



**INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL**  
**CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS**



**BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DEL TIBURÓN**  
*Mustelus lunulatus* (Jordan y Gilbert, 1883) EN  
BAHÍA TORTUGAS, BAJA CALIFORNIA SUR,  
MÉXICO

**TESIS**

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

**PRESENTA**

**GABRIELA GARCÍA VÁZQUEZ**

**LA PAZ, B.C.S., DICIEMBRE DE 2018**



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

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 21 del mes de Noviembre del 2018 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis titulada:

"BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DEL TIBURÓN *Mustelus lunulatus* (Jordan y Gilbert, 1883)  
EN BAHÍA TORTUGAS, BAJA CALIFORNIA SUR, MÉXICO"

Presentada por el alumno:

**GARCÍA**

Apellido paterno

**VÁZQUEZ**

materno

**GABRIELA**

nombre(s)

Con registro: 

|   |   |   |   |   |   |   |
|---|---|---|---|---|---|---|
| A | 1 | 7 | 0 | 8 | 9 | 0 |
|---|---|---|---|---|---|---|

Aspirante de:

**MAESTRIA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS**

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

**LA COMISION REVISORA**

Directores de Tesis

**DR. ROSA ISABEL OCHOA BÁEZ**  
Directora de Tesis

**DR. FELIPE GALVÁN MAGAÑA**  
2º. Director de Tesis

**DR. AGUSTÍN HERNÁNDEZ HERRERA**

**DR. ROGELIO GONZÁLEZ ARMAS**

**DR. MARCIAL ARELLANO MARTÍNEZ**

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

**DR. SERGIO HERNÁNDEZ TRUJILLO**



I.P.N.  
CICIMAR  
DIRECCIÓN



# INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

## SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

### CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 23 del mes de Noviembre del año 2018

El (la) que suscribe BIÓL. GABRIELA GARCÍA VÁZQUEZ Alumno (a) del Programa  
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

con número de registro A170890 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

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

DRA. ROSA ISABEL OCHOA BÁEZ Y DR. FELIPE GALVÁN MAGAÑA

y cede los derechos del trabajo titulado:

"BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DEL TIBRUÓN *Mustelun lunulatus* (Jordan y Gilbert, 1883)

EN BAHÍA TORTUGAS, BAJA CALIFORNIA SUR, MÉXICO

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

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: gabrielagv11@gmail.com - riochoab@gmail.com - galvan.felipe@gmail.com

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

BIÓL. GABRIELA GARCÍA VÁZQUEZ

*Nombre y firma del alumno*

## **DEDICO ESTA TESIS...**

A mi papá Florentino, mi pareja Armando, mi mamá María de Lourdes y mi hermana Fernanda porque son el motor de mi vida, por hacer de mí una mejor persona, por su paciencia, por ser un apoyo incondicional, por ahuyentar los miedos y por alentarme a seguir mis sueños. ¡Los amo inmensamente!

A mis abuelos Florentino y Mauro, porque siempre estarán en mi corazón. ¡Los extraño!

A cada uno de los integrantes de mi familia por siempre apoyarme y alentarme. ¡Los amo!

Deja que tus sueños sean más grandes que tus miedos, tus acciones más fuertes que tus palabras y tu fe, más fuerte que tus sentimientos.

Anónimo.



## **AGRADECIMIENTOS**

Al CICIMAR-IPN por todo el apoyo brindado durante el desarrollo de mi Posgrado. Asimismo, agradezco a todo el personal que labora en él, por su buen trato y disposición a ayudar siempre.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por todo el apoyo económico brindado a través del programa de becas de Posgrado que me brindo la oportunidad de realizar y culminar mis estudios.

A los proyectos:

- Proyecto CONACyT: Biología básica de las especies de tiburones y rayas de importancia comercial en la costa occidental de Baja California Sur. Clave 253700.
- Proyecto multidisciplinario SIP-IPN: Dinámica poblacional de elasmobranchios de la zona de Bahía Tortugas: centro de actividad biológica de Baja California Sur. Clave: 1758.
- Proyecto SIP-IPN: Reproducción de tiburones de Bahía Tortugas, B.C.S. México. Clave: 20160165

Por todo el apoyo económico brindado para la realización de este estudio.

A mis directores de tesis Dra. Rosa Isabel Ochoa Báez y Dr. Felipe Galván Magaña por darme la oportunidad de formar parte de los proyectos, pero sobre todo por sus enseñanzas y apoyo incondicional.

A la comunidad de pescadores de Bahía Tortugas por su amabilidad y cooperación en la obtención de las muestras para llevar acabo este trabajo.

Al Sistema de Movilidad Estudiantil del CICIMAR-IPN y a la Coordinación de Cooperación Académica del IPN por el apoyo económico el cual me ayudo a realizar mi estancia de investigación en la Universidad Nacional del Sur.

Un agradecimiento muy especial al Dr. Agustín Hernández Herrera por orientarme en los momentos de frustración, por su gran apoyo, paciencia y valiosísima ayuda, pero sobre todo por brindarme su amistad.

A los integrantes del comité tutorial, Dr. Rogelio González Armas y Dr. Marcial Arellano Martínez por la revisión y sugerencias para mejorar y enriquecer este trabajo.

Al Dr. Rene Torres Villegas por compartirme un poco de todo su conocimiento, por facilitarme el equipo para tomar las fotos y por brindarme su apoyo y confianza.

A la Dra. Elena Galíndez por abrirme las puertas en el laboratorio, por compartirme un poco de su enorme conocimiento y por todo el apoyo para realizar una estancia de investigación exitosa.

A la Dra. Carolina Moya, Dra. Anahí Wehitt y Dra. María Constanza Díaz Andrade por su calidez, por recibirme con los brazos abiertos y por hacer de mi estancia una experiencia inolvidable.

Al Biol. Armando Martínez Castro por su ayuda en la edición de las imágenes, por su paciencia y palabras de aliento, pero sobre todo por el inmenso amor.

A Lili y Mike por todo el apoyo que me han brindado, por su amistad incondicional, por el inmenso cariño y por los momentos inolvidables que hemos vivido juntos en La Baja. Los quiero Turismo Balandro.

A Rosario, Stephanie, Katherine y Diego por siempre estar al pendiente, por brindarme toda su ayuda, por sus enseñanzas y consejos, pero sobre todo por su amistad y todos los buenos momentos que compartimos.

A todos los compañeros del Galvan-Team por aportar un granito de arena en mi trabajo y por los buenos momentos.

## ÍNDICE

|                                                                                 |           |
|---------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Índice de figuras .....                                                         | 6         |
| Índice de tablas .....                                                          | 8         |
| Glosario.....                                                                   | 9         |
| Resumen .....                                                                   | 14        |
| Abstract.....                                                                   | 15        |
| <b>1. Introducción .....</b>                                                    | <b>16</b> |
| <b>2. Antecedentes .....</b>                                                    | <b>17</b> |
| 2.1 Estrategias reproductivas.....                                              | 17        |
| 2.2 Generalidades del tiburón <i>Mustelus lunulatus</i> .....                   | 18        |
| 2.3 Importancia del recurso tiburón en México .....                             | 19        |
| 2.4 Pesquería de los tiburones del género <i>Mustelus</i> en México .....       | 20        |
| <b>3. Justificación.....</b>                                                    | <b>20</b> |
| <b>4. Objetivo .....</b>                                                        | <b>21</b> |
| 4.1 General .....                                                               | 21        |
| 4.2 Particulares .....                                                          | 21        |
| <b>5. Área de estudio .....</b>                                                 | <b>22</b> |
| <b>6. Material y método .....</b>                                               | <b>23</b> |
| 6.1 Trabajo de campo .....                                                      | 23        |
| 6.2 Trabajo de laboratorio .....                                                | 24        |
| 6.3 Análisis estadístico.....                                                   | 29        |
| <b>7. Resultados .....</b>                                                      | <b>31</b> |
| <b>7.1 Composición de tallas y proporción de sexos .....</b>                    | <b>31</b> |
| <b>7.2 Descripción macroscópica del aparato reproductor de hembras .....</b>    | <b>31</b> |
| 7.2.1 Estadios de madurez .....                                                 | 34        |
| 7.2.1.1 Inmadura .....                                                          | 34        |
| 7.2.1.2 Madura .....                                                            | 35        |
| 7.2.1.3 Grávida .....                                                           | 36        |
| <b>7.3 Descripción histológica del aparato reproductor de las hembras .....</b> | <b>38</b> |
| 7.3.1 Ovario .....                                                              | 38        |
| 7.3.2 Ovogénesis y foliculogénesis.....                                         | 40        |
| 7.3.3 Conductos genitales .....                                                 | 47        |

