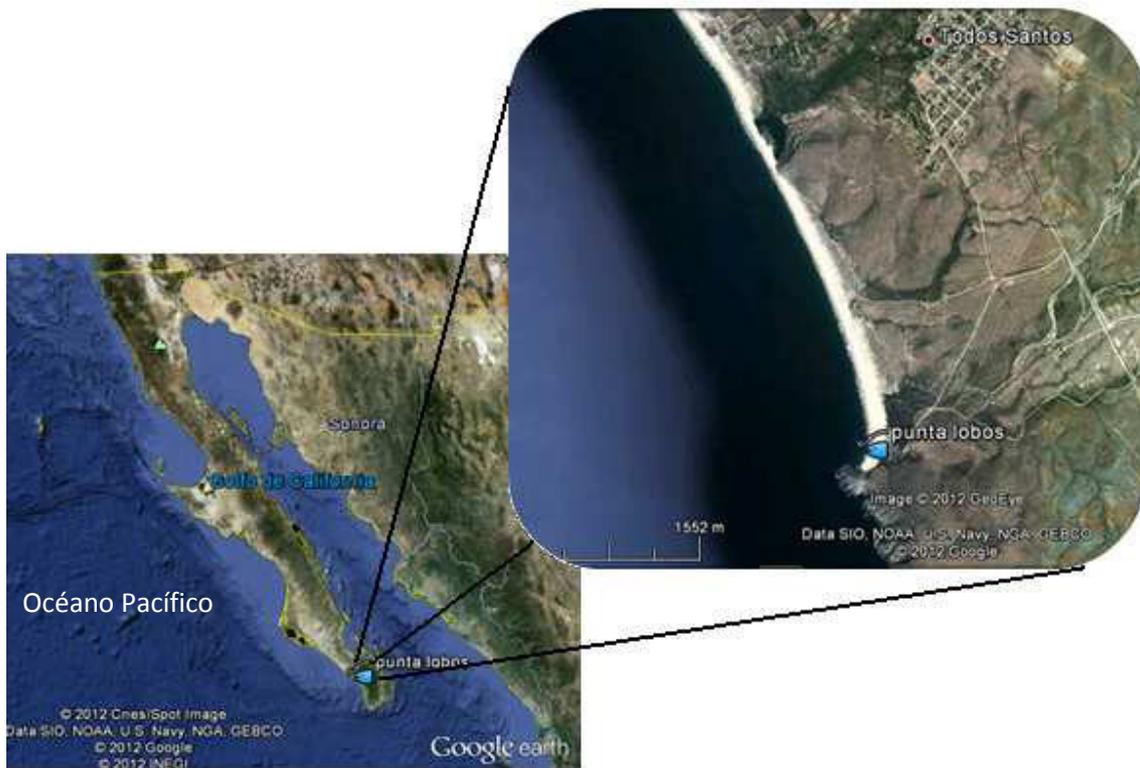
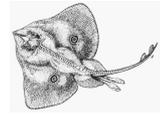


Figura 3. Área de estudio; campo pesquero Punta Lobos, Todos Santos, Baja California Sur. Fuente Google earth 2012.



MATERIALES Y MÉTODOS

- **Colecta e identificación de organismos:**

Se realizaron salidas mensuales al campo pesquero de Punta Lobos, de abril del 2008 a mayo del 2012, obteniendo registros de los meses de marzo a septiembre que es cuando la pesca es dirigida a tiburones y rayas en la zona. Los organismos capturados fueron identificados por medio de la clave taxonómica de Santana *et al.* (2004). Se registró la localidad de muestreo, fecha, distancia de la costa a la zona de pesca y el método de pesca.

Una vez identificada la especie se midió el ancho de disco (AD) en centímetros, de punta a punta de las aletas pectorales, esta medida se tomó como parámetro a analizar debido a que varios organismos presentaban amputación de la aleta caudal, Se determinó el sexo a través de la presencia de gonoptergios (órganos copuladores) en los machos.

Para la determinación del estado de madurez sexual en los machos, se midieron los gonoptergios desde la base hasta la punta distal y se determinó el grado de calcificación (sin calcificar o calcificado) conforme a la consistencia y dureza del gonoptergio (flácido o duro), se verificó que rotaran en 180° y que se abriera la punta distal (rifiodón) (Clark y Schmidt 1965, Pratt 1988). La presencia de moretones y/o semen en la punta del rifiodón fueron también características que se consideraron para determinar la madurez del organismo.

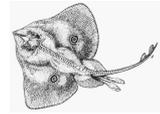
En las hembras, se observó la presencia de ovocitos vitelogénicos al igual que la presencia de cápsulas ovígeras, registrando esto como referencia de madurez sexual; se midió el diámetro del ovocito más grande, la parte más ancha del útero y su longitud, al igual el largo y ancho del ovario y de la glándula oviducal.

Se midió la longitud, el ancho y el número de cápsulas ovígeras presentes.

El aparato reproductor de ambos sexos fue extraído y fijados en formol al 10% neutralizado, para su posterior análisis en el laboratorio.

Para la clasificación del estado de madurez se utilizó la escala propuesta por Grijalba-Bendeck *et al.* (2008) estableciendo la madurez sexual como:

HEMBRAS	
I	Inmadura: Sin desarrollo ovárico, ovarios pequeños de textura acuosa, oviductos delgados poco diferenciados.
II	En maduración: Ovarios delgados, consistentes y de apariencia uniforme, sin ovocitos visibles, oviductos delgados y diferenciados.
IIIa	Madura sin cápsulas ovígeras en úteros: Ovario con ovocitos visibles, oviductos gruesos y útero parcialmente ensanchado.
IIIb	Madura con cápsulas ovígeras en úteros: Ovarios con ovocitos, cápsulas ovígeras ubicados dentro de los úteros, que se encuentran



ensanchados, ocupando gran parte de la cavidad visceral.

IV

Maduras post expulsión de cápsulas ovígeras: Útero ensanchado con paredes sanguinolentas y flácidas. Abertura cloacal expandida.

MACHOS

I

Inmaduro: Testículos acuosos, ductos poco diferenciados, gonopterigios pequeños, flácidos, rifiodón cerrado, ausencia de semen y rotación menor a 360°

II

En maduración: Testículos consistentes, ductos bien desarrollados, epidídimos enrollados en la porción anterior y media, del ducto eferente, gonopterigio aumenta de tamaño y están parcialmente calcificados.

III

Maduro: Testículos con lóbulos prominentes indicativos de activa producción espermática, conducto deferente se extiende adyacente a la columna vertebral, epidídimo enrollado a lo largo de todo el conducto hasta llegar a la vesícula seminal, gonopterigio totalmente calcificado, con rifiodón abierto y presencia de semen.

Para los organismos que no se pudieron obtener las muestras físicas del aparato reproductor para poder establecer su madurez sexual se optó en tomar diferentes criterios.

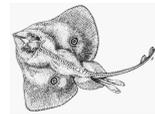
Para los machos se catalogaron en los diferentes estadios de desarrollo por medio de las características externas del gonopterigio, tomando en cuenta la calcificación y la rotación del mismo como parámetros. Los organismos que presentaban calcificado el gonopterigio, además de que esté rotara los 180 grados, se registraron como maduros (independientemente de que presentaran o no semen); los que estaban semi calcificados, aun cuando los gonopterigios rotaran se registraron como en maduración, y los que no presentaban calcificación ni rotación como inmaduros.

En el caso de las hembras se estableció el criterio de clasificación a partir de las muestras presentes ya que los organismos que medían más de 70 cm de ancho de disco presentaban ya las características definidas como maduras, por lo que se generalizó este criterio para los registros que no contaban con muestras físicas.

- **Análisis histológico:**

Una vez realizada la descripción anatómica del sistema reproductor, se procedió a realizar los cortes histológicos de las estructuras reproductivas. En los machos se hicieron cortes histológicos en la parte media del testículo y epidídimo para observar el almacén de esperma y determinar el estado de madurez (Pratt y Tanaka 1994) al igual que caracterizar la espermatogénesis.

En las hembras se realizaron cortes histológicos en la parte media y posterior de la glándula oviducal para observar el almacén de esperma (Pratt 1993), al



igual que en el ovario para poder determinar el estado de madurez y caracterizar la ovogénesis.

Para el análisis histológico se realizó la técnica descrita por Carson y Hladik (2009), en la cual las muestras fueron lavadas con agua corriente durante 6 a 8 horas, para eliminar el exceso de formol y después se colocaron en alcohol al 70% durante dos o tres días. Posteriormente se realizó la deshidratación, la cual consistió en cambios sucesivos de alcohol a concentraciones crecientes en un procesador de tejidos e incluidos en parafina.

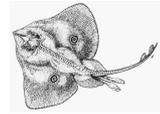
Se realizaron cortes de 3 μm de grosor con un micrótomo y se colocaron en portaobjetos. Después se pasaron en la estufa para disolver la parafina excedente y se realizó la desparafinación con cambios sucesivos en “americlear” (el cual es un disolvente que solubiliza la parafina y elimina el exceso que pudiera quedar en los cortes) y pasando por alcohol a concentraciones decrecientes (lo cual retira el disolvente utilizado y prepara al corte a la técnica de tinción). Se aplicó la técnica de tinción tricrómica de Mallory para ovario, Hematoxilina–Eosina y PAS para glándula oviducal; y la técnica de Feulgen y Hematoxilina-Eosina para los testículos. Las muestras después de ser teñidas se montaron con Citoseal.

Cada una de las técnicas de tinción reveló los distintos componentes celulares presentes en las estructuras tomando una determinada coloración dependiendo de su constitución. A continuación se detalla las coloraciones a obtener por medio de cada técnica de tinción:

1. Técnica tricrómica de Mallory: muestra el citoplasma de color rosa violáceo o rojo, los núcleos rojos o marrón, los gránulos de vitelo color naranja o rojo, los hematíes color naranja y el colágeno de color azul.
2. Técnica Hematoxilina – Eosina: se observan los núcleos en color azul oscuro o violeta intenso, el citoplasma en rosa, anaranjado o rojo tenue, las fibras colágenas en rosa o rojo, el vitelo en naranja intenso y los eritrocitos en color rojo.
3. Técnica del Ácido periódico – Schiff (PAS) (para identificación de carbohidratos): si la reacción de Schiff es positiva las estructuras aparecen teñidas en color rosa o violeta, los núcleos azules y el citoplasma en amarillo.
4. Técnica de Feulgen (para la identificación de ADN): el ADN de los núcleos se colorea de color magenta, el citoplasma y otras sustancias en color verde.

La observación de las laminillas se hizo con un microscopio óptico Olympus BX51.

Las muestras fueron fotografiadas con una cámara digital OLYMPUS DP72, y procesadas mediante el software DP2-BSW de Olympus.



Para la caracterización de los diferentes fases de la espermatogénesis y la ovogénesis se usó la clasificación de Serra-Pereira *et al.* (2011):

MACHOS

Estadio I Gonocitos: Los espermatocistos están ubicados bajo el epitelio celómico en la zona germinal. Consisten de gonocitos no organizados y de algunas espermatogonias rodeadas de una membrana basal. ,

Estadio II Espermatogonia: Las espermatogonias y las células de Sertoli se dividen y los espermatocistos aumentan de tamaño, las espermatogonias están alineadas en la membrana basal y los núcleos de las células de Sertoli inician la migración hacia la periferia del espermatocisto, rodeados de un lumen central.

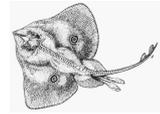
Estadio III Espermatocito primario: Los espermatocistos consisten de espermatocitos primarios que son el resultado de la primera división meiotica de la espermatogonia. Los espermatocitos primarios tienen núcleos grandes y estos llenan todo el espermatocisto, las células de Sertoli se encuentran en la periferia.

Estadio IV Espermatocito secundario: Los espermatocistos están formados de la división de los espermatocitos primarios generando los espermatocitos secundarios, los cuales tienen pequeños y redondeados núcleos y el cromosoma está condensado.

Estadio V Espermatida: Consiste de la formación de espermatidas a partir de la segunda división meiotica de los espermatocitos secundarios. Las espermatidas muestran nucleos elípticos y emergen flagelos, y se encuentran separados y no organizados dentro de los espermatocistos.

Estadio VI Esperma inmaduro: Consiste de las espermatidas que han sufrido espermiogénesis formando espermatozoides inmaduros alargados, los cuales quedan en manojos con la cabeza dirigida hacia la membrana basal y la cola proyectándose hacia el lumen.

Estadio VII Esperma maduro: Consiste en espermatozoides maduros que están organizados en manojos compactos asociados con las células de Sertoli organizadas en la periferia.

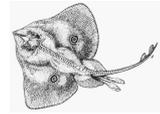


HEMBRAS

Fase 1	Folículos primordiales: Es el ovocito primario rodeado de una capa delgada de epitelio folicular.
Fase 2	Folículos primarios: los folículos primordiales son transformados en folículos primarios, en donde el ovocito aumenta de tamaño y la capa del epitelio folicular aumenta de grosor, formando un epitelio columnar conteniendo dos tipos de células: pequeñas y grandes (teca externa e interna respectivamente).
Fase 3	Folículos pre-vitelogénicos: Son de mayor tamaño que los folículos primarios, el epitelio folicular aumenta de grosor nuevamente, ya que además de contener células pequeñas y grandes contiene células piriformes (capa granulosa) rodeadas de células ricas en lípidos (zona pelúcida).
Fase 4	Folículos vitelogénicos: El ovocito entra en el proceso de vitelogénesis que consiste en la formación de plaquetas de vitelo, la pseudoestratificación del epitelio folicular y un incremento en la vascularización periférica entre los estratos de las tecas y el epitelio folicular.
Fase 5	Folículos post-ovulatorios: Se trata de folículos vacíos producidos después de la expulsión del ovocito, aquí solo se es visible los epitelios foliculares. Esta fase también contiene a los cuerpos lúteos, que son folículos altamente vascularizados que surgen ya sea por atresia o por la ovulación.

Para la descripción de la glándula oviducal se usó la terminología descrita por Hamlett (2005): zona “club”, zona “papillary”, zona “baffle” y zona “terminal”, usando los nombres originales en inglés. Se usó también la siguiente terminología para poder establecer las regiones de localización dentro de las diferentes zonas:

- 1.- Se empleó el término región interna como la parte de la zona orientada hacia el lumen de la glándula oviducal, ejemplo: la región interna de la zona club es la parte orientada hacia el lumen de la glándula oviducal.
- 2.- El término región externa como la parte orientada hacia la periferia de la glándula oviducal, ejemplo: la región externa de la zona club es la parte orientada hacia la periferia de la glándula oviducal.



- **Análisis estadísticos:**

Se analizó la distribución temporal de la especie, por medio de la frecuencia de aparición (el número de organismos capturados en los meses de muestreo durante el periodo de estudio). Se hicieron histogramas de frecuencia para sexos capturados con intervalos de 5 cm.

Para determinar la proporción de sexos, se dividió el número de total de hembras entre el número total de machos. Una vez obtenidas las proporciones se analizaron bajo la hipótesis nula de que existe una proporción de 1:1, la prueba estadística utilizada fue X^2 (chi-cuadrada), cuya regla de decisión se realizó con un nivel de confianza del 95% (Zar 1999).

Se estimó la talla a la cual el 50% de los individuos son sexualmente maduros, ajustando la ecuación logística a la proporción de organismos maduros con respecto al ancho de disco (Mollet *et al.* 2000, Conrath 2004):

$$P_m = 1 / [1 + \text{EXP} -(a+b \cdot AD)]$$

Donde:

P_m = Proporción sexual de especímenes maduros de la muestra (variable binomial que asume valores de 0 si es inmaduro y de 1 si es maduro) (Mollet *et al.* 2000).

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

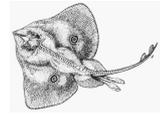
b = Constante de la ecuación que determina la inclinación de la curva.

AD = Ancho de disco.

Para determinar la talla de madurez de las hembras externamente se considero diversas características cualitativas como abultamiento del abdomen indicando que la hembra está preñada, marcas de apareamiento las cuales se encuentran en las aletas pectorales y la presencia de semen en la cloaca; internamente se determinó con base al desarrollo de los ovarios, el crecimiento de los ovocitos y al aumento en el tamaño de la glándula oviducal.

En machos, para establecer la talla de madurez a partir de características externas se basó en el crecimiento y la calcificación de los gonopterigios e internamente en el desarrollo de los testículos.

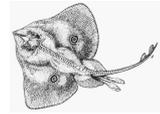
Para determinar el uso de pruebas paramétricas o no paramétricas se realizó la prueba de normalidad de los datos por medio del programa STATISTICA 7 usando los test de Kolmogorov-Smirnov, Lilliefors y Shapiro Wilk's,



Se aplicó la prueba estadística t de Student para comprobar si existían diferencias significativas entre los anchos de disco de ambos sexos en los diferentes estadios de desarrollo y durante los meses de muestreo (Zar 1984).

Se realizó un análisis de regresión lineal en los machos, para observar si existía relación entre el largo del gonopterigio con el ancho de disco, así como el grado de calcificación y la presencia de semen debido a que esta relación es un índice de madurez . Al igual se midió el largo y el ancho de los testículos para observar si existe relación con respecto al ancho de disco.

En las hembras se realizó este mismo análisis con el ancho de la glándula oviducal con respecto al ancho de disco ya que esto indica el comienzo del período de madurez.



RESULTADOS

• COMPOSICIÓN DE TALLAS

Se obtuvo un total de 105 registros, 56 pertenecían a machos y 49 a hembras. Las tallas oscilaron entre los 53 y los 96 cm de AD (Fig. 4).

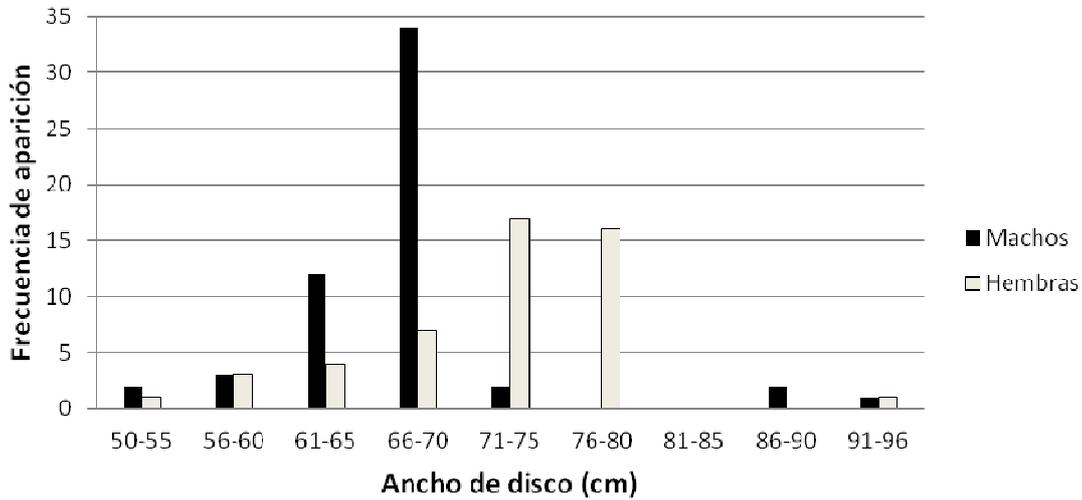


Figura 4. Distribución de tallas (AD en cm) para machos y hembras de *Raja velezi* durante el periodo de abril del 2008 a mayo del 2012 en Punta Lobos.

No se encontraron diferencias significativas en la talla de captura de *Raja velezi* a lo largo de los meses ($t_{0.05, 96} = 1.25$) (Fig. 5). La talla media (\bar{x}) durante todos los meses de captura fue de 70.28 cm de AD.

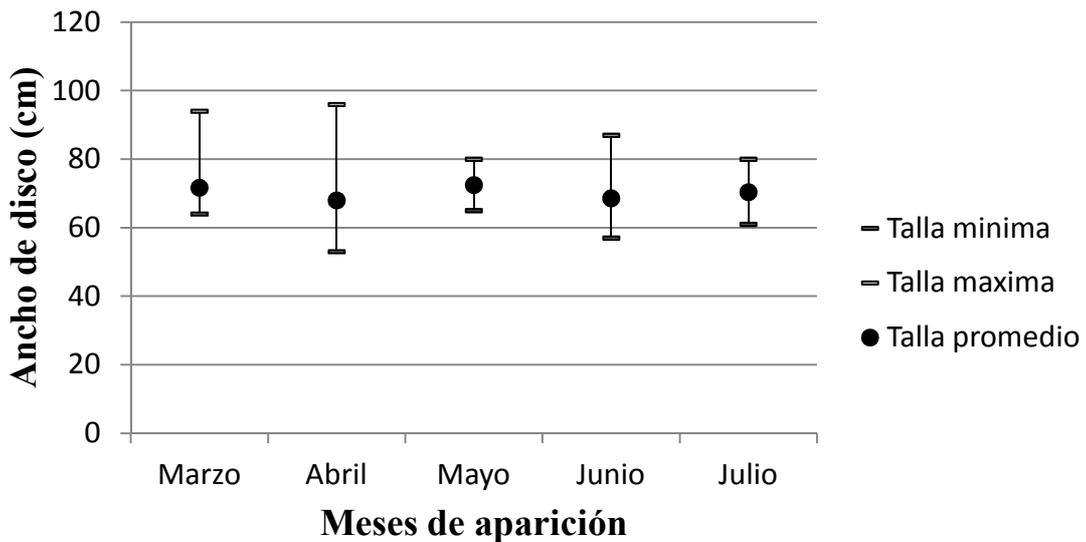
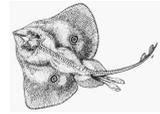


Figura 5. Distribución de tallas de *Raja velezi* durante los meses de captura.



○ **Composición de tallas para machos**

Se usó el registro de 54 machos, a los cuales se le pudo establecer el estadio de maduración sexual; estos presentaron tallas que van de los 53 a los 94 cm de AD, con una media (\bar{x}) de 67.5 cm. Los individuos inmaduros presentaron tallas de los 53 a los 68 cm ($\bar{x} = 61.57$); mientras que los individuos en maduración de los 55 a los 73 cm ($\bar{x} = 66.78$), y los maduros sus tallas oscilaban entre los 63 a los 94 cm ($\bar{x} = 69.59$) (Fig. 6).

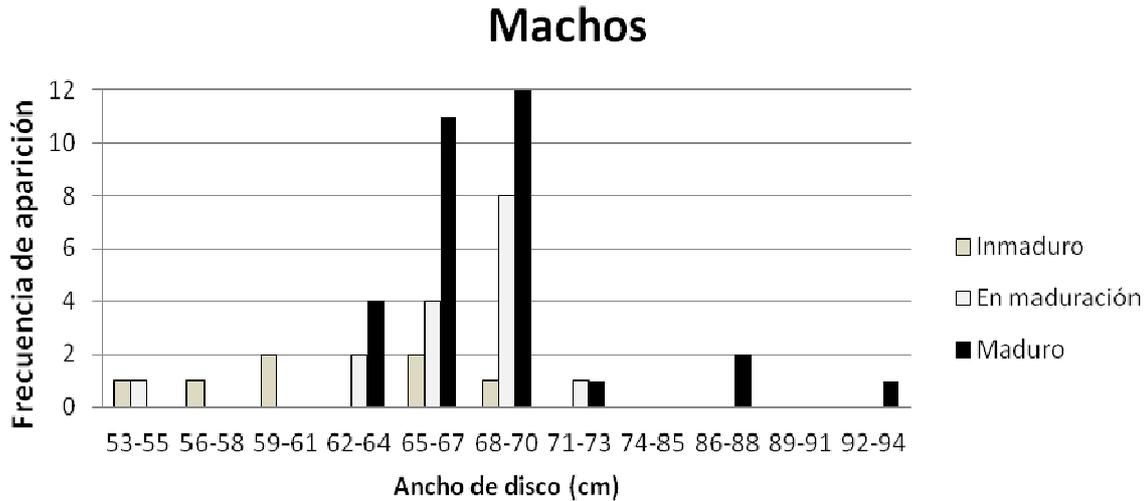


Figura 6. Distribución de tallas (ancho de disco en cm) en machos de *Raja velezi*.

○ **Composición de tallas para hembras**

En cuanto a las hembras, se utilizaron los datos de 40 registros, las cuales presentaron tallas de los 59 a los 96 cm de AD, con una media (\bar{x}) de 72.26 cm. Los individuos inmaduros presentaron tallas de los 59 a los 67 cm ($\bar{x} = 64.5$), los individuos en maduración de los 65 a los 70 cm ($\bar{x} = 66.5$) y los individuos maduros de los 71 a los 97 cm ($\bar{x} = 76.29$), las hembras preñadas se encontraron de los 70 a los 80 cm ($\bar{x} = 75.33$) de AD (Fig. 7).

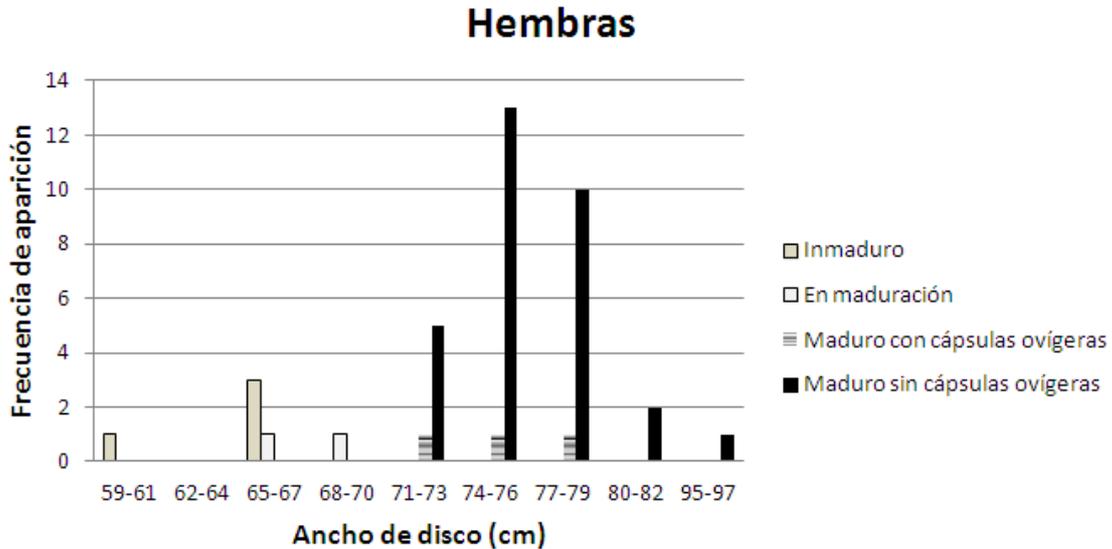


Figura 7. Distribución de tallas (ancho de disco en cm) en hembras de *Raja velezi*.

Se encontraron diferencias significativas entre el AD de ambos sexos ($t_{0.05, 96} = -3.45$), siendo las hembras de mayor tamaño respecto a los machos.

En cuanto a estadios de desarrollo sexual los individuos inmaduros y en maduración no presentaron diferencias significativas en AD entre machos o hembras ($t_{0.05, 9} = -1.01$ y $t_{0.05, 28} = 0.09$ respectivamente); por el contrario los individuos maduros de ambos sexos mostraron diferencias significativas en el AD ($t_{0.05, 48} = -4.55$).

- **DISTRIBUCIÓN TEMPORAL DE LOS ORGANISMOS CAPTURADOS**

Se obtuvo registros de *Raja velezi* durante los meses de abril 2008; abril a junio del 2009; marzo a julio del 2011; y abril y mayo del 2012.

Tanto machos como hembras presentaron un comportamiento bimodal en su frecuencia de aparición; en hembras teniendo dos picos de aparición en el mes de abril y otro en junio, mientras que para machos fueron los meses de marzo y junio (Fig. 8).

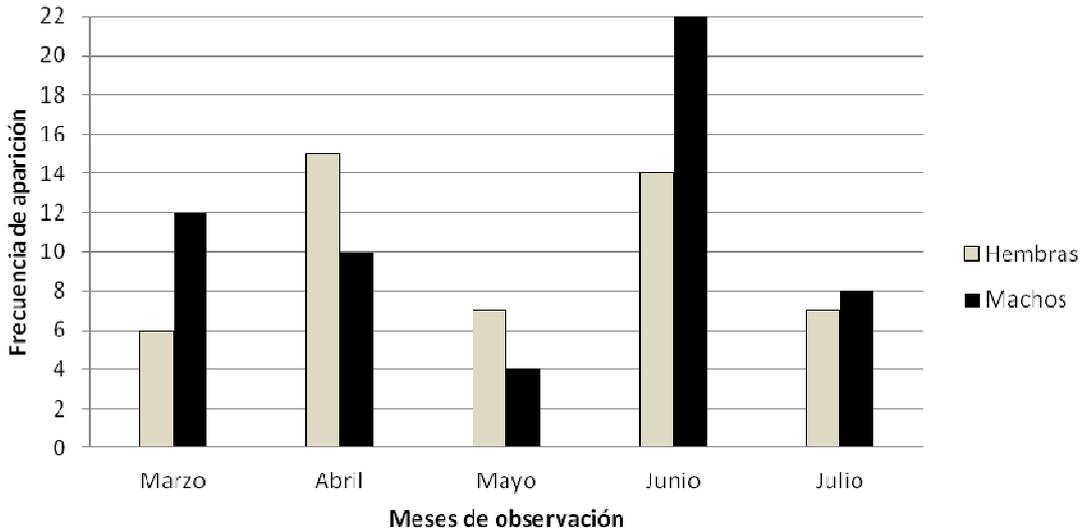
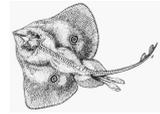


Figura 8. Distribución temporal de machos y hembras.

○ **Distribución temporal de machos**

En los machos, la distribución de los diferentes estadios de desarrollo está representada por organismos inmaduros que se observan desde el mes de marzo, aumentando su frecuencia hasta abril donde se observa una disminución; mientras que los individuos en maduración presentan una tendencia bimodal teniendo un pico en abril y otro en junio. Con respecto a los individuos maduros, también se nota un comportamiento bimodal teniendo un pico en marzo y otro en junio (Fig. 9). Se puede observar entre machos maduros y en maduración presentan el mismo comportamiento de incremento para el mes de junio y su disminución para julio.

Machos

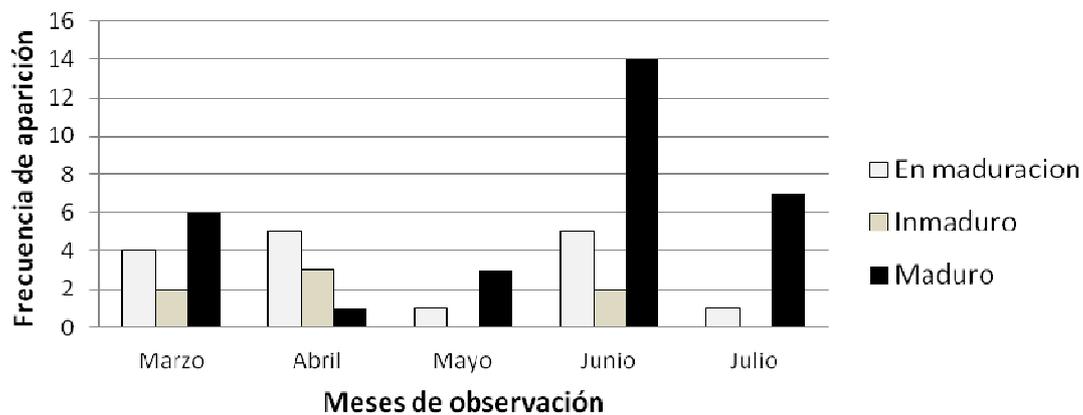
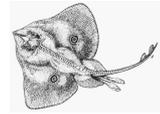


Figura 9. Distribución de los estadios de desarrollo para machos de *Raja velezi*.



○ **Distribución temporal de hembras**

La distribución temporal de los estadios de desarrollo en las hembras de *Raja velezi* muestra como las hembras maduras sin cápsulas ovíferas tienen un comportamiento bimodal presentando sus picos de máxima aparición en abril y en junio; por otro lado se observa que las hembras maduras con cápsulas ovíferas empiezan su aparición a partir de abril aumentando en mayo. Existe un segundo grupo de comportamiento en donde se observa que las hembras inmaduras aparecen en el mes de abril y disminuyen conforme pasan los meses. En el mes de junio aparecen las hembras en maduración, esto indica algo que podría ocurrir con el paso de tiempo el grupo de hembras inmaduras empieza su reclutamiento al grupo de en maduración ya en junio (Fig. 10).

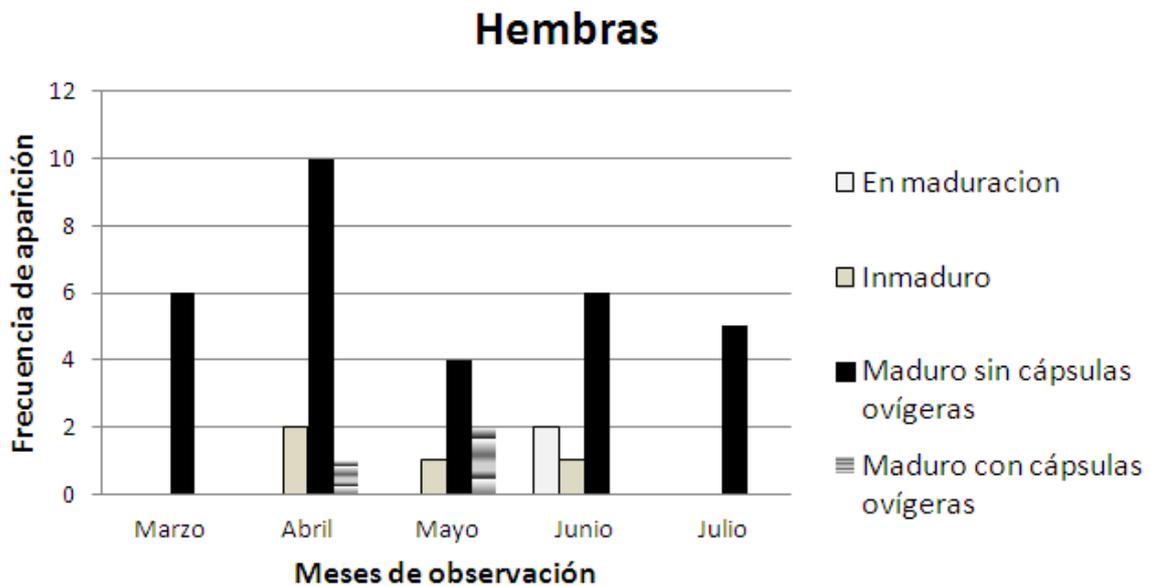
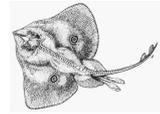


Figura 10. Distribución de los estadios de maduración para hembras de *Raja velezi*.



• **PROPORCIÓN DE SEXOS**

La proporción sexual total fué de 0.87H:1M, no existiendo diferencias significativas entre el número de organismos de ambos sexos ($X^2=0.466$; $p>0.05$) (Fig. 11).

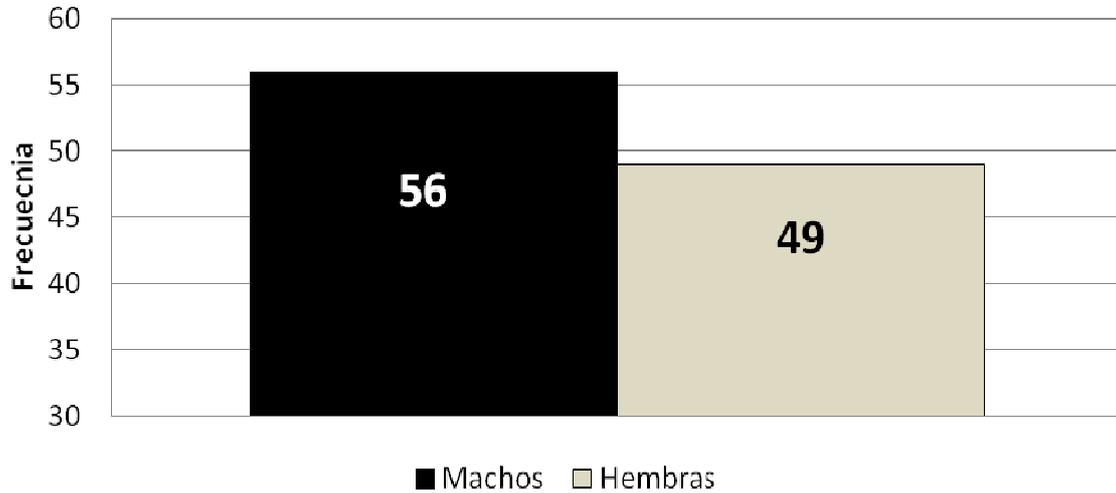


Figura 11. Proporción de sexos de *Raja velezi*.