|                                                                                                                       |            |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| 7.3.4 Oviducto anterior.....                                                                                          | 48         |
| 7.3.5 Glándula oviducal .....                                                                                         | 49         |
| 7.3.6 Almacén de esperma en la glándula oviducal.....                                                                 | 56         |
| 7.3.7 Istmo .....                                                                                                     | 57         |
| 7.3.8 Útero .....                                                                                                     | 58         |
| <b>7.4 Descripción macroscópica del aparato reproductor de machos.....</b>                                            | <b>62</b>  |
| 7.4.1 Estadios de madurez .....                                                                                       | 65         |
| 7.4.1.1 Inmaduro .....                                                                                                | 65         |
| 7.4.1.2 Maduro .....                                                                                                  | 66         |
| <b>7.5 Descripción histológica del aparato reproductor de machos.....</b>                                             | <b>67</b>  |
| 7.5.1 Testículo .....                                                                                                 | 67         |
| 7.5.2 Espermatogénesis .....                                                                                          | 69         |
| <b>7.6 Crecimiento fetal y embrionario .....</b>                                                                      | <b>77</b>  |
| <b>7.7 Ciclo reproductivo .....</b>                                                                                   | <b>82</b>  |
| <b>7.8 Fecundidad uterina .....</b>                                                                                   | <b>84</b>  |
| <b>7.9 Talla media de madurez sexual (L<sub>50</sub>) .....</b>                                                       | <b>84</b>  |
| <b>7.10 Talla de maternidad (L<sub>m50</sub>) .....</b>                                                               | <b>86</b>  |
| <b>8. Discusión.....</b>                                                                                              | <b>88</b>  |
| <b>8.1 Composición de tallas y proporción de sexos .....</b>                                                          | <b>88</b>  |
| <b>8.2 Descripción macroscópica e histológica del aparato reproductor de</b><br><b><i>Mustelus lunulatus</i>.....</b> | <b>89</b>  |
| 8.2.1 Ovario .....                                                                                                    | 89         |
| 8.2.2 Oviducto anterior.....                                                                                          | 93         |
| 8.2.3 Glándula oviducal .....                                                                                         | 94         |
| 8.2.4 Almacén de esperma en la glándula oviducal.....                                                                 | 96         |
| 8.2.5 Istmo y útero .....                                                                                             | 97         |
| 8.2.6 Testículo .....                                                                                                 | 99         |
| <b>8.3 Crecimiento fetal y embrionario y ciclo reproductivo .....</b>                                                 | <b>102</b> |
| <b>8.4 Fecundidad uterina .....</b>                                                                                   | <b>104</b> |
| <b>8.5 Talla media de madurez sexual (L<sub>50</sub>) y talla de maternidad (L<sub>m50</sub>).....</b>                | <b>105</b> |
| <b>9. Conclusiones .....</b>                                                                                          | <b>107</b> |
| <b>10. Recomendaciones.....</b>                                                                                       | <b>109</b> |
| <b>11. Referencias .....</b>                                                                                          | <b>110</b> |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> Ejemplar de <i>Mustelus lunulatus</i> de 86 cm de longitud total.....                                                                         | 18 |
| <b>Figura 2.</b> Área de muestreo Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. ....                                                                            | 22 |
| <b>Figura 3.</b> Composición de tallas por sexo del tiburón <i>M. lunulatus</i> en Bahía Tortugas, BCS.....                                                    | 31 |
| <b>Figura 4.</b> Estadios de madurez de hembras por intervalo de tallas de <i>M. lunulatus</i> en Bahía Tortugas, BCS. ....                                    | 32 |
| <b>Figura 5.</b> Regresión lineal entre el ancho de la glándula oviducal y la longitud total de las hembras de <i>M. lunulatus</i> en Bahía Tortugas, BCS..... | 33 |
| <b>Figura 6.</b> Regresión exponencial entre el ancho del útero y la longitud total de las hembras de <i>M. lunulatus</i> en Bahía Tortugas, BCS. ....         | 33 |
| <b>Figura 7.</b> Anatomía del aparato reproductor de una hembra inmadura de <i>M. lunulatus</i> . ....                                                         | 34 |
| <b>Figura 8.</b> Anatomía del aparato reproductor de una hembra madura de <i>M. lunulatus</i> . ....                                                           | 35 |
| <b>Figura 9.</b> Anatomía del aparato reproductor de una hembra grávida de <i>M. lunulatus</i> con los úteros distendidos sin embriones.....                   | 36 |
| <b>Figura 10.</b> Anatomía del aparato reproductor de una hembra grávida de <i>M. lunulatus</i> con los úteros distendidos y presencia de embriones. ....      | 37 |
| <b>Figura 11.</b> Embrión del tiburón <i>M. lunulatus</i> . ....                                                                                               | 38 |
| <b>Figura 12.</b> Anatomía microscópica del ovario de <i>M. lunulatus</i> .....                                                                                | 39 |
| <b>Figura 13.</b> Ovario de <i>M. lunulatus</i> .....                                                                                                          | 39 |
| <b>Figura 14.</b> Folículo y ovocito.....                                                                                                                      | 40 |
| <b>Figura 15.</b> Ovogonias. ....                                                                                                                              | 41 |
| <b>Figura 16.</b> Folículos primordiales.....                                                                                                                  | 42 |
| <b>Figura 17.</b> Folículos primarios. ....                                                                                                                    | 43 |
| <b>Figura 18.</b> Folículos previtelogénicos. ....                                                                                                             | 44 |
| <b>Figura 19.</b> Folículos vitelogénicos. ....                                                                                                                | 45 |
| <b>Figura 20.</b> Folículos postovulatorios y cuerpos lúteos. ....                                                                                             | 46 |
| <b>Figura 21.</b> Folículos atrésicos.....                                                                                                                     | 47 |
| <b>Figura 22.</b> Anatomía microscópica en vista transversal del conducto genital de una hembra de <i>M. lunulatus</i> .....                                   | 48 |
| <b>Figura 23.</b> Oviducto anterior. ....                                                                                                                      | 49 |
| <b>Figura 24.</b> Vista panorámica transversal de la glándula oviducal de una hembra de <i>M. lunulatus</i> . ....                                             | 50 |
| <b>Figura 25.</b> Zona club.....                                                                                                                               | 52 |
| <b>Figura 26.</b> Zona papillary.....                                                                                                                          | 53 |
| <b>Figura 27.</b> Zona baffle. ....                                                                                                                            | 55 |
| <b>Figura 28.</b> Zona terminal.....                                                                                                                           | 56 |
| <b>Figura 29.</b> Almacén de esperma en la glándula oviducal. ....                                                                                             | 57 |

|                                                                                                                                                         |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 30.</b> Istmo.....                                                                                                                            | 58 |
| <b>Figura 31.</b> Anatomía microscópica del útero en corte transversal de <i>M. lunulatus</i> ....                                                      | 59 |
| <b>Figura 32.</b> Útero de <i>M. lunulatus</i> ..                                                                                                       | 60 |
| <b>Figura 33.</b> Útero de ejemplares inmaduros y maduros.....                                                                                          | 61 |
| <b>Figura 34.</b> Útero de ejemplares grávidos.....                                                                                                     | 62 |
| <b>Figura 35.</b> Composición de tallas por estadio de madurez de machos de <i>M. lunulatus</i> en Bahía Tortugas, BCS. ....                            | 63 |
| <b>Figura 36.</b> Regresión lineal entre el largo del gonopterigio y la longitud total de los machos de <i>M. lunulatus</i> en Bahía Tortugas, BCS..... | 64 |
| <b>Figura 37.</b> Regresión lineal entre el ancho del testículo y la longitud total de los machos de <i>M. lunulatus</i> en Bahía Tortugas, BCS.....    | 64 |
| <b>Figura 38.</b> Regresión lineal entre el largo del testículo y la longitud total de los machos de <i>M. lunulatus</i> en Bahía Tortugas, BCS.....    | 65 |
| <b>Figura 39.</b> Anatomía del aparato reproductor de un macho inmaduro de <i>M. lunulatus</i> .<br>.....                                               | 66 |
| <b>Figura 40.</b> Anatomía del aparato reproductor de un macho maduro de <i>M. lunulatus</i> .<br>.....                                                 | 67 |
| <b>Figura 41.</b> Anatomía microscópica en vista transversal del testículo de <i>M. lunulatus</i> ..<br>.....                                           | 68 |
| <b>Figura 42.</b> Testículo de <i>M. lunulatus</i> .....                                                                                                | 68 |
| <b>Figura 43.</b> Espermatocisto.....                                                                                                                   | 69 |
| <b>Figura 44.</b> Zona germinal.....                                                                                                                    | 70 |
| <b>Figura 45.</b> Espermatocistos con espermatogonias.....                                                                                              | 71 |
| <b>Figura 46.</b> Espermatocistos con espermatocitos primarios. ....                                                                                    | 72 |
| <b>Figura 47.</b> Espermatocistos con espermatocitos secundarios.....                                                                                   | 73 |
| <b>Figura 48.</b> Espermatocistos con espermatidas.....                                                                                                 | 74 |
| <b>Figura 49.</b> Espermatocistos con espermatozoides inmaduros.. ....                                                                                  | 75 |
| <b>Figura 50.</b> Espermatocistos con espermatozoides maduros. ....                                                                                     | 75 |
| <b>Figura 51.</b> Zona de degeneración.....                                                                                                             | 76 |
| <b>Figura 52.</b> Relación entre el diámetro de los espermatocistos contra el estadio espermatogénico.....                                              | 77 |
| <b>Figura 53.</b> Etapa 1 del crecimiento fetal y embrionario de <i>M. lunulatus</i> . ....                                                             | 78 |
| <b>Figura 54.</b> Etapa 2 del crecimiento fetal y embrionario de <i>M. lunulatus</i> . ....                                                             | 79 |
| <b>Figura 55.</b> Etapa 3 del crecimiento fetal y embrionario de <i>M. lunulatus</i> . ....                                                             | 80 |
| <b>Figura 56.</b> Etapa 4 del crecimiento fetal y embrionario de <i>M. lunulatus</i> . ....                                                             | 81 |
| <b>Figura 57.</b> Etapa 5 del crecimiento fetal y embrionario de <i>M. lunulatus</i> . ....                                                             | 81 |
| <b>Figura 58.</b> Etapa 6 del crecimiento fetal y embrionario de <i>M. lunulatus</i> . ....                                                             | 82 |
| <b>Figura 59.</b> Variación mensual del diámetro de los ovocitos y la LT del embrión.. ....                                                             | 83 |
| <b>Figura 60.</b> Regresión lineal entre la fecundidad y la talla materna de <i>M. lunulatus</i> en Bahía Tortugas, BCS. ....                           | 84 |
| <b>Figura 61.</b> Talla media de madurez sexual para hembras de <i>M. lunulatus</i> en Bahía Tortugas, BCS.....                                         | 85 |