En cuanto a los estadios de desarrollo, la proporción de individuos inmaduros fue de 0.57H:1M mostrando que no existe diferencias estadísticamente ($X^2=0.818$; $p>0.05$), al igual que la proporción de individuos maduros que fue de 1.09H:1M ($X^2=0.138$; $p>0.05$); mientras que los individuos en maduración tienen una proporción de 0.125H:1M ($X^2=10.84$; $p>0.05$), mostrando diferencias significativas (Fig. 12).

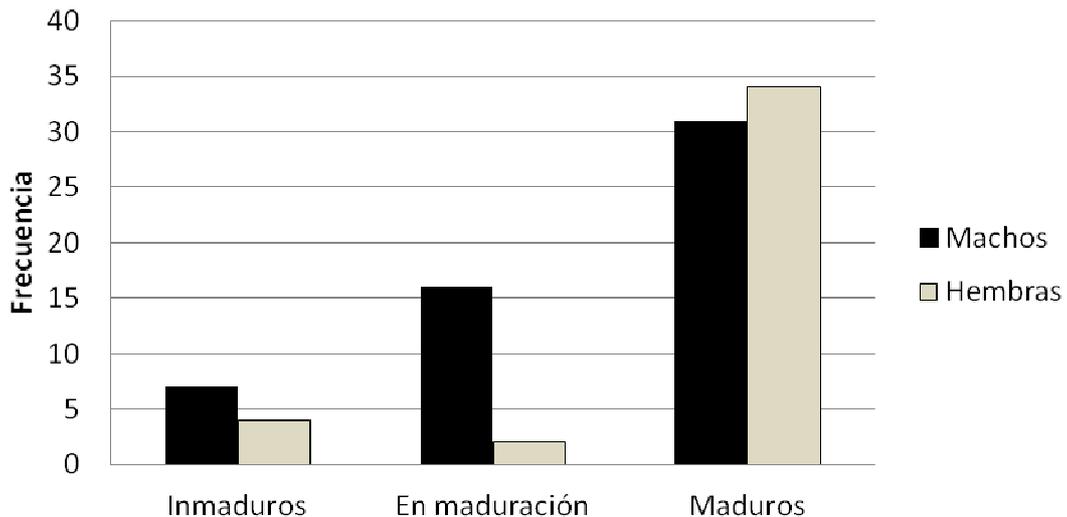
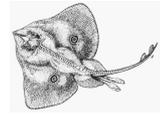


Figura 12. Proporción de sexos por estadio de desarrollo de *Raja velezi*.



- **MORFOLOGÍA MACROSCÓPICA DEL APARATO REPRODUCTOR**

- **Machos**

El aparato reproductor de los machos de *Raja velezi* consta de un par de testículos, epidídimo, órgano epigonal, conductos deferentes y vesícula seminal. Los testículos son pareados, alargados, se encuentran en la parte anterior de la cavidad abdominal, embebidos en el órgano epigonal, están formados por lóbulos que varían de tamaño y ambos testículos son funcionales.

- **Inmaduros:**

Los testículos tienen forma acuosa y de color rosáceo pálido, los lóbulos testiculares no son distinguibles, existe un mayor crecimiento del testículo derecho que del izquierdo (tomando en cuenta la disposición del aparato reproductor y su vista respecto a los riñones). El largo de los testículos va de los 4 a 7 cm con un ancho de 2.5 a 3.5 cm; el epidídimo es delgado apenas distinguible, y la vesícula seminal no es posible distinguirla (Fig. 13).

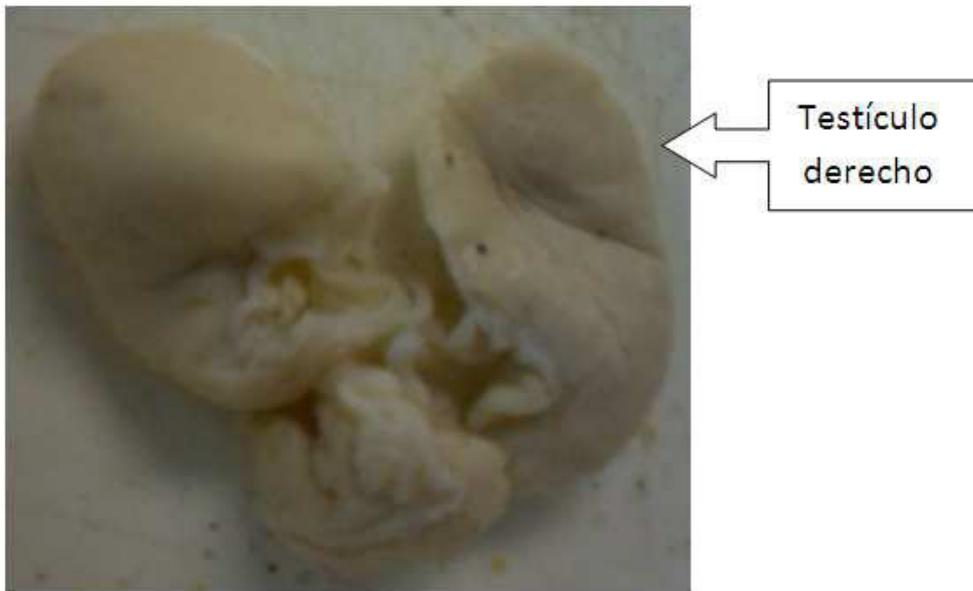
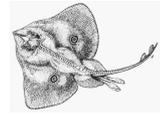


Figura 13. Aparato reproductor de machos de *Raja velezi* en estado inmaduro.

- **En maduración:**

Testículos desarrollados completamente, con lóbulos testiculares incipientes en la parte media y anterior. Coloración pálida, mostrando un mayor crecimiento del testículo derecho que del izquierdo, el largo de los testículos va de los 7 a los 10 cm y el ancho de los 3.5 a los 5 cm. Epidídimo completamente



desarrollado de apariencia lisa con ancho de 1 cm. Conductos deferentes enrollados lo cual termina conectándose a la vesícula seminal, el color de ambas estructuras es rosáceo intenso (Fig. 14).

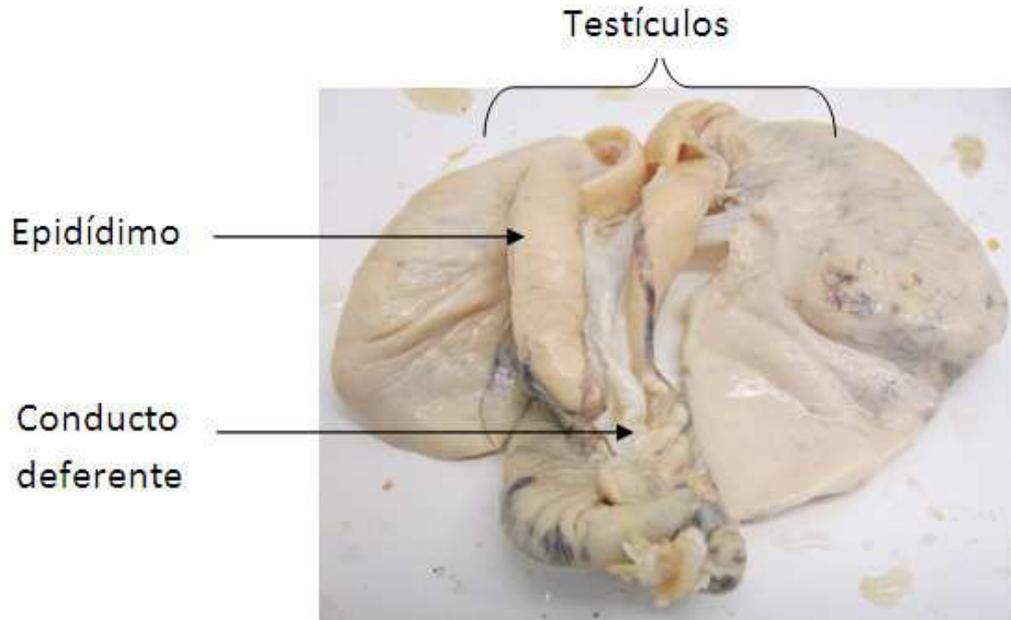


Figura 14. Aparato reproductor de machos de *Raja velezi* en estado en maduración.

▪ **Maduro:**

Lóbulos testiculares bien marcados en la parte anterior y media del testículo, con alta vascularización, los testículos no aumentan de dimensión conservando las medidas del estadio en maduración conservando un mayor tamaño el testículo derecho con respecto al izquierdo; él epidídimo sigue teniendo las mismas dimensiones alcanzadas en el estadio en maduración con una coloración más rosada, los conductos deferentes presentan un mayor grado de enrollamiento (Fig.15).

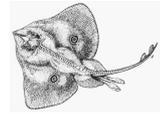


Figura 15. Aparato reproductor de machos de *Raja velezi* en estado maduro.

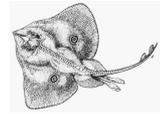
A partir del desarrollo de las estructuras que conforman el aparato reproductor de los machos (testículo, epidídimo y gonopterigio) se pudieron establecer claramente tres estados de madurez sexual en los machos de *Raja velezi*, inmaduro, en maduración y maduro, cada uno con particularidades definidas, de las cuales se pudo establecer una tabla descriptiva de la comparación y establecimiento de cada etapa de desarrollo para esta raya (Tabla 1).

Tabla 1. Estados de madurez sexual para machos de *Raja velezi*.

Estadio de desarrollo	Características distintivas
Inmaduro	Testículos no lobulados. Epidídimo poco distinguible, no se observa la vesícula seminal. Gonopterigios no calcificados que giran 90°, sin semen.
En maduración	Testículo lobulado en la parte media. Epidídimo definido y conductos deferentes enrollados. Gonopterigios semicalcificados, sin rotación de 360°, sin semen.
Maduro	Testículos lobulados en toda la parte media y anterior. Epidídimos bien definidos, conductos deferentes enrollados. Gonopterigios completamente calcificados con rotación de 360°, rífidon abierto y puede existir la presencia semen.

○ **Hembras:**

El aparato reproductor de las hembras está constituido por órgano epigonal, oviductos, dos úteros, dos glándulas oviducales (en la cual se desarrollan las capas protectoras de las cápsulas ovígeras y se almacena el esperma); y dos ovarios funcionales, de forma ovalada y aplanada, situados en la parte anterior del órgano epigonal. La morfología externa es variable, dependiendo del



número de ovocitos y a la cantidad de vitelo que contienen, lo cual se presenta en función de la etapa reproductiva en la que se encuentre.

▪ **Inmaduras:**

Los ovarios tienen un desarrollo uniforme, se nota un desarrollo acuoso de los ovocitos en la parte media; los oviductos son delgados y flácidos, apenas son distinguibles, estos se especializan en su parte media dando origen a las glándulas oviducal, las cuales tienen una consistencia flácida desarrollando una forma de corazón que va de 1.5 a 2 cm de largo y un ancho de 1.5 a 3 cm; las glándulas oviducal están conectadas con el útero, el cual tiene una consistencia flácida y de forma alargada teniendo unas dimensiones que van de los 3 a 5.5 cm de largo y de 0.8 a 1.3 cm de ancho (Fig.16).

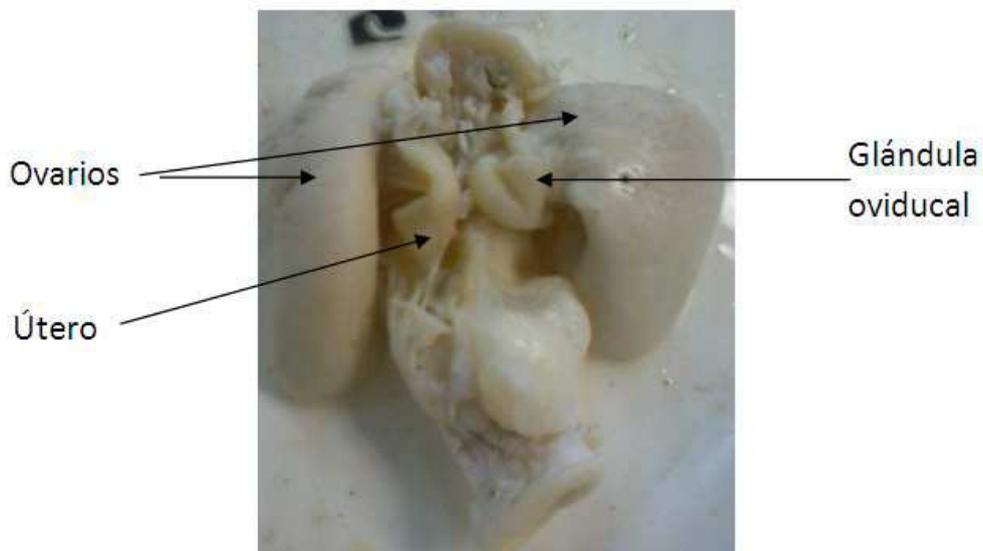


Figura 16. Aparato reproductor de hembras en estado inmaduro de *Raja velezi*.

▪ **En maduración:**

Los ovarios presentan ovocitos apenas visibles en la parte media y posterior, la glándula oviducal aumenta en tamaño y adquiere una forma más definida de corazón presentando un largo de 2.5 cm y un ancho de 3.5 cm, los oviductos y el útero adquieren una mayor firmeza; el útero presentan una segmentación teniendo un largo de 7 cm y de ancho de 1.5 a 2 cm (Fig.17).

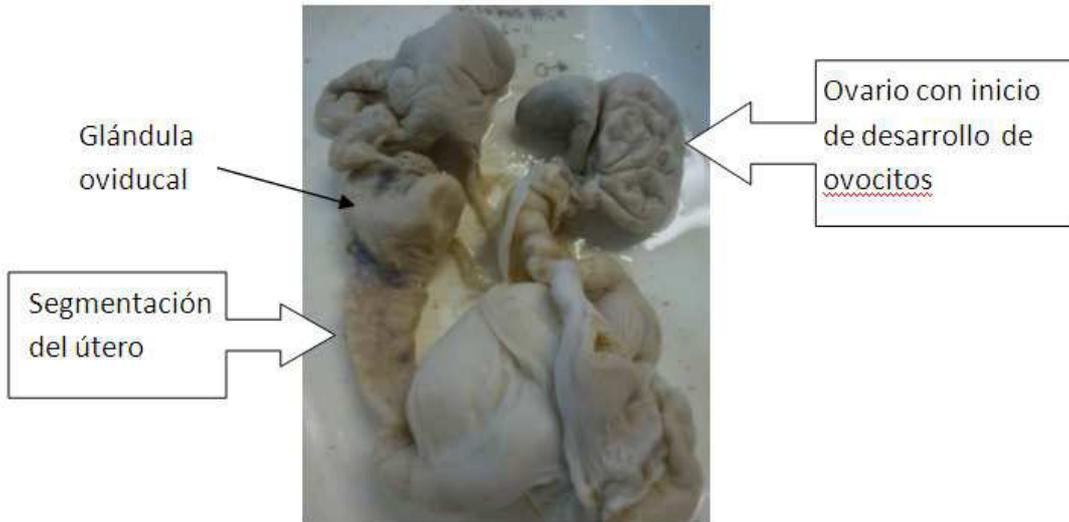
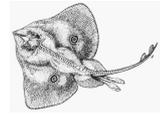


Figura 17. Aparato reproductor de hembras en estado en maduración de *Raja velezi*.

▪ **Maduras:**

- Sin cápsula ovígera: Los dos ovarios presentan ovocitos vitelogenicos, en la parte media y posterior, de diferentes tamaños, es notoria la presencia de un ovocito de mayor tamaño en cada uno midiendo 3 cm de ancho, el cual indicaría ser el próximo ovocito a ser ovulado; la glándula oviducal adquiere un tamaño máximo que va de los 4.5 a los 7 cm de ancho y un largo de los 2.5 a los 3.5 cm; el útero es de consistencia rígida presentando segmentación, con un largo de 7 a 8.5 cm y un ancho de 2 cm (Fig. 18).

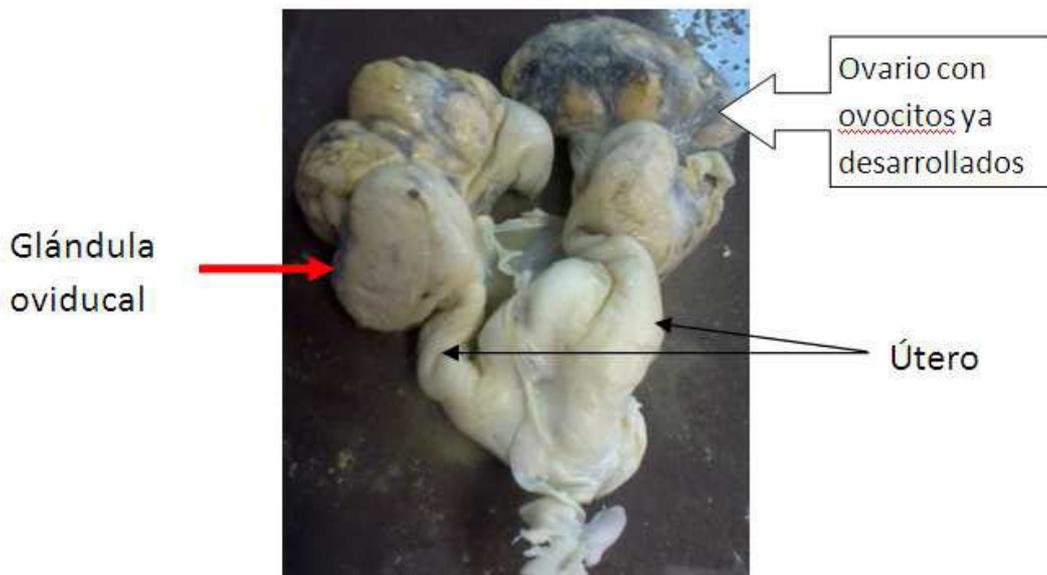
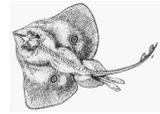


Figura 18. Aparato reproductor de hembras en estado maduro sin cápsulas ovígeras de *Raja velezi*.



Los ovocitos que fue posible medir presentaban dimensiones de los 5 a los 31 mm de diámetro (promedio = 13.78 mm) (Fig. 19). Los ovocitos de mayor tamaño fueron encontrados en el mes de marzo y los de menor tamaño para el mes de mayo.

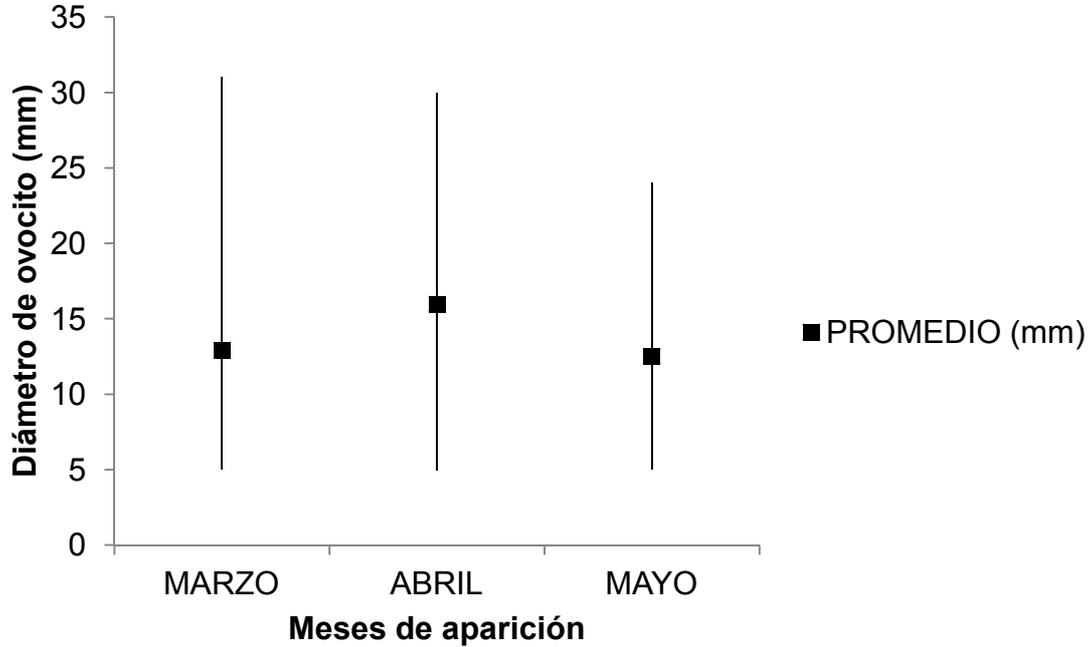


Figura 19. Diámetro de los ovocitos en hembras maduras sin cápsulas ovígeras durante los meses de muestreo.

- Con cápsula ovígera: Los ovarios tienen ovocitos de diferentes tamaños presentando un ovocito más grande en cada uno de los ovarios con un diámetro de 30 mm; la glándula oviducal reduce su tamaño con un ancho de 4 a 5 cm y un largo de 2 a 3 cm y se encuentra pegada a lo que es el útero donde se encuentran las cápsulas ovígeras, teniendo una consistencia de una tela lisa y delgada que adquiere la forma de las cápsulas ovígeras; las cápsulas ovígeras presentan un tamaño de los 12 a los 14 cm midiendo de punta a punta de los tendrillos y con un ancho de 7 cm (Fig. 20).

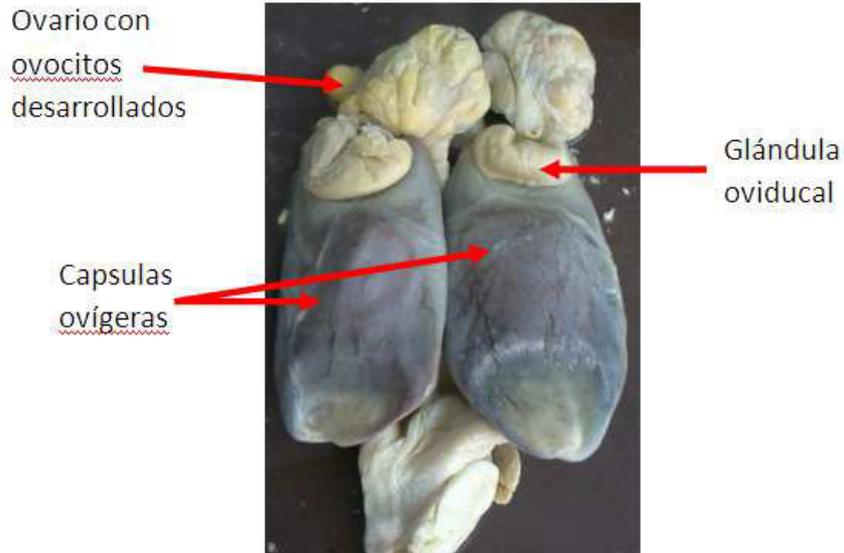
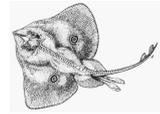


Figura 20. Aparato reproductor de hembras en estado maduro con cápsulas ovígeras de *Raja velezi*.

Las hembras con cápsulas ovígeras presentaron ovocitos que midieron de los 4 a los 30 mm de diámetro con un promedio de 11.74 mm (Fig. 21). Durante abril y mayo fueron encontradas las hembras con cápsulas ovígeras.

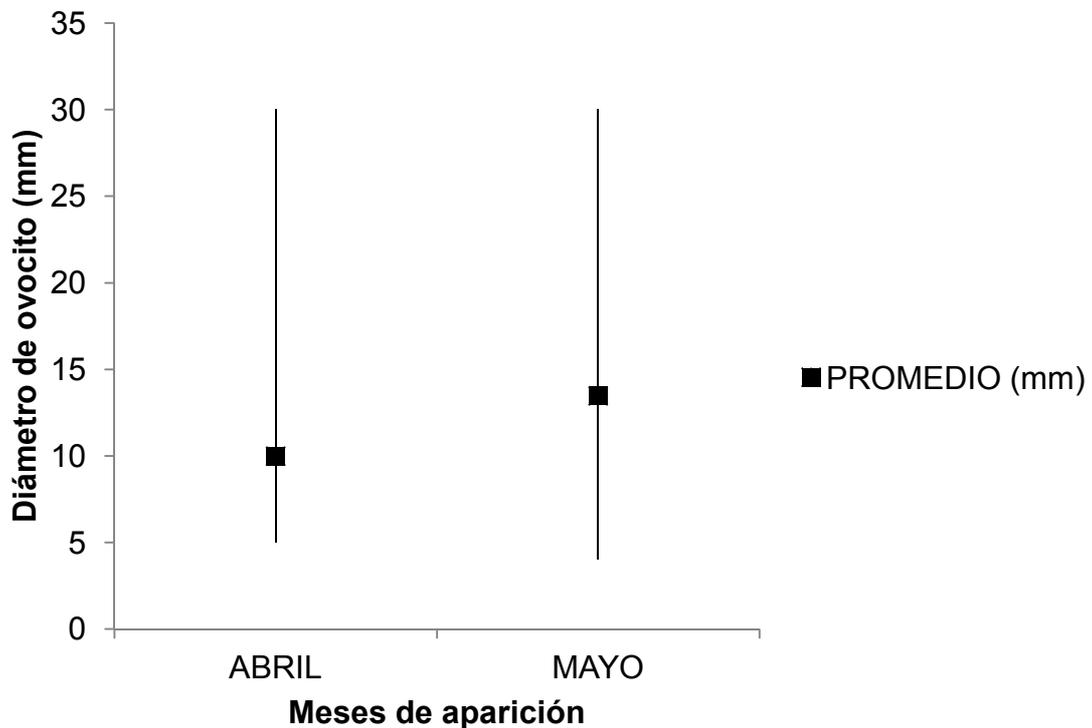
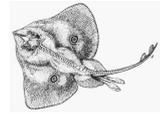


Figura 21. Diámetro de los ovocitos en hembras con cápsulas ovígeras durante los meses de muestreo.



A partir del desarrollo de las estructuras que conforman el aparato reproductor de las hembras (ovario, glándula oviducal y oviducto) se establecieron tres estados de madurez sexual (Tabla 2).

Tabla 2. Estados de madurez sexual para hembras de *Raja velezi*.

Estadio de desarrollo	Características distintivas
Inmaduro	Ovarios con ovocitos no vitelogenicos, de consistencia acuosa, glándula oviducal de consistencia acuosa, oviductos no diferenciados, úteros flácidos.
En maduración	Ovarios con inicio de desarrollo de ovocitos en la parte media, glándula oviducal de forma definida acorazonada, oviductos diferenciados, uteros rígidos presentando segmentación física.
Maduro	Ovario con ovocitos vitelogénicos, glándula oviducal de forma definida acorazonada de consistencia rígida, oviductos gruesos y firmes, uteros rígidos presentando segmentación física.
Maduro con cápsulas ovígeras	Presenta de todas las características del estadio maduro además con la presencia de cápsulas ovígeras en los úteros.

- **TALLA DE MADUREZ.**

- **Hembras:**

Se observó que las hembras menores a 65 cm de ancho de disco presentaron ovarios sin desarrollar; a partir de los 65 a los 71 cm, se registró el inicio del desarrollo ovárico e incremento en el tamaño de la glándula oviducal; hembras mayores a 71 cm de ancho de disco presentaron ovocitos desarrollados que alcanzaron un ancho máximo de 3 cm y glándulas oviducal bien desarrolladas. Externamente no se observaron marcas de apareamiento.

En cuanto a la relación del ancho de disco con respecto al ancho de la glándula oviducal, se trabajó con un total de 18 registros que presentaron datos de la medida del ancho de disco y de la glándula oviducal, se observó que existe una relación entre estos dos parámetros ($R^2= 0.65$), mostrando una relación de tipo lineal (Fig. 22).

La ecuación que corresponde a esta relación es: $y = 0.2324x - 12.195$, donde “y” es el ancho de la glándula oviducal y “x” es el ancho de disco

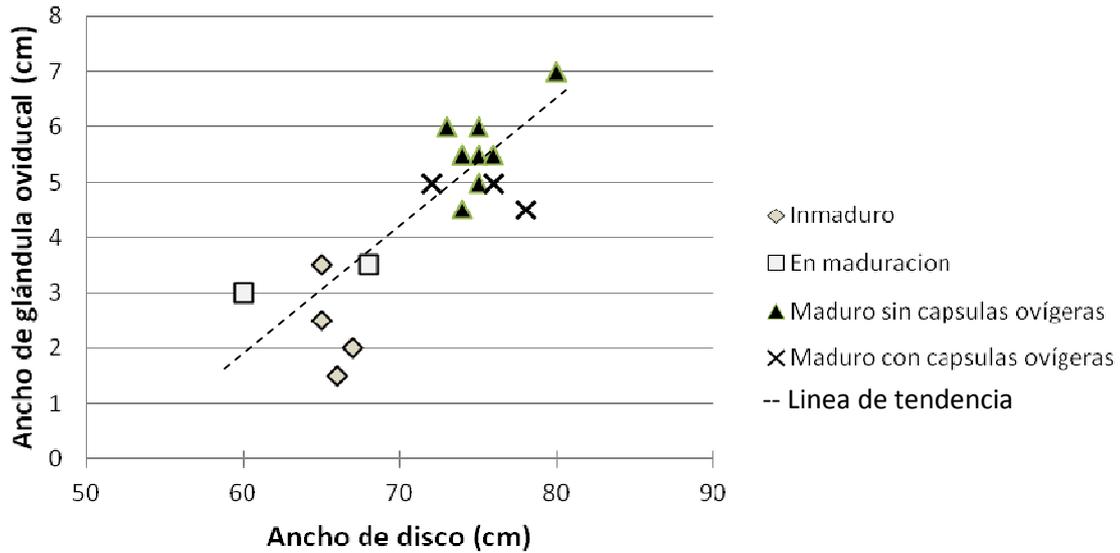


Figura 22. Relación ancho de disco (cm) y ancho de la glándula oviducal (cm) en diferentes estadios de desarrollo de la raya *Raja velezi*.

Se estimó la talla de primera madurez, en la cual el 50% de hembras se considera madura, mediante la ecuación logística, siendo de 68.77 cm de ancho de disco ($R=1$) (Fig. 23), esto corresponde al 71.6% de su talla máxima de ancho de disco.

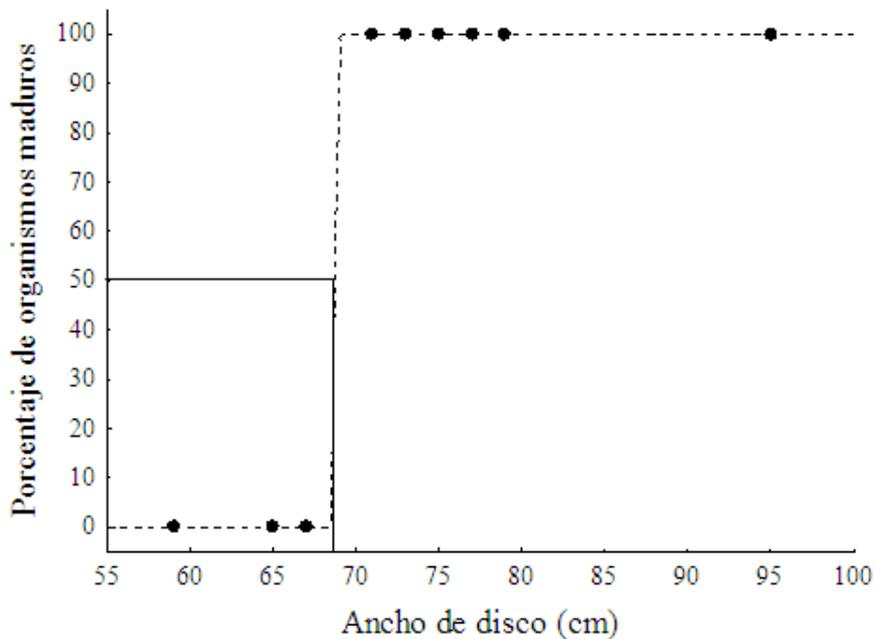
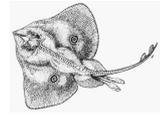


Figura 23. Talla de primera madurez (ancho de disco en cm) para hembras de *Raja velezi*.



○ **Machos:**

Para esto se trabajó con el registro de 49 individuos que contaban con las medidas del largo del gonopterigio y ancho de disco; los machos con un AD de los 56 a los 65 cm presentaron gonopterigos semicalcificados con longitudes de los 16 a 21 cm, tallas menores a los 55 cm de AD el gonopterigio no estaba calcificado.

En machos con un AD mayor a los 65 cm se observó el gonopterigio calcificado con longitudes de 22 a 33 cm, y se notó la presencia de semen a partir de los 69 cm de AD con longitud del gonopterigio mayor a 29 cm, esto indica que cuando el gonopterigio alcanza la longitud de los 22 cm ya se encuentra totalmente calcificado.

No se observó una relación entre la longitud del gonopterigio y el ancho de disco en machos ($r^2 = 0.23$) (Fig. 24).

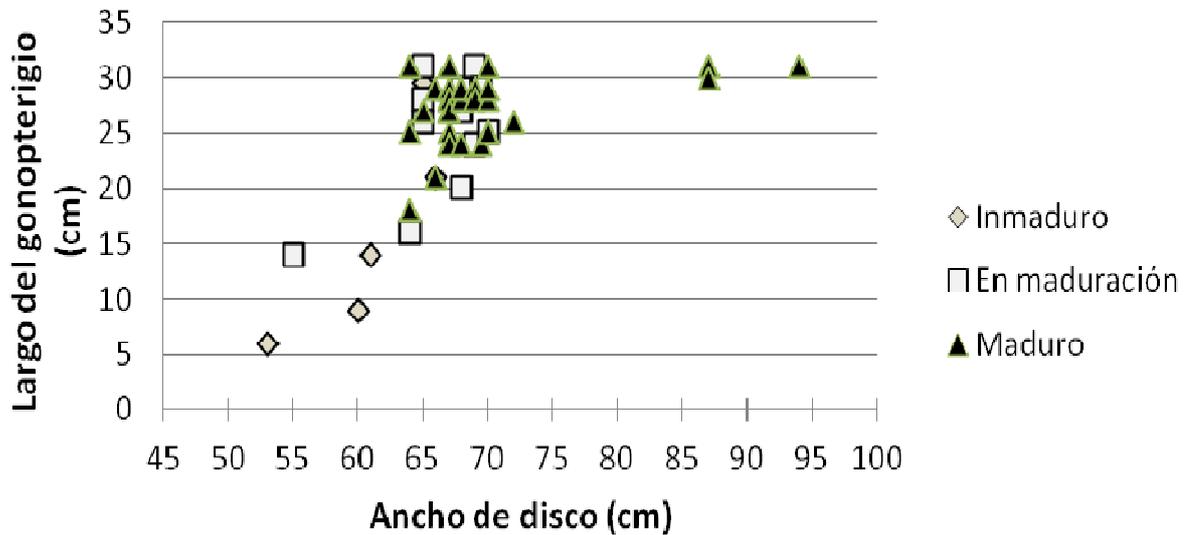


Figura 24. Relación ancho de disco y longitud del gonopterigio en *Raja velezi*.

En relación al testículo se analizó 23 registros que contaban con las medidas de ancho y largo del testículo y AD; para estas medidas no se obtuvo alguna relación entre el AD con respecto a la longitud ($r^2 = 0.35$) o ancho del mismo ($r^2 = 0.16$), esto debido a las variaciones en tamaño que presentaron (Fig. 25).