|                                                                                                                |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 62.</b> Talla media de madurez sexual para machos de <i>M. lunulatus</i> en Bahía Tortugas, BCS..... | 85 |
| <b>Figura 63.</b> Talla de maternidad para hembras de <i>M. lunulatus</i> en bahía Tortugas BCS.....           | 86 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Tabla 1.</b> Técnicas histológicas e histoquímicas empleadas para cada tejido. ....             | 25 |
| <b>Tabla 2.</b> Caracterización de las etapas de la ovogénesis en <i>M. lunulatus</i> . ....       | 26 |
| <b>Tabla 3.</b> Caracterización de las etapas de la espermatogénesis en <i>M. lunulatus</i> . .... | 28 |
| <b>Tabla 4.</b> Comparación de los parámetros reproductivos de <i>M. lunulatus</i> . ....          | 87 |

## GLOSARIO

**Acidófilo:** célula o componente celular que muestra afinidad hacia los colorantes ácidos (Leeson & Leeson, 1985).

**Adenómero:** unidad estructural y funcional de la glándula, constituido por células secretoras que liberan las secreciones hacia el lumen de la estructura (Leeson & Leeson, 1985).

**Adluminal:** célula o estructura histológica cerca o hacia el lumen (Leeson & Leeson, 1985).

**Atresia:** consiste en la degradación estructural y biomolecular tanto del ovocito, como del folículo (Babin *et al.*, 2007).

**Apoptosis:** muerte celular programada, proceso ordenado por el cual la célula muere ante estímulos extra o intracelulares (Lender *et al.*, 1982).

**Basófilo:** célula o componente celular que muestra afinidad hacia los colorantes básicos (Leeson & Leeson, 1985).

**Capa granulosa:** conjunto de células que envuelven al ovocito, de origen mesenquimal o epitelial que secretan estrógenos ((Babin *et al.*, 2007).

**Células de Leydig:** células localizadas en el tejido intersticial del testículo, forman parte de la glándula de Leydig anexa a los conductos genitales. Están involucradas en la producción de hormonas esteroideas (Honma *et al.*, 1984).

**Células de Sertoli:** células localizadas en el tejido conjuntivo, forman parte de una glándula (glándula de Leydig) anexa al conducto genital masculino. Son células secretoras de la testosterona (Leeson & Leeson, 1985).

**Células de la teca:** células que conforman la estructura del folículo junto con las células de la granulosa. Están involucradas en la síntesis de hormonas esteroideas (Babin *et al.*, 2007).

**Células foliculares:** células ubicadas en la periferia del ovocito, denominadas de la granulosa y por fuera de éstas se encuentran las células de la teca (Babin *et al.*, 2007).

**Células germinales:** células localizadas en las gónadas precursoras de los gametos (ovulo y espermatozoide) a través de una división meiótica (Babin *et al.*, 2007).

**Cuerpo lúteo:** fase final del proceso de foliculogénesis, es una estructura formada a partir del folículo de De Graaf (se transforma en cuerpo lúteo cuando el ovocito sale del folículo, inducido por un pico de la hormona LH) (Gilbert, 2005).

**Epitelio:** lámina de células unidas entre sí, formada por una (epitelio simple) o varias capas (epitelio estratificado). Reviste todas las superficies libres del organismo. También llamado tejido epitelial. (Leeson & Leeson, 1985).

**Espermátida:** célula haploide (n) formada por división de un espermatocono secundario y que da lugar a un espermatozoide (Leeson & Leeson, 1985).

**Espermatocono:** célula germinal masculina que deriva de la espermatogonia y que da lugar a las espermátidas (Lender *et al.*, 1982).

**Espermatocono:** unidad funcional y estructural del testículo, está delimitado por la membrana basal y en su interior se encuentran células de Sertoli y células germinales, sincronizadas en la misma etapa de desarrollo (Pratt, 1988).

**Espermatofores:** saco o paquete que contiene cúmulos alineados de espermatozoides rodeados por una matriz acidófila (Pratt & Tanaka, 1994).

**Espermatogénesis:** proceso biológico llevado a cabo en los testículos, por el cual la espermatogonia se transforma en un espermatozoide maduro (Gilbert, 2005).

**Espermatogonia:** célula germinal masculina diploide (2n), que inicia la espermatogénesis, se multiplica por mitosis en la zona germinativa de los testículos (Gilbert, 2005).

**Espermatozeugmata:** masas de espermatozoides en las que las colas se proyectan hacia fuera del perímetro de la matriz (Pratt & Tanaka, 1994).

**Espermatozoide:** gameto masculino maduro que se caracteriza por presentar flagelo y movilidad (Lender *et al.* 1982).

**Espermioogénesis:** Proceso en el cual las espermátidas sufren la segunda división meiótica y se convierten en espermatozoides (Gilbert, 2005).

**Eucromatina:** forma de la cromatina ligeramente compactada con una gran concentración de genes, y a menudo se encuentra en transcripción activa (Gilbert, 2005).

**Fecundidad:** capacidad máxima reproductiva. 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:** estructura anatómica básica de la biología reproductiva en hembras que hace referencia al ovocito y los tejidos que lo envuelven (zona pelúcida, capa granulosa y células de la teca) (Leeson & Leeson, 1985).

**Foliculogénesis:** proceso de maduración del folículo ovárico, una estructura compuesta por células de la granulosa que rodea el ovocito y dentro de la cual se desarrolla la ovogénesis (Babin *et al.*, 2007).

**Gonopterigios:** órganos copuladores masculinos, característicos de los elasmobranquios. Modificaciones de los bordes internos de las aletas pélvicas, se prolongan hacia atrás, más que las aletas mismas. También llamados claspers o mixiopterigios (Álvarez del Villar, 1978)

**Heterocromatina:** forma de la cromatina altamente compacta que no permite la expresión genética (Gilbert, 2005).

**Ooplasma:** citoplasma del ovocito (Gilbert, 2005).

**Oolema:** membrana plasmática del ovocito (Gilbert, 2005).

**Órgano epigonal:** órgano linfomieloide, exclusivo de los condriictios, adyacente a las gónadas. Especializado en la producción de granulocitos y linfocitos (Honma *et al.*, 1984).

**Ovocito:** célula sexual femenina en fase de crecimiento (Gilbert, 2005).

**Ovogénesis:** proceso biológico llevado a cabo en los ovarios, mediante el cual los gametos femeninos pasan por las etapas de multiplicación y maduración hasta transformarse en óvulos (Gilbert, 2005).

**Ovogonia:** célula germinal femenina que representa la primera fase de la ovogénesis, da lugar al ovocito (Babin *et al.*, 2007).

**Ovario externo:** se caracteriza por presentar los ovocitos expuestos sobre el estroma. Es característico de la familia Carcharhinidae y Sphyrnidae (Pratt, 1988).

**Spinnerets:** pliegues bajos ubicados a cada lado de las lamelas de la zona baffle de la glándula oviducal (Hamlett, 2005).

**Talla de maternidad ( $L_{m50}$ ):** talla a la cual el 50% de las hembras se encuentran preñadas y contribuirán a la siguiente cohorte (Walker, 2005).