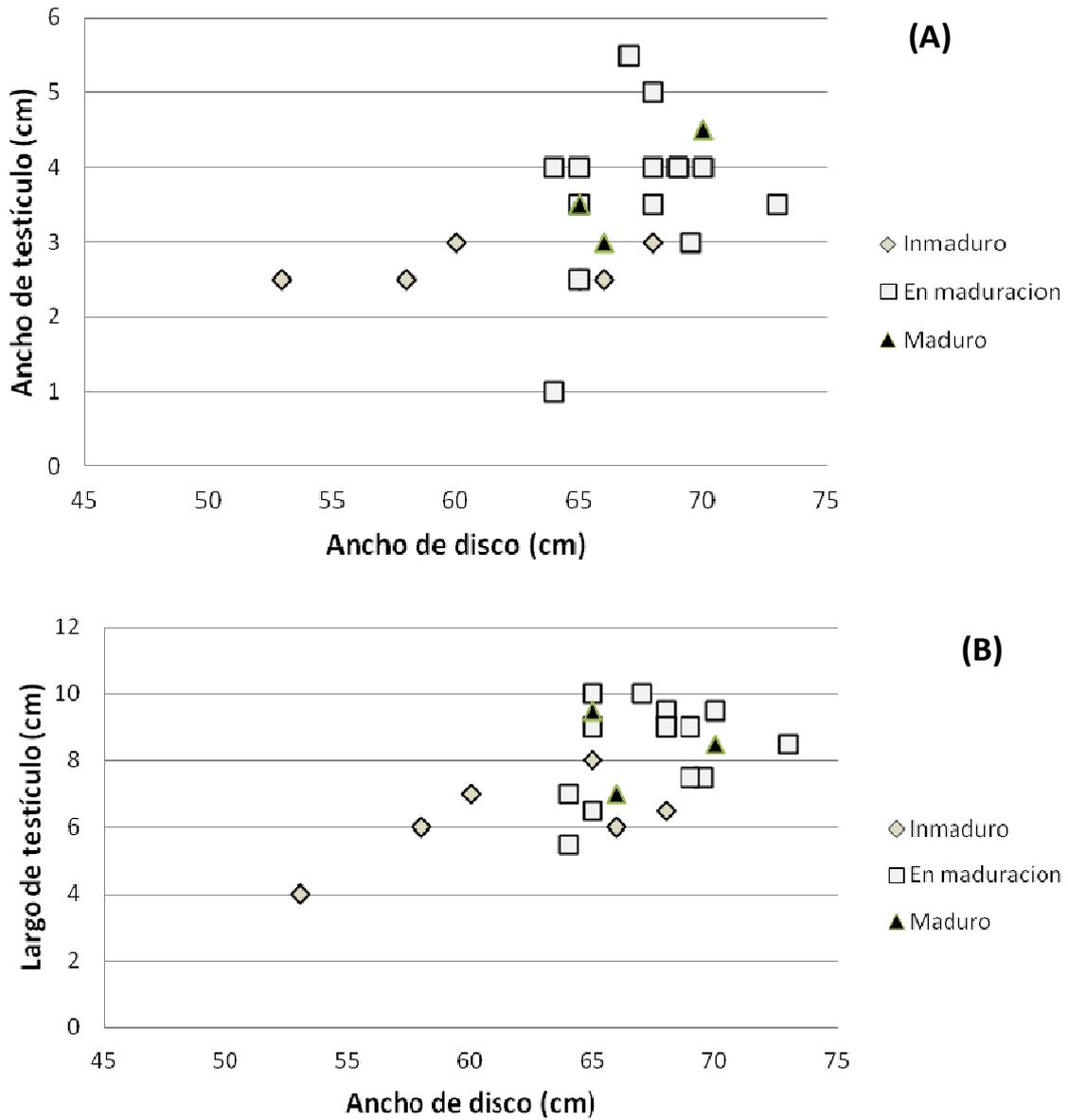
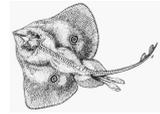


Figura 25. Relación ancho de disco con respecto al ancho del testículo (A) y largo del testículo (B) en *Raja velezi*.

Se estimó la talla de primera madurez para machos mediante el modelo logístico, siendo ésta a los 65.16 cm de AD ($R=0.94$) (Fig. 26), que corresponde al 69.3% de su talla máxima de AD.

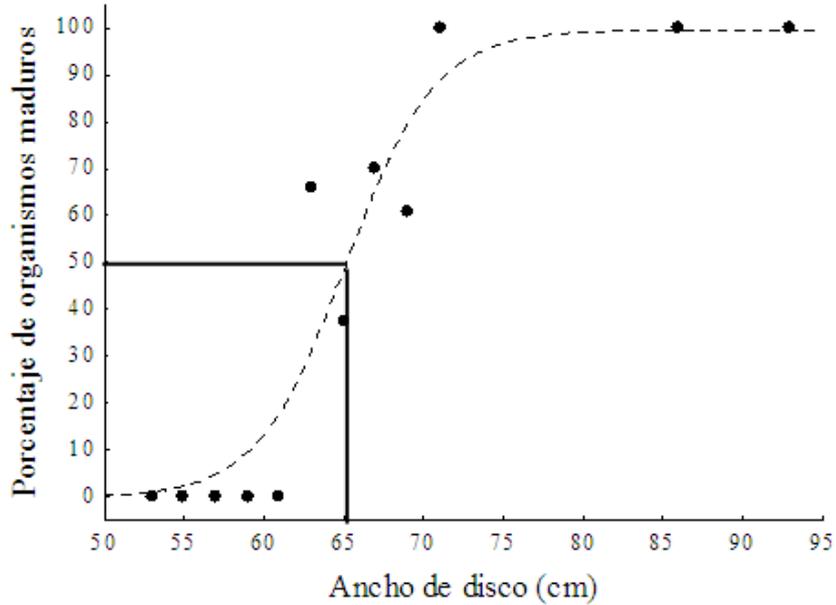
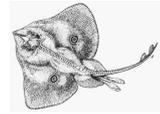


Figura 26. Talla de primera madurez (AD en cm) para machos de *Raja velezi*.

• **DETERMINACIÓN DE LA TALLA DE LAS CÁPSULAS OVÍGERAS.**

Las hembras preñadas tienen una fecundidad de dos cápsulas ovígeras por periodo de desove, uno por útero, ya que los dos ovarios son funcionales; las medidas de las cápsulas ovígeras encontradas son de los 8 a los 9.5 cm de largo, excluyendo a los tendrillos, y con un ancho de 7 cm midiendo la zona de mayor longitud, los tendrillos anteriores muestran una curvatura hacia dentro de estos y se nota un abultamiento en la parte media de la cápsula ovígera (Fig. 27).

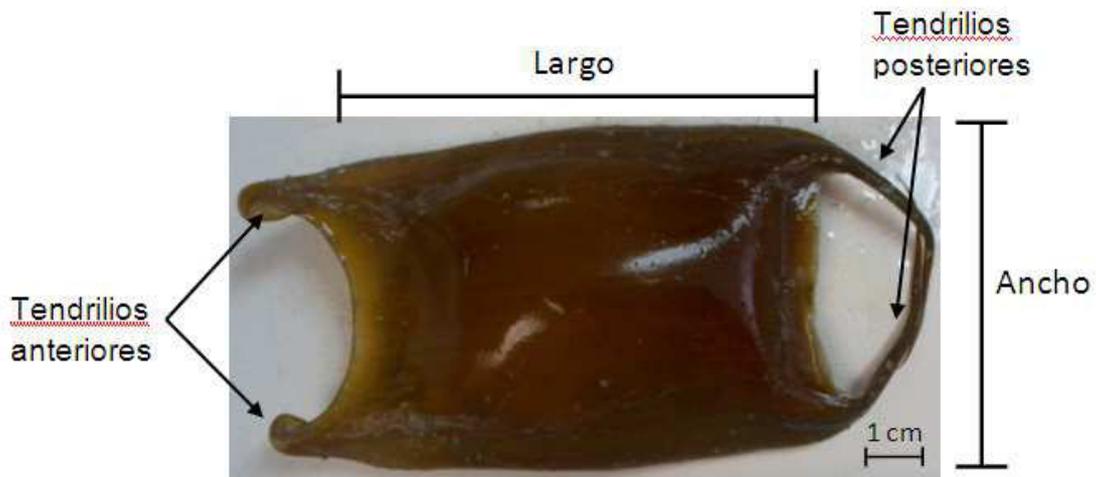
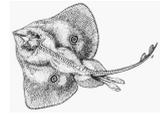


Figura 27. Cápsula ovígera de *Raja velezi* mostrando las medidas registradas.



Las hembras preñadas se encontraron solo en los meses de abril y mayo, lo que podría indicar que las cápsulas ovígeras son expulsadas en los meses de mayo en adelante.

Se observó que en los ovarios de las hembras que presentaban cápsulas ovígeras el desarrollo de los ovocitos muestra en cada uno un ovocito más grande, el cual mide 3 cm de ancho, lo que podría indicar que sería el siguiente ovocito en ser fecundado.

No se encontraron hembras en condición de pos-desove.

El contenido de las cápsulas ovígeras obtenidas era tan solo de vitelo y no se encontró rastro visible de embrión en fase de desarrollo (Fig. 28).

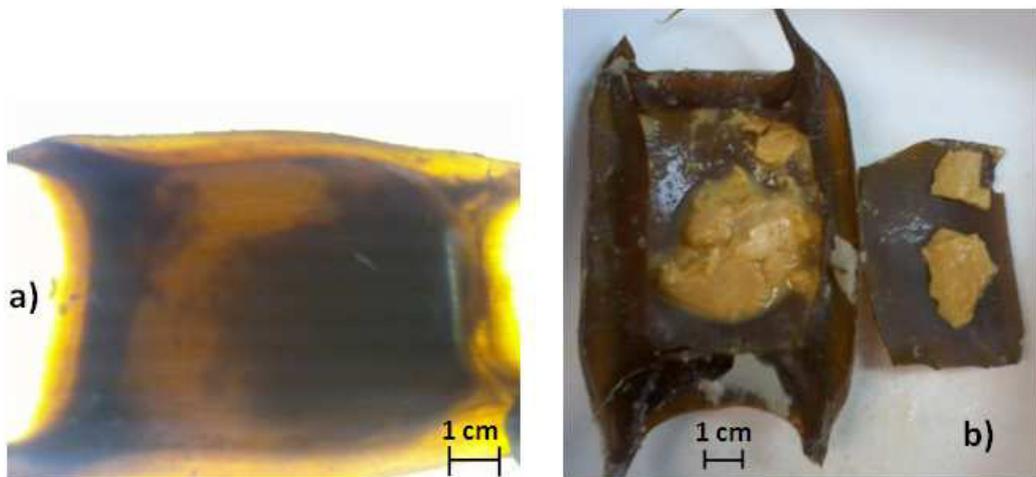


Figura 28. Contenido de las cápsulas ovígeras de *Raja velezi* a) Cápsula ovígera visto a contraluz b) Vitelo dentro de la cápsula ovígera

- **PROCESO DE ESPERMATOGÉNESIS Y OVOGENESIS**

- **Espermatogénesis.**

A partir de los cortes histológicos realizados en testículos se observó que los estadios de mayor desarrollo se encuentran en la periferia de los folículos seminíferos y no existe una división de los lóbulos testiculares en el interior del testículo sino solo se puede observar en la superficie (Figs. 29 y 30). El desarrollo de los espermatozoides en cada lóbulo fue radial (desarrollándose en el centro de la zona germinal hacia la periferia del lóbulo) y diamétrico (es decir, a través del desarrollo de testículos de la superficie dorsal de la superficie ventral)

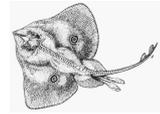


Figura 29.- Desarrollo folicular del testículo de la raya *Raja velezi* en un macho en maduración de 73 cm de ancho de disco. (Tinción de Hematoxilina – Eosina, Aumento a x, OE, Organo epigonal,

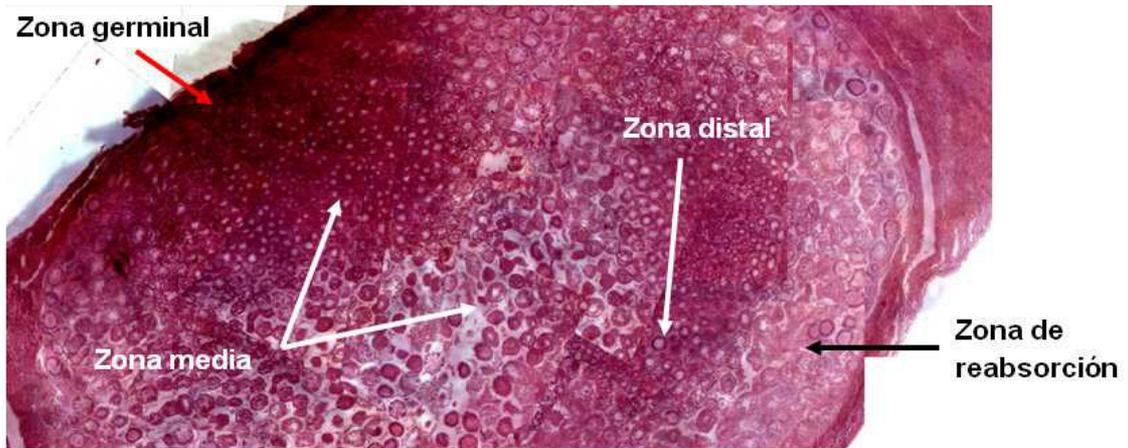


Figura 30. Corte transversal del testículo vista de un folículo seminífero al microscopio, mostrando el desarrollo compuesto.

La espermatogénesis se dividió en nueve fases. Los estadios más avanzados de la espermatogénesis ocurren en la periferia de los lóbulos testiculares (Fig. 31), ya que al interior de estos se encuentran en un estadio temprano.

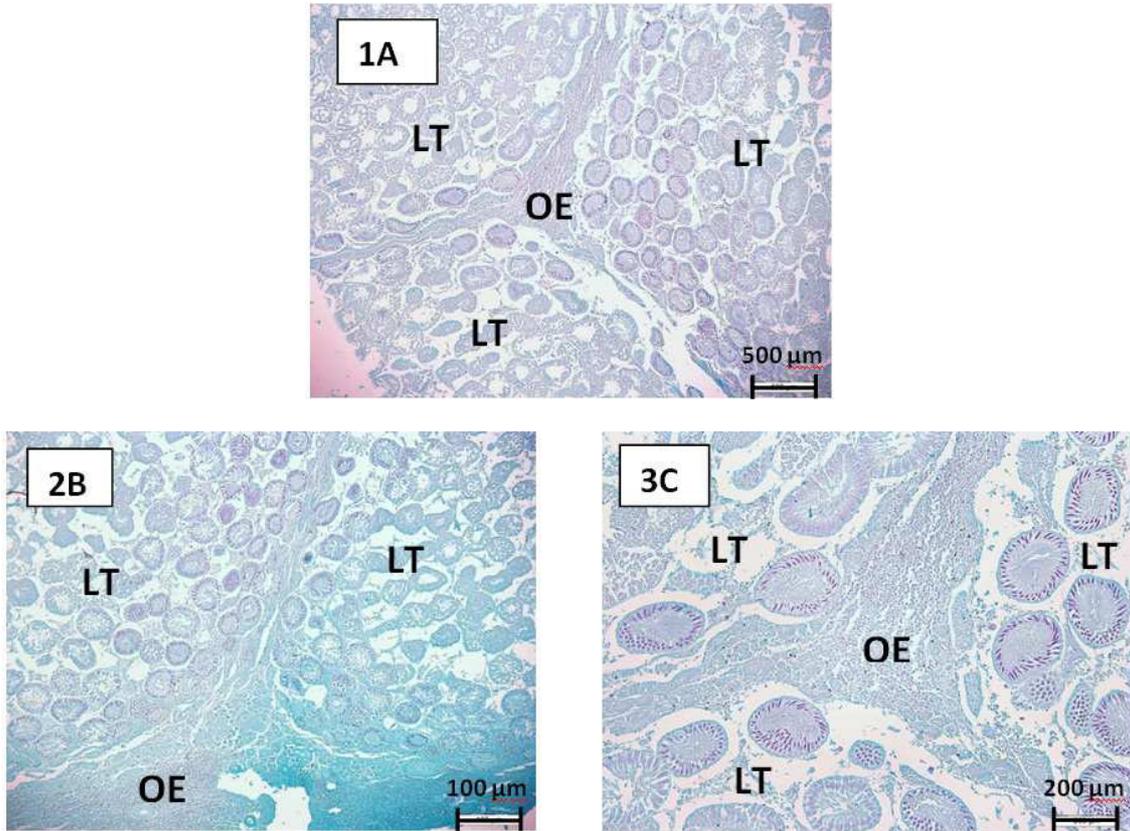
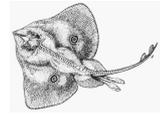


Figura 31.- Proceso de espermatogénesis en la periferia de los lóbulos testiculares de machos maduros, de 65 cm de ancho, la raya *Raja velezi* (Tinción de Feulgen, 1A= Maduro con aumento: 4x, 2B= En maduración con aumento: 10x, 3C= Maduro con aumento: 20x, OE= órgano epigonal, LT= lóbulo testicular).

Las fases de desarrollo celular encontradas son:

1.- Testículo inmaduro con pequeños lóbulos testiculares iniciando la diferenciación (Fig. 32). Se vio que en organismos inmaduros ya empieza la formación de los lóbulos testiculares donde ya es posible visualizar el desarrollo de espermatocistos.

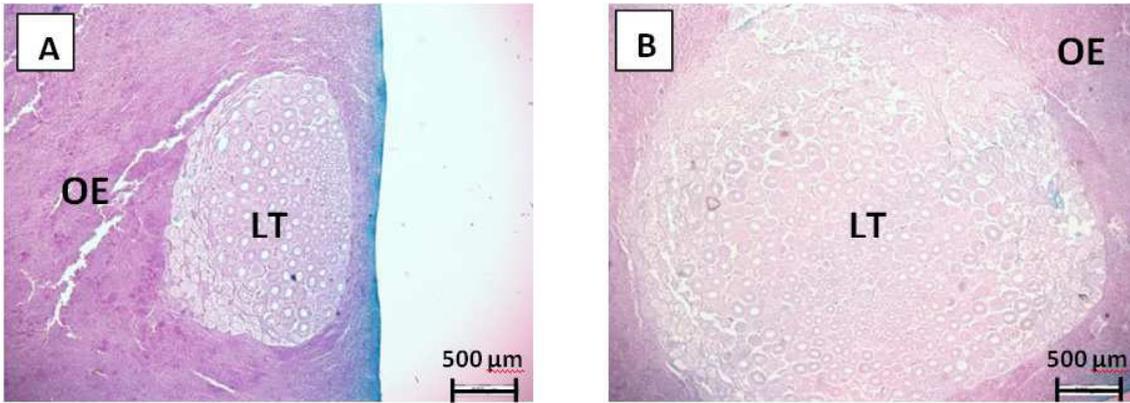
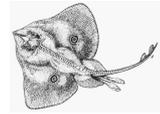


Figura 32.- Diferenciación de los lóbulos testiculares en machos inmaduros de la raya *Raja velezi*. (Tinción de Feulgen, Aumento: 4x, A= 60 cm de ancho de disco, B= 53 cm de ancho de disco, LT= Lóbulo testicular, OE= Órgano epigonal).

2.- Primeros estados de la espermatogénesis dentro de un lóbulo testicular conteniendo varios espermatocistos, en un testículo de macho inmaduro (Fig. 33). Estos espermatocitos presentan ya sea gonocitos o espermatogonias lo que inicia el proceso de formación de los espermatozoides.

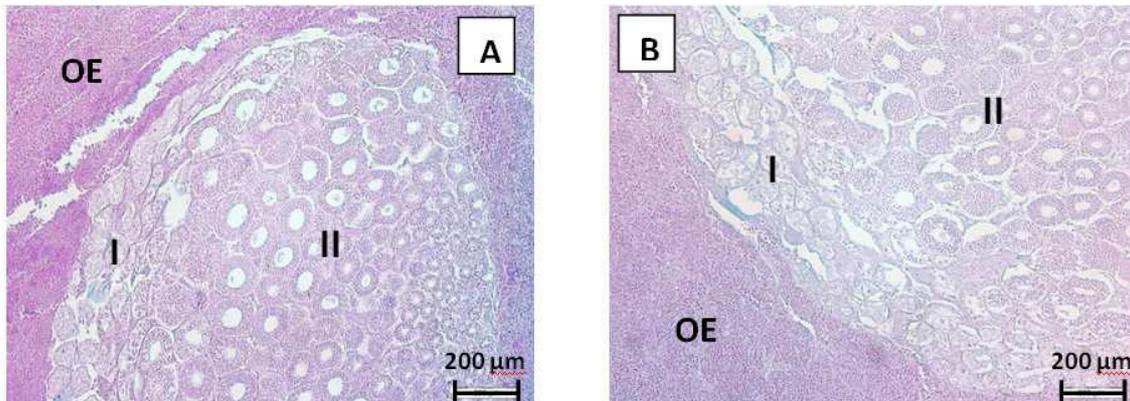
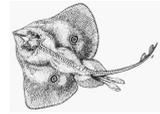


Figura 33.- Primeros estadios de espermatogénesis en machos inmaduros de la raya *Raja velezi*. (Tinción de Feulgen, Aumento: 10x, A= 60 cm de ancho de disco, B= 53 cm de ancho de disco, I= gonocitos, II= espermatogonia, OE= organo epigonal).

3.- Estadio I: Gonocitos (Fig. 34). Durante el primer estadio de desarrollo de la espermatogénesis los espermatocistos consisten en gonocitos poco organizados o espermatogonias primarias, algunas de las cuales ya están ligados a una membrana basal; Aquí se puede ver como los gonocitos tienen su desarrollo en la periferia de los lóbulos testiculares y no muestran una



organización; los gonocitos son las células germinales que darán origen a las espermatogonias.

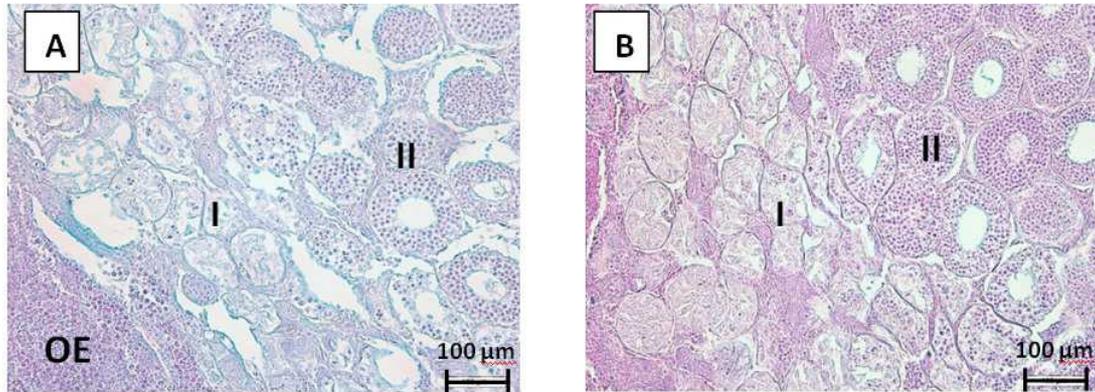


Figura 34: Estadio I, gonocitos en machos inmaduros de la raya *Raja velezi* (Tinción de Feulgen, Aumento: 20x, A= 60 cm de ancho de disco, B= 53 cm de ancho de disco, I= gonocitos, II= espermatogonia OE= organo epigonal).

4.- Estadio II: Espermatogonia (Fig. 35). Al pasar al segundo estadio las células de Sertoli y las espermatogonias se dividen y los espermatocistos aumentan de tamaño; Las espermatogonias son las células germinales masculinas en su estado diploide que se encuentra en multiplicación activa por mitosis y están alineadas en la membrana basal presentan gránulos de heterocromatina en el nucleosoma y un citoplasma con reducida presencia de organelos (predominan las mitocondrias); los núcleos de las células de Sertoli se encuentran alineados hacia el lumen del espermatocisto.

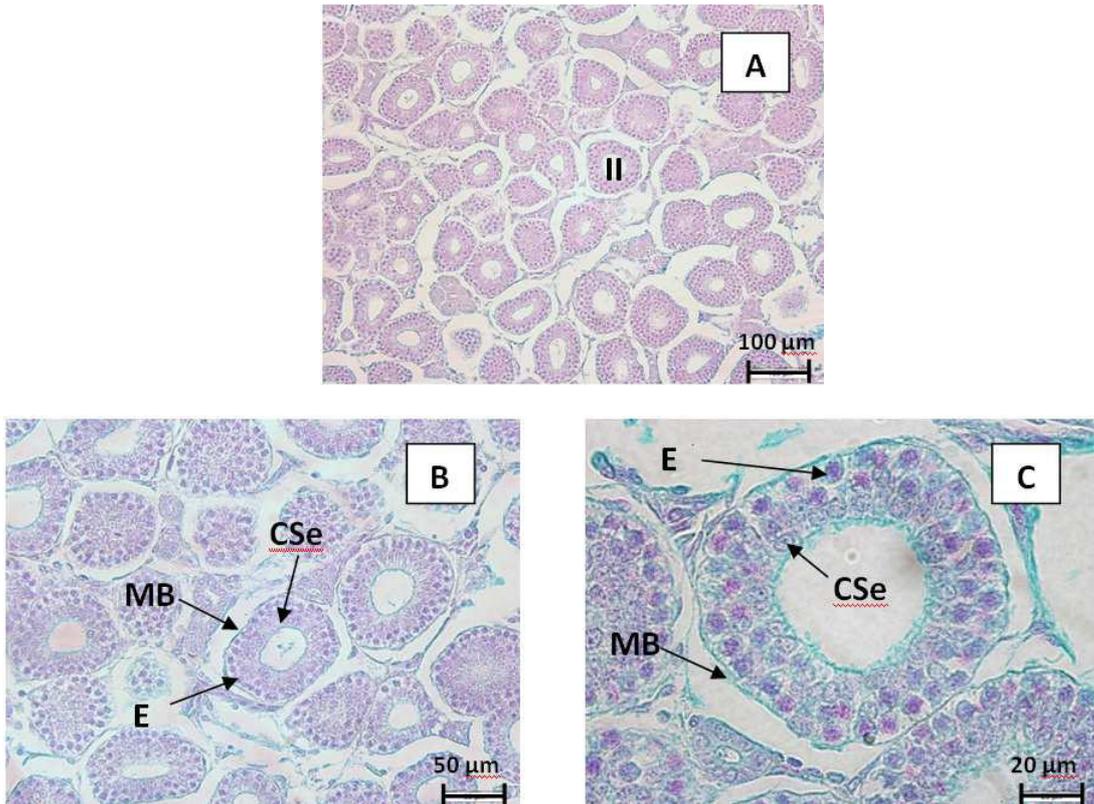
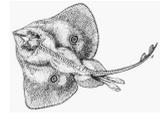


Figura 35.- Estadio II, espermatogonia en machos en maduración, de 68 cm de ancho de disco, de la raya *Raja velezi* (Tinción de Feulgen, A= Aumento: 20x, B= Aumento: 40x, C= Aumento: 100x, II= espermatogonia, CSe=células de Sertoli, E= espermatogonia, MB= membrana basal).

5.- Estadio III: espermatozoides primarios (Fig. 36). Para el tercer estadio los espermatozoides consisten en su totalidad de espermatozoides primarios estos se forman a partir de la primera división meiótica de las espermatogonias, cuentan con núcleos grandes, son células con heterocromatina más abundante que las espermatogonias y con una menor presencia de mitocondrias; las células de Sertoli se encuentran en la periferia.

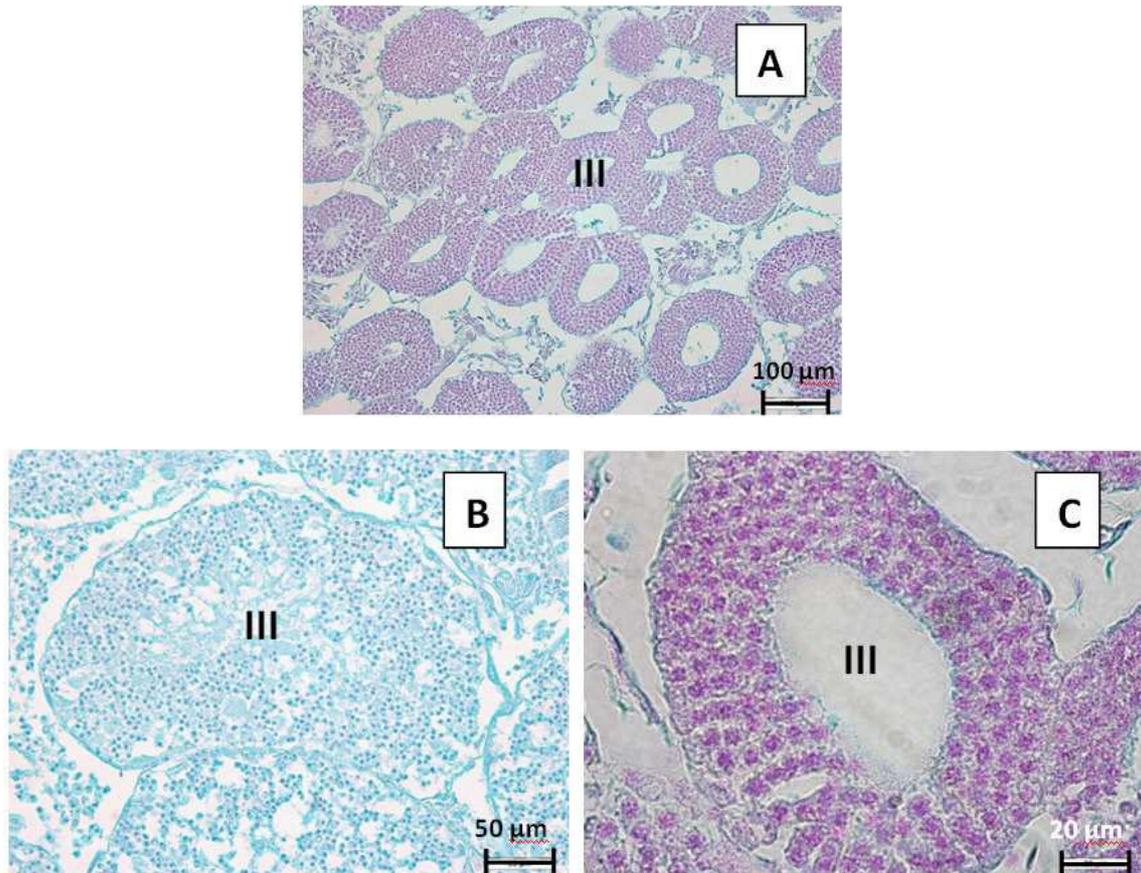
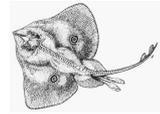


Figura 36.- Estadio III, espermatocitos primarios en machos en maduración de la raya *Raja velezi* (Tinción de Feulgen, A=Aumento: 20x macho de 68 cm de ancho de disco, B=Aumento: 40x macho de 73 de ancho de disco, C= Aumento: 100x macho de 68 cm de ancho de disco, III= Espermatocito primario).

6.- Estadio IV: Espermatocito secundario (Fig. 37). Los espermatocitos primarios pasan a ser espermatocitos secundarios formados de la división meiotica de los espermatocitos primarios, estos presentan una reducción en el tamaño del núcleo y la heterocromatina se desplaza hacia la periferia del núcleo.

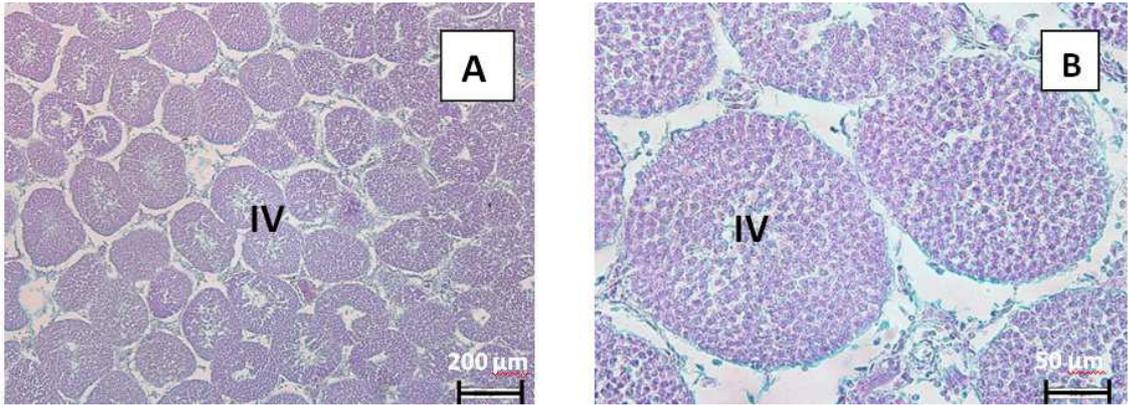
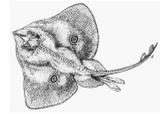


Figura 37.- Estadio IV, espermatocitos secundarios en machos en maduración, de 68 cm de ancho de disco, de la raya *Raja velezi* (Tinción de Feulgen, A=Aumento: 20x, B=Aumento: 40x, IV= espermatocito secundario).

7.- Estadio V: Espermátida (Fig. 38). Surgen las espermátidas las cuales se forman a partir de la segunda división meiótica de los espermatocitos secundarios, estos muestran núcleos elípticos y ocupa casi todo el volumen células, emergen flagelos y se ha reducido su contenido citoplasmático.

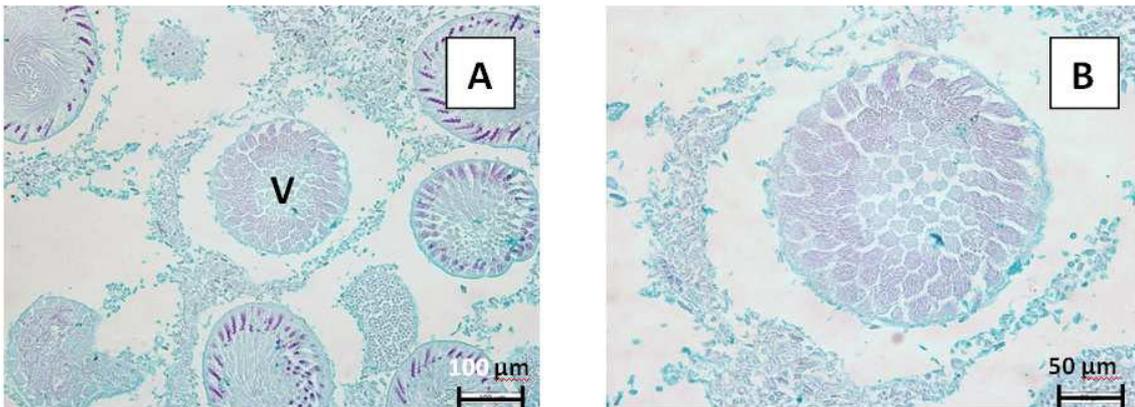


Figura 38.- Estadio V, espermátidas en machos en maduración, de 68 cm de ancho de disco, de la raya *Raja velezi* (Tinción de Feulgen, A= Aumento: 20x, B=Aumento: 40x, V= espermátida).

8.- Estadio VI: Esperma inmaduro (Fig. 39). Surgen los espermatozoides formados a partir de la espermiogénesis de las espermátidas, estos espermatozoides son alargados y se concentran en manojos con la cabeza dirigida hacia la membrana basal del espermatocisto y la cola proyectándose hacia el lumen. En este sentido ocurre la condensación y cambio del tamaño del núcleo adquiriendo un aspecto piriforme,

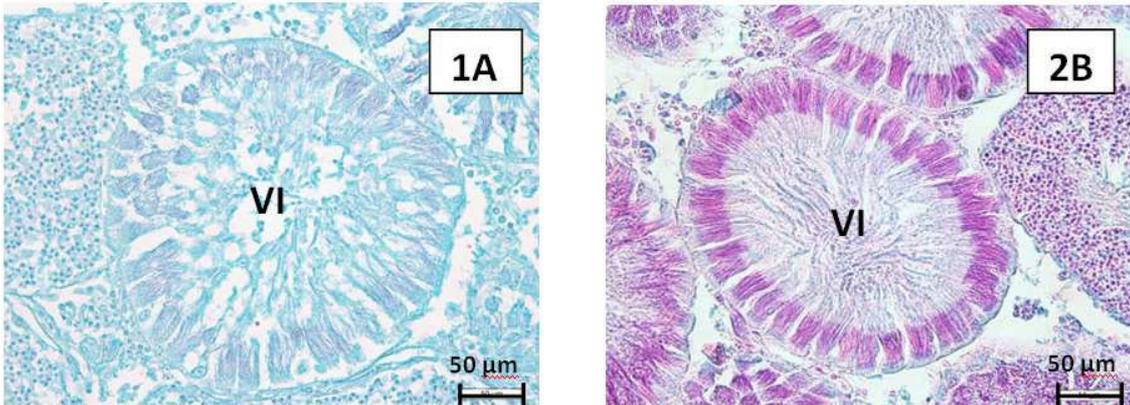
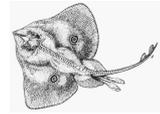


Figura 39.- Estadio VI, espermia inmaduro en machos maduros de la raya *Raja velezi* (Aumento: 40x, 1A= 73 cm de ancho de disco con tinción de Feulgen, 2B= 70 cm de ancho de disco con tinción de Hematoxilina-Eosina, VI= espermia).