**Talla media de madurez sexual ( $L_{50}$ ):** talla a la cual el 50% de la población se encuentra sexualmente madura (Walker, 2005a).

**Túnica albugínea:** capa gruesa de tejido conectivo denso subyacente al tejido ovárico o testicular (Leeson & Leeson, 1985).

**Túnica mucosa:** capa formada por un revestimiento de epitelio que tienen contacto directo con la luz del órgano y el tejido conjuntivo laxo subyacente (lámina propia) que reviste las paredes internas. Suele estar asociada a numerosas glándulas secretoras de moco. Tiene funciones de protección, secreción y absorción (Leeson & Leeson, 1985).

**Túnica muscular:** lámina formada por dos capas de músculo liso, cuya dirección de las fibras es transversal al eje longitudinal en la capa más interna (circular), y paralela al eje longitudinal en la capa externa (capa longitudinal; Leeson & Leeson, 1985).

**Túnica serosa:** capa constituida por tejido conectivo laxo tapizado por una capa epitelial llamada mesotelio, envuelve al órgano en toda su extensión (Leeson & Leeson, 1985).

**Túnica submucosa:** capa formada por tejido conjuntivo moderadamente denso, en el cual se encuentran numerosos vasos sanguíneos. Se ubica por debajo de la túnica mucosa (Leeson & Leeson, 1985).

**Vitelo:** reservas del ovocito formadas de lipoproteínas y fosfoproteínas, derivadas principalmente de la vitelogenina (Gilbert, 2005).

**Zona pelúcida:** capa externa que rodea el ovocito, separándole del espacio perivitelino, está compuesta por varias glicoproteínas (Babin *et al.*, 2007).

## RESUMEN

El cazón segador *Mustelus lunulatus* es una especie registrada en las capturas de tiburones de importancia comercial en Baja California Sur (B.C.S.), de la cual se carece de información biológica en la zona de estudio. El presente estudio plantea generar conocimiento de la especie, con el objetivo de describir los parámetros reproductivos del cazón segador. Los ejemplares fueron colectados en Bahía Tortugas, B.C.S. durante el periodo 2014 a 2017. Se analizaron un total de 105 hembras y 41 machos. Los tamaños de los tiburones oscilaron entre 51 y 126 cm de longitud total (L.T.), con una proporción sexual de 2.56H:1M. Se llevó a cabo la descripción morfológica de los órganos reproductores, clasificando dos estados de madurez para los machos y tres para las hembras. Se realizó una descripción histológica del ovario, oviducto anterior, glándula oviducal, istmo, útero y testículo. Las hembras presentaron un solo ovario funcional de tipo externo y cinco etapas de ovogénesis. Se distinguieron cuatro zonas morfofuncionales en la glándula oviducal, con evidencia de almacén de esperma en la zona baffle y terminal. El análisis histológico del testículo confirmó el desarrollo tipo diamétrico, siete etapas de la espermatogénesis y una zona de degeneración. Se estimó una fecundidad promedio de 8.26 embriones por hembra y una relación lineal significativa entre la L.T. materna y la fecundidad. La variación mensual del diámetro de los ovocitos más grandes de las hembras maduras y la L.T. de los embriones sugieren un ciclo reproductivo anual continuo. Con el análisis histológico y el ajuste de los datos a una función logística se concluyó que las hembras maduran a partir de los 85.36 cm de L.T. y los machos a partir de los 76.26 cm de L.T. Se presenta información detallada de los cambios en la morfología microscópica de las gónadas y la reproducción de *M. lunulatus*. Asimismo, contribuye con información orientada al manejo pesquero de la especie.

**Palabras clave:** Pesca artesanal, Morfometría, Histología, Escala de madurez.

## ABSTRACT

The sicklefin smoothhound *Mustelus lunulatus* is a species registered in the shark catches of commercial importance in Baja California Sur (B.C.S.), there is a lack of biological information on the species in the research area. The objectives of the present study were to provide estimations of the reproductive parameters of sicklefin smoothhound. The samples were collected in Bahia Tortugas, B.C.S. during 2014 to 2017. A total of 105 females and 41 males were analyzed. The sizes of the sharks ranged from 51 to 126 cm of total length (T.L.), with a sexual ratio of 2.56H:1M. The morphological description of the reproductive organs was made, two stages of maturity for the males and three stages of maturity for the females were determined. A histological description of the ovary, anterior oviduct, oviducal gland, isthmus, uterus and testicle was made. The females presented a single functional ovary external type and five stages of oogenesis. Four morphofunctional zones were distinguished in the oviducal gland, with evidence of sperm storage in the baffle and terminal zone. The histological analysis of the testes confirmed the diametric type development, seven stages of spermatogenesis and one zone of degeneration. Litter size average of 8.26 pups per female was determined and the relationship between litter size and maternal T.L. was linear. Temporal changes of the largest oocytes' diameter of mature females and the T.L. of the embryos, suggest an annual reproductive cycle. With the histological analysis and the adjustment of the data to a logistic function, it was concluded that the females mature from the 85.36 cm of L.T. and the males from 76.26 cm of T.L. Detailed information on the changes in the microscopic morphology of the gonads and the reproduction of *M. lunulatus* is presented. It also contributes with information oriented to the fishing management of the species.

**Key words:** Artisanal fishing, Morphometry, Histology, Maturity scale.



## 1. INTRODUCCIÓN

Los condricios se distribuyen ampliamente a lo largo de los océanos habitando cualquier tipo de ambiente (Parker & Parker, 2002). Son de gran interés pesquero para el hombre debido a que se aprovechan sus aletas, carne, piel, dientes, hígado y cartílago (Pratt & Casey, 1990), así como desde el punto de vista ecológico, turístico y económico. Es preocupante el incremento en la explotación pesquera de este grupo y la falta de medidas de manejo sustentadas con investigación científica.

Para alcanzar un manejo pesquero adecuado en condricios, es necesario el conocimiento de sus historias de vida, incluyendo sus parámetros reproductivos (Saïdi *et al.*, 2009). La estimación de los parámetros reproductivos para la evaluación del estado de las poblaciones mediante análisis demográficos y evaluaciones de riesgo ecológico, aportan información para recomendar medidas de manejo pesquero.

El tiburón *Mustelus lunulatus* es una especie de interés comercial en diferentes localidades. En el Pacífico colombiano representan la segunda especie en importancia de las capturas realizadas (Zapata *et al.* 1996). En las aguas mexicanas es una de las principales especies capturadas por la pesquería artesanal de Sonora, junto con *M. californicus* representan el 7.4% de la captura total de condricios (Márquez-Farías, 2000; Hueter *et al.*, 2002). En el noreste del Golfo de California (G.C.) *M. lunulatus* y otras especies pequeñas de tiburones (*Rhizoprionodon longurio*, *M. californicus* y *M. henlei*) realizan migraciones estacionales durante los meses de otoño e invierno, y durante este tiempo pueden capturarse en cantidades de 1,200-1,500 individuos por viaje de pesca (Márquez-Farías, 2000; Bizzarro *et al.*, 2009). Por otra parte, frente a las costas de Baja California Sur (B.C.S.), *M. lunulatus* representa el 0.54% de la captura total de condricios (Ramírez-Amaro *et al.*, 2013).

Además de su valor comercial, *M. lunulatus* debe cumplir un papel ecológico determinante en el sistema bentopelágico debido a su condición de depredador tope (Navia *et al.*, 2006). En este sentido, evaluar los aspectos biológicos de esta especie es un tema relevante tanto en el contexto pesquero como ecológico. Por lo que el objetivo de este trabajo es proporcionar información sobre la biología reproductiva de

*M. lunulatus* en la zona de Bahía Tortugas, B.C.S., con base en un análisis macroscópico e histológico de los órganos reproductores.

## **2. ANTECEDENTES**

### **2.1 Estrategias reproductivas**

Desde su aparición en el Devónico hasta la actualidad, los condriictios han sufrido pocos cambios morfológicos (Parker & Parker, 2002). Su éxito evolutivo se atribuye en gran parte a sus adaptaciones reproductivas como la fertilización interna, nutrición materna y producción de pocas crías, mismas que nacen completamente desarrolladas e idénticas a sus progenitores, lo cual reduce el número de depredadores potenciales y competidores (Castro, 1993). La fertilización interna aumenta la probabilidad y la eficiencia de la fecundación, aprovechando al máximo el esperma (Carrier *et al.*, 2004).

Dentro del clado de los condriictios, existen especies ovíparas y vivíparas. Las ovíparas forman y depositan huevos en capsulas ovígeras con diversas formas y estructuras, en las especies vivíparas los huevos fertilizados se desarrollan en el útero dentro de la madre (Teshima *et al.*, 1971; Wourms, 1977). Con base en las estrategias reproductivas y la nutrición embrionaria, la reproducción de los tiburones puede dividirse en nutrición lecitotrófica y matrotrofica (Wourms, 1977).