9.- Estadio VII: Espermia maduro (Fig. 40). Aquí los espermatozoides inmaduros se desarrollaron formando manojos compactos organizados, dirigiéndose hacia la periferia del espermatoocito, asociados con las células de Sertoli, listos para ser expulsados del testículo y pasar por el epidídimo, ductos deferentes y ser depositados en la vesícula seminal donde son almacenados y cuando ocurre la cópula el espermia pasa a la hembra vía los gonopterigios.

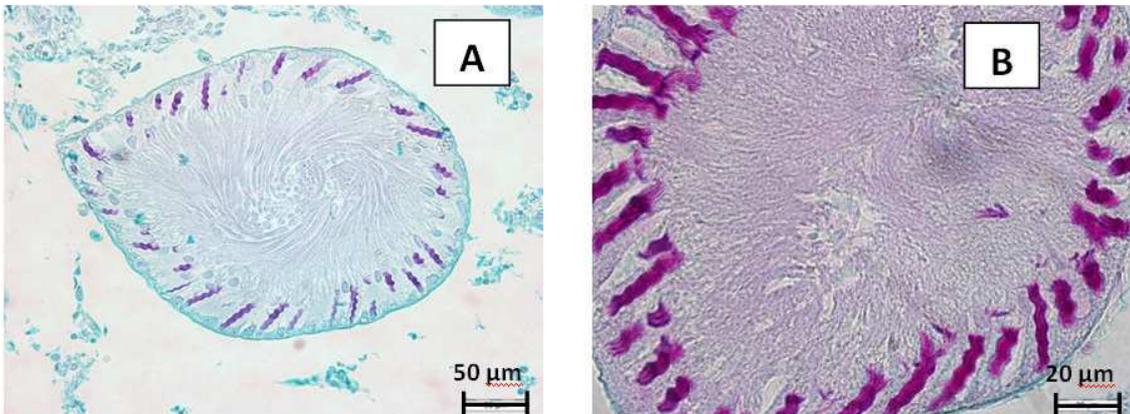
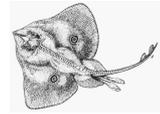


Figura 40.- Estadio VII, espermia maduro en machos en maduración, de 68 cm de ancho de disco, de la raya *Raja velezi* (Tinción de Feulgen, A= Aumento: 40x, B= Aumento: 100 x).



○ **Ovogénesis.**

El desarrollo de la ovogénesis pudo ser representado en sus inicios en hembras inmaduras y sus fases finales en hembras maduras, en hembras en maduración no se pudo caracterizar ninguna fase de desarrollo ya que no presentaban las características necesarias, en cuanto a fijación, para poder registrar alguna de las etapas de la ovogénesis y tener un panorama completo; esto puede ser debido al problema de la preparación de las muestras para los cortes histológicos, donde la misma naturaleza del ovario no permite una buena fijación y desarrollo de la técnica histológica.

De los cortes obtenidos en el ovario de hembras correspondientes a distintos estadios de desarrollo sexual (inmaduras y maduras) se pudieron identificar tres fases de la ovogénesis las cuales fueron:

Fase 3.- Folículos previtelogénicos (Fig. 41 y 42): Aquí existe una distinción entre estadio temprano y estadio tardío debido a la cantidad de vitelo formándose en el ovocito. Se trata del aumento de tamaño de los folículos primordiales, en donde el ovocito como el epitelio folicular aumentan de tamaño, el epitelio folicular contiene células piriformes que formaran la capa granulosa y estas están rodeadas de células ricas en lípidos las cuales formaran la zona pelúcida, dentro del ovocito se están incorporando gránulos de vitelo iniciando la vitelogénesis.

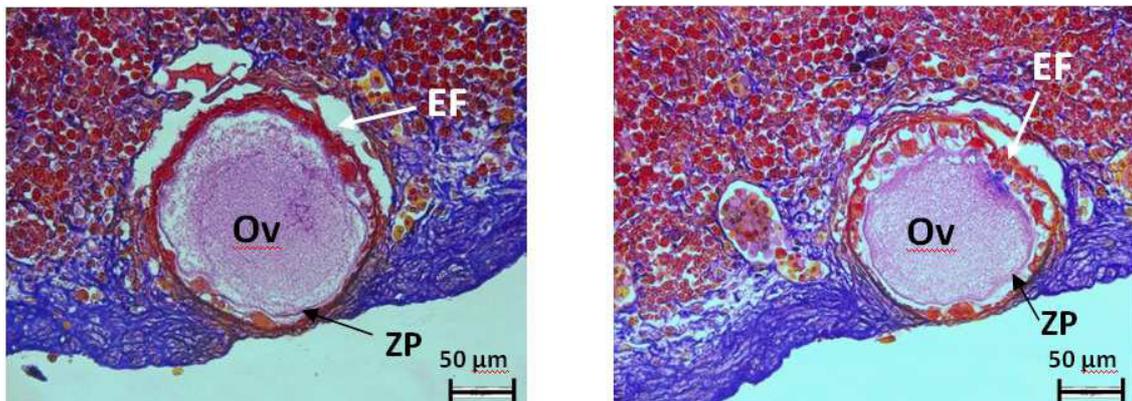


Figura 41.- Folículos previtelogénicos en estadio temprano en hembra inmadura de 65 cm de ancho de disco, de la raya *Raja velezi* (Aumento: 40x, Tinción de Mallory, Ov= ovocito, ZP= zona pelúcida, EF= epitelio folicular).

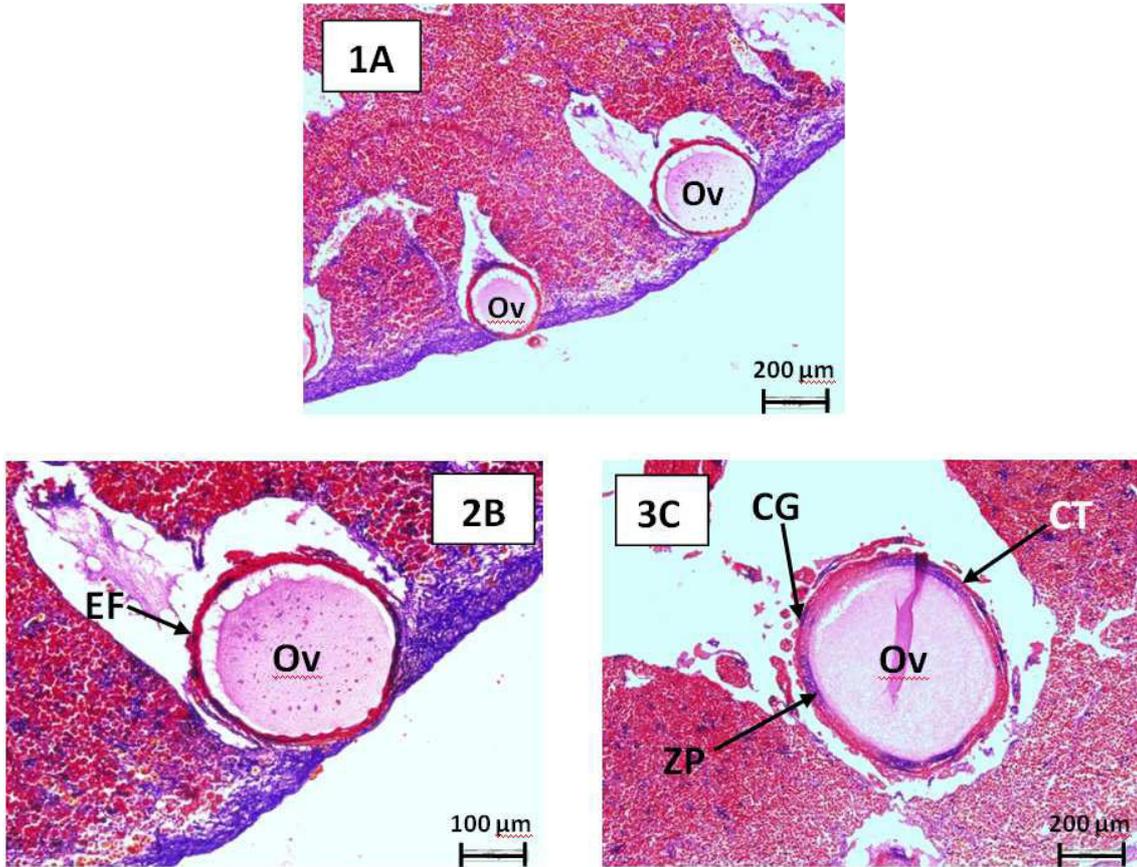
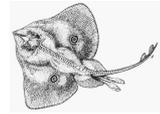


Figura 42.- Folículos previtelogénicos en estadio tardío en hembras inmaduras de la raya *Raja velezi* (Tinción de Mallory, 1A=Hembra de 67 cm de ancho de disco con aumento: 10x, 2B= Hembra de 67 cm de ancho de disco con aumento: 20x, 3C= Hembra de 65 cm de ancho de disco con aumento: 10x, Ov= ovocito, ZP= zona pelúcida, EF= epitelio folicular, CG= capa granulosa, CT= células de las tecas).

Fase 4.- Folículos vitelogénicos (Fig. 43): Aquí el ovocito ya entro en el proceso de vitelogénesis formándose plaquetas de vitelo y existe una pseudoestratificación del epitelio folicular aumentando la vascularización periférica entre los estratos de las tecas y el epitelio folicular.

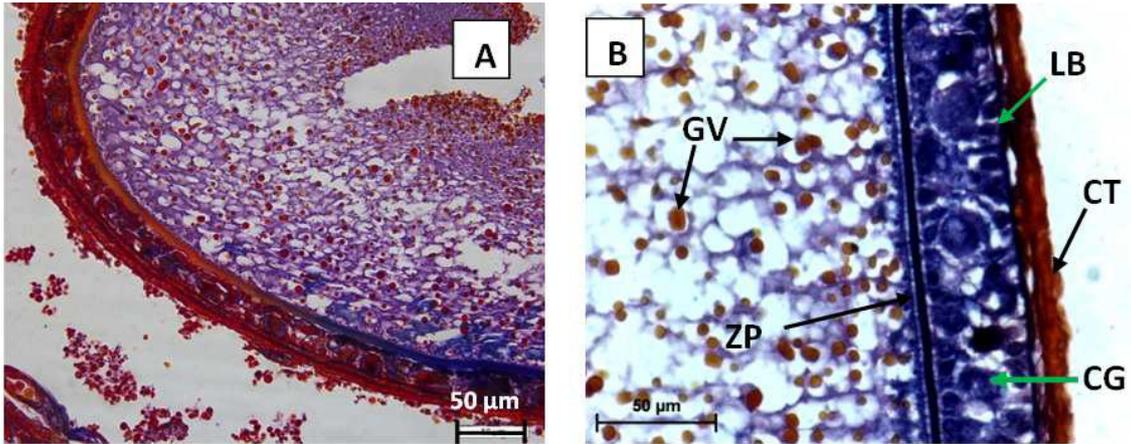
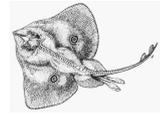


Figura 43.- Folículos vitelogénicos en hembras maduras de la raya *Raja velezi* (Aumento: 40x, Tinción de Mallory, A= Hembra de 72 cm de ancho de disco, B= Hembra de 76 cm de ancho de disco, ZP= Zona pelúcida, CG= capa granulosa, CT= células de las tecas, GV= gránulos de vitelo, LB= lamina basal).

Fase 5.- Folículo post-ovulatorio (Fig. 44): Se pudo encontrar un folículo post-ovulatorio en una hembra madura, esta fase se trata de folículos vacíos producidos después de la expulsión del ovocito, donde solo es visible el epitelio folicular; aunque también se puede tratar de un cuerpo lúteo que son folículos altamente vascularizados que surgen por atresia.

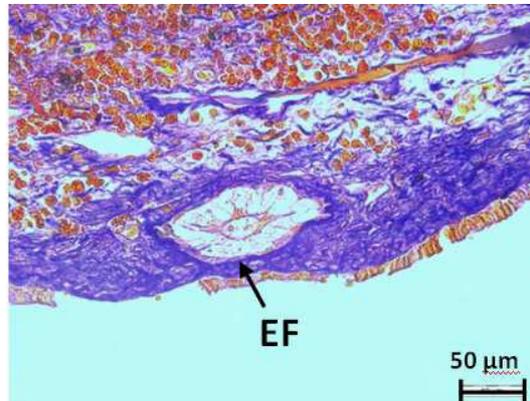
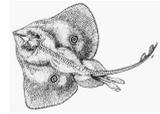


Figura 44.- Folículo post-ovulatorio en una hembra madura de 72 cm de ancho de disco, de la raya *Raja velezi* (Aumento: 40x tinción de Mallory, EF= epitelio folicular).



- **PRESENCIA DE ESPERMA EN MACHOS Y HEMBRAS**

- **Machos**

En los machos se constató la presencia de espermatozoides en el epidídimo (Fig. 45) y ducto deferente (Fig. 46 y 47).

El corte hecho en el epidídimo fue en la parte media encontrando que el cuerpo del epidídimo está formado por un epitelio columnar simple ciliado. En el lumen del epidídimo, además del espermatozoides, fue registrada la presencia de residuos citoplasmáticos esféricos que reaccionaron positivamente con la eosina, adquiriendo una coloración rosa (Fig. 45D).

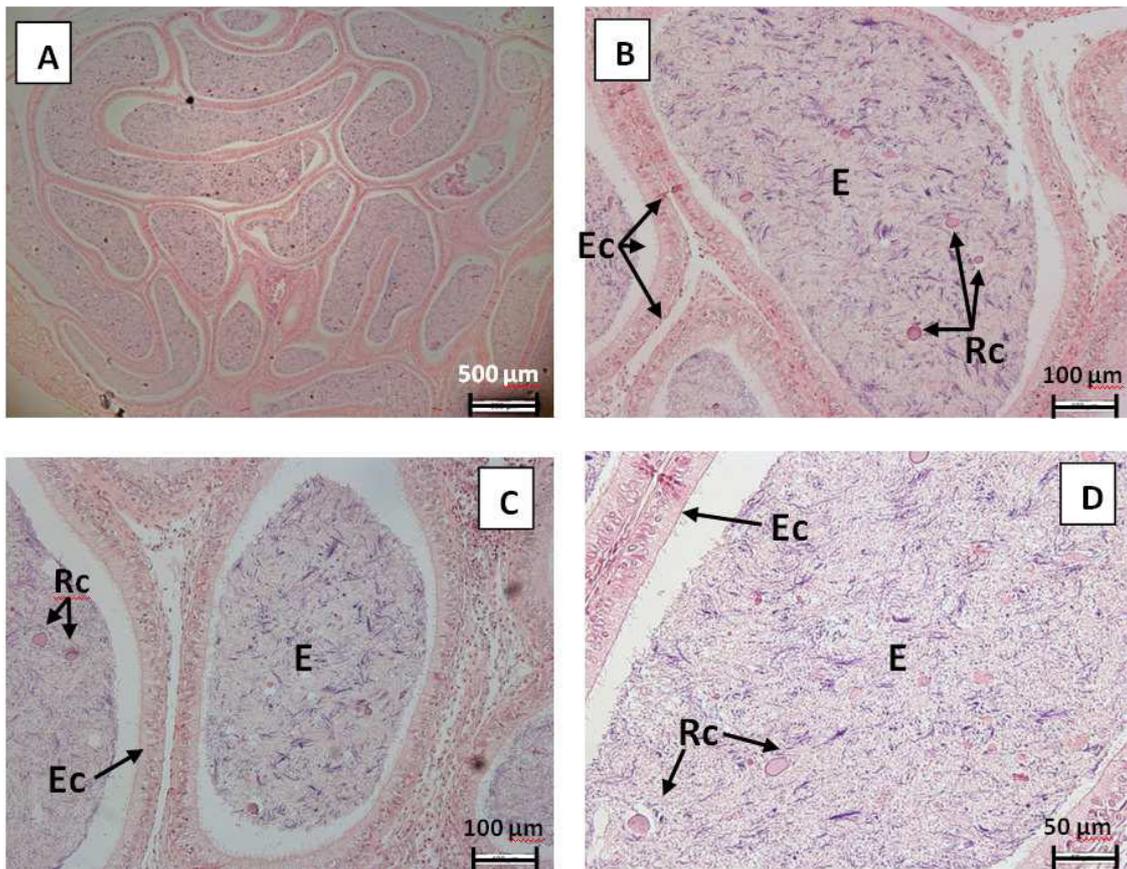
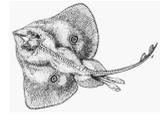


Figura 45. Corte transversal del tracto reproductivo de un macho de 67 cm de ancho de disco, clasificado como en maduración, de la raya *Raja velezi* al nivel del epidídimo. (Tinción de Hematoxilina–Eosina, A= Aumento 4x, B= Aumento 20x, C= Aumento 20x, D= Aumento 40x, E= espermatozoides, Ec= epitelio columnar ciliado, Rc= residuos citoplasmáticos).

Los cortes obtenidos del ducto deferente realizados a la altura de la glándula de Leydig; revelaron que el epitelio de estos ductos es columnar simple ciliado.



Fueron detectadas abundantes vesículas de secreción, las cuales aparecen de forma circular (Fig. 46).

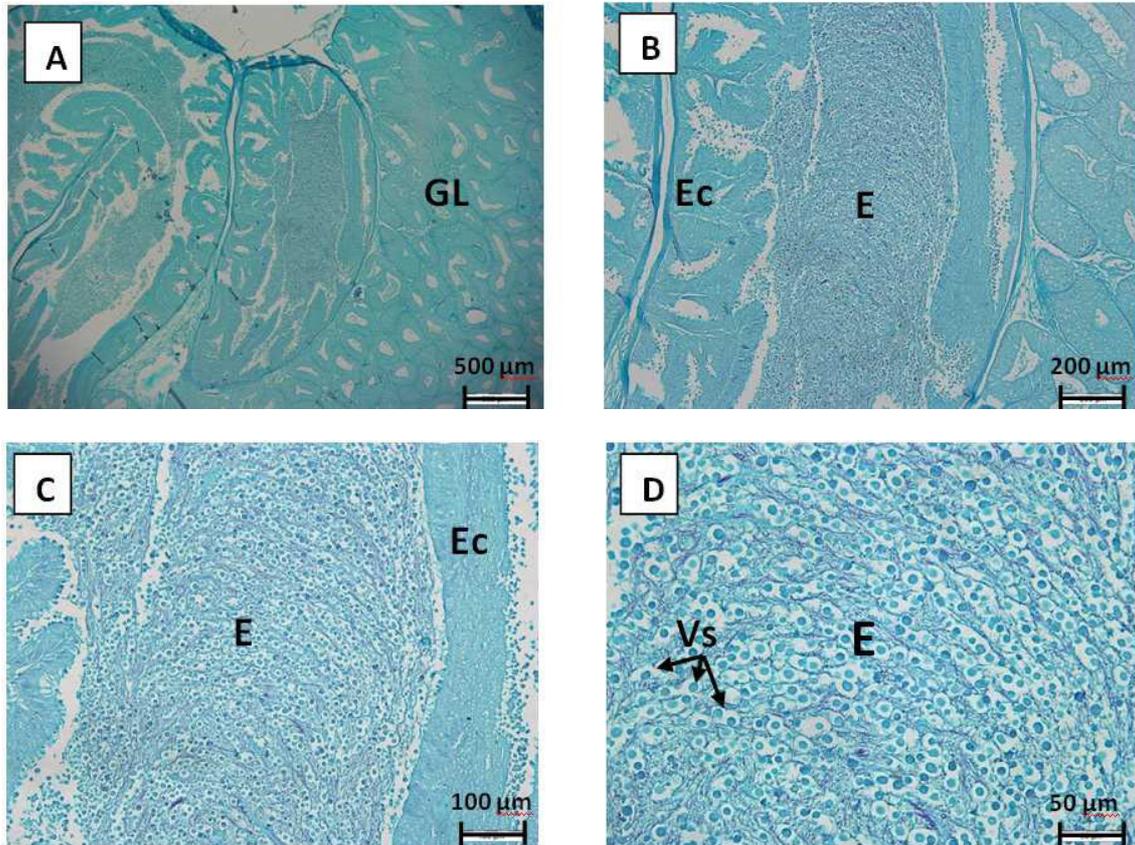


Figura 46. Presencia de espermatozoides en cortes transversales del tracto reproductivo de un macho de 68 cm de ancho de disco, clasificado como en maduración, de la raya *Raja velezi* a nivel de los ductos deferentes. (Tinción de Feulgen, A= Aumento: 4x, B= Aumento: 10x, C= Aumento: 20x, D= Aumento: 40x, E= espermatozoides, Ec= epitelio columnar, GL= glándula de Leydig, Vs= vesículas secretoras).

Fue posible constatar que la asociación de los espermatozoides en grupos definidos comienza en esta especie a nivel de los ductos deferentes (Fig. 47).

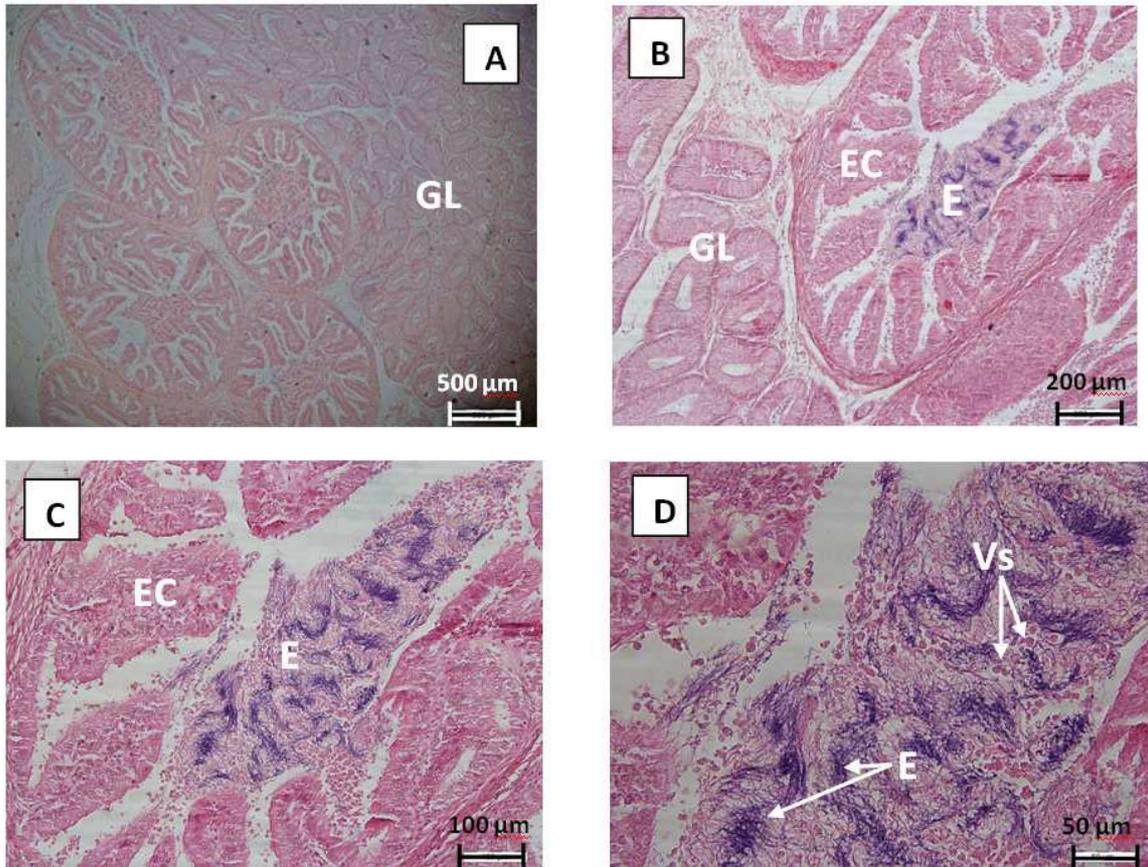
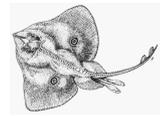
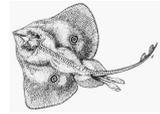


Figura 47. Presencia de asociaciones definidas de espermatozoides en cortes transversales del tracto reproductivo de un macho de 68 cm de ancho de disco, clasificado como en maduración, de la raya *Raja velezi*, a nivel de los ductos deferentes (Tinción de Hematoxilina–Eosina, A= Aumento: 4x, B= Aumento: 10x, C= Aumento: 20x, D= Aumento: 40x, E= esperma, Ec= epitelio columnar, GL= glándula de Leydig, Vs= vesículas secretoras).



○ **Hembras**

Para la raya *Raja velezi* se pudo encontrar espermatozoides en una sola hembra madura de 76 cm de ancho de disco, la cual tenía cápsulas ovígeras ya desarrolladas. En un corte transversal de la parte posterior de la glándula oviducal, el espermatozoides se encontró en la región más periférica de la zona terminal (Fig. 48).

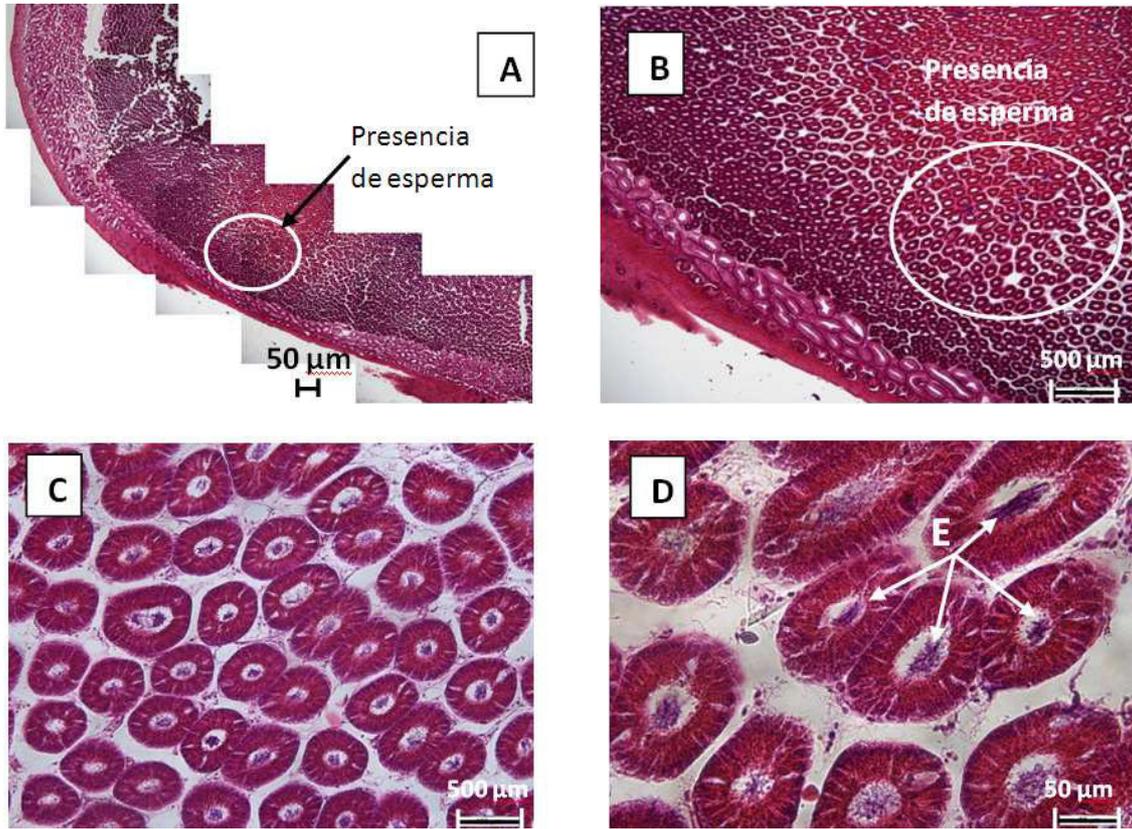
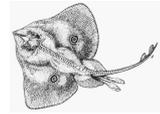


Figura 48. Corte transversal de la glándula oviducal de una hembra de 76 cm de ancho de disco, zona terminal (Tinción de Hematoxilina–Eosina, A= Perspectiva de la glándula, aumento a 4x B=Aumento: 4x, C=Aumento: 20x, D= Aumento: 40x, E= espermatozoides).



- **DESCRIPCIÓN HISTOLÓGICA DE LA GLÁNDULA OVIDUCAL**

- **Hembras en maduración (Fig. 49):**

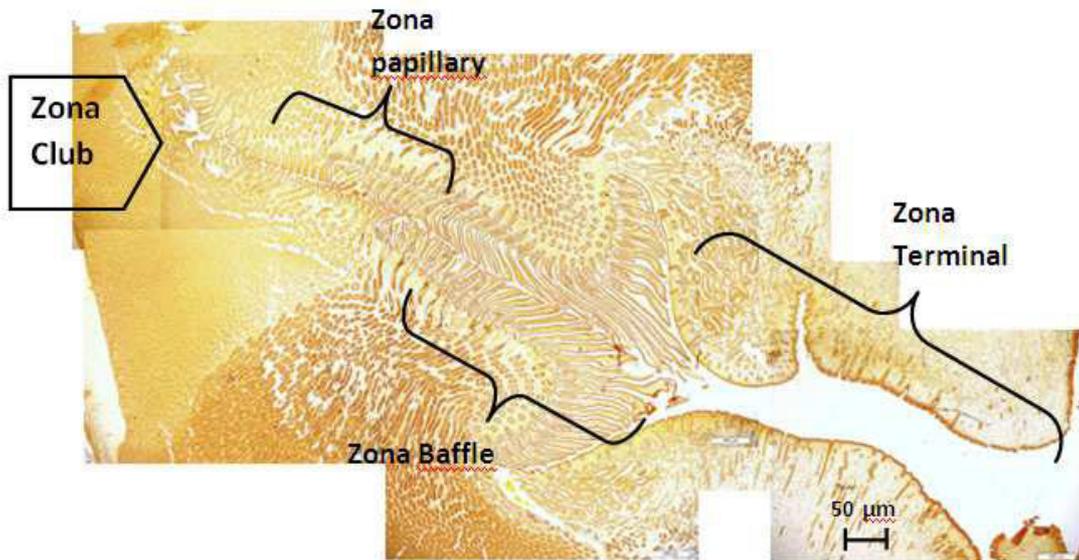


Figura 49. Corte longitudinal de la glándula oviducal de una hembra clasificada como en maduración de 65 cm de ancho de disco de raya *Raja velezi*, mostrando su diferenciación histológica. Aumento: 4x, técnica de tinción PAS.

ZONA “CLUB”:

Epitelio columnar simple ciliado con invaginación del lumen. Las células localizadas en la base apical de la zona de pliegues reaccionaron positivamente a PAS indicando la presencia de mucopolisacáridos. La región interna de la zona club presentó ácinos mixtos muy próximos unos de otros. Estos contienen células secretoras y células ciliadas y presentaron una reacción positiva moderada con la tinción de PAS. El tejido conjuntivo está restringido al espacio entre los ácinos (Fig.50).

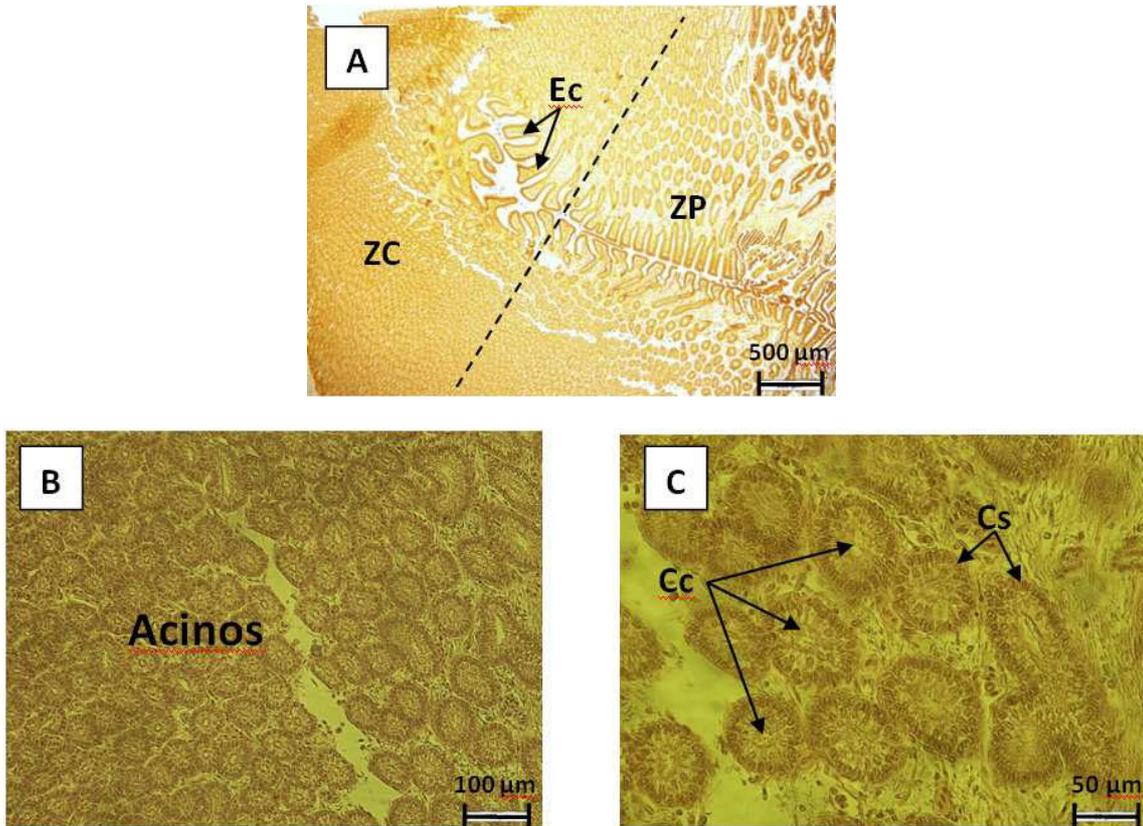
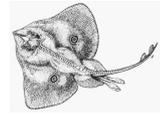


Figura 50. Zona “club” de la glándula oviducal de una hembra en maduración de 65 cm de ancho de disco de raya *Raja velezi* mostrando el epitelio columnar y los ácidos (Tinción de Pas, A= Aumento: 4x, B= Aumento: 20x, C= Aumento: 40x, ZC= zona “club”, ZP= zona “papillary”, Ec= epitelio columnar ciliado, Cs= células secretoras, Cc= células ciliadas, la línea punteada representa la separación entre la zona “club” y la zona “papillary”).

ZONA “PAPILLARY”:

El epitelio de esta zona es simple columnar ciliado, formando pliegues (laminillas) uniformes característicos. El lumen de la glándula oviducal permanece cerrado en este nivel y los ácidos están más distantes unos de otros, presentando una reacción positiva moderada con PAS igual a la zona club. Existe una mayor cantidad de tejido conjuntivo entre ácidos, presentando éstos células ciliadas y secretoras con una mayor actividad que aquellas presentes en la zona “club” (Fig. 51).

En el límite entre la zona “papillary” y la zona “baffle” se puede notar una zona marcadamente diferenciada, formada por células secretoras organizadas uniformemente (Fig. 51A).

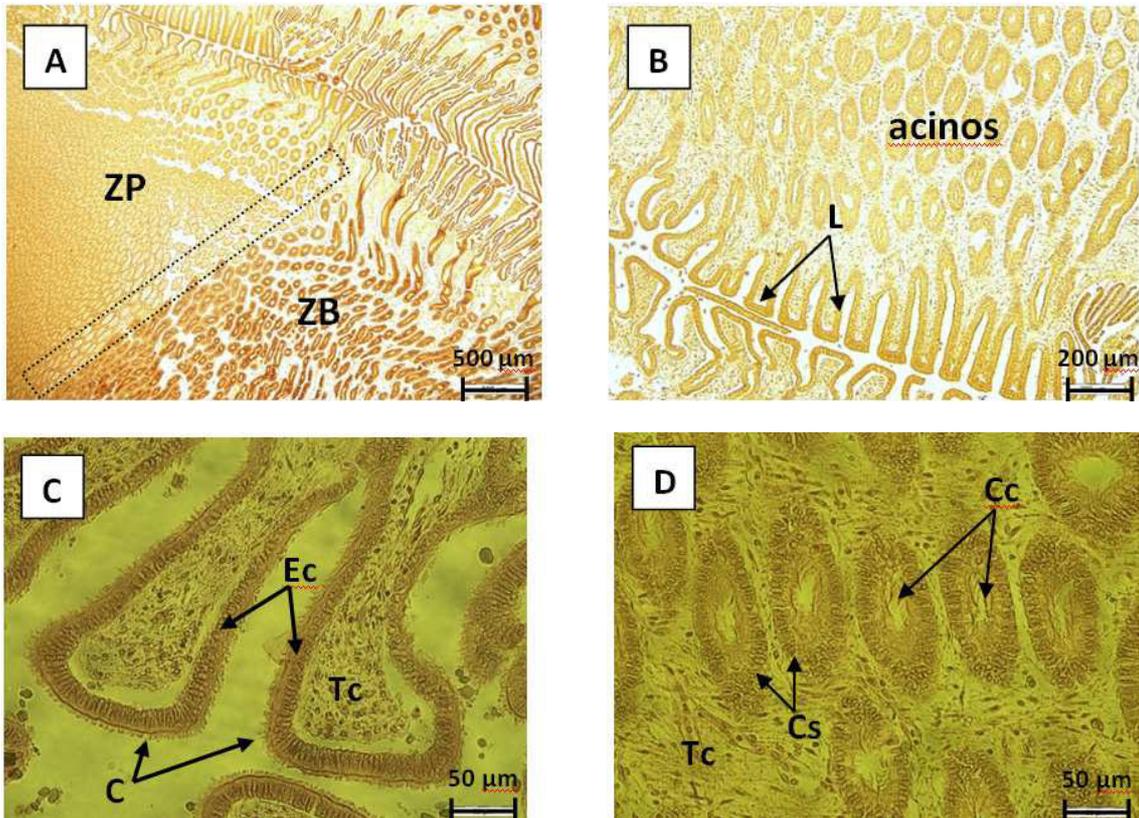
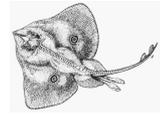


Figura 51. Zona “papillary” de la glándula oviducal de una hembra en maduración de 65 cm de ancho de disco de raya *Raja velezi*. Obsérvese un área bien diferenciada delimitando las zonas “papillary” y “baffle” (Tinción de Pas, A= Aumento: 4x, B= Aumento: 10x, C= Aumento: 40x, D= Aumento: 40x, ZB= zona “baffle”, ZP= zona “papillary”, Ec= epitelio columnar ciliado, C= cilios, Cc= células ciliadas, Cs= células secretoras, L= laminillas, Tc= tejido conjuntivo, [---] límite entre zona “baffle” y “papillary”).

ZONA “BAFFLE”:

Consta de laminillas que llevan una orientación oblicua hacia la zona “terminal” de la glándula. La base de estas es estrecha y el ápice es extendido (Fig. 52). Cada laminilla está rodeada por dos pliegues epiteliales cortos (“spinnerets”). El epitelio de la zona “baffle” es simple columnar ciliado (Fig. 53). El lumen de la glándula oviducal permanece cerrado en este nivel.

La región interna de la zona “baffle” presenta ácidos muy ricos en polisacáridos siendo fuertemente positivas con la tinción de Pas y conforme se va hacia la región externa de la zona “baffle” aumentan progresivamente de diámetro (Fig. 53).

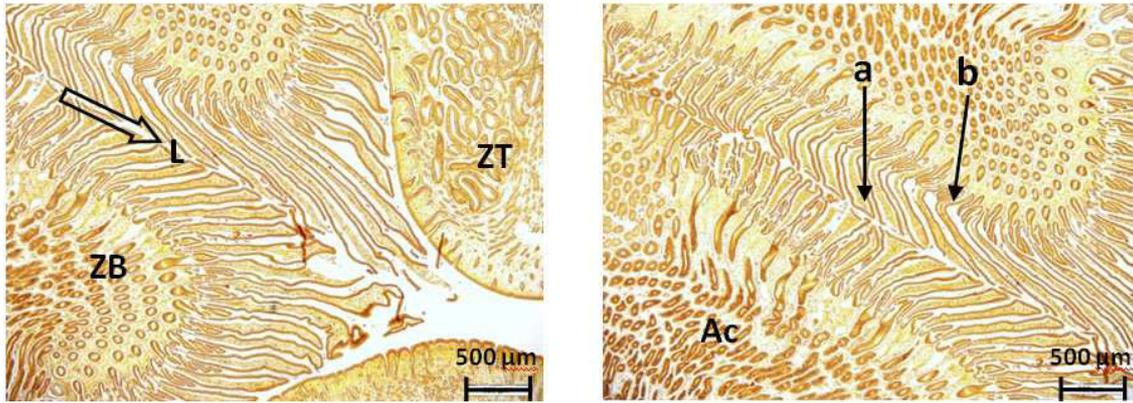
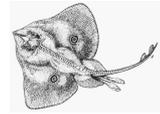


Figura 52. Disposición de las laminillas de la zona “Baffle” hacia la zona “terminal” en la glándula oviducal de una hembra en maduración de 65 cm de ancho de disco de raya *Raja velezi*. (Tinción de Pas, Aumento: 4x, a= apice de laminilla, b= base de laminilla, L=laminillas, Ac= ácidos, ZT= zona terminal, ZB= zona baffle, la flecha indica la dirección de las laminillas).

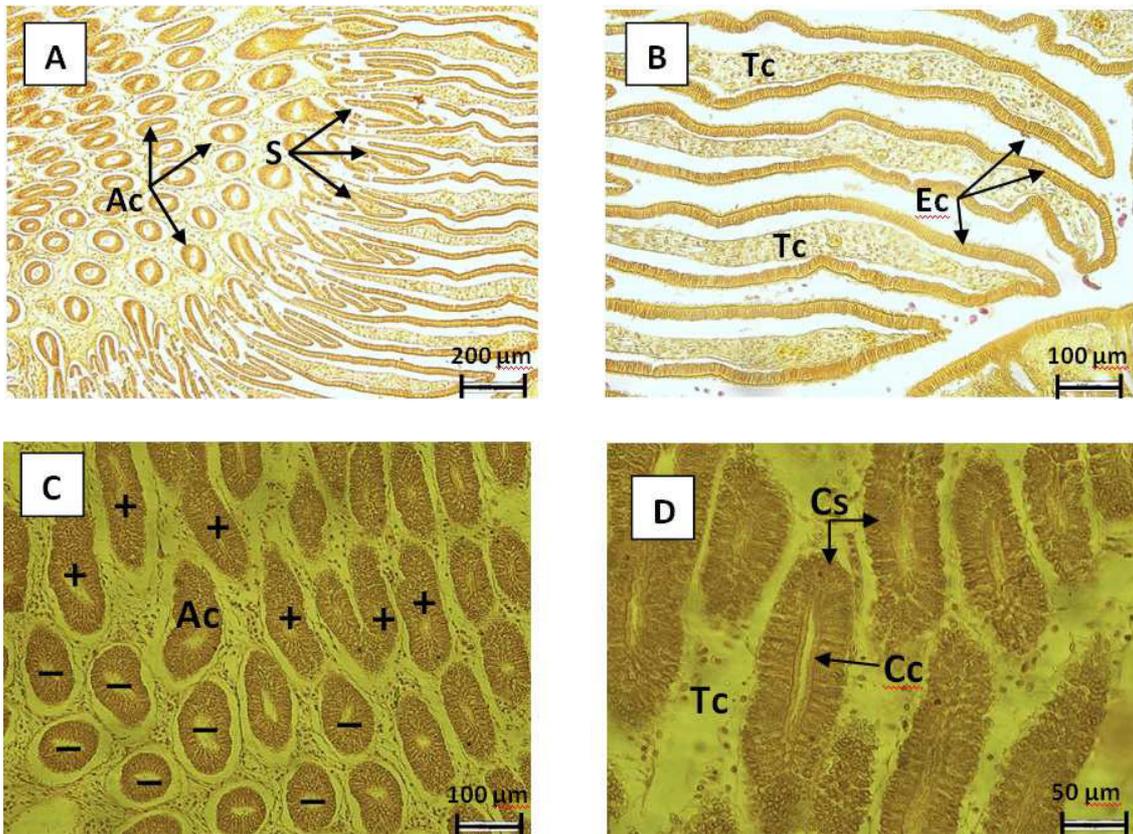
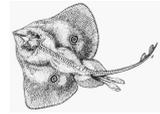


Figura 53. Zona “papillary” de la glándula oviducal en una hembra en maduración de 65 cm de ancho de disco de raya *Raja velezi*. (Tinción de Pas, A= Aumento: 10x, B= Aumento: 20x, C= Aumento: 20x, D= Aumento: 40x, Ec= epitelio columnar ciliado, Ac= ácidos, Cs= células secretoras, Cc= células ciliadas, S= spinnerets, Tc= tejido conjuntivo, + =mayor diámetro, – = menor diámetro).



ZONA “TERMINAL”:

El epitelio de esta zona es simple columnar ciliado rodeado de abundante tejido conjuntivo. Muestra invaginaciones poco prominentes, estando desprovisto de laminillas. El lumen de la glándula oviducal está abierto en este nivel, el cual comunica con el útero (Fig. 54). Los ácinos de la región interna de la zona “Terminal” muestran una reacción positiva moderada con PAS. Conforme se va hacia la región externa de la zona “Terminal”, los ácinos tienen una reacción más positiva con PAS indicando una mayor presencia de mucopolisacáridos (Fig. 55).

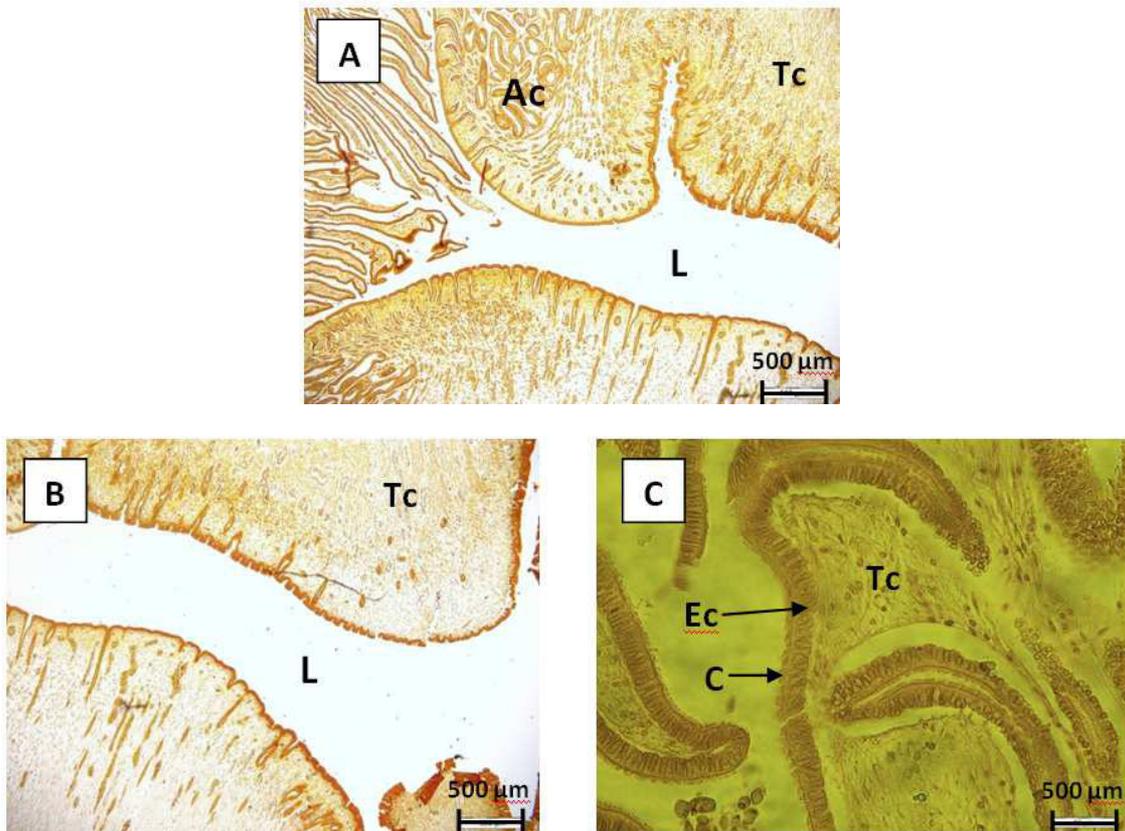


Figura 54. Zona “Terminal” de la glándula oviducal de una hembra en maduración de 65 cm de ancho de disco de raya *Raja velezi*, B: muestra las pocas invaginaciones de la zona “Terminal” (Tinción de PAS, Aumento: 4x, A= inicio de la zona “Terminal”, C= a detalle el epitelio columnar de la zona “Terminal”, L=lumen, Tc= tejido conjuntivo, Ec= epitelio columnar, Ac= ácinos, C=cilios)

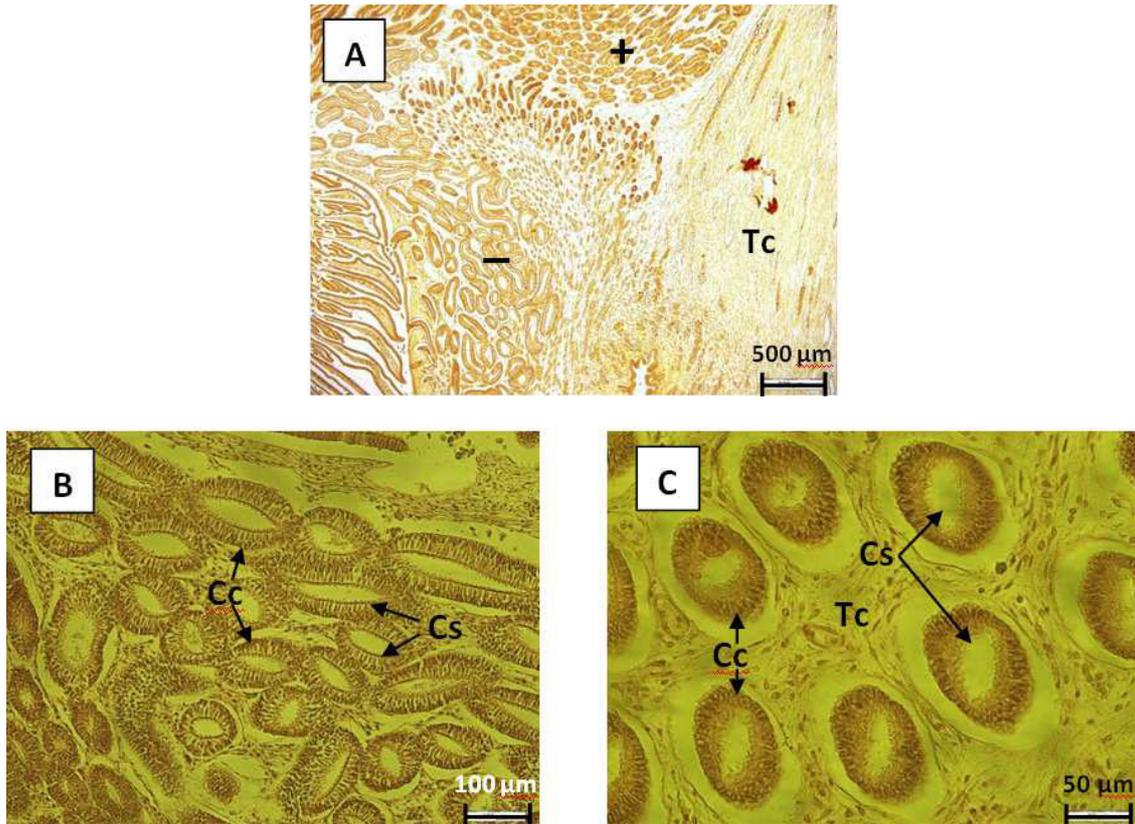
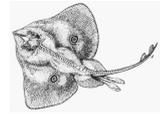
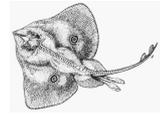


Figura 55. Ácinos de la zona “Terminal” de la glándula oviducal de una hembra de 65 cm de ancho de disco de raya *Raja velezi*. (Tinción de PAS, A= Aumento: 4x, B: ácinos de moderada reacción positiva con PAS aumento: 20x, C= ácinos de mayor reacción positiva con PAS aumento 40x, Cc= células ciliadas, Cs= células secretoras, – = ácinos de moderada reacción positiva con PAS, + =ácinos de mayor reacción positiva con PAS).



○ **Hembras maduras** (Fig. 56):

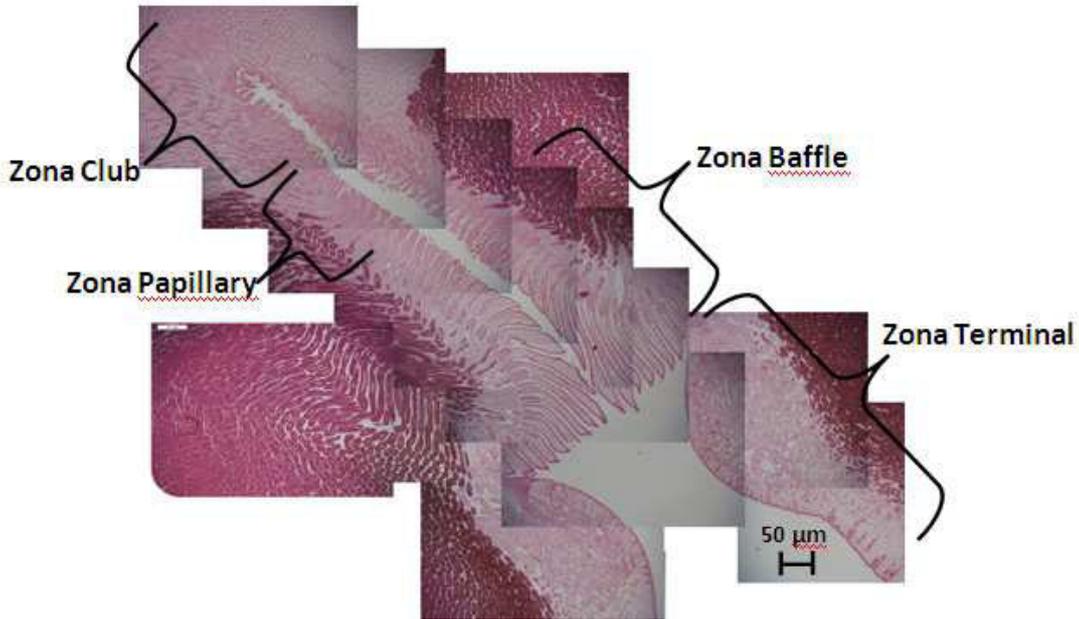


Figura 56. Corte longitudinal de la glándula oviducal de una hembra madura de *Raja velezi* de 75 cm de ancho de disco mostrando las diferentes zonas. Aumento 4x, técnica de tinción Hematoxilina- Eosina.

ZONA “CLUB”:

Esta zona presenta un epitelio columnar simple ciliado, presenta invaginación del epitelio lo que inicia el lumen de la glándula oviducal y este ya presenta una cierta abertura, las células localizadas en la base apical de la zona de pliegues reaccionaron positivamente a PAS indicando la presencia de mucopolisacáridos (Fig. 57). La región interna de la zona “club” presenta ácidos mixtos muy próximos unos de otros. Estos contienen células ciliadas con núcleo cerca del lumen del ácido y células secretoras con núcleo basal, presentando una reacción positiva moderada con la tinción de PAS. El límite entre las zonas “club” y “papillary” está claramente delimitado por una región de células secretoras organizadas uniformemente. Estas reaccionan mas positivamente con la tinción de PAS en comparación con el resto de los ácidos de la zona “club” pero menos que los que conforman la zona “papillary” (Fig. 58).

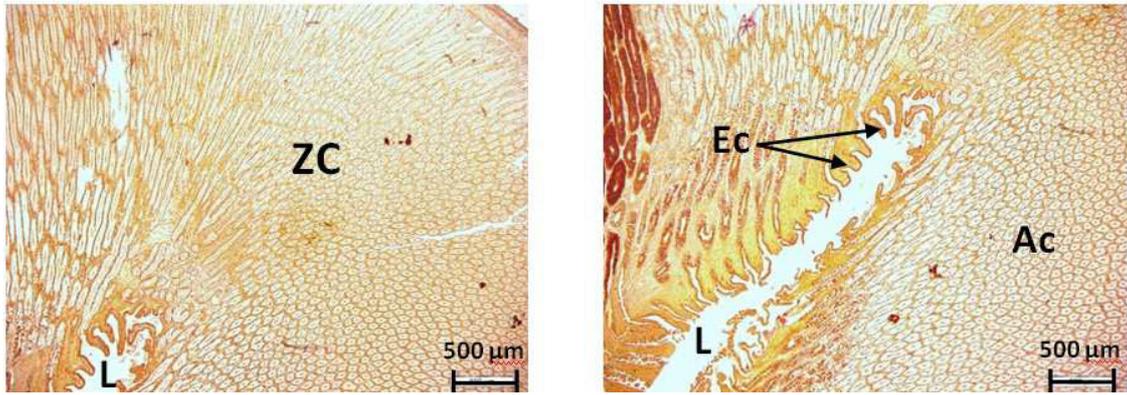
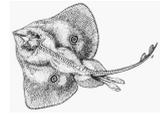


Figura 57. Zona club de una hembra madura de 75 cm de ancho de disco de raya *Raja velezi* (Tinción de PAS, Aumento: 4x, ZC= zona “club”, Ec= epitelio columnar, L= lumen de la glándula oviducal, Ac= ácinos).

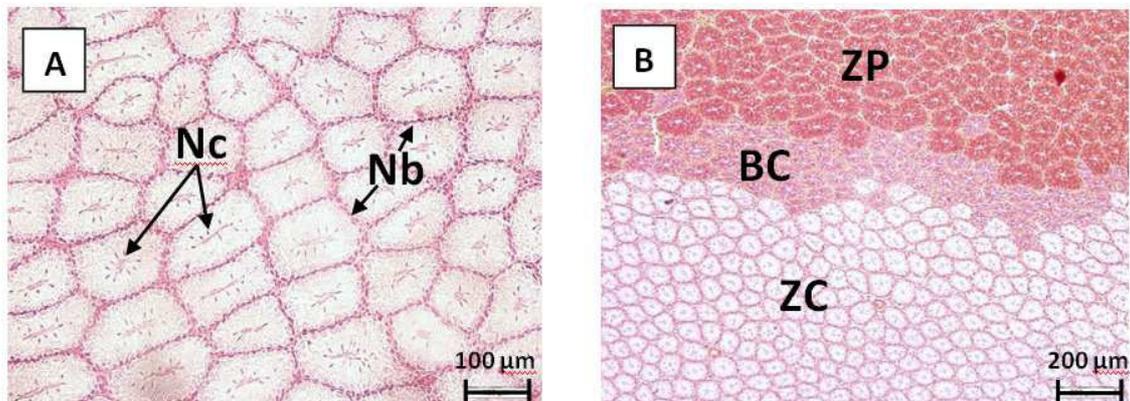


Figura 58. Ácinos de la zona “club” mostrando la transición entre esta y la zona “papillary” en una hembra madura de 74 cm de ancho de disco de la raya *Raja velezi* (Tinción de PAS, A= Aumento: 20x, B= Aumento 10x, ZC= zona “club”, ZP= zona “papillary”, BC= barrera celular, Nc= células ciliadas con núcleo cerca del lumen, Nb= células secretoras con núcleo basal)

En un corte longitudinal se encontró la formación de secreciones en la zona “club” de la glándula, en la región externa más periférica de la glándula (Fig. 59) y en la región externa de la zona “club” (Fig. 60). Los ácinos que rodean estas secreciones son mucosos y presentan una gran actividad al estar completamente teñidas de rojo por acción de la tinción de Mallory.

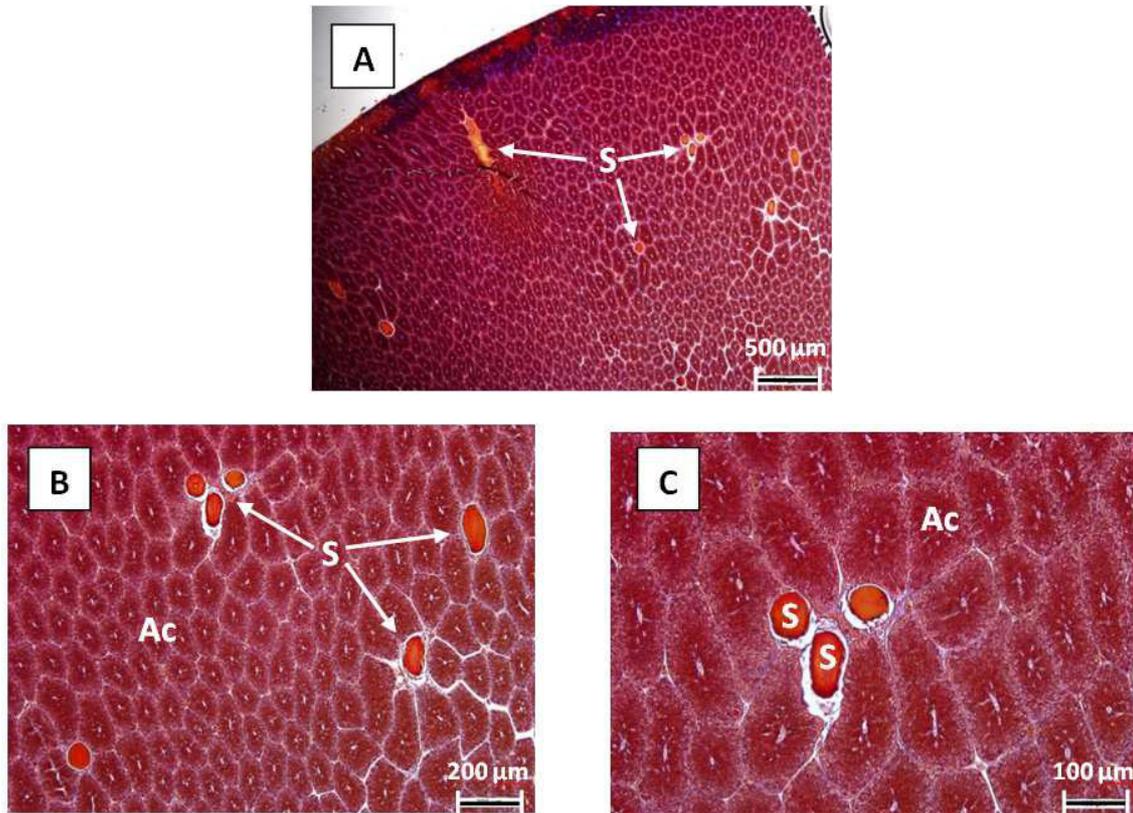
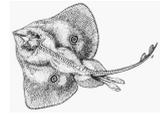


Figura 59. Secreciones presentes en la región externa más periférica de la glándula oviducal a nivel de la zona “club” en una hembra madura de 74 cm de ancho de disco de *Raja velezi* (Tinción de Mallory, A=Aumento: 4x, B=Aumento: 10x, C=Aumento: 20x, S= secreciones, Ac= ácidos).

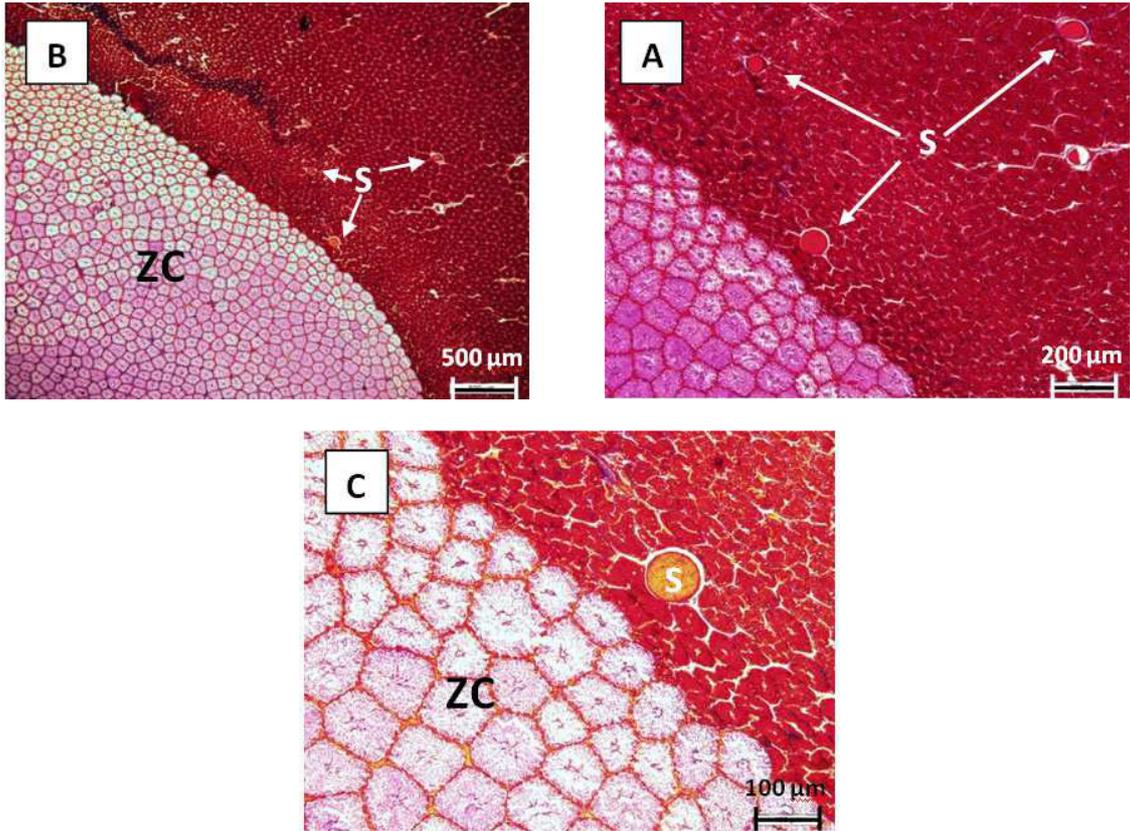
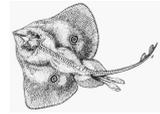


Figura 60. Secreciones presentes en la periferia de la región externa de la zona “club” en un hembra de 73 cm de ancho de disco de *Raja velezi* (Tinción de Mallory, A=Aumento: 4x, B=Aumento: 10x, C=Aumento: 20x, S= secreciones, ZC= zona club).

ZONA “PAPILLARY”:

Posee un epitelio simple columnar ciliado, formando pliegues (laminillas) uniformes característicos. El lumen de la glándula oviducal se va abriendo progresivamente conforme se adentra hacia la zona terminal (Fig. 61). Hacia el interior de la zona “papillary”, los ácinos están más distantes unos de otros y puede notarse en algunos casos que puede existir una ramificación de estos al inicio de la región interna de la zona “papillary”. Presentan una reacción positiva con PAS mayor a aquella de la zona “club” y es notorio el tejido conjuntivo entre estos. Los ácinos presentan células ciliadas y células secretoras activas, lo que es evidente por la alta densidad de vesículas secretoras (Fig. 62).

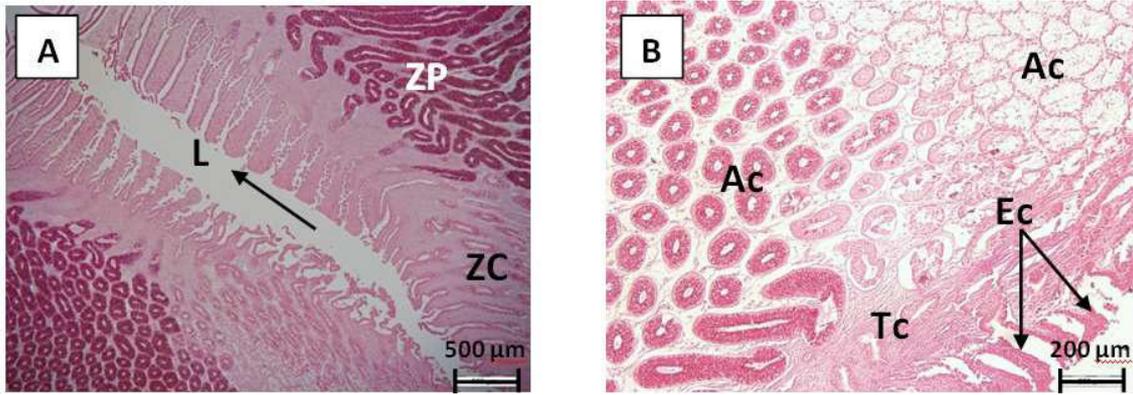
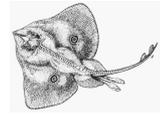


Figura 61. Zona “papillary” de una hembra de *Raja velezi* de 75 cm de ancho de disco (Tinción Hematoxilina–Eosina, A= Aumento a: 4x, B= Aumento a 10x, ZC= zona “club”, ZP= zona “papillary”, L= lumen, la flecha indica la dirección del lumen, Ac= ácinos, Ec= epitelio columnar Tc= tejido conjuntivo).

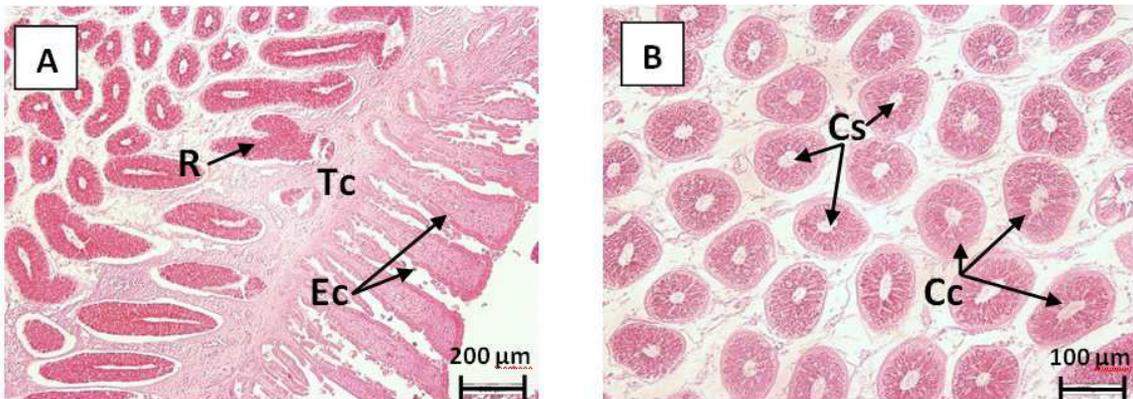
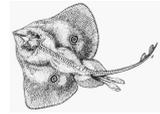


Figura 62. Ácinos de la zona “papillary” de una hembra de *Raja velezi* de 73 cm de ancho de disco (Tinción de Hematoxilina–Eosina, A= Aumento a 10x, B= Aumento a 20x, R= ramificación de ácino, Tc= tejido conjuntivo, Ec= epitelio columnar, Cs= células secretoras, Cc= células ciliadas).

ZONA “BAFFLE”:

Al igual que en hembras en maduración, las laminillas de la zona “baffle” llevan una orientación oblicua hacia la zona terminal de la glándula, la base de estas es estrecha y el ápice es extendido, cada laminilla está rodeada por spinnerets. El epitelio de la zona “baffle” es simple columnar ciliado. El lumen de la glándula oviducal ubicado al final de la zona “baffle” se cierra en dirección a la zona “terminal” (Fig. 63).

La región interna de la zona “baffle” presenta ácinos ricos en polisacáridos siendo fuertemente positivas con la tinción de PAS. Estos contienen células secretoras con una alta actividad ocupando la mayor parte del cuerpo de los ácinos quedando las células ciliadas reducidas notándose solo los núcleos y



los cilios. Al inicio de la región interna de la zona “baffle” se distinguen ácidos de mayor diámetro que, conforme se adentra hacia la región externa, disminuyen progresivamente (Fig. 64).