Las especies con nutrición lecitotrófica son aquellas que dependen del vitelo para su desarrollo, dentro de este modo de nutrición embrionaria se encuentran los tiburones ovíparos lecitotróficos y vivíparos lecitotróficos (tienen saco vitelino). Por otra parte, las especies con nutrición matrotrofica dependen de la conexión con la madre para su desarrollo, existen diversas variaciones como viviparidad aplacentaria por oofagia (los embriones se alimentan de ovocitos no fertilizados), viviparidad aplacentaria por adelfofagia o canibalismo uterino, viviparidad aplacentaria por análogos placentarios denominados trophonemata (vellosidades que secretan una sustancia conocida como “leche uterina”) y viviparidad placentaria, en los primeros meses de gestación los embriones tienen saco vitelino y posteriormente se forma una

pseudoplacenta que permite la transferencia de nutrientes (Luer & Gilbert, 1991; Carrier *et al.*, 2004; Hamlett, 2005).

## 2.2 Generalidades del tiburón *Mustelus lunulatus*

La especie *Mustelus lunulatus* pertenece a la familia Triakidae (Orden Carcharhiniformes). Es conocido comúnmente como cazón mamón, cazón segador o musola segadora. Se distribuye desde las costas del sur de California hasta las costas de Colombia incluido el Golfo de California, habita en el fondo de las plataformas (Compagno, 1984). Alcanza una longitud máxima de 170 cm de L.T. (Compagno, 1984) y se alimenta principalmente de crustáceos estomatópodos (Navia *et al.*, 2006; Sánchez-Cota, 2016). Anatómicamente, *M. lunulatus* se distingue de las otras especies de *Mustelus* por presentar surcos labiales superiores más cortos que los inferiores, cabeza estrecha, boca larga, aletas fuertemente falcadas y de 74 a 82 vertebras precaudales (Compagno, 1984) (Fig. 1).



**Figura 1.** Ejemplar de *Mustelus lunulatus* de 86 cm de longitud total.

Dentro del género *Mustelus*, se encuentran especies vivíparas aplacentadas y vivíparas placentadas (Compagno, 1984; Compagno *et al.*, 1989; Ebert, 2003; Compagno *et al.*, 2005; Ebert *et al.*, 2013). *Mustelus lunulatus* es una especie vivípara placentada (Pérez-Jiménez *et al.*, 2005). Poca información está disponible sobre la biología reproductiva de esta especie.

En el pacífico colombiano el tamaño de los organismos fluctuó entre los 50 y 125 cm, la proporción de sexos fue de 1H:1M, tienen entre 4 a 8 crías con un promedio de 6 y nacen con una talla de 23 cm de L.T. La madurez sexual de ambos sexos es entre los 79.9 y 93.5 cm de LT (Navia *et al.*, 2006).

En las aguas mexicanas la talla de madurez sexual para hembras es de 97 cm y para machos de 70 a 83 cm de LT, mientras que la longitud al nacer es entre 32 a 35 cm de L.T., según (Compagno, 1984), sin embargo, no se tiene conocimiento de donde provienen los ejemplares.

Por otra parte, en el norte del G.C., el intervalo de tallas de *M. lunulatus* está comprendido entre los 46 y 162 cm de L.T., las hembras maduran a los 103.2 cm de LT y los machos a los 91.5 cm de L.T. Tiene un ciclo reproductivo anual, un periodo de ovulación de finales de marzo a finales de junio y un periodo de gestación de 11 meses aproximadamente. Produce de 6 a 19 crías con un promedio de 12.9 por hembra y nacen entre los 28-34 cm de LT a mitad de febrero y finales de mayo (Pérez-Jiménez, 2006; Pérez-Jiménez & Sosa-Nishizaki, 2010).

### **2.3 Importancia del recurso tiburón en México**

México ha sido históricamente uno de los países con mayor captura de tiburones a nivel mundial, siendo en 2007 la sexta nación con mayor captura de elasmobranquios (FAO, 2009), representando el 4.3% de la captura mundial con un total de aproximadamente 34 mil toneladas (Sosa-Nishizaki *et al.*, 2008; FAO, 2009).

En México las pesquerías artesanales son de gran importancia ya que sostienen cerca del 40% de la captura total nacional y comprende el 80% del esfuerzo pesquero dirigido a los tiburones (Arreguín Sánchez *et al.*, 2004; Bizzarro, 2007). Esta pesquería es multiespecífica ya que opera sobre la abundancia temporal de varias especies de tiburones y rayas (DOF, 2007; Sosa-Nishizaki *et al.*, 2008).

El rápido crecimiento y expansión de las pesquerías artesanales ha comenzado a ejercer presión excesiva sobre los recursos costeros, como el caso de los tiburones. En el presente escenario, es urgente y necesario tomar medidas de manejo para tener mejores mecanismos de sustentabilidad (Mathew, 2001).

En México han sido implementadas varias estrategias para la conservación de elasmobranquios. En el 2007 fue publicada la Norma Oficial Mexicana 029 (NOM-029-

PESCA-2006), esta legislación tiene como objetivo proteger a los tiburones y rayas, basado en regulaciones específicas de la pesquería, para asegurar una gestión pesquera adecuada y la conservación de los tiburones (DOF, 2007). Posteriormente, a partir del 2012 se han establecido vedas para proteger los periodos de reproducción y desarrollo. En el océano Pacífico la veda se ha implementado del 1 de mayo al 31 de julio, en el golfo de México del 1 de mayo al 30 de junio y del 1 al 30 de agosto para el área del banco de Campeche (DOF, 2012).

Sin embargo, es necesario mejorar la información tomada por las bitácoras de pesca, ya que años atrás se ha tomado solamente por grandes grupos, tiburones (especies mayores a 150 cm de L.T.), cazones (especies de talla pequeña y los juveniles de las grandes) y rayas, lo cual no ayuda a realizar estudios poblacionales por especie y por lo tanto no es posible conocer el estatus poblacional de cada una.

#### **2.4 Pesquería de los tiburones del género *Mustelus* en México**

Se denomina cazón indistintamente a tres especies del género *Mustelus*: *M. californicus*, *M. henlei* y *M. lunulatus*. Aunque no hay datos disponibles sobre la magnitud de las capturas, en el norte del G.C. han sido capturadas por la flota artesanal desde la década de 1980 utilizando redes de enmalle y palangres (Cudney & Turk, 1998).

Durante el período de mayo a septiembre de 2001, cerca de Santa Rosalillita, Baja California, se capturaron 4,638 kg de especies de *Mustelus* (Rodríguez-Medrano & Almeda-Jauregui 2002). En B.C.S. *M. henlei* representa el 24.18% de la captura total de condricios, seguido de *M. californicus* con el 1.31% y por último *M. lunulatus* (Ramírez-Amaro *et al.*, 2013). A pesar de la continua presión pesquera, no hay evidencia que sugiera que las poblaciones de estas especies hayan disminuido.

### **3. JUSTIFICACIÓN**

Los condricios presentan una estrategia reproductiva K, caracterizada por un bajo potencial reproductivo, un número reducido de crías, periodos de gestación prolongados, crecimiento lento y requieren de un periodo largo para alcanzar la madurez sexual (Holden, 1974; Walker, 1992). Estas peculiaridades, hacen que las

poblaciones de tiburones sean extremadamente sensibles a la sobre-explotación (Bonfil *et al.*, 1990; Hoenig & Gruber, 1990).

Los estudios de la biología reproductiva proporcionan información como la talla de madurez sexual, periodos de gestación, actividad reproductiva y fecundidad. Esta información es utilizada en modelos demográficos, mismos que permiten llevar a cabo un manejo racional y sustentable de los recursos pesqueros.

La madurez sexual debiera estimarse por el método más certero posible. Por ejemplo, combinar la morfometría externa con el análisis interno de las gónadas, considerándose así las características macroscópicas y microscópicas (Parsons & Grier, 1992; Maruska *et al.*, 1996). El análisis detallado de los órganos reproductivos en las diferentes etapas del ciclo de vida, generan por medio de los estudios histológicos un conocimiento preciso de la actividad reproductiva de las especies.

#### **4. OBJETIVO**

##### **4.1 General**

Describir la biología reproductiva de *Mustelus lunulatus* de la zona de Bahía Tortugas, Baja California Sur, México.

##### **4.2 Particulares**

- ♦ Describir la composición de tallas de la especie en la localidad estudiada y obtener la proporción de sexos en la muestra analizada.
- ♦ Describir la morfología del aparato reproductor a nivel macroscópico e histológico de machos y hembras.
- ♦ Caracterizar el proceso de ovogénesis y espermatogénesis.
- ♦ Describir la anatomía microscópica de la glándula oviducal, así como el almacén de esperma en la misma.
- ♦ Describir el crecimiento fetal y embrionario y estimar el ciclo reproductivo.
- ♦ Estimar la fecundidad uterina.
- ♦ Obtener la talla media de madurez sexual ( $L_{50}$ ) y la talla de maternidad ( $L_{m50}$ ).

## 5. ÁREA DE ESTUDIO

El área de muestreo de esta investigación fue en Bahía Tortugas, situada en el estado de Baja California Sur (BCS). Es un pequeño puerto de pescadores localizado entre los 27°41' y 27°47' Latitud norte y los 114°39' y 114°04' Longitud oeste, a una altitud de 10 msnm. Pertenece al municipio Mulegé, ubicado en el extremo norte del estado (Turrubiates-Morales, 1990) (Fig. 2).



**Figura 2.** Área de muestreo Bahía Tortugas, Baja California Sur, México.

Bahía Tortugas se ubica dentro de la Reserva de la Biosfera “El Vizcaino”, área natural protegida que abarca una gran variedad de ecosistemas. Dentro de esta reserva también se ubica la Bahía de Sebastián Vizcaíno la cual es reconocida como Centro de Actividad Biológica o BAC (Biological Activity Center, por sus siglas en inglés). Debido a sus características demográficas y ambientales, el área presenta alta producción y/o biomasa de plancton y altos niveles tróficos de especies de importancia comercial (Hernández-Rivas *et al.*, 2000).

La bahía cubre un área aproximada de 20.5 km<sup>2</sup> y su boca se cierra por un par de puntas rocosas de origen ígneo; la punta del sureste se prolonga en una serie de pequeños islotes conocidos como "Los Morros", los cuales amortiguan en gran medida

la fuerza del oleaje proveniente del noroeste (Belmar-Pérez & Guzmán-Del Prío, 1992).

El clima es cálido-seco durante el verano y parte del otoño y fresco-húmedo durante el invierno y la primavera. Durante el verano y otoño la temperatura ambiental varía entre los 14°C y 36°C, y entre los 10°C y 26°C durante el invierno y la primavera respectivamente (Turrubiates-Morales, 1990).

El área está influenciada en primavera y verano por la corriente de California que trae aguas frías hacia el ecuador; mientras que, en otoño e invierno por la contracorriente costera de California (Lynn & Simpson, 1987). Los vientos predominantes del noroeste dan lugar a procesos físicos como giros y surgencias, ocasionando que la zona sea una región natural de alta productividad (Guzmán-Del Prío *et al.*, 1991; Hernández-Rivas *et al.*, 2000).

## **6. MATERIAL Y MÉTODO**

### **6.1 Trabajo de campo**

Los ejemplares del cazón segador utilizados para este estudio, fueron colectados en Bahía Tortugas, BCS, durante el periodo 2014 a 2017, fuera de la temporada de veda. Para la captura de *M. lunulatus* y otros elasmobranquios, los pescadores de la flota artesanal utilizan redes agalleras con una luz de malla de 10-15 cm, con extensiones de 700 m a 1 km, con un ancho de red de un metro a una profundidad de 70 a 110 m, las cuales son situadas a una distancia de la costa entre las 5 y 7 millas náuticas. Los pescadores instalan la red y la dejan operando durante la noche, posteriormente la recogen alrededor de las 12:00 pm del día siguiente.

Previo identificación de la especie por sus caracteres morfológicos externos se procedió al registro de la longitud total (LT; cm) de cada uno de los organismos. Con una cinta métrica se midió desde la punta del morro hasta el lóbulo superior de la aleta caudal (Compagno, 1984). Se identificó y se registró el sexo, diferenciándose los machos de las hembras por presentar en las aletas pélvicas los gonopterigios (órganos copuladores) (Álvarez del Villar, 1978). Así mismo, se registró la longitud de los gonopterigios.



La maduración sexual en machos se determinó con base en la longitud, el grado de calcificación y la rotación de los gonopterigios, la apertura del rifiodón (puntal distal del gonopterigio), presencia de semen y hematomas a simple vista (Clark & Von Schmidt, 1965; Pratt, 1979). En las hembras la maduración sexual se determinó a partir de la observación a simple vista de ovocitos de mayor tamaño y con abundante vitelo, así como la presencia de embriones en el útero y heridas o marcas de dientes causadas por la actividad de cortejo en los flancos o en las aletas pectorales.

Para obtener los órganos reproductores de ambos sexos, se realizó una incisión desde la cloaca hasta el centro de las aletas pectorales, los órganos extraídos se fijaron en formol al 10%, se etiquetaron y fueron transportados para su posterior análisis.

## **6.2 Trabajo de laboratorio**

En el laboratorio de Morfofisiología del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR-IPN) los órganos reproductores se lavaron con agua corriente de 6 a 8 horas, para eliminar arena, exceso de formol y urea, después fueron sumergidos en alcohol al 70% para su conservación.

Para la determinación del estadio de madurez, se llevó a cabo la descripción morfológica externa del sistema reproductor de ambos sexos, describiéndose características como: el tamaño, coloración, consistencia y aspecto. Con un vernier se registraron las medidas en cm de cada uno de los órganos fijados. En los machos se midió el largo y ancho de los testículos, mientras que, en las hembras, se midió el diámetro del ovocito de mayor tamaño, el ancho de la glándula oviducal y el ancho de los úteros; cuando se encontraron úteros grávidos, se registró el número total de embriones, así como la LT y sexo de cada uno (Olsen, 1954; Springer, 1960).

Posterior al análisis macroscópico de los órganos reproductores, se seccionaron cortes transversales y se separaron piezas de aproximadamente 0.5, 1.0 y 1.5 cm de la parte media del testículo. En las hembras se realizaron cortes longitudinales del ovario y glándula oviducal, y cortes transversales del oviducto anterior, útero e istmo.

Cada pieza obtenida fue colocada en bolsas de tul y etiquetadas con la clave juliana (Ver anexo). En un procesador de tejidos (Marca Kedee KD-TS3B), se llevó a cabo la deshidratación de las piezas con alcohol etílico en orden de concentración creciente, la transparentación con cloroformo y en Paraplast la inclusión definitiva (Humason, 1979). Los tiempos para este proceso variaron de acuerdo con los tamaños de las piezas (Ver anexo).

Al tener las piezas incluidas en Paraplast con el tejido debidamente orientado y etiquetado, se procedió a realizar cortes finos de 3  $\mu\text{m}$  de grosor, con un micrótomos rotatorio electrónico (Marca Microm 355S) y se extendieron en agua con gelatina (DIFCO) en un baño de flotación a una temperatura entre los 35 y 40°C. Los portaobjetos con los cortes histológicos se colocaron en la estufa a 60°C de 2 a 3 horas para eliminar el exceso de parafina y agua.

Los cortes histológicos fueron teñidos con Hematoxilina-Eosina (H-E), Tricrómica de Mallory, Ácido peryodico-Schiff (PAS) y Feulgen. Estas tinciones se emplearon en los diferentes órganos de acuerdo con sus componentes específicos (Tabla 1).

**Tabla 1.** Técnicas histológicas e histoquímicas empleadas para cada tejido.

| <b>Tejido</b>     | <b>H-E</b> | <b>Mallory</b> | <b>PAS</b> | <b>Feulgen</b> |
|-------------------|------------|----------------|------------|----------------|
| Ovario            | X          | X              |            |                |
| Oviducto anterior | X          |                | X          |                |
| Glándula oviducal | X          | X              | X          | X              |
| Istmo             | X          |                | X          |                |
| Útero             | X          |                | X          |                |
| Testículo         | X          |                |            | X              |

Se cubrió cada laminilla con un cubreobjetos, se montó con Citoseal y se etiquetaron.

El estudio histológico, histoquímico y citológico de ovario, oviducto anterior, glándula oviducal, istmo, útero y testículo se llevó a cabo mediante microscopía óptica. Para medir las células se utilizó un microscopio óptico Nikon AFM.

Para la caracterización de las etapas de la ovogénesis se utilizó la clasificación de Galíndez *et al.* (2014) (Tabla 2).