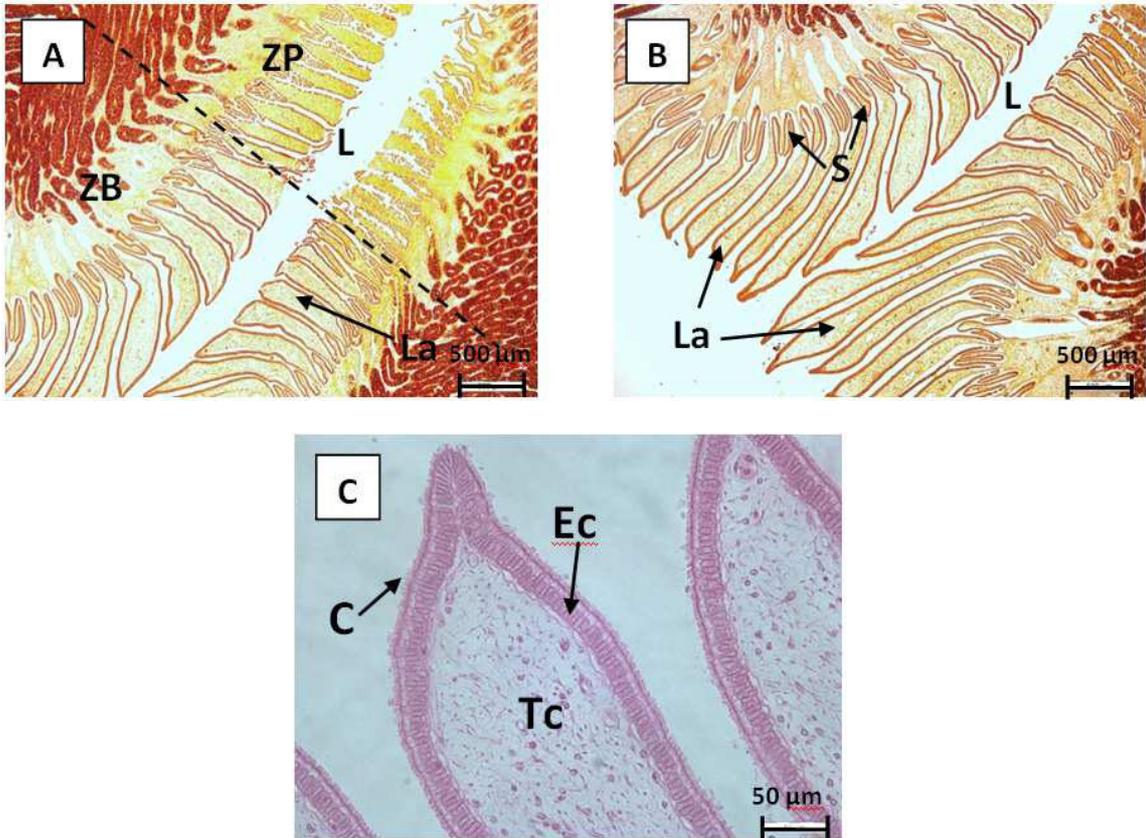


Figura 63. Zona “baffle” de una hembra de *Raja velezi* de 75 cm de ancho de disco (A, B= Tinción PAS aumento a 4x, C= Tinción de Hematoxilina–Eosina aumento a: 40x, Tc= tejido conjuntivo, Ec= epitelio columnar, L = lumen, La= laminillas, ZB= zona “baffle”, ZP= zona “papillary”, C= cilios, S= spinnerets)

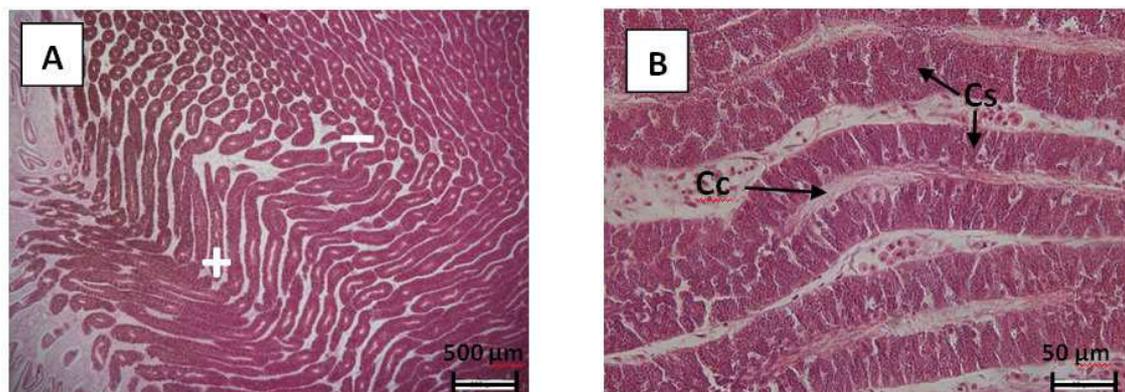
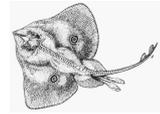


Figura 64. Ácidos de la zona “baffle” en una hembra madura de *Raja velezi* de 75 cm de ancho de disco (A= aumento: 4x, B= aumento: 40x, Ac= ácidos, Cc= células ciliadas, Cs= células secretoras, + = mayor diámetro, - = menor diámetro).



En este estadio de desarrollo ya se puede encontrar la producción de secreciones, estas se encontraron en los cortes transversales de la glándula oviducal a la altura de la zona de “baffle”, estuvieron localizadas en la región externa más periférica de la glándula oviducal. Los ácinos que se encuentran alrededor presentan una gran cantidad de ácinos mucosos los cuales poseían células secretoras de mucina (Fig. 65). Secreciones fueron también detectadas en la región interna de la zona “baffle” (Fig. 66).

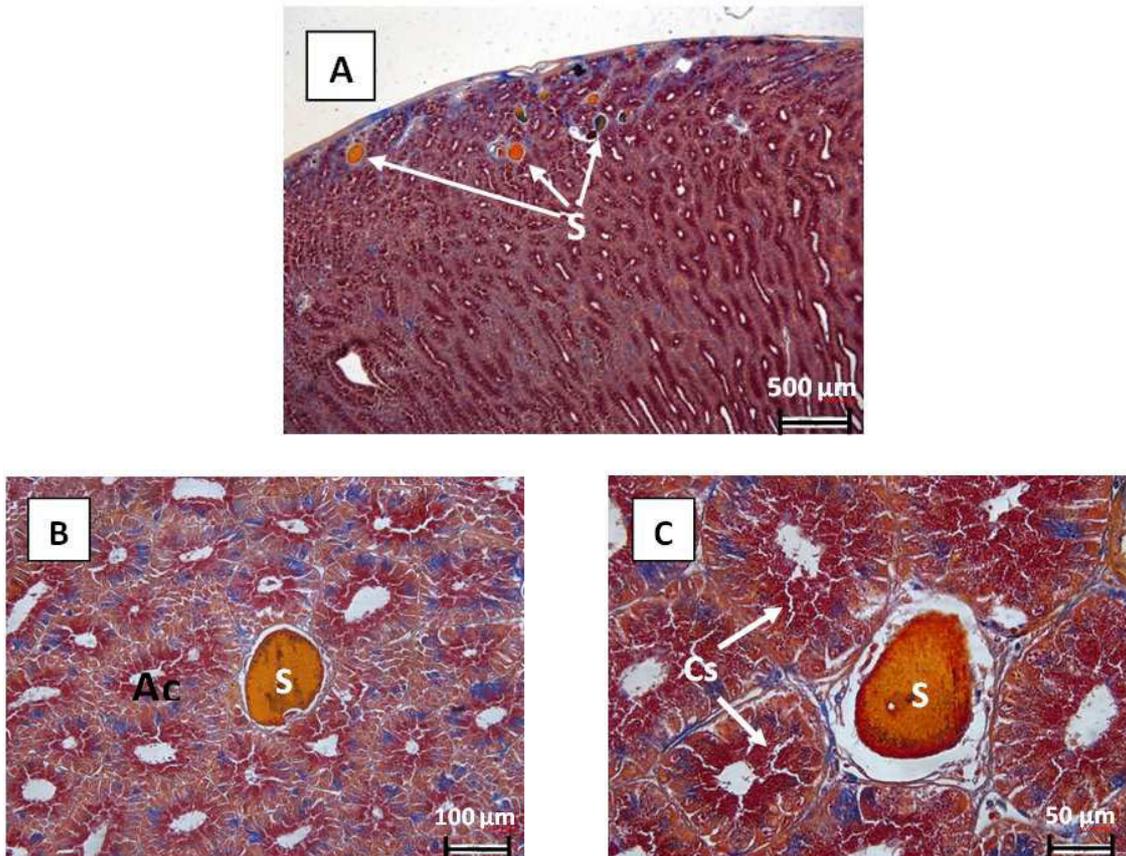


Figura 65. Secreciones presentes en la región externa más periférica de la glándula oviducal en una hembra madura de 75 cm de ancho de disco de *Raja velezi* a nivel de la zona “baffle” (Tinción de Mallory, A= Aumento: 4x, B= Aumento: 20x, C=Aumento: 40x, S= secreción, Ac= ácinos, Cs= células secretoras).

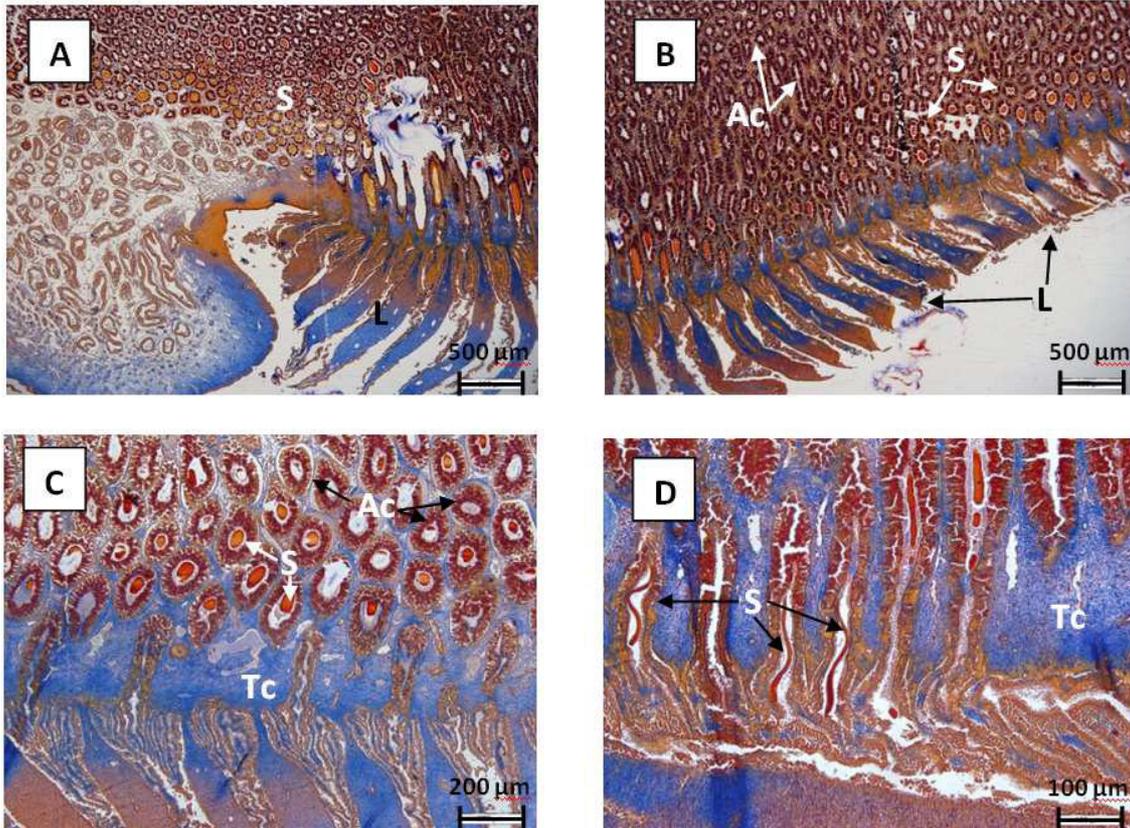
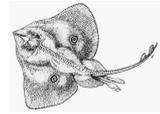


Figura 66. Secreciones presentes la región anterior de la zona de “baffle” en la glándula oviducal en una hembra madura de 75 cm de ancho de disco de la raya *Raja velezi* (Tinción de Mallory, A= Aumento: 4x, B= Aumento: 4x, C= Aumento: 10x, D= Aumento: 20x, S= secreción, L= laminillas, Ac=ácinos, Tc= tejido conjuntivo).

Estas secreciones tuvieron una coloración naranja en la tinción de Mallory lo que indica que están formadas de vitelo (Fig. 67).

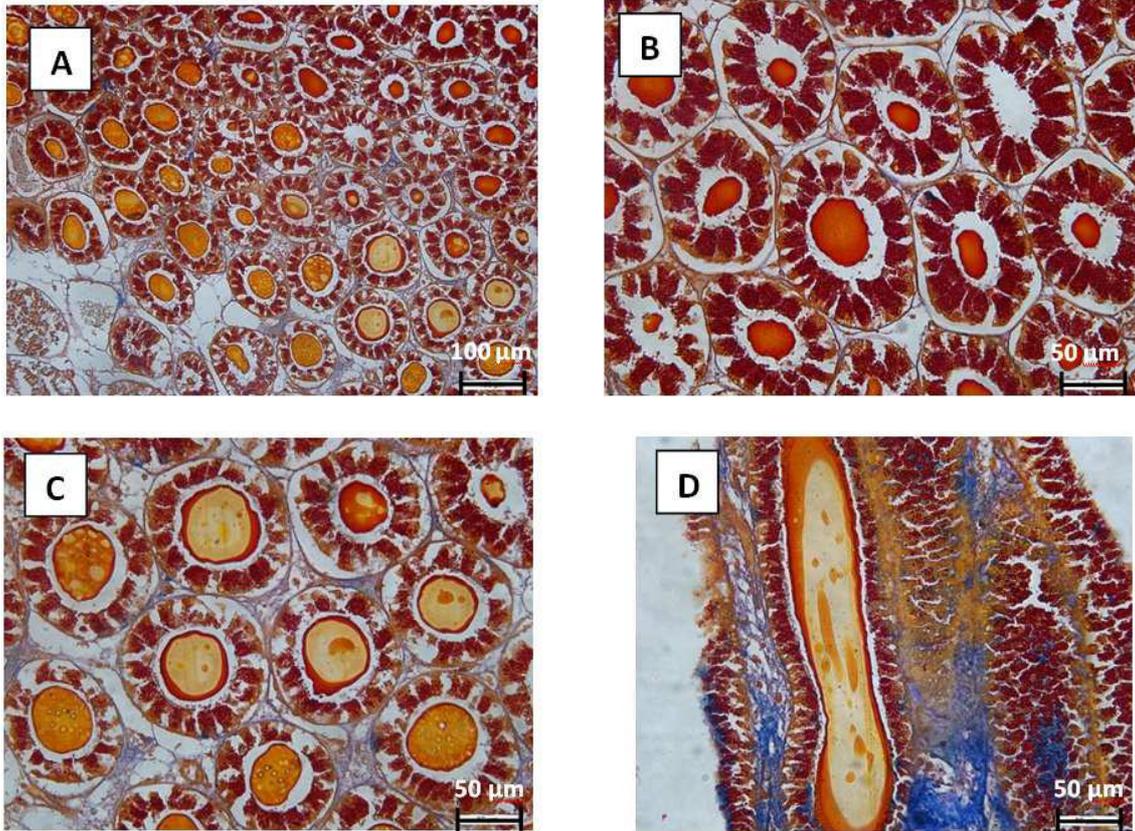
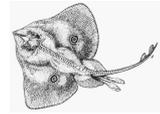


Figura 67. Secreciones formadoras de cápsulas ovígeras presentes en la zona “bafle” de la glándula oviducal en una hembra madura de 75 cm de ancho de disco de raya *Raja velezi* (Tinción de Mallory, A= Aumento: 20x, B= Aumento: 40x, C= Aumento: 40x, D= Aumento: 40x).

ZONA “TERMINAL”:

El epitelio de esta zona es simple columnar ciliado rodeado de abundante tejido conjuntivo. Muestra invaginaciones poco prominentes al inicio de la zona “terminal”, pero ya en la parte al final de esta zona que conecta con el oviducto posterior presenta laminaciones prominentes. El lumen de la glándula oviducal está abierto en este nivel (Fig. 68). Los ácinos de esta zona son de dos tipos; la región interna muestra ácinos con una reacción positiva moderada con PAS, donde es posible distinguir las células ciliadas con núcleos cerca del lumen y las células secretoras con núcleos basales. Conforme se adentra hacia la región externa de esta zona los ácinos tienen una reacción más positiva con PAS indicando una mayor presencia de mucopolisacáridos en donde las células secretoras están ocupando todo el ácino, notando una mayor actividad secretora, y solo se llegan a notar los cilios de las células ciliadas (Fig. 69).

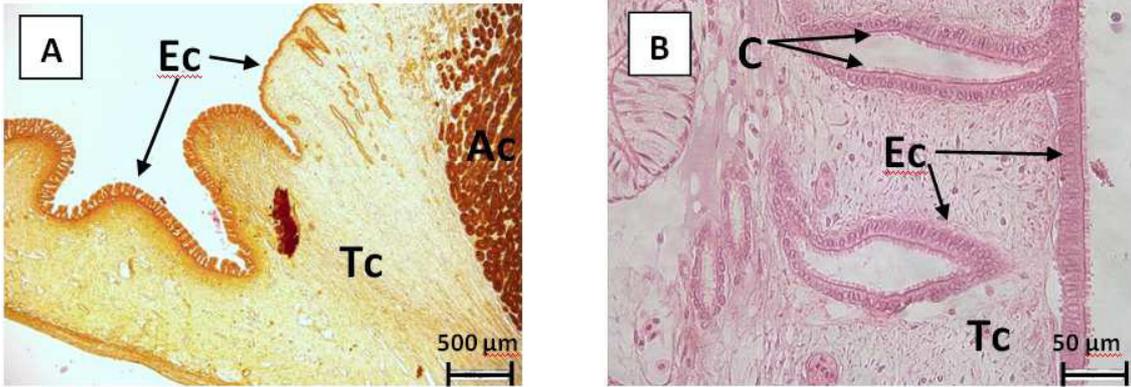
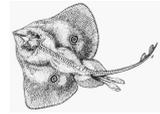


Figura 68. Epitelio de la zona “terminal” en una hembra madura de 75 cm de ancho de disco de *Raja velezi* (A= Tinción PAS aumento: x, B= Tinción de Hematoxilina–Eosina aumento: x, Tc= tejido conjuntivo, Ec= epitelio columnar, Ac= ácidos).

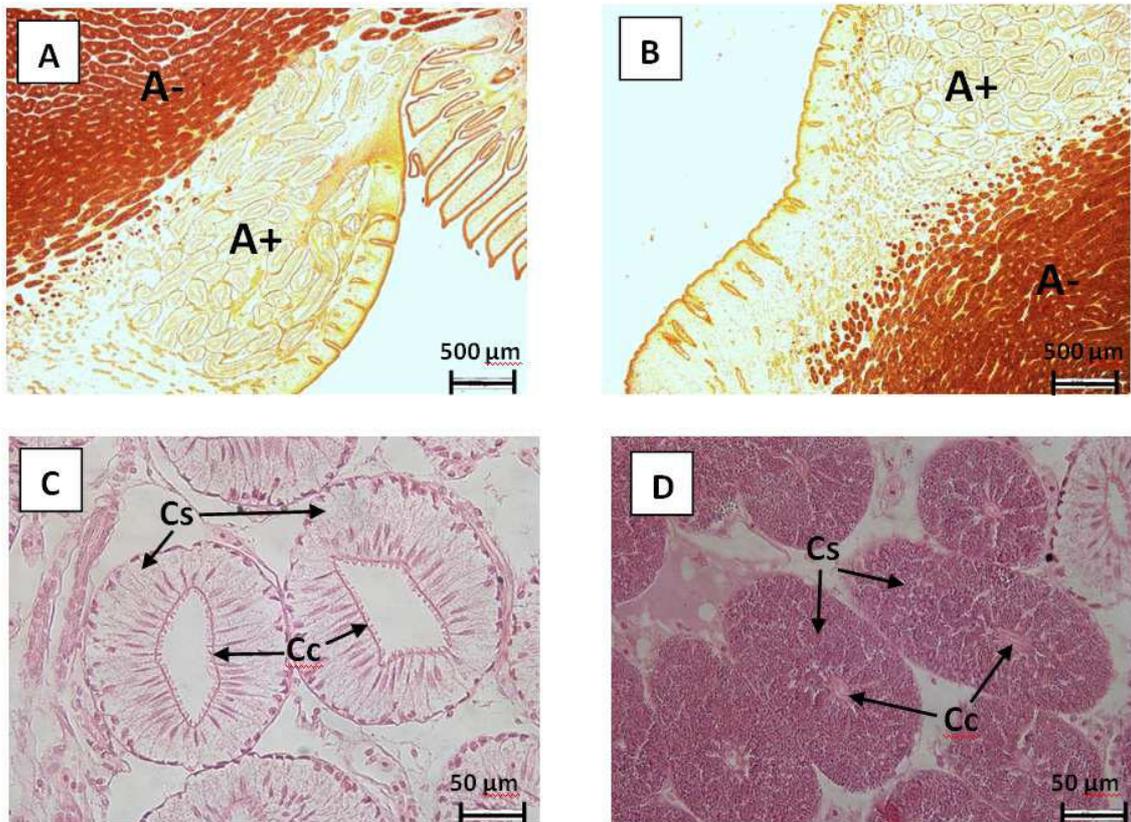
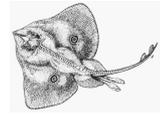


Figura 69. Ácidos presentes en la zona “terminal” de una hembra de 75 cm de ancho de disco de *Raja velezi* (A y B= Tinción PASS aumento: 4x, C y D= Tinción de Hematoxilina–Eosina aumento: 40x, Cc= células ciliadas, Cs= células secretoras, Tc= tejido conjuntivo, A+= ácidos de mayor reacción con PAS, A-= ácidos de menor reacción con PAS).



○ Hembras maduras con cápsulas ovíferas

Se pudo observar que aun cuando las cápsulas ovíferas ya están formadas sigue la producción de secreciones. Esto se vio en una hembra madura, con cápsulas ovíferas, de 78 cm de ancho de disco. Las secreciones se encuentran presentes en la región más periférica de la glándula a nivel de la zona “club”. Los ácinos son mucosos y reaccionan de manera positiva con la eosina en la técnica de tinción Hematoxilina – Eosina (Fig. 70).

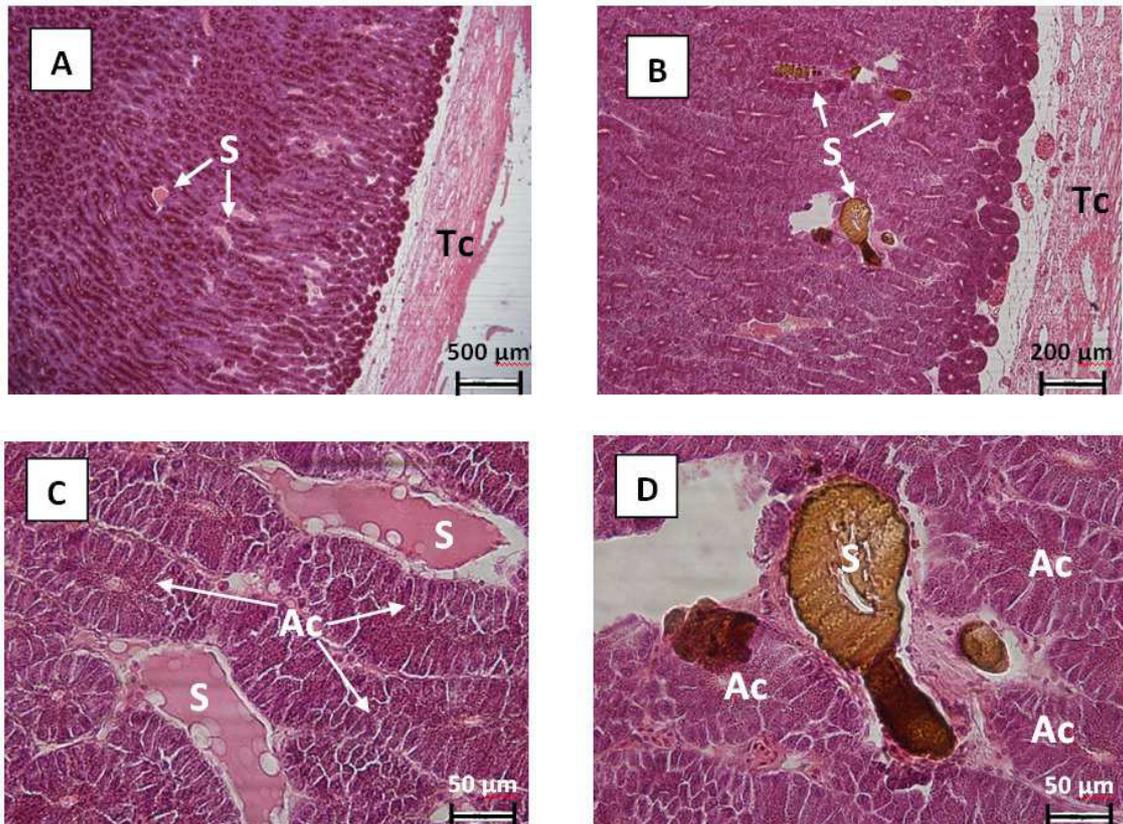
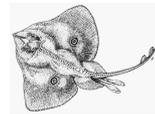


Figura 70. Secreciones en una hembra madura de 78 cm de ancho de disco de *Raja velezi*, con cápsulas ovíferas (Tinción de Hematoxilina – Eosina, A= Aumento: 4x, B= Aumento: 10x, C= Aumento: 40x, D= Aumento: 40x, S= secreciones, Ac= ácinos, Tc= tejido conjuntivo)



DISCUSIÓN

- **Composición de tallas:**

Se obtuvo una talla máxima de captura de 96 cm de AD y una mínima de 53 cm AD. Sin embargo la poca literatura que existe menciona las medidas de *Raja velezi* en longitud total, por lo cual se realizó un análisis de regresión entre el ancho de disco con respecto a la LT, encontrando una relación de la forma $y=1.062x + 13.55$ ($R= 0.88$).

A partir de esta relación se obtuvo que el individuo más pequeño presentó una LT de 69.8 cm y la LT máxima calculada fue de 115 cm. La longitud máxima registrada en el presente estudio aumenta el tamaño obtenidos para el norte del Golfo de California (Castillo 2007) y lo reportado por McEachran y Notarbartolo di Sciara (1995) y Kyne *et al.* (2012) para la especie.

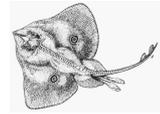
En relación a la composición de tallas durante los meses de captura, estas oscilaron entre 61 a 81 cm AD, no existiendo diferencias entre los meses de captura, lo que puede ser atribuido a que los organismos grandes son de mayor aprovechamiento comercial para los pescadores y es a estos individuos a los que está dirigida la pesca y son los organismos seleccionados para subirlos a las pangas de los pescadores, ya que organismos de menor talla son devueltos al mar.

- **Composición de tallas para machos:**

En el norte del Golfo de California los machos estuvieron representados con medidas máximas de 74 cm AD (Santana *et al.* 2004), lo cual es un tamaño menor a lo obtenido en la zona del presente estudio, habiendo una diferencia de 20 cm. Asimismo en el norte del Golfo de California se registraron organismos de tallas menores con un mínimo de 34.5 cm AD, en comparación al presente estudio que se obtuvieron organismos con un mínimo de 53 cm AD. Se tiene registro para las costas de Sonora (Bizzarro *et al.* 2009) la presencia de esta especie con medidas que van de los 41 a los 67 cm de ancho de disco tratándose de organismos pequeños con respecto a este estudio.

La diferencia de tamaño mínimo de captura en el presente estudio con respecto a lo encontrado en pesquerías del norte del Golfo de California puede ser debido a la selección por parte de los pescadores al subir el organismo a la panga, o que los organismos de menor talla se encuentren a profundidades mayores o en zonas más alejadas del área de captura.

Por otro lado las medidas de los machos analizados en este estudio corresponden a tallas que oscilaron de los 70 cm a 113 cm de LT, para



individuos inmaduros fue de los 70 a 85 cm de LT. Los individuos en maduración de 72 a 91 cm y los maduros de 80 a 113 cm de longitud total.

Castillo (2007), encontró para el alto Golfo de California individuos inmaduros con una talla máxima de 69 cm LT, catalogando a los individuos maduros con tallas mayores de la registrada, en comparación con lo obtenido en este estudio, la talla varío, catalogando a los individuos que presentan todas las características definidas como maduros a los individuos mayores de 80 cm LT, esto podría elucidar que para el alto Golfo de California la maduración morfológica de los individuos machos es más temprana en comparación con el sur de Baja California Sur.

- Composición de tallas para hembras

En este estudio se tuvieron medidas de 59 a 96 cm de ancho de disco, siendo estos registros de mayor tamaño con respecto a los registrados en el norte del Golfo de California (Santana *et al.* 2004), donde se registró una talla mínima de 31.5 cm y una talla máxima de 74 cm de ancho de disco, al igual que para la costa de Sonora (Bizzarro *et al.* 2009), donde las hembras registradas tenían tallas de 31 a 76 cm AD.

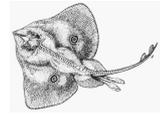
Para las hembras, a partir de la ecuación generada para relacionar el ancho de disco con respecto a la longitud total, las tallas obtenidas correspondieron de 74 a 115 cm LT; mientras que en el alto Golfo de California se registraron hembras de menor tamaño con individuos de 22 cm LT; por otro lado la hembra de mayor tamaño registrada para el alto Golfo de California fue de 100 cm LT. Las tallas registradas en el presente estudio son más grandes a las registradas en el alto Golfo de California (Castillo, 2007) y por lo descrito por McEachran y Notarbartolo di Sciarra (1995).

Las hembras inmaduras tuvieron tallas de 74 a 84 cm LT y el registro del individuo inmaduro más grande para este estudio concuerda con las medidas de estos organismos del alto Golfo de California (Castillo, 2007).

Las hembras maduras tuvieron tallas de 89 a 115 cm LT, intervalo en el que las hembras registradas como maduras en el alto Golfo de California (Castillo, 2007) estuvieron incluidas, por lo que los datos para las dos zonas concuerdan.

Para el caso de las hembras maduras con cápsulas ovígeras, el ancho de disco encontrados en este estudio oscilaron de 88 a 98 cm LT, estos registros concuerda con el intervalo de tallas de hembras grávidas obtenido para el alto Golfo de California (Castillo 2007).

En general las diferencias de tamaño entre los sexos es común observarlo en los rájidos (Walmsley-Hart *et al.* 1999), siendo las hembras las que presentan una mayor talla en comparación con los machos. Según Walmsley-Hart *et al.*



(1999), el mayor tamaño corporal alcanzado por las hembras de la familia Rajidae es probablemente una consecuencia de sus diferentes estrategias reproductivas; las hembras logran un mayor tamaño para poder llevar las cápsulas ovígeras dentro de la cavidad del cuerpo y los machos crecen más rápido para alcanzar la madurez sexual.

En el alto Golfo de California la maduración de los organismos es a tallas menores que en el presente estudio y podría estar relacionada a las variables ambientales de cada localidad o el nivel de explotación que se tenga en cada sitio. Asimismo esta diferencia de tallas puede indicar que la especie *Raja velezi* presenta una mayor explotación comercial en el alto Golfo de California en comparación con la costa occidental de Baja California Sur, lo que implicaría un mayor estrés hacia la especie provocando su maduración a tallas tempranas.

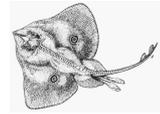
- **Distribución temporal de los organismos capturados:**

Dentro de la zona de estudio se obtuvo datos de *Raja velezi* en los meses de marzo a julio, debido a que en estos meses la pesca es dirigida hacia estos organismos ya que sirve de alternativa de empleo y alimento cuando los recursos de mayor interés están ausentes o en menor cantidad. En el norte del Golfo de California también se tienen registros de captura durante la temporada de pesca de la merluza (*Merluccius productus*), la cual se efectúa durante todo el año (Castillo 2007). La marcada temporalidad de la presencia de especies de batoideos dentro de la pesca artesanal ha sido observada en las pesquerías de Sonora (Bizzarro *et al.* 2009), Baja California (Smith *et al.* 2009) y Baja California Sur (Ramírez-Amaro *et al.* 2011).

Dentro de estas pesquerías se tiene registro que es posible encontrar *Raja velezi* en los meses de primavera y otoño para los estados de Sonora y Baja California, pero para Baja California Sur se tienen registros para los meses de primavera y verano. El presente estudio confirma lo reportado para la costa occidental de Baja California Sur (Ramírez-Amaro *et al.* 2011) donde la presencia de *Raja velezi* estuvo confinada a los meses de marzo a julio.

En cuanto a la distribución temporal asociado a los estadios de madurez sexual en machos y hembras, se pudo observar que en junio existe un mayor número de individuos maduros de los dos sexos en la costa occidental de B.C.S., lo cual podría propiciar a que en este mes haya una mayor probabilidad de encuentros de copula.

Por otro lado las hembras que presentaron cápsulas ovígeras, fueron encontradas en los meses de abril y mayo; comparando con lo obtenido en los registros del norte del Golfo de California, las cápsulas ovígeras estuvieron presentes en los meses de noviembre, marzo y abril (Castillo 2007), y en las costas de Sonora en los meses de otoño (Bizzarro *et al.* 2009), lo cual podría



implicar un desfase en la temporada de ovoposición, siendo en el Golfo de California a inicios del año y en la parte sur de la costa occidental de B.C.S. a partir de los meses de junio (temporada de verano). Según Thorson (1983), las hembras grávidas tienden a buscar hábitats con salinidad muy bajas para expulsar a sus crías, donde permanecen hasta que empiezan a madurar y posteriormente ingresan en áreas de salinidades mayores, factor que influye en la presencia o ausencia de estas hembras en la zona de estudio.

Se obtuvo un mayor número de individuos inmaduros y en maduración de machos con respecto a las hembras. Aunque el tamaño de muestra fue reducido, puede hablarse de una segregación de sexos, donde las hembras inmaduras y en maduración pueden estar en zonas más alejadas de la costa o a profundidades mayores. La captura de *Raja velezi* se realizó a profundidades entre 20 y 80 brazas (principalmente entre las 30 y 40 brazas) y a una distancia de la costa de 4 a 30 millas (Vázquez, 2013).

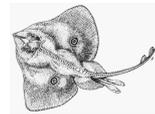
Por otro lado se registró un bajo número de organismos inmaduros y en maduración en la costa occidental de B.C.S., lo cual concuerda con lo registrado el alto Golfo de California (Castillo, 2007), lo que podría indicar que estos organismos habitan a diferentes profundidades o en diferentes zonas.

Esto puede estar relacionado con lo que ocurre en la pesquería de la costa oriental de Baja California (Smith *et al.* 2009) donde la pesca de *Raja velezi* para los meses de primavera está representada en su mayoría por individuos en maduración, y la profundidad en la que se captura es de 3 a 60 metros; mientras que para la costa occidental de Baja California Sur la profundidad de captura es de 40 a 160 metros, esta segregación de sexo por profundidad puede estar relacionado a factores como la temperatura y la disponibilidad de alimento, factores que se ha visto que influyen en otros batoideos (Valadez 2007, Ramírez-Amaro *et al.* 2011) para su distribución dentro de la columna de agua.

Para la costa occidental de Baja California Sur, la interacción de las corrientes marinas producen un transporte de aguas superficiales mar adentro, originando un afloramiento de aguas relativamente frías y ricas en nutrientes hacia la superficie, lo que conlleva a que esta zona presente una alta productividad que hace que las especies de rayas, en este caso *Raja velezi*, pueda realizar migraciones hacia el norte o sur de la península en busca de la abundancia de sus presas (Block *et al.* 2011), lo que propiciaría que haya una separación por sexo en los estadios de maduración.

- **Proporción de sexos:**

La proporción encontrada en este estudio fue estadísticamente la misma para machos y hembras, lo cual concuerda con lo reportado para la población encontrada para el Golfo de California (1H : 1M, Santana *et al.* 2004) y las



costas de Sonora (Bizarro *et al.* 2009); lo que indica la misma probabilidad de encontrar machos y hembras en la misma zona. Zeiner y Wolf (1993) también documentaron una proporción sexual 1:1 para *Raja rhina* en California, Estados Unidos.