**Tabla 2.** Caracterización de las etapas de la ovogénesis en *M. lunulatus*.

|                                               |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            |
|-----------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Ovogonias</b>                              | Células redondas medianas, con una alta relación núcleo: citoplasma, localizadas por debajo del epitelio ovárico, normalmente forman nidos rodeados por una membrana basal gruesa. El núcleo muestra cromosomas parcialmente condensados y uno o dos nucléolos evidentes.                                                  |
| <b>Estadio 1</b><br>Folículo primordial       | Hay una clara disminución de la relación núcleo: citoplasma del ovocito. Se origina la zona pelúcida, es difusa y amorfa. Las células foliculares son planas y están rodeadas por una membrana basal gruesa.                                                                                                               |
| <b>Estadio 2</b><br>Folículo primario         | Folículos con una capa simple de células foliculares cúbicas. La zona pelúcida se define por completo presentándose como una línea homogénea. Las células de la teca comienzan a diferenciarse en una teca interna y una teca externa. La relación núcleo: citoplasma del ovocito disminuye. El ovocito aumenta de tamaño. |
| <b>Estadio 3</b><br>Folículo pre-vitelogénico | Se da el inicio de la vitelogénesis, se pueden observar algunos gránulos de vitelo en el citoplasma del ovocito. La zona pelúcida alcanza su máximo grosor. Las células de la capa granulosa se tornan cilíndricas pseudo-estratificadas. Ambas tecas están bien desarrolladas. La interna es fibrosa, mientras            |

|                                                            |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|                                                            | que la externa comprende células poliédricas tipo glandular.                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <b>Estadio 4</b><br>Folículo vitelogénico                  | Conforme a la acumulación de gránulos de vitelo en el citoplasma, el tamaño del ovocito aumenta y el grosor de la zona pelúcida disminuye. Las células de la capa granulosa continúan cilíndricas pseudo-estratificadas. Las células de la teca interna son aplanadas, desarrolla un seno vascular.                                                                                                                                                                                                                                            |
| <b>Estadio 5</b><br>Folículo pos-ovulatorio y cuerpo lúteo | Cuando el ovocito es liberado del ovario, las estructuras foliculares restantes se transforman en un cuerpo lúteo. La capa granulosa se invagina y se pliega hacia el interior de la cavidad central, ambas tecas envuelven toda la estructura.                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
| <b>Folículo atrésico</b>                                   | Estos folículos pueden presentarse en cualquier etapa de maduración de las hembras. En fases primordiales y pre-vitelogénicas, la atresia está indicada por eventos apoptóticas nucleares, la ampliación de la zona pelúcida y el trastorno de la granulosa. En los folículos vitelogénicos, algunas células de la granulosa muestran evidencia de hiperplasia y otras se vuelven fagocíticas transformándose en células altas, Ambas tecas involucionan y adoptan la morfología de un tejido conectivo denso que infiltra toda la estructura. |

Para la caracterización de las etapas de la espermatogénesis se usaron las clasificaciones descritas por Rojas (2013) y Gračan & Lacković (2016) (Tabla 3).

**Tabla 3.** Caracterización de las etapas de la espermatogénesis en *M. lunulatus*.

|                                                                    |                                                                                                                                                                                                                                                   |
|--------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Estadio 1</b><br>Zona germinal                                  | Consiste en espermatogonias y células germinales poco organizadas que aún no están unidas por una membrana basal en un espermatocisto.                                                                                                            |
| <b>Estadio 2</b><br>Espermatocistos con espermatogonias            | Secreción de la membrana basal para la formación del espermatocisto. Las células de Sertoli comienzan a migrar hacia la periferia de los espermatocistos. Las espermatogonias continúan dividiéndose por mitosis, aumentando en número y tamaño.  |
| <b>Estadio 3</b><br>Espermatocistos con espermatocitos primarios   | Los espermatocistos aumentaron considerablemente de tamaño. Se ha completado la migración de las células de Sertoli. Las espermatogonias se convirtieron en espermatocitos primarios por mitosis y tienen un núcleo grande, típicamente esférico. |
| <b>Estadio 4</b><br>Espermatocistos con espermatocitos secundarios | Los espermatocitos primarios se dividen por meiosis para producir espermatocitos secundarios. Estos espermatocitos son más pequeños que los primarios.                                                                                            |
| <b>Estadio 5</b><br>Espermatocistos con espermátidas               | Comienzo de la espermiogénesis. Los espermatocitos secundarios pasan por la segunda división meiótica para convertirse en espermátidas. Las espermátidas tienen un núcleo de forma esférica y un flagelo filiforme.                               |
| <b>Estadio 6</b><br>Espermatocistos con espermatozoides inmaduros  | Termina la espermiogénesis. Se observan espermatozoides inmaduros agrupados en paquetes laxos con la cabeza dirigida hacia la membrana basal y la cola hacia el lumen.                                                                            |

|                                                                    |                                                                                                                           |
|--------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Estadio 7</b><br>Espermatocistos con<br>espermatozoides maduros | Los espermatozoides se organizan en paquetes densos dispuestos en espiral a lo largo del exterior de los espermatocistos. |
| <b>Zona de degeneración</b>                                        | Consiste en espermatocistos vacíos, espermatozoides libres y células de Sertoli en degeneración.                          |

Para la descripción de la glándula oviducal y el almacén de esperma en la misma se utilizó la terminología empleada por Hamlett (2005).

Se realizaron histogramas de frecuencia para obtener la composición de tallas de la captura para sexos combinados y para cada sexo por separado.

Para la caracterización de los cambios morfológicos de los embriones durante la gestación se tomaron medidas morfométricas de los embriones y se describieron características como el tamaño, forma y coloración.

El ciclo reproductivo se determinó con base en la variación mensual del diámetro de los ovocitos y la LT de los embriones a lo largo del año.

La fecundidad uterina se estimó con el conteo de embriones y huevos uterinos por hembra (Pratt, 1979).

### 6.3 Análisis estadístico

Se aplicó un análisis de varianza (ANOVA) para determinar si existían diferencias significativas entre las tallas de hembras con respecto a las tallas de los machos.

La proporción de sexos se determinó mediante un conteo total de individuos de cada sexo y se dividió el número de hembras entre el número de machos. Las proporciones se analizaron bajo la hipótesis nula de que existe una proporción de 1H: 1M, mediante la prueba estadística *chi* cuadrada ( $\chi^2$ ) con un nivel de confianza al 95% (Daniel, 2002).

Se realizaron regresiones para determinar si existe relación lineal entre la LT con las diferentes estructuras reproductivas de las hembras como el ancho de la

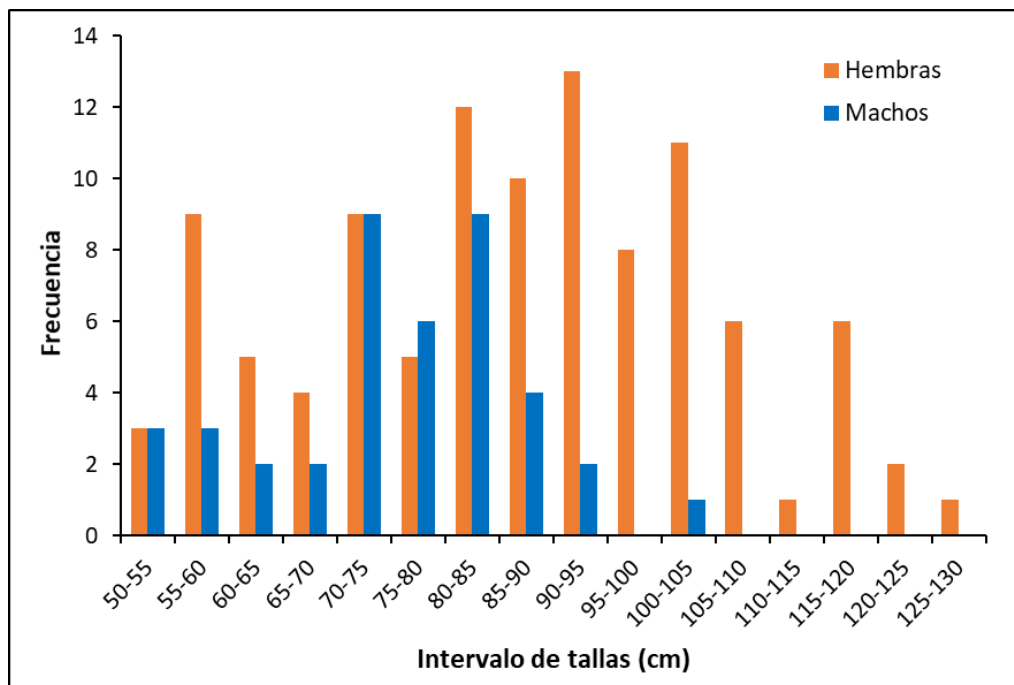
glándula oviducal y útero (Natanson & Cailliet, 1986) y de los machos el largo y ancho del testículo y la longitud del gonopterigio (Pratt, 1979; Joung & Chen, 1995). De igual manera se realizó una regresión lineal entre la LT materna y la fecundidad.

La talla media de madurez ( $L_{50}$ ) y la talla de maternidad ( $L_{m50}$ ) se estimaron mediante la ecuación logística  $Pm = 1 / [1 + e^{-(a+b \times LT)}]$ , donde  $a$  y  $b$  son parámetros y  $Pm$  es la proporción sexual de individuos maduros de la muestra, variable binomial que asume individuos inmaduros como 0 y maduros como 1; así como hembras no preñadas como 0 y hembras preñadas como 1 (Mollet *et al.* 2000; Walker 2005).