La proporción sexual permite inferir si la existencia de una segregación espacial por sexos puede responder a una fase del ciclo reproductivo que se esté presentando en ese momento (Grijalba-Bendeck *et al.* 2008).

En la proporción por estadio de desarrollo, para este estudio, se puede observar que los individuos en maduración fueron los únicos que no mostraron la misma proporción, habiendo un mayor número de machos en maduración con respecto a las hembras, esto podría indicar que las hembras en maduración siguen su desarrollo reproductivo fuera del área de estudio, ya sea en profundidades mayores o a distancias más lejanas y ya en un estado avanzado de desarrollo sexual, regresan hacia la costa.

- **Morfología macroscópica del aparato reproductor**

- Machos

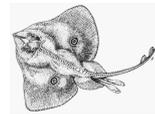
Se presentó una diferencia estadística en el tamaño de los testículos en los machos de *Raja velezi*, siendo el derecho de mayor longitud, pero se vio que este aumento de tamaño es debido a una mayor cantidad de tejido conjuntivo, ya que el área en el que se desarrollan los lóbulos testiculares es la misma para ambos testículos, por lo que la producción de espermatozoides no se ve afectada por dicho aumento de tamaño.

Esta diferencia de tamaño entre testículos no fue encontrada en la rayas del norte del Golfo de California (Castillo 2007).

Con respecto a la población de machos analizada en el norte del Golfo de California, el intervalo de tamaños registrados en los testículos fueron los mismos a lo obtenido en este estudio, lo que indica que siendo dos grupos, en distintas zonas, comparten las mismas características morfométricas en el desarrollo de los testículos, teniendo de referencia que los machos maduros presentan testículos con longitudes de 7 a 10 cm de largo y los individuos que presenten un menor tamaño serán considerados como inmaduros.

- Hembras

En *Raja velezi* se encontró que los dos ovarios fueron funcionales, validando lo encontrado por Castillo (2007), siendo común en los rajidos (Braccini y Chiaramonte 2002, Oddone y Voren 2005, Castillo 2007, Oddone *et al.* 2007). El ovario es clasificado como de tipo externo, tomando la clasificación de Pratt (1988) donde el ovario está suspendido del órgano epigonal.



Cada ovario presentó ovocitos con diferentes estadios de desarrollo, pero no hubo un estadio dominante, lo cual indica un desarrollo asincrónico en el desarrollo de los ovocitos. El desarrollo de los ovocitos vitelogénicos se registró en hembras maduras, presentando diámetros de 5 a 31 mm. Estos registros son de menor tamaño a lo que se obtuvo en hembras maduras del norte del Golfo de California (Castillo 2007), donde se pudieron obtener ovocitos vitelogénicos de un máximo de 54 mm.

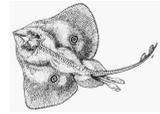
El tamaño máximo de los ovocitos encontrados en las hembras con cápsulas ovígeras sigue siendo menor al registrado para el alto Golfo de California, este dato podría indicar que los ovocitos registrados en las rayas del presente estudio se encuentran en desarrollo para que alcancen su tamaño máximo e inicie otro periodo en el que las hembras estén listas para la próxima etapa de fertilización.

Según Serra-Pereira et al. (2011), el diámetro del folículo máximo observado en los ovarios parece estar relacionado al tamaño máximo de la especie. Especies pequeñas de batoideos como *Leucoraja naevus* y *Dipturus polyommata* alcanzan un tamaño máximo de folículos de 30 mm de diámetro (Kyne et al. 2008). Especies medianas de batoideos pueden alcanzar ovocitos de tamaño que van de los 50 a 60 mm de diámetro como *Raja rhina* (Ebert et al. 2008), *Atlantoraja cyclophora* (Oddone y Vooren, 2004) o *Raja clavata* (Serra-Pereira et al. 2011). *Raja velezi* se considera una especie mediana por lo que el diámetro de los ovocitos debería estar en este intervalo por lo que las hembras maduras encontradas en el presente estudio les falta tiempo para que alcancen el tamaño máximo de folículo y así inicie otro periodo de fertilización.

A partir de los 5 mm de diámetro ya se puede mencionar que son ovocitos vitelogénicos para la raya *Raja velezi*, esta medida es un parámetro descriptivo para establecer el estadio de desarrollo que presente el organismo (Serra-Pereira et al. 2011).

La morfología macroscópica de la glándula oviducal varía entre especies, pero en general se compone de dos mitades aplanadas dorso-ventralmente similares rodeadas de tejido conjuntivo (Knight et al. 1996) y sus cambios de tamaño son de acuerdo a la etapa reproductiva.

Las glándulas oviducal registraron su mayor tamaño cuando llegan al estadio maduro, y se presenta una modificación estructural cuando ocurre la formación de las cápsulas ovígeras disminuyendo su tamaño. En el norte del Golfo de California las glándulas oviducal registradas para *Raja velezi* presentaron el mismo tamaño que el encontrado en esta población del sur de Baja California Sur y alcanzan su tamaño más grande al alcanzar la madurez.



El útero presenta una tabicación conforme se va desarrollando y existe una relación del inicio de esta tabicación a partir del inicio del desarrollo de los ovocitos, lo cual puede ayudar al paso de la cápsula ovígera. El máximo ancho registrado en el útero fue de 2 cm, se tiene registro que puede alcanzar un ancho máximo de 5.5 cm (Castillo, 2007), por lo que se puede elucidar que todavía falta tiempo para que el útero se encuentre completamente desarrollado. Se encontró que el desarrollo del útero presenta una relación de tipo potencial con respecto a la longitud total de las hembras (Castillo 2007), lo cual no pudo ser verificado debido al escaso número de muestras obtenidas.

El útero posee pliegues altamente vascularizados con microvellosidades ciliadas y glándulas tubulares ramificadas que producen ácido sulfatado y mucina neutra. Debido a su estructura y las secreciones, el útero tiene una gran contribución a la estructura de la superficie de la cápsula ovígera y su química (Hamlett 2005.), facilitando los procesos bioquímicos de esclerotización de la cápsula, incluido el suministro de oxígeno y la absorción de agua (Koob y Hamlett 1998; Hamlett 2005).

- **Talla de madurez**

- Hembras

La glándula oviducal presentó una relación positiva de tipo lineal con respecto al incremento del ancho de disco, lo que indica un desarrollo gradual; esto es común en distintos batoideos, presentando esta misma relación en diferentes especies de la familia rajidae como *Psammobatis extenta* (Braccini y Chiaramonte 2002). Castillo (2007), por otra parte encontró una relación de tipo potencial con respecto a la longitud total para la población del norte del Golfo de California.

El ancho de disco de primera madurez sexual para hembras se estimó como el 71.6% (68.7 cm) con respecto del máximo ancho documentado en el presente estudio, esto corresponde al 75.28% (86.58 cm) de la longitud total estimada para las hembras de *Raja velezi*. Braccini y Chiaramonte (2002) encontraron que para hembras de *Psammobatis extenta* maduraron al 72% (31.3 cm) de su longitud total; Zeiner y Wolf (1993) registraron que *Dipturus rhina* maduraban al 66% (70 cm) de su longitud total y *Raja binoculata* su madurez sexual ocurrió al 82% (130 cm).

Con respecto a la longitud total estimada como de primera madurez para las hembras de la zona de Baja California Sur (86.58 cm), es muy similar a lo encontrado para el norte del Golfo de California (88 cm) lo que podría indicar que las hembras de estas dos zonas maduran casi a la misma talla.

Cortés (2000), después de analizar 230 poblaciones de tiburones, determino que las hembras tienden a madurar más tarde y a ser más longevas que los



machos, lo cual ocurre en hembras de *Raja velezi*, donde las hembras maduran a tallas más grandes que los machos. Castillo (2007) determinó que las hembras de *Raja velezi* maduran a los 85.5 cm de longitud total (88% de la talla máxima documentada en ese estudio), a partir de las características de la glándula oviducal y el desarrollo de los folículos ováricos, talla que está muy próxima a lo obtenido en el presente estudio y valida la decisión tomada en el establecimiento del estadio de desarrollo para la obtención de esta talla.

- Machos

El desarrollo de los gonopterigios es determinante en la madurez sexual de los batoideos, este órgano representa el factor que determina si un macho es capaz de reproducirse (Pratt 1988, Braccini y Chiaramonte 2002). Con base a lo obtenido para los machos de *Raja velezi* que todavía no son capaces de poder reproducirse (los inmaduros y en maduración) presentaron una longitud máxima de gonopterigio de 22 cm y se encontraban semicalcificados.

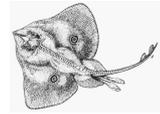
Asimismo la dimensión máxima registrada del crecimiento del gonopterigio fue de 33 cm, cuya medida es mayor a lo encontrado para machos del norte del Golfo de California, donde solo fue posible obtener el tamaño máximo de 28 cm de gonopterigio. Con estas dimensiones el gonopterigio se encuentra calcificado y se le podría considerar apto para la copulación.

No se encontró una relación entre el ancho de disco y la longitud del gonopterigio para este estudio; por otro lado Castillo (2007) reporta una relación de tipo potencial entre la longitud del gonopterigio y la longitud total, debido a que no en todos los organismos capturados se pudo obtener esta dimensión no fue posible corroborar dicha relación en el presente estudio. El escaso registro de estas medidas para organismos maduros representa un sesgo para la inferencia de algún tipo de relación del gonopterigio con respecto al ancho o longitud de los machos de *Raja velezi*.

De igual manera en las dimensiones del testículo (ancho y largo) con respecto al ancho de disco no se pudo establecer alguna relación por la falta de información para organismos maduros. Castillo (2007) estableció una relación de tipo potencial entre estas dimensiones y la longitud total de estas rayas en el norte del Golfo de California.

Se estimó la talla de primera madurez para machos de 65.16 cm AD mediante la prueba estadística ($R=0.94$), lo cual se corroboró mediante las características físicas externas (gonopterigio) e internas (testículos) del aparato reproductor.

El ancho de disco de la primera madurez sexual para machos se estimó como el 69.3% (65.16 cm) del ancho máximo documentado, lo que corresponde al 73.23% (82.75 cm) de la longitud total estimada para el presente estudio.



Zeiner y Wolf (1993) encontraron que para machos de *Raja binoculata* la madurez sexual fue al 57-72% (110–110 cm) de su longitud total; mientras que los machos de *Dipturus rhina* lo hicieron al 62% (60 cm) de su longitud total. Braccini y Chiaramonte (2002) vieron que *Psammobatis extenta* maduro al 89% (29.5 cm) de su longitud total.

Esta talla de madurez no fue la misma encontrada para la población que se localiza al norte del golfo de California (Castillo 2007), donde se estima dicha talla a partir de las características externas de madurez presentadas por los machos (consistencia del gonopterigio), teniendo una talla de 63.5 cm de LT como talla de madurez (70.3% de la máxima talla documentada en ese estudio), habiendo una diferencia de casi 20 cm, esta diferencia de tamaño con respecto a lo encontrado en este estudio podría indicar que los machos del norte del Golfo de California maduran a tallas menores con respecto a la población del sur del Golfo de California.

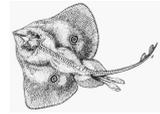
En términos generales se observó que las hembras alcanzaron la madurez sexual a una talla mayor a la de los machos, como sucede en otras especies de rajiformes (Zeiner y Wolf 1993, Oddone y Vooren 2004, Gallagher et al. 2005), esta diferencia en la talla de madurez para machos y hembras se tiene reportado para otros batoideos de las familias Rajidae, Heterodontidae y Scyliorhinidae (Cortes 2000, Lucifora y García 2004, Ebert 2005, Ebert et al. 2006)

Es común el razonamiento de que especies de batoideos de gran tamaño maduren a tamaños relativamente grandes con respecto a su longitud total y que sean consideradas estas especies con madurez tardía (Dulvy et al 2000) y como consecuencia estas especies son potencialmente vulnerables a la sobre explotación.

Las rayas y otros elasmobranquios ovíparos, tienden a un crecimiento lento cuando maduran, ya que concentran su energía en la reproducción (Ebert et al. 2008). Como resultado, muchas especies tienden a madurar entre el 75% y 90% de su máxima longitud total (Cortes 2000, Dulvy et al 2000, Ebert 2005, Ebert et al. 2008). *Raja velezi* presentó este patrón de maduración ya que machos y hembras maduraron en un intervalo de 69.3 a 71.3% de su ancho máximo.

- **Determinación de la talla de las cápsulas ovígeras**

Debido al escaso número de hembras con cápsulas ovígeras encontradas y la no representatividad de la especie a lo largo del año, no fue posible hacer alguna inferencia sobre la estacionalidad del periodo de depositación de las cápsulas o estimar la fecundidad relativa por periodo reproductivo y anual para *Raja velezi* en este estudio.



Raja velezi presenta una cápsula ovígera por útero, lo que se le conoce como oviparidad simple (Braccini y Chiaramonte 2002), esto es observado en otras especies de la familia Rajidae como en *Psammobatis extenta* (Braccini y Chiaramonte 2002), *Atlantoraja castelnaui* (Oddone et al. 2008) y *Psammobatis scobina* (Concha et al. 2009).

En la familia Rajidae una cápsula ovígera es depositada en cada oviducto, durante la estación de desove (Musick y Ellis, 2005). Las cápsulas ovígeras de los elasmobranquios consisten de una matriz laminada proteínica, ofrecen una extremada protección al embrión debido a su dureza, fuerza, flexibilidad y alta permeabilidad a sustancias de bajo peso molecular e iones (Serra-Pereira et al. 2011b).

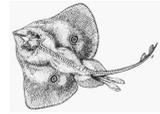
Estas cápsulas son secretadas por la glándula oviducal para después ser depositadas en el medio marino (Hamlett 2005, Oddone 2005). Por la disposición de las cápsulas ovígeras dentro de las hembras de *Raja velezi* y que presentaban un completo desarrollo, indica que ya estaban cerca de la expulsión. Las rayas ovíparas liberan al medio marino las cápsulas ovígeras después de 0.5 a 2 días de su formación total (Serra-Pereira et al. 2011).

Considerando la biología de las especies ovíparas, las cuales no conservan por mucho tiempo las cápsulas ovígeras dentro del útero (Hamlett 2005), aunado que no se encontró que *Raja velezi* presentara un comportamiento de oviparidad retenida, se puede mencionar de una especie de ovoposición constante debido al avanzado desarrollo encontrado de los ovocitos en los dos ovarios y en el tamaño de las cápsulas ovígeras.

La estimación de la fecundidad en rayas, así como en otros elasmobranquios ovíparas, es poco conocida, por lo que es difícil establecer una fecundidad en este tipo de especies. Se tiene registro para ciertas especies en cautiverio como *Raja binoculata* que deposita más de 350 cápsulas ovígeras anualmente (Ebert et al. 2008); por otro lado se estima que *Raja clavata* presenta una fecundidad de 140 cápsulas ovígeras al año (Holden 1975).

Diversos estudios revelan que la fecundidad en especies ovíparas es alta, aun cuando los datos son limitados, las rayas de la familia Rajidae y otros elasmobranquios ovíparas poseen una estrategia reproductiva basada en una alta fecundidad con descendencia pequeña, en comparación a lo presentado en las especies vivíparas (Lucifora y García 2004, Musick y Ellis 2005, Ebert et al. 2008), por lo que *Raja velezi* puede presentar una alta fecundidad y tener varios periodos de depositación al año.

El tamaño de las cápsulas ovígeras encontrado para *Raja velezi* variaron de 8 a 9.5 cm de largo y con un ancho de 7cm, este tamaño de cápsulas presentan otro tipo de especies de la familia Rajidae que se consideran rayas de tamaño mediano como *Atlantoraja Castelnaui* (Oddone et al. 2008) con un tamaño de



los 8 a los 10 cm de largo total y un ancho de 7 a 7.7 cm, *Bathyraja interrupta* (8.3 cm de largo x 6.9 cm de ancho), *Bathyraja maculata* (10 cm de largo x 6.2 cm de ancho), *Raja clavata* (8.3 cm de largo x 6.8 cm de ancho), *Rajella leopardus* (7.4 cm de largo x 7.45 cm de ancho) y *Raja rhina* (10.3 cm de largo x 6.9 cm de ancho), estas especies reportadas por Ishihara *et al.* (2012).

El tamaño de las cápsulas ovígeras normalmente está relacionado con el tamaño de la hembra, pero puede haber sus excepciones (Ishihara *et al.* 2012), es decir que pueden existir diferencias en el tamaño de las cápsulas ovígeras entre poblaciones de la misma especie en lugares diferentes, como ocurre con *Amblyraja radiata* donde difieren en tamaño las cápsulas ovígeras de las poblaciones de América con respecto a las de las costas de Europa (Templeman, 1982). En el presente estudio no se puede establecer alguna relación de la talla de las cápsulas ovígeras con respecto a la longitud del ancho de disco de *Raja velezi* debido al poco número encontrado y en estudios para el norte del Golfo de California no se estableció alguna relación (Castillo 2007).

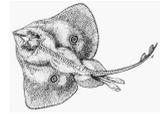
La descripción de las cápsulas ovígeras de los elasmobranquios es una fuente de información sistemática importante en las diferentes especies de rajideos, aparte de su biología reproductiva y su distribución (Concha *et al.* 2009).

El ubicar las zonas de depositación de las cápsulas ovígeras es un objetivo prioritario en la evaluación del estatus poblacional de las especies ovíparas de elasmobranquios (Castillo 2007), ya que esto ayuda a crear zonas de protección de la especie para evitar su sobre pesca, tomando en cuenta que estas zonas son visitadas cada temporada de ovoposición (Oddone 2005).

El elucidar el ciclo reproductivo y la fecundidad relativa de *Raja velezi*, la cual podría ser activa durante todo el año por el desarrollo ovárico asincrónico que presenta, ayudaría a conocer la afectación a la que esta especie está sometida por la pesquería.

- **Proceso de espermatogénesis y ovogénesis**

Muchos estudios se basan en gran medida en el Índice Gonadosomático (IGS) para determinar la actividad reproductiva, un supuesto de esta técnica es que el tamaño relativo de gónadas y el momento de la reproducción se correlacionan positivamente (Maruska *et al.* 1996). Sin embargo, los pocos estudios que examinan el desarrollo gonadal de elasmobranquios a nivel de los tejidos no son compatibles con esta hipótesis (Parsons y Grier, 1992). El IGS si es útil para mostrar cambios en el tamaño testicular, pero no proporciona una estimación de la actividad de apareamiento o disposición reproductiva ilustrado por histología (Maruska *et al.* 1996). Por lo que usar esta técnica ayuda a corroborar e identificar todos estos supuestos.



El análisis histológico de las gónadas ha sido usado para corroborar los estados de madurez determinados por la examinación morfológica en varias especies (Maruska et al. 1996), como *Torpedo marmorata* (Prisco, 2002), *Raja clavata* (Serra-Pereira et al. 2011) y *Scyliorhinus caniculus* (Stanley 1966).

- Espermatogénesis

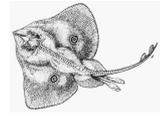
El testículo mostró un desarrollo de tipo “compuesto” tal como lo describe Pratt (1998) para los batoideos esto definido por su patrón de origen de los folículos seminíferos y su propagación dentro del testículo. Este tipo de estructura reproductiva es similar en todas las especies de la familia rajidae y tiburones ovíparos (Stehmann 2002). Cada lóbulo contenía espermatocistos en varios estados de desarrollo de la espermatogénesis y migraban radialmente hacia la periferia del lóbulo, este patrón de comportamiento ha sido visto en otros tipos de batoideos como *Dasyatis sabina* (Maruska et al. 1996),

El desarrollo gonadal en los testículos, está caracterizado por la diferenciación celular asociado con cambios en la composición y diámetro de los de los espermatocistos (Maruska et al. 1996).

Los machos inmaduros presentaron solo el estadio 1 de la espermatogénesis notándose solo la formación de los gonocitos en el desarrollo inicial de los lóbulos testiculares. Esta etapa consiste en gonocitos poco organizadas y/o espermatogonias primarias, algunas de las cuales ya están ligados a una membrana basal.

Para los organismos en maduración, aun cuando los lóbulos testiculares no estaban plenamente desarrollados en toda el área del testículo podría notarse que la producción de espermatozoides ya había iniciado llegando a representar todas las fases de desarrollo de la espermatogénesis teniendo espermatozoides ya maduros, lo cual indica que el órgano determinante para que el macho en *Raja velezi* inicie su época de apareamiento es el gonopterigio ya que aun teniendo la formación de esperma listo para ser inoculado en la hembra, el gonopterigio no se encuentra plenamente desarrollado para realizar la inseminación en la hembra.

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



- Ovogénesis
 - Folículos previtelogenicos

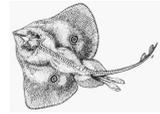
Se sabe que en batoideos, como en todos los demás elasmobranquios, la ovogénesis ocurre a temprana edad y las oogonias son solamente observadas durante el desarrollo embrionario (Prisco *et al.* 2002,2007, McMillan 2007, Serra-Pereira *et al.* 2011), por lo que las hembras en maduración e inmaduras pueden presentar algún estado de desarrollo ovogénico inicial (Serra-Pereira *et al.* 2011), esto se corrobora con las imágenes histológicas obtenidas de los primeros estadios de desarrollo de los folículos previtelogenicos encontrados en hembras inmaduras de *Raja velezi* donde se observa el inicio de la ovogénesis, caso mismo registrado en la raya *Torpedo marmorata* (Prisco *et al.* 2007). Este fenómeno de un desarrollo temprano en hembras inmaduras no es algo que se espere suceda debido a lo que se conoce sobre los peces teleósteos (McMaillan 2007), esto es algo que diferencia a los elasmobranquios de los peces teleósteos.

Durante el crecimiento del ovocito, el epitelio folicular cambia progresivamente su organización y se convierte en varias capas con la presencia de tres tipos de células: células pequeñas, intermedias y piriformes. Esta organización tiene una duración hasta el final del crecimiento de los ovocitos, pero su actividad cambia significativamente (Prisco *et al.* 2007). Las células piriformes se conectaran con el ovocito mediante la formación de un puente intercelular a través del cual los componentes citoplasmáticos serán transferidos (Andreuccetti, 1999).

- Folículos vitelogénicos

Durante esta fase de desarrollo las células piriformes así como las pequeñas células del epitelio folicular, participan en la síntesis de vitelogenina, que se transfiere al ovocito (Prisco *et al.* 2007) algo observado en *Raja asterias* (Andreuccetti *et al.* 1999). En esta etapa de desarrollo es que inicia la vitelogénesis que consiste en la formación de plaquetas de vitelo, la pseudoestratificación del epitelio folicular, y un aumento de la vascularización periférica entre las capas de la teca y el epitelio folicular. La vascularización periférica está relacionada con el transporte de los precursores de vitelo en el ovocito (Andreuccetti *et al.* 1999).

La vitelogénesis parece empezar en los folículos alrededor de un tamaño similar en las rayas (Serra-Pereira *et al.* 2011) y otros elasmobranquios (Prisco *et al.* 2002, 2007).



➤ Folículos post-ovulatorio

Las hembras maduras son las que muestran numerosos folículos vitelogénicos en crecimiento y pueden mostrar cuerpos atresicos o cuerpos luteos embebidos en tejido conjuntivo laxo (Prisco et al. 2002, 2007), algo que se registró en hembras maduras de *Raja velezi*, al igual en la raya *Raja clavata* (Serra-Pereira et al. 2011), *Bathyraja aleutica*, *Bathyraja lindbergi* y *Bathyraja minispinosa* (Ebert 2005).

La organización de cuerpos lúteos es similar en los elasmobranquios ovíparos y vivíparos y se componen de células llenas de lípidos (derivados del epitelio folicular dispuestos alrededor de un lumen central, en estadios temprano de la formación del cuerpo lúteo la hipertrofia de las células puede oscurecer el lumen). El no encontrar más presencia de cuerpos lúteos en el ovario se debe a que en especies ovíparas disminuye su presencia en pocas semanas; mientras que en especies vivíparas persisten durante toda la gestación (McMillan, 2007b).

La degeneración del cuerpo lúteo implica una reducción en el tamaño de la estructura, el aumento de la desorganización de los lóbulos, una disminución en el contenido de lípidos de las células individuales, la muerte de las células, y una acumulación de restos celulares en el lumen (McMillan, 2007b).

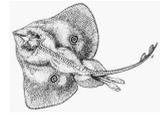
Por el desarrollo de los ovocitos encontrados en el ovario se puede comentar que *Raja velezi* es un desovador asincrónico, lo que implica varios periodos reproductivos dentro de su historia de vida, esto refuerza la idea de que las primeras fases de la ovogénesis se inician a temprana edad ya que cuando se llega a la edad madura se puede observar el desarrollo de ovocitos ya vitelogénicos en distinto tamaño.

En términos generales, en contraste a lo que se sabe de los peces teleósteos, en elasmobranquios el desarrollo de las fases de maduración no es un proceso rápido, puede tardar hasta un año en tiburones (Ebert et al. 2006), en batoideos (Ebert 2005, Ebert et al. 2008) puede ser hasta de 6 años como ocurre con la raya thornback (Serra-Pereira et al. 2008). El largo periodo de maduración es una de las características de los elasmobranquios.

- **Presencia de esperma en machos y hembras**

- Machos

El almacenamiento de esperma en elasmobranquios machos está documentado al encontrarse en la vesícula seminal, (Pratt y Tanaka 1994), en este estudio no se pudieron obtener muestras de vesícula seminal, por lo que no se puede establecer cuál es el tipo de almacenamiento que presentan los



machos de la raya *Raja velezi* en este órgano, tan solo se pudo registrar la presencia de semen en los ductos deferentes a nivel de la glándula de Leydig y en el epidídimo.

Se ha visto que el almacenamiento de esperma también puede ocurrir en el epidídimo, caso encontrado en la raya *Dasyatis sabina* (Maruska *et al.* 1996), para el caso de *Raja velezi* esta especie muestra indicios de un primer acomodo, por parte de los espermatozoides, en los ductos deferentes (la parte terminal del epidídimo) lo que comprende la glándula de Leydig.

Maruska *et al.* (1996) señala que las condiciones en las que se encuentre el esperma dentro del epidídimo y la vesícula seminal son indicadores de una inseminación inminente al encuentro con una hembra.

➤ Epidídimo

El epidídimo muestra un epitelio columnar simple que se pliega en vellosidades, conteniendo en el interior residuos citoplásticos los cuales según Hamlett (1999) estos residuos pueden tratarse de restos de las células de Sertoli. Esta suposición es a partir de lo encontrado en rayas como *Raja erinacea* y *Urobatis jamaicensis*, donde estos restos son de dos tipos por un lado células del cuerpo de Sertoli las cuales son originadas de la región suprarrenal de las células de Sertoli justo antes de la espermiogénesis, en *Squalus* se pudo ver que están compuestos de proteínas ricas en lisina, cisteína y triptófano (Hamlett, 1999).

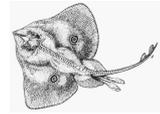
Por otro lado estos residuos también pueden tratarse de los residuos citoplásticos de las células de Sertoli los cuales han sido mencionados como pequeñas partículas de eosinófilos y órganos citoplasmáticos, son estructuras de membrana que contienen enlazados mitocondrias, ribosomas, lípidos y retículo endoplasmático (Hamlett, 1999).

En el lumen del epidídimo, se encuentran los espermatozoides dispersos rodeados de líquido escaso, que es probablemente secretado por las células de Sertoli (Serra-Pereira *et al.* 2011).

➤ Ductos deferentes

El epitelio de los ductos deferentes es columnar simple, ciliado; están presentes vesículas secretoras, estas fueron descritas por Hamlett (1999) para la *Raja erinacea*, donde explica que estas nutren los agrupamientos de espermatozoides y pueden ayudar en la formación de la espermatozeugmata, la fuente de este material podría ser a partir de los restos de las células de Sertoli o de la glándula de Leydig.

Los espermatozoides en el lumen de los ductos deferentes están formados en haces unidos por la cabeza donde el material de la matriz del ducto deferente



nutre estos agrupamientos (Hamlett 1999), donde a nivel de la glándula de Leydig las secreciones que esta produce le proporciona al ducto deferente el aumento en la concentración de proteínas del fluido luminal el cual ayuda en el transporte de los espermatozoides hacia la vesícula seminal.

A este nivel se puede visualizar un acomodo inicial de los espermatozoides en el lumen los cuales al llegar a la vesícula seminal forman un agregado de espermatozoides pudiendo tomar dos formas: espermatoforo o espermatozeugmata (Pratt y Tanaka, 1994). Al no tener muestras de la vesícula seminal en *Raja velezi* no fue posible caracterizar el acomodo de los espermatozoides, el cual puede ser de forma de espermatozeugmata de tipo compuesto tomando de referencia a lo encontrado por Hamlett (1999) en *Raja erinacea* o por Pratt y Tanaka (1999) en *Raja eglanteria* (Fig. 71).

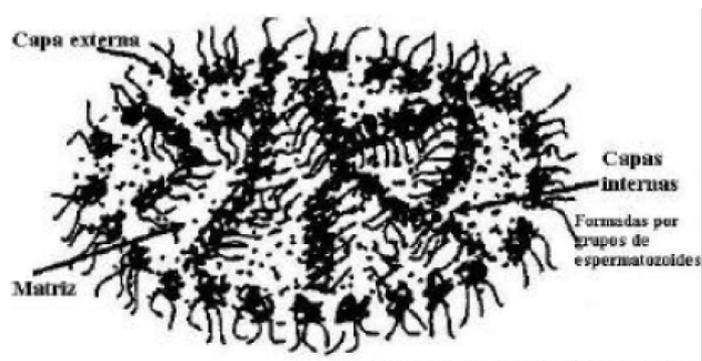


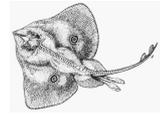
Figura 71. Esquema de espermatozeugmata de tipo compuesto (Tomado de Hamlett 1999).

○ Hembras

En las hembras de los elasmobranquios el almacenamiento de esperma ocurre en la glándula oviducal (Hamlett 2005), esto permite que la hembra pueda garantizar la inseminación y tener el control en el momento de la fecundación tomando en cuenta las condiciones ambientales óptimas para la supervivencia de las crías (Maruzka *et al.* 1996, Galíndez *et al.* 2010).

El almacenamiento de esperma puede ser en paquetes densos o de forma libre en la glándula oviducal y puede estar almacenado por días, por meses hasta años; este comportamiento se piensa que puede ser una estrategia utilizada por especies nómadas o las que presenten una segregación por sexo (Pratt 1993, Moura *et al.* 2011).

En los elasmobranquios el almacenamiento de esperma es común, sobre todo en especies ovíparas, y este almacenamiento puede estar en la zona “terminal”



como en la zona “baffle” (Hamlett *et al.* 2002, Smith *et al.* 2004, Galíndez y Estocondo, 2008)

Raja velezi presenta el almacenamiento de esperma a nivel de la zona “terminal”, algo descrito para otros elasmobranquios como *Raja eglanteria* (Hamlett 2005), *Mustelus antarcticus* (Storrie *et al.* 2008), *Centroscymnus coelolepis* (Moura *et al.* 2011), *Iago omanensis* (Hamlett *et al.* 2002) y *Sympterygia bonapartii* (Galíndez *et al.* 2010).

Los espermatozoides fueron localizados en ácidos mucosos en la periferia de la zona terminal, los espermatozoides se encontraban libres en el lumen asociados a la mucosa de las células ciliadas; estos ácidos presentaron una reacción positiva con la tinción de Hematoxilina – Eosina lo que hizo notar su actividad; estos ácidos no producen secreciones que forman las capas de las cápsulas ovígeras, su actividad está relacionada al almacenamiento, transporte y mantenimiento (nutrición) de los espermatozoides dentro de la glándula hasta el momento de la fertilización (Hamlett *et al.* 2002).

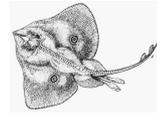
La estimulación hormonal que ocurre en la glándula oviducal para que el almacenamiento y mantenimiento del esperma sea en la zona terminal puede no ser por las mismas hormonas implicadas en la estimulación de la producción de las secreciones que conformarían las capas de la cápsula ovígera en la zona “baffle”; lo más probable es que diferentes hormonas están involucradas en estos eventos independientes y en diferentes momentos (Hamlett *et al.* 2002).

- **Descripción histológica de la glándula oviducal**

La producción anual de cápsulas ovígeras en los rajideos y la fecundidad anual dependen directamente de la funcionalidad de la glándula oviducal, esta, además, es responsable del almacenamiento de esperma, el transporte y fertilización de los ovocitos, la formación de la cápsula ovígera y la transferencia de las cápsulas hacia el útero. Por estos motivos el estudio de la glándula oviducal en elasmobranquios es importante no solo biológicamente sino también ecológicamente.

La glándula oviducal presenta cuatro diferentes zonas: zona “club”, zona “papillary”, zona “baffle” y zona “terminal”; todas estas vistas a partir de un corte sagital y descritas para elasmobranquios por Hamlett *et al.* (1999). Esta organización dentro de la glándula oviducal presentan todos los elasmobranquios estudiados, pero la relevancia de cada región glandular se correlaciona con las adaptaciones reproductivas de cada especie (Hamlett, 2005).

Estas zonas tienen una función definida y presentan diferentes secreciones las cuales son llevadas de las zonas de producción hacia el lumen de la glándula por medio de laminillas características de cada zona.



El epitelio de las laminillas es similar en las cuatro zonas tratándose de un epitelio simple columnar ciliado; y cada zona está conformada por ácinos mixtos conteniendo células ciliadas (con núcleo cerca del lumen) y células secretoras (con núcleo basal).

En *Raja velezi* se pudo caracterizar las etapas de desarrollo de estas zonas en hembras en maduración y maduras, mostrando similitudes morfológicas pero diferencias en actividad; Una diferencia que se pudo notar fue en el lumen de la glándula donde en hembras en maduración se encuentra cerrado mientras que en hembras maduras está abierto, al igual que la presencia de secreciones en hembras maduras y la ausencia de estas en hembras en maduración, estas diferencias pueden ser debido a que la glándula en hembras maduras se está preparando para el momento de la fertilización.

- Zona “club ”

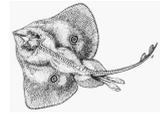
Estudios realizados tanto para elasmobranchios ovíparos como en vivíparos en la glándula oviducal indican que las zonas “club” y “papillary” son responsables de la producción de sustancias citoplasmáticas, principalmente mucopolisacáridos, ácidos sulfatados y carboxilos como también glicoproteínas (Hamlett et al. 2002, Galindez y Estecondo 2008, Storrie et al. 2008, Galindez et al. 2010).

Las secreciones que ocurren a nivel de esta zona al parecer tienen una función de apoyo para el desarrollo del embrión o de apoyo hidrodinámico para la formación de la cápsula ovígera (Hamlett 1999, Serra-Pereira *et al.* 2011); estas secreciones están compuestas de ácido sulfatado o polisacáridos ácidos y mucinas neutras (Hamlett 1999, Serra-Pereira *et al.* 2011) hasta el momento no existe evidencia de que estas secreciones puedan tener una función nutricional (Galíndez y Estecondo, 1998).

Estas secreciones fueron visibles en hembras maduras tanto con ausencia como con presencia de cápsulas ovígeras de *Raja velezi*; el encontrar las secreciones en hembras con cápsulas ovígeras refuerza la idea de que estas secreciones sirven de apoyo hidrodinámico en la formación de las cápsulas.

Algo que fue muy notorio en hembras maduras de *Raja velezi* fue la presencia de una barrera celular en la zona de transición entre la zona “club” y la zona “papillary”, esto no ha sido registrado hasta el momento en otro batoideo, esta barrera celular mostró una reacción positiva mayor a la zona “club” pero menor a la zona “papillary” con la tinción de PAS mostrando la presencia de mucopolisacáridos.

Hamlett (2005) describió una zona de transición pero a nivel de la zona “papillary” y la zona “baffle”; esta diferencia en la presencia o ausencia de esta barrera puede ser debido al estado reproductivo en el que se realiza la



descripción de la glándula oviducal en el momento de hacer el análisis histológico ya que la zona descrita por Hamlett (2005) si pudo ser localizada en hembras en maduración.

Los ácidos presentes en esta zona mostraron una diferencia espacial entre hembras en maduración y maduras de *Raja velezi*, viendo que el tejido conjuntivo que separa a un ácido de otro se encuentra casi reducido en hembras maduras en comparación con las en maduración.

- Zona “ papillary ”

En hembras en maduración la glándula oviducal presentó una región observada entre las zonas “papillary” y “baffle” la cual fue descrita por Hamlett (2005) en otros elasmobranchios y a esta región de transición la llamo “bonding papillary lamella” (laminillas de unión papilar). Estas estructuras también fueron descritas para *Mustelus antarcticus* por Storrie et al. (2008) y para *Simtegia acuta* por Galindez y Estecondo (2008), los cuales observaron que estas estructuras, al igual que para *Raja velezi*, reaccionan fuertemente positivo a la tinción de PAS.

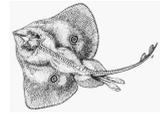
Otra diferencia que se encuentra en esta zona con respecto de hembras en maduración y maduras es que estas últimas presentan ácidos ramificados al inicio de la región interna de la zona “papillary”.

En *Raja velezi* no fue posible encontrar secreciones en esta zona. Se tiene registro que esta zona presenta secreciones de dos tipos una compuesta de ácidos sulfatados y mucinas neutras, y la segunda compuesta de mucinas ácidas sulfatadas esta serviría como capa lubricante de la cápsula y delimitador entre en embrión y la cápsula (Serra-Pereira et al. 2011).

Aunque las funciones de estas secreciones no han sido de todo aclaradas una posibilidad, considerando la inmunología de la reproducción de los elasmobranchios, es que estas secreciones puedan participar en la contribución de las inmunoglobinas maternas durante el desarrollo del embrión, sobre todo tomando en cuenta que en especies ovíparas su desarrollo embriológico es dentro de la cápsula ovígera y probablemente su sistema inmunológico no se encuentra completamente desarrollado (Galindez y Estecondo 2008).

- Zona “ baffle ”

En las especies ovíparas esta zona es muy especializada y en las especies vivíparas puede estar ausente o reducida como en *Urobatis halleri* y *Urolophus jamaicensis* (Hamlett, 2005). En el caso de *Raja velezi* al tratarse de una especie ovípara esta zona muestra una especialización al cumplir con la función de crear la capa dura protectora del ovocito.



Los pliegues que fueron observados entre las laminillas de la zona “baffle” se definen como spinnerets por Hamlett (2005); estas estructuras comunican los túbulos secretores internos con el lumen de la zona (Hamlett 2005, Galindez y Estocondo 2008).

Los ácidos mostraron una diferencia morfológica entre hembras maduras y en maduración; encontrando que los ácidos que se encuentran cerca del lumen son de menor tamaño y conforme se alejan del lumen existe un aumento de tamaño para la hembras en maduración, y ya cuando pasan a ser hembras maduras hay una inversión en tamaño es decir que los ácidos cerca del lumen son los de mayor tamaño y los alejados del lumen son de menos tamaño, algo que puede ser atribuido a que en un estado maduro ya se inicia su actividad en la formación y transporte de las secreciones, correspondientes de la zona, y estos ácidos (cerca del lumen) aumentan su tamaño y los ácidos alejados del lumen su actividad dentro de la glándula disminuye y reducen su tamaño.

En esta zona se pueden encontrar la producción de secreciones que son las responsables de la formación de la capa dura de la cápsula ovígera (Hamlett 2005). Las secreciones de la zona “baffle” son de naturaleza proteínica (proqueratina) y fueron detectadas en elasmobranquios ovíparos y vivíparos (Galindez y Estocondo 2008, Storrie et al. 2008).

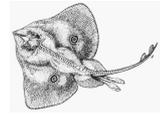
En *Raja velezi* fue posible encontrar estas secreciones en hembras maduras, esto puede indicar que estas hembras estaban en proceso de fertilización del ovocito y se estaban preparando para la formación de la cápsula ovígera; la naturaleza de estas secreciones no fue posible establecer debido a que presentaban una coloración, aunque positiva a la técnica, con variaciones en la interpretación y consistencia mostrando secreciones translúcidas y otras de reacción más positiva con la técnica.

Aunque la morfología de la zona “baffle” es similar en todas las especies ovíparas examinadas hasta el momento, existe una diversidad en la naturaleza de las cápsulas ovígeras por lo que puede haber una diversidad en la composición de las secreciones y la función de las capas formadas para las cápsulas ovígeras en esta zona (Hamlett et al. 1998, Hamlett, 1999).

- Zona “ terminal ”

Raja velezi presentó dos tipos de ácidos: serosos (que producen fibras de proteínas) y mucosos (producen mucinas ácido sulfatadas); cada uno de estos ácidos compuestos de células secretoras y células ciliadas algo que también se puede encontrar en *Raja clavata* (Serra-Pereira et al. 2011b). Los ácidos mucosos presentaron una tinción mayor con respecto a los ácidos serosos.

Esta diferencia de tinción entre ácidos mucosos y ácidos serosos fue notoria entre hembras en maduración y maduras de *Raja velezi*, donde los ácidos

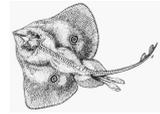


mucosos presentaron una mayor tinción en hembras maduras comparados con los ácinos mucosos de hembras en maduración, lo que indica que se encuentran en mayor actividad debido a la formación de las secreciones.

A nivel de esta zona se puede encontrar otro tipo de secreciones, diferentes a las otras zonas, estas responsables de la formación de los tendrillos que presentan las cápsulas ovígeras, los cuales son responsables de la fijación de estas a diferentes sustratos marinos; estas secreciones están compuestas por mucinas ácido sulfatadas y fibras de proteínas (Galíndez y Estecondo 1998, Serra-Pereira *et al.* 2011).

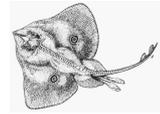
Estas secreciones no fueron localizadas en *Raja velezi* pero se han podido registrar en *Sympterygia acuta*, *Raja eglanteria* y *Callorhynchus mili* (Hamlett *et al.* 1998, Smith *et al.* 2004), por la presencia de tendrillos en las cápsulas ovígeras de *Raja velezi* es seguro que la glándula oviducal presente este tipo de secreciones y que debido a la zona donde se hizo el corte es posible que no se hayan localizado estas secreciones.

La formación de la cápsula ovígera comienza antes de la ovulación de modo que la cápsula está formada un tercio de su tamaño total antes de que el huevo entre en el lumen de la glándula oviducal (McMillan, 2007c), esto habla que las secreciones que son propias de la zona terminal inician antes de la ovulación.

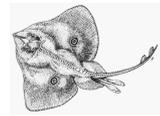


CONCLUSIONES

- * Las tallas encontradas para *Raja velezi* variaron de 53 a 96 cm de ancho de disco.
- * Se obtuvo un aumento en el registro máximo declarado para *Raja velezi* siendo este de 96 cm de ancho de disco que corresponde a 115 cm de longitud total.
- * La talla máxima capturada para machos fue de 94 cm de ancho de disco y para hembras de 96 cm de ancho de disco.
- * Las hembras presentaron un mayor tamaño que los machos.
- * *Raja velezi* estuvo presente de los meses de Marzo a Julio para la costa occidental de Baja California Sur.
- * Hembras y machos en estadio maduro fueron los que mayor representatividad tuvieron dentro de la pesca.
- * Dentro del grupo de hembras se observó la ausencia de hembras en maduración, lo que mostro una segregación por estadio de desarrollo de estos organismos.
- * *Raja velezi* mostro la misma proporción sexual entre machos y hembras (0.87H:1M).
- * Los machos presentaron ambos testículos funcionales y asimétricos siendo el derecho de mayor tamaño; estos adquieren su tamaño máximo al llegar a los 66 cm de ancho de disco; el desarrollo de los lóbulos testiculares inicia en la parte anterior hacia todo del testículo.
- * Las hembras presentan dos ovarios funcionales, el desarrollo de los ovocitos inicia en la parte media del ovario, la glándula oviducal alcanza su mayor tamaño en la etapa madura, el útero presenta tabicación física.
- * La talla de primera madurez para hembras fue de 68.77 cm de AD y para machos de 65.16 cm de AD.
- * Existe una correlación positiva entre el AD y el diámetro de la glándula oviducal.

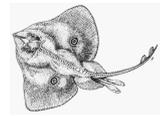


- * El número de cápsulas ovíferas (huevos) producidos por periodo de alumbramiento es de dos.
- * El testículo mostró un desarrollo compuesto, el inicio de la espermatogénesis es en etapas tempranas mostrando en organismo inmaduros inicios de desarrollo.
- * Las hembras inician el proceso de ovogénesis en etapas tempranas presentado las primeras fases de desarrollo en organismos inmaduros.
- * El espermatozoides pudo ser encontrado en hembras en la zona terminal de la glándula oviducal y en macho en el epidídimo y ductos deferentes, estos últimos mostrando un acomodo inicial en el almacenamiento de estos dentro de la vesícula seminal.
- * La glándula oviducal mostró las cuatro zonas descritas para elasmobranchios: zona “club”, zona “papillary”, zona “baffle” y zona “terminal”, mostrando secreciones a nivel de las zonas “club” y “baffle”.
- * Las hembras en maduración ya presentan las cuatro zonas distintivas de la glándula oviducal.
- * La glándula oviducal mostró diferencias entre hembras maduras y en maduración a nivel de actividad celular y tamaño del lumen.
- * La zona de transición descrita para elasmobranchios entre las zonas “papillary” y “baffle” fue encontrada para hembras en maduración pero para las hembras maduras se encuentra ausente, donde la zona de transición está marcada entre las zonas “club” y “papillary”.

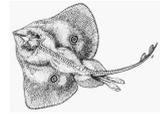


LITERATURA CITADA

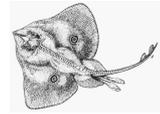
- * Álvarez del Villar, J. (1978). Los Cordados. Origen, evolución y hábitos de los vertebrados. México D. F. Ed. CECSA.
- * Andreuccetti, P., M. Iodice, M. Prisco y R. Gualtieri. (1999). Intercellular bridges between granulosa cells and the oocyte in the elasmobranch *Raja asterias*. *Anat Rec* **255**:180-187.
- * Arce, J. A., S. Espinoza-García, J. Ramírez- González, R. Rangel-Acevedo y D. Martínez-Urrea. (2012). Pesquería de Elasmobranquios en Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. En Díaz Sánchez A.W., C. G. Aguilar, O. U. Mendoza Vargas (Editores). Libro de Resúmenes V Simposium Nacional de Tiburones y Rayas. México. SOMEPEC.
- * Babin, J. P., J. Cerda y E. Lubzens. (2007). The Fish Oocyte From Basic Studies to Biotechnological Applications. Springer.
- * Bejarano-Álvarez, M. (2007). Biología reproductiva del tiburón martillo *Sphyrna lewini* (Griffith y Smith, 1834) en Salina Cruz, Oaxaca, México. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.
- * Bejarano-Álvarez, M. (2011). Morfología funcional de los modos reproductivos en elasmobranquios del pacífico mexicano. Tesis de Doctorado. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.
- * Bizarro, J.J., W.D. Smith, J.F. Márquez-Farías, J. Tyminski y R.E. Hueter. (2009). Temporal variation in the artisanal elasmobranch fishery of Sonora, México. *Fisheries Research* **97**: 103-117.
- * Blanco-Parra, M.P., F. Márquez-Farías, y F. Galván-Magaña, (2009a). Fishery and morphometric relationships of the banded guitarfish, *Zapteryx exasperata* (Elasmobranchii, Rhinobatidae), from the Gulf of California, Mexico. *Pan-american journal of aquatic sciences*. **4**(4): 456-465.
- * Blanco-Parra, M.P., F. Galván-Magaña, J. F. Márquez-Farías y C.A. Niño-Torres. (2011b). Feeding ecology of the banded guitarfish, *Zapteryx exasperata*, inferred from stable isotopes and stomach contents analysis. *Environmental biology of fishes*. DOI: 10.1007/s10641-011-9862-7.
- * Bonfil, S. R. (1994). Overview of world elasmobranch fisheries. *FAO Fish. Tech. Pap.* 341.
- * Braccini, J. M. y G. E. Chiaramonte. (2002). Biología de la raya *Psammobatis extenta* (Garman, 1913) (Batoidea: Rajidae). *Revista Chilena de Historia Natural* **75**: 179-188.
- * Camhi, M., Fowler, S.L. Musick, J.A., Bräutigam, A. y Fordham, S.V. (1998). *Sharks and their Relatives – Ecology and Conservation*. IUCN/SSC Shark Specialist Group. IUCN, Gland, Switzerland and Cambridge, UK.
- * Carson, F. L. y C. Hladik. (2009). *Histotechnology A self-Instructional Text*. 3rd. Edition. American Society for Clinical Pathology Press.



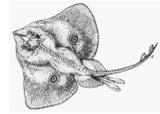
- * Castillo, J. L. (2007). Historia de vida y biología pesquera de la raya, *Raja inornata* Jordan y Gilbert 1881, del norte del Golfo de California, México. Tesis de doctorado. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Baja California, México.
- * Castillo-Geniz, J. J., J. F. Márquez-Farías y E. Cortes. (1996). Management of the Mexican artisanal shark fishery on the Gulf of California. Second World Fisheries Congress, Sharks and Man: Shark Management and Conservation Workshop, abstracts, 5–6 p.
- * Castro, J. I. (1983). The sharks of North American Waters. Texas A. & M. Univ. Press, College Station.
- * Castro, J. L. (1965). Investigaciones preliminares sobre Batoidei en México. Contribución del Instituto Nacional de Investigaciones Biológico-Pesqueras al segundo congreso nacional de oceanografía Ensenada, B.C. Reporte. Secretaría de industria y comercio dirección general de pesca e industrias conexas. México.
- * Castro-Aguirre, J.L. y H. Espinoza-Pérez. (1996). Catálogo sistemático de las rayas y especies afines de México (Chondrichthyes: Elasmobranchii: Rajiformes: Batoideiomorpha). Listados faunísticos de México VII. Instituto de Biología. UNAM.
- * Castro-Aguirre, J.L., J.J. Schmitter., E.F. Balart y R.Torres-Orozco. (1993). Sobre la distribución geográfica de algunos peces bentónicos de la costa oeste de Baja California Sur, México, con consideraciones ecológicas y evolutivas. An. Esc. Nac. Cienc. Biol. Méx. **38**: 75-102.
- * Clark, E. y K. Von Schmidt. (1965). Sharks of the Central Gulf Coast of Florida. Bulletin of Marine Science **15**:13-83.
- * Clarke, T.M., M. Espinoza, F. Villalobos-Roja e I.S. Wehrtmann. (2011). Summary of Demersal Elasmobranch Studies in the Continental Platform of the Pacific of Costa Rica with Management and Conservation Strategies. Technical Report. San José, Costa Rica.
- * Compagno, J. V. L. (2005). Checklist of Living Chondrichthyes. Pp. 503 – 548. En Reproductive biology and phylogeny of chondrichthyes. Shark, Batoids and Chimeras. 2005. Hamlett W.C. Sience Publisher. USA.
- * 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 de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Mazatlán, México.
- * Concha, F., S. Hernandez y M. C. Oddone. (2009). Egg capsules of the raspthorn sandskate, *Psammobatis scobina* (Philippi, 1857) (Rajiformes, Rajidae). Revista de Biología Marina y Oceanografía **44**(1): 253–256.
- * Conrath, C. L. (2004). Reproductive Biology. Pp 133-164. In: Management Techniques for Elasmbranch Fisheries. John A. Musick y



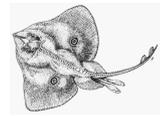
- Ramon Bonfil (eds.) FAO Fisheries Technical Paper. No. 474. Rome, FAO.
- * Cortes, E. (2000). Life-history patterns and correlations in sharks. *Rev. Fish. Sci.* **8**:299-344.
 - * Cruz, A. E. (2010). Descripción morfológica del aparato reproductor de la raya ocelada *Zapteryx xyster* (Jordan & Evermann, 1896) (Chondrichthyes: Rhinobatidae) en el Golfo de Tehuantepec. Tesis de licenciatura. Universidad del Mar, Puerto Ángel, Oaxaca.
 - * Dood, J. M. (1983). Reproduction in cartilaginous fishes (Chondrichthyes). *En: Fish Physiology*. Hoar, W. S., D. J. Randall y E. M. Donaldson. (ed.). Academic Press, Inc. **9A**:31-95
 - * Dulvy, N. K., J. D. Metcalfe, J. Flanville, M. G. Pawson y J. D. Reynolds. (2000). Fishery stability, local extinctions, and shifts in community structure in skates. *Conserv. Biol.* **14**(1):283-293.
 - * Ebert, D. A., (2005). Reproductive biology of skates, *Bathyraja* (Ishiyama) along the eastern Bering Sea continental slope. *Journal Fish Biology.* **66**:618-649.
 - * Ebert, D. A., L. J. V. Compagno y P. D. Cowley. (2006). Reproductive biology of catsharks (Chondrichthyes: Scyliorhinidae) off the west coast of southern Africa. *ICES (International Council for the Exploration of the Sea) Journal of Marine Science* **63**:1053-1065.
 - * Ebert, D. A., D. W. Smith y G. M. Cailliet. (2008). Reproductive biology of two commercially exploited skates, *Raja binoculata* and *R. rhina* in the western Gulf of Alaska. *Fisheries Research* **94**:48-57.
 - * FAO. (Food and Agriculture Organization). (2009). Fishstat Plus (v.2.30), capture production data base, 1950-2007. FAO, Roma.
 - * Fischer, W., Krupp F., Schneider W., Sommer C., Carpenter K.E.; Niem V.H. (1995). Guía FAO para la Identificación de Especies para los Fines de la Pesca Pacífico centro-oriental Volumen II. Vertebrados - Parte 1.
 - * Galíndez, E. J. y S. Estecondo. (2008). Histological remarks of the oviduct and the oviducal gland of *Symterygia acuta* Garman, 1877. *Brazil Journal Biology.* **68**(2): 359–365.
 - * Galíndez, E. J., M. C. Días-Andrade, M. S. Avaca y S. Estecondo. (2010). Morphological study of the oviductal gland in the smallnose fanskate *Symterygia bonapartii* (Müller and Henle, 1841) (Chondrichthyes, Rajidae). *Braz. J. Biol.* **70**(2):325-333.
 - * Gallagher, M., C. P. Nolan, y F. Jeal. (2005a). Age, growth and maturity of the commercial ray species from the Irish Sea. *Journal of Northwest Atlantic Fishery Science*, **35**: 47-66.
 - * Galván-Tirado, C. (2007). Biología reproductiva del tiburón Aleta de cartón *Carcharhinus falciformis*, capturado en el Golfo de Tehuantepec. Tesis de Maestría. Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología UNAM.



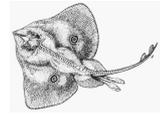
- * Girard, M., P. Rivalan y G. Siquin (2000). Testis and sperm morphology in two deep-water squaloid sharks, *Centroscymnus coelolepis* y *Centrophorus squamosus*. *Journal of Fish Biology* **57**:1575-1589.
- * Grijalba-Bendeck, M., A. P. Acero y E. González. (2008). Biología reproductiva de *Rhinobatos percellens* (Walbaum, 1792) (Batoidea: Rajiformes) en el Caribe colombiano. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* **43**(3): 469-481.
- * Hamlett, W. C., D.P. Knight, T. J. Koob, M. Jezior, T. Luong, T. Rozycki, N. Brunette y M. K. Hysell. (1998). Survey of oviducal gland structure and function in elasmobranchs. *J. Exp. Zool.* **282**(4):399-420.
- * Hamlett, W.C. (1999). *Sharks, skates and rays The Biology of elasmobranch fishes*. The Johns Hopkins University Press.
- * Hamlett, W.C., M. Hysell, M. Jezior, T. Rozycki, N. Brunette y K. Tumilty. (1999). Fundamental zonation in elasmobranchs oviducal glands. *Soc. Fr. Ichtyol.* 271-280.
- * Hamlett, W. C., L. Fishelson, A. Baranes, C. K. Hysell y D. M. Sever. (2002). Ultrastructural analysis of sperm storage and morphology of the oviducal gland in the Oman shark, *Iago omanensis* (Triakidae). *Mar. Freshwater Res.* **53**:601-613.
- * Hamlett, W.C. (2005). *Reproductive biology and phylogeny of chondrichthyes. Shark, Batoids and Chimeras*. Science Publisher. USA.
- * Hernández-Aguilar, S. (2008). Espectro trófico del tiburón azul *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758) en la costa occidental de Baja California Sur, México. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.
- * Holden, M. J. (1975). The fecundity of *Raja clavata* in British waters. *J. Conserv. Int. Explor. Mer.* **36**(2): 110-118.
- * Holts, DB, Julian A, Sosa-Nishizaki O, Bartoo NW. (1998). Pelagic shark fisheries along the west coast of the United States and Baja California, Mexico. *Fish. Res.* **39**: 115–125.
- * Houillon, C. (1978). *Sexualidad*. Tercera Edición. Ediciones Omega S.A.
- * Hoyos-Padilla, E. M., B. P. Ceballos-Vázquez y F. Galván-Magaña (2012). Reproductive biology of the silky shark *Carcharhinus falciformis* (Chondrichthyes: Carcharhinidae) of the west coast of Baja California Sur, México. *Aqua International Journal of Ichthyology.* **18** (1): 15-24.
- * Ishihara, H., M. Treolar, P. H. Bor, H. Senou y C. H. Jeong. (2012). The comparative Morphology of Skate Egg Capsules (Chondrichthyes:Elasmobranchii: Rajiformes). *Bull. Kanagawa prefect. Mus (Nat. Sci.)* **41**:9-25.
- * Knight, D. P., D. Feng y M. Stewart. (1996). Structure and function of the Selachian egg case. *Biol. Rev.* **71**:81-111.
- * Koob, T. J. y W. C. Hamlett. (1998). Microscopic structure of the gravid uterus in the little skate, *Raja erinacea*. *The Journal of Experimental Zoology.* **282**:421-437.



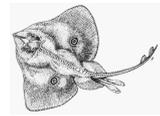
- * Kyne, P. M., A. J. Courtney y M. B. Bennett. (2008). Aspects of reproduction and diet of the Australian endemic skate *Dipturus polymmata* (Ogliby) (Elasmobranchii: Rajidae), by catch of a commercial prawn trawl fishery. *Journal of Fish Biology*. **72**:61-77.
- * Kyne, P.M., J.K. Carlson D.A.Ebert, S.V. Fordham, J.J. Bizzarro, R.T. Graham, D.W. Kulka, E.E. Tewes, L.R. Harrison, y N.K. Dulvy, (eds). (2012). The Conservation Status of North American, Central American, and Caribbean Chondrichthyans. IUCN Species Survival Commission Shark Specialist Group, Vancouver, Canada.
- * Lender, T., Delavault R. y L. Moigne, A. (1982). Diccionario de Biología. Ediciones Grijalvo, S.A.
- * Leeson, T. S. y C. R. Leeson. (1985). Histología. Cuarta edición. Nueva Editorial Interamericana. México.
- * Lucifora, L. O. y V. B. García. (2004). Gastropod predation on egg cases of skates (Chondrichthyes, Rajidae) in the southwestern Atlantic: quantification and life history implications. *Marine Biology*. **145**:917–922.
- * Márquez, J. F. (2002). Análisis de la pesquería del tiburón de México. Tesis de Maestría. Universidad de Colima. Colima, México.
- * Márquez-Farías, J.F. y M.P. Blanco-Parra. (2006). Las rayas del Golfo de California. En: Sustentabilidad y pesca responsable en México, evaluación y manejo. Instituto Nacional de la Pesca (Ed.) SAGARPA, México.
- * Maruska, K. P., E.G. Cowie y T. C. Tricas. (1996). Periodic Gonadal Activity and Protracted Mating in Elasmobranch Fishes. *The Journal of Experimental Zoology*. **276**:219-232.
- * McEachran, J. D. y T. Miyake. (1990). Zoogeography and Bathymetry of Skates (Chondrichthyes, Rajoidei), p. 305-326. *En: Elasmobranchs as Living Resources: Advances in the Biology, Ecology, Systematics, and the Status of the Fisheries*. (H.L. Pratt, Jr., S.H. Gruber, and T. Taniuchi, eds.), National Oceanic and Atmospheric Administration, Technical Report, National Marine Fisheries Service.
- * McEachran, J.D. y G. Notarbartolo di Sciara. (1995). Peces Batoideos. En: W. Fischer, F. Krupp, F. Schneider, C. Sommer, K.E. Carpenter y V.H. Niem (Eds.), (eds), *Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico centro-oriental.*, FAO, Roma. 745-792 p.
- * McMillan, D.B. (2007). Ovarian follicles. Pag. 67–208 en D. B. McMillan, editor. *Fish histology: female reproductive system*. Springer-Verlag, New York. Pag.
- * McMillan, D. B. (2007b). Ovulation Pag 209-284 en. D. B. McMillan, editor. *Fish histology: female reproductive system*. Springer-Verlag, New York. Pag.



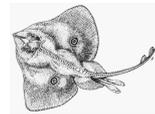
- * McMillan, D. B. (2007c). Ovulation Pag 335-345 en. D. B. McMillan, editor. Fish histology: female reproductive system. Springer-Verlag, New York.
- * Mejia-Salazar, L. (2007). Biología reproductiva del cazón bironche, *Rhizoprionodon longurio* (Jordan & Gilbert, 1882) en el Pacífico mexicano. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.
- * 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.
- * Moura, T., B. Serra-Pereira, L. S. Gordo y I. Figueiredo. (2011). Sperm storage in males and females of the deepwater shark Portuguese dogfish with notes on oviducal gland microscopic organization Journal of Zoology. **283**(3): 210–219.
- * Musick, J. A. y J. K. Ellis. (2005). Reproductive evolution of chondrichthyans. pp. 45-79. En: Hamlett W.C. Editor. Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, Batoids, and Chimaeras. Science Publishers Inc. Enfield.
- * Nelson, J. (2006). Fishes of the world. Cuarta edición. John Wiley & Sons Inc. Hoboken. New Jersey.
- * Ochoa, D. R. (2006). Hábitos alimenticios del tiburón martillo *Sphyrna zygaena* (Linnaeus, 1758) en Baja California Sur. Tesis de Licenciatura Universidad de Guadalajara.
- * Oddone, M. C. (2005). Microscopic structure of the egg capsule of *Atlantoraja cyclophora* (Elasmobranchii: Rajidae: Arhynchobatinae). Biota Neotropica **5**:1-4.
- * Oddone, M. C. y C. M. Vooren. (2004). Distribution, abundance and morphometry of *Atlantoraja cyclophora* (Regan, 1903) (Elasmobranchii:Rajidae) in southern Brazil, Southwestern Atlantic. *Neotropical Ichthyology*, **2** (3): 137-144.
- * Oddone, M. C. y C. M. Vooren. (2005). Reproductive biology of *Atlantoraja cyclophora* (Regan 1903) (Elasmobranchii: Rajidae) off southern Brazil. *ICES Journal of Marine Science*, **62**:1095-1103.
- * Oddone, M. C., Amorim, A. F., Mancini, P. L., Norbis, W. y G., Velasco. (2007). The reproductive biology and cycle of *Rioraja agassizi* (Muller



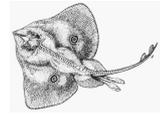
- and Henle, 1841)(Chondrichthyes: Rajidae) in southeastern Brazil, SW Atlantic Ocean. *Scientia Marina* **71** (3): 593-604.
- * Oddone, M. C., A. Mesa y A. Ferreira de Amorim. (2008). Description of the egg capsule of *Atlantoraja Castelnau* (Elasmobranchii, rajidae). *Brazilian Journal of Oceanography*. **56**(1): 65-68.
 - * Parsons, G. R. y H. J. Grier. (1992). Seasonal changes in shark testicular structure and spermatogenesis. *Journal Exp. Zool.* **261**:173-184.
 - * Pratt, H. L. (1988). Elasmobranch gonad structure: a description and survey. *Copeia* **1988**:719-729.
 - * Pratt, H. L. (1993). The storage of spermatozoa in the oviducal glands of western North Atlantic sharks. *Environmental Biology of Fishes*. **38**:139-149.
 - * Pratt, H.L. y Tanaka, S. (1994). Sperm Storage in Male Elasmobranch: A Description and Survey. *Journal of Morphology*. **219**: 297-308.
 - * Prisco, M., A. L. Ricchiari, y P. Andreuccetti. (2002). Ultrastructural studies on developing follicles of the spotted ray *Torpedo marmorata*. *Molecular Reproduction and Development* **61**:78–86.
 - * Prisco, M., A. Liguoro, L. Ricchiari, G. Del Giudice y P. Andreuccetti. (2007). Oogenesis in the spotted ray *Torpedo marmorata*. *Rev. Fish. Biol. Fisheries* **17**: 1-10.
 - * Ramírez-Amaro, S. R., Galván-Magaña, F., González-Barba, G. y Cartamil D. (2012). Caracterización de la pesquería artesanal de elasmobranquios en la costa occidental de Baja California Sur, México. 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.
 - * Robles, S. (1985). Estudio geográfico del estado de Baja California Sur. Gobierno de Baja California Sur. Dirección de cultura.
 - * SAGARPA. (2006). Carta Nacional Pesquera. Diario Oficial de la Federación. Segunda sección. México.
 - * SAGARPA. (2010). Carta Nacional Pesquera. Diario Oficial de la Federación. México.
 - * Santana, M. O., J. Castillo, O. Sosa y C. Medrano. (2004). Catalogo de tiburones, rayas y quimeras (Chondrichthyes) que habitan en las aguas del norte del Golfo de California. Reporte técnico. Laboratorio de Ecología Pesquera. Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada.
 - * Serra-Pereira, B., I. Figueiredo, I. Farias, T. Moura y L. S. Gordo. (2008). Description of dermal denticles from the caudal región of *Raja clavata* and their use for the estimation of age and growth. *ICES (International Council for the Exploration of the Sea) Journal of Marine Science* **65**: 1701-1709.



- * Serra-Pereira, B., I. Figueiredo y L. G. Serrano. (2011). Maturation of the Gonads and Reproductive Tracts of the Thornback Ray *Raja clavata*, with Comments on the Development of a Standardized Reproductive Terminology for Oviparous Elasmobranchs, Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science. **3**(1):160-175.
- * Serra-Pereira, B., F. Afonso, I. Farias, P. Joyce. M. Ellis, I. Figueiredo y L. G. Serrano. (2011b). The development of the oviducal gland in the Rajid thornback ray, *Raja clavata*. Helgol Mar. Res. **65**:399-411.
- * Serrano-López, J. N. (2009). Estudio comparativo de la reproducción de tres especies del género *Mobula* (Chondrichthyes: mobulidae) en el suroeste del Golfo de California, México. Tesis de maestría. Instituto Politécnico Nacional. CICIMAR.
- * Smith, R. M., T. I. Walker y W. C. Hamlett. (2004). Microscopic organization of the oviducal gland of the holocephalan elephant fish, *Callorhynchus millii*. Mar. Freshwater Res. **55**(2):155-164.
- * Smith, W.D., Bizarro J. y Cailliet G. (2009). La pesca artesanal de elasmobranquios en la costa oriental de Baja California, México: Características y consideraciones de manejo. Ciencias marinas. **35**(2):209-236.
- * Sosa-Nishizaki, O., Márquez-Farías J.F. y Villavicencio-Garayzar C.J. (2008). Case study: pelagic shark fisheries along the west coast of Mexico. En: Camhi, M.D., Pikitch E.K. y Babcock E.A. (Eds) Sharks of the open ocean: Biology, fisheries and conservation. Blackwell Science, Ames, IA. E.U.A.
- * Stanley, H. P. (1966). The structure and development of the seminiferous follicle in *Scyliorhinus caniculus* y *Torpedo marmorata* (Elasmobranchii). Zeitschrift für Zellforschung **75**:453-468.
- * 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.
- * Storrie, M.T., T. L. Walker, L. J. Laurenson y W. C. Hamlett. (2008). Microscopic organization of the sperm storage tubules in the oviducal gland of the female gummy shark (*Mustelus antarcticus*), with observations on sperm distribution and storage. Journal of Morphology. **269**(11):1308-1324.
- * Templeman, M. (1982). Development, occurrence and characteristics of egg-capsules of the thorny skate, *Raja radiata*, in the northwest Atlantic. Journal of Northwest Atlantic Fisheries Society **3**:47-56.
- * Thorson, T. (1983). Observaions on the morphology, ecology and life history of the euryhaline stingray, *Dasytatis guttota* (Bloch and Schneider) 1801. Act. Biol. Venez. **11**:95-125.



- * Valadez, G. C. (2007). Distribución, abundancia y alimentación de las rayas bentónicas de la costa de Jalisco y Colima, México. Tesis de doctorado. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.
- * Valenti, S.V. y Kyne, P.M. (2009). *Raja velezi*. In: IUCN 2012. IUCN Red List of Threatened Species. Version 2012.1. <www.iucnredlist.org>.
- * Vázquez, G. M., (2007). Caracterización de la pesca artesanal de elasmobranquios en punta lobos, BCS., México. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur.
- * Villavicencio-Garayzar, C.J. (1991). Observations on *Mobula munkiana* (Chondrichthyes: Mobulidae) in the Bahía de la Paz, B.C.S., México. Rev. Inv. Cient. UABCS. **2** (2): 78-81.
- * Villavicencio-Garayzar, C.J. (1993a). Notas sobre *Gymnura marmorata* (Cooper)(Pisces: Dasyatidae) en Bahía Almejas, B.C.S., México. Rev. Inv. Cient. UABCS. **4** (1): 91-94.
- * Villavicencio-Garayzar, C.J. (1993b). Biología reproductiva de *Rhinobatos productos* (Pisces: Rhinobatidae), en Bahía Almejas, Baja California Sur, México. Rev. Biol. Trop. **41** (3): 777-782.
- * Villavicencio-Garayzar, C.J. y L. A. Abitia-Cárdenas.(1994). Elasmobranquios de Bahía Magdalena y Laguna San Ignacio, Baja California Sur, México. Rev. Inv. Ser. Cienc. Mar UABCS. **5** (2): 63-67.
- * Villavicencio-Garayzar, C.J. (1995a). Biología reproductiva de la guitarra pinta *Zapterix exasperata* (Pisces: Rhinobatidae), en Bahía Almejas, Baja California Sur, México. Ciencias Marinas. **21**(2):141-153.
- * Villavicencio-Garayzar, C.J. (1995b). Distribución temporal y condición reproductiva de las rayas (Pisces: Batoidei) capturadas comercialmente en Bahía Almejas, B.C.S., México. Rev. Inv. Ser. Cienc. Mar. UABCS. **6** (1/2):1-12
- * Villavicencio-Garayzar, C.J. (1996a). Distribución temporal y condición reproductiva de las rayas (Pisces: Batoidei), capturadas comercialmente en Bahía Almejas, Baja California Sur, México. Rev. Inv. Cient., UABCS, **6**: 1–12.
- * Villavicencio-Garayzar, C.J. (1996b). Tallas, proporción de sexos y reproducción de *Myliobatis californica* y *M. longirostris* (Pisces: Myliobatidae) en Baja California Sur, México. Rev.Bio. Trop. **43** (2): 291-295.
- * Walker, I. T. (1998). Can shark resources be harvested sustainably? A question revisited with a review of shark fisheries. Marine and Freshwater Research. **49**(7) 553 – 572.
- * Walmsley-Hart, S. A., W. H. H. Sauer y C. D. Buxton. (1999). The biology of the skates *Raja wallacei* and *R. pullopunctata* (Batoidea: Rajidae) on the Agulhas Bank, South Africa. South African Journal of Marine Science **21**: 165-179.



- * Wourms, J. P. (1977). Reproduction and Development in Chondrichthyan Fishes. *American Zoologist*. **17**(2):379 – 410.
- * Wourms, J.P. y L. S. Demski. (1993). The reproduction and development of sharks, skates, rays and rattfishes: introduction, history, overview, and future prospects. *Environmental Biology of Fishes*. **38**:7–21.
- * Zar, J. H. (1984). *Biostatistical Analysis*, 4ta. Edición. New Jersey, Prentice Hall.
- * Zeiner, S. J. y P., Wolf. (1993). Growth characteristics and estimates of age at maturity of two species of skates (*Raja binoculata* and *Raja rhina*) from Monterey Bay, California, p. 87-99. *En: Conservation Biology of Elasmobranch* (Branstetter, S., ed.) NOAA Technical Report, NMFS.