## 7. RESULTADOS

### 7.1 Composición de tallas y proporción de sexos

Se obtuvo un total de 146 individuos, con tallas entre los 51 y 126 cm de LT. De los cuales 41 fueron machos con un intervalo de tallas entre los 51 y 101 cm de LT; mientras que, 105 fueron hembras entre los 53 y 126 cm de LT (Fig. 3). El análisis de varianza demostró que las hembras fueron significativamente más grandes que los machos ( $p < 0.05$ ). La proporción de sexos fue de 2.56H:1M, con diferencias significativas entre el número de individuos de ambos sexos ( $\chi^2 = 28.055$ ,  $p < 0.05$ ). Por otra parte, la proporción sexual de embriones fue de 0.97H:1M y no fue significativamente diferente de la proporción 1:1 ( $\chi^2 = 0.027$ ,  $p > 0.05$ ).



**Figura 3.** Composición de tallas por sexo del tiburón *M. lunulatus* en Bahía Tortugas, BCS.

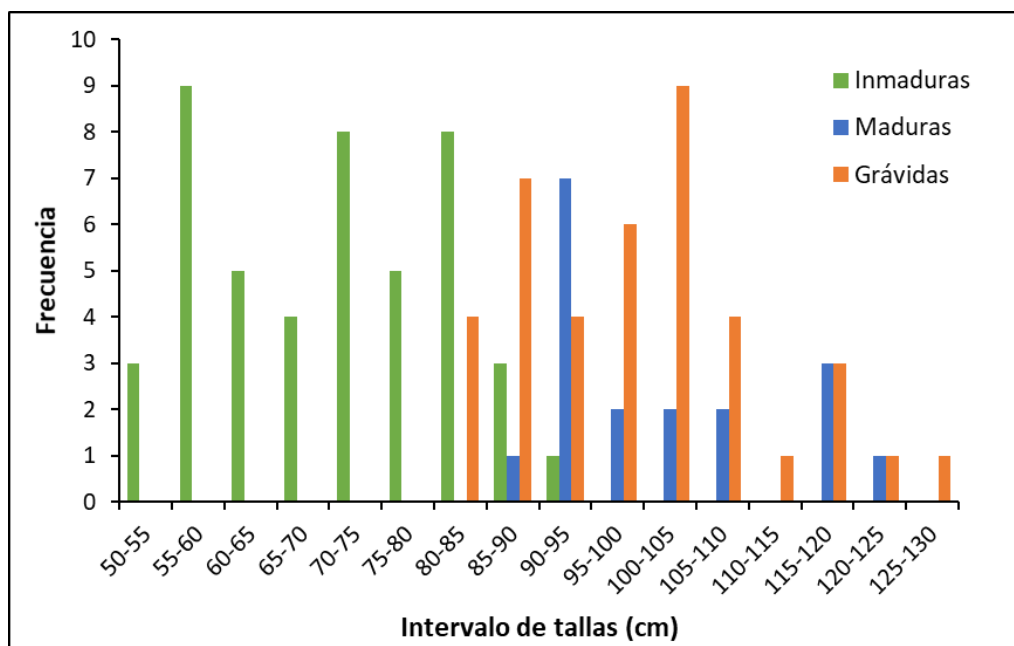
### 7.2 Descripción macroscópica del aparato reproductor de hembras

El aparato reproductor de las hembras de *M. lunulatus* está compuesto por un ovario funcional acompañado del órgano epigonal. Presenta una entrada llamada ostium que se bifurca en dos oviductos los cuales llegan a un par de glándulas oviducuales. A



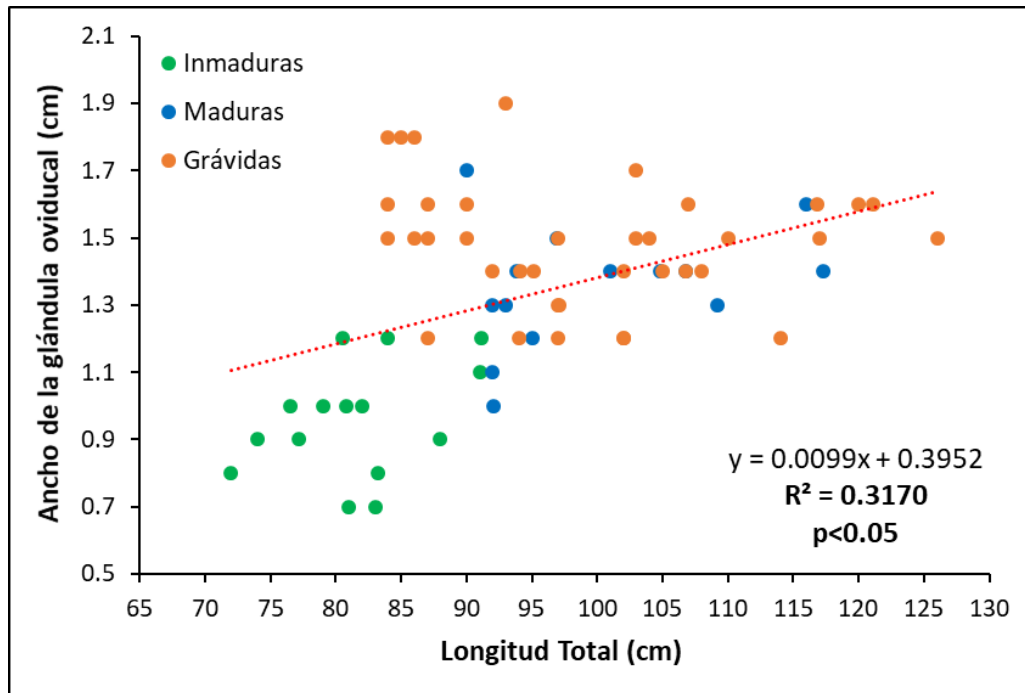
continuación de las glándulas oviducal se observa el istmo que continua hasta llegar a los úteros que desembocan en un seno urogenital y finalmente la cloaca.

Se establecieron tres estadios de madurez: inmaduras, maduras y grávidas. De las 105 hembras, 46 fueron inmaduras con un intervalo de tallas entre los 53 y 91 cm de LT, 19 se catalogaron como maduras con tallas que van de los 90 a los 122 cm de LT y 40 hembras fueron grávidas oscilando entre los 84 a los 126 cm de LT (Fig. 4).

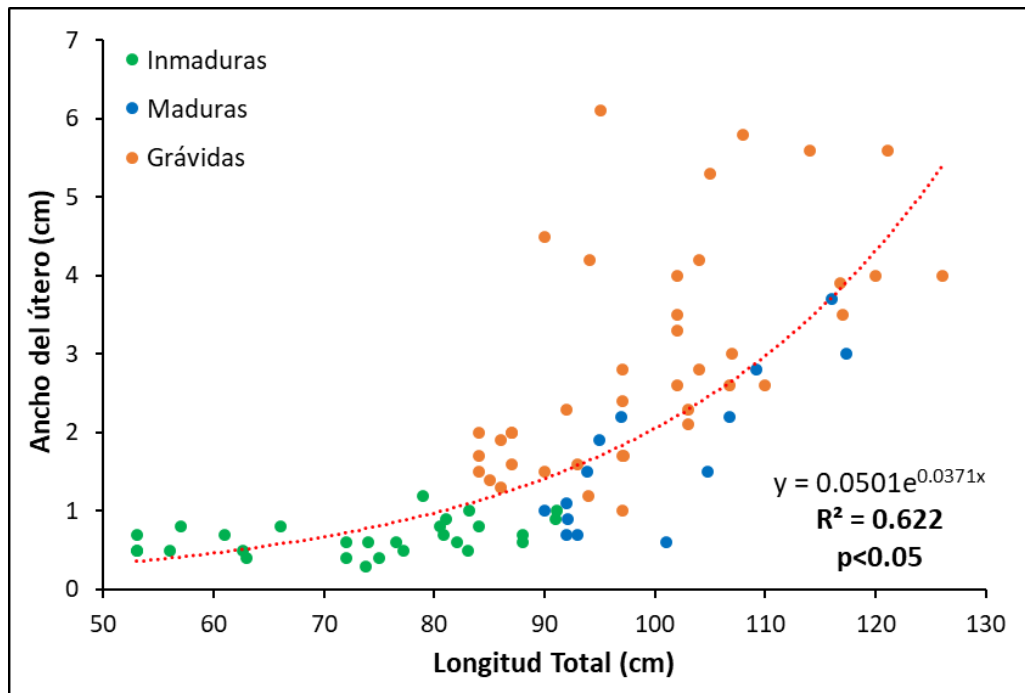


**Figura 4.** Estadios de madurez de hembras por intervalo de tallas de *M. lunulatus* en Bahía Tortugas, BCS.

El resultado de la regresión lineal entre la LT y el ancho de la glándula oviducal mostró una relación significativa (Fig. 5). Por otra parte, existe una relación exponencial significativa entre la LT y el ancho del útero (Fig. 6).



**Figura 5.** Regresión lineal entre el ancho de la glándula oviducal y la longitud total de las hembras de *M. lunulatus* en Bahía Tortugas, BCS.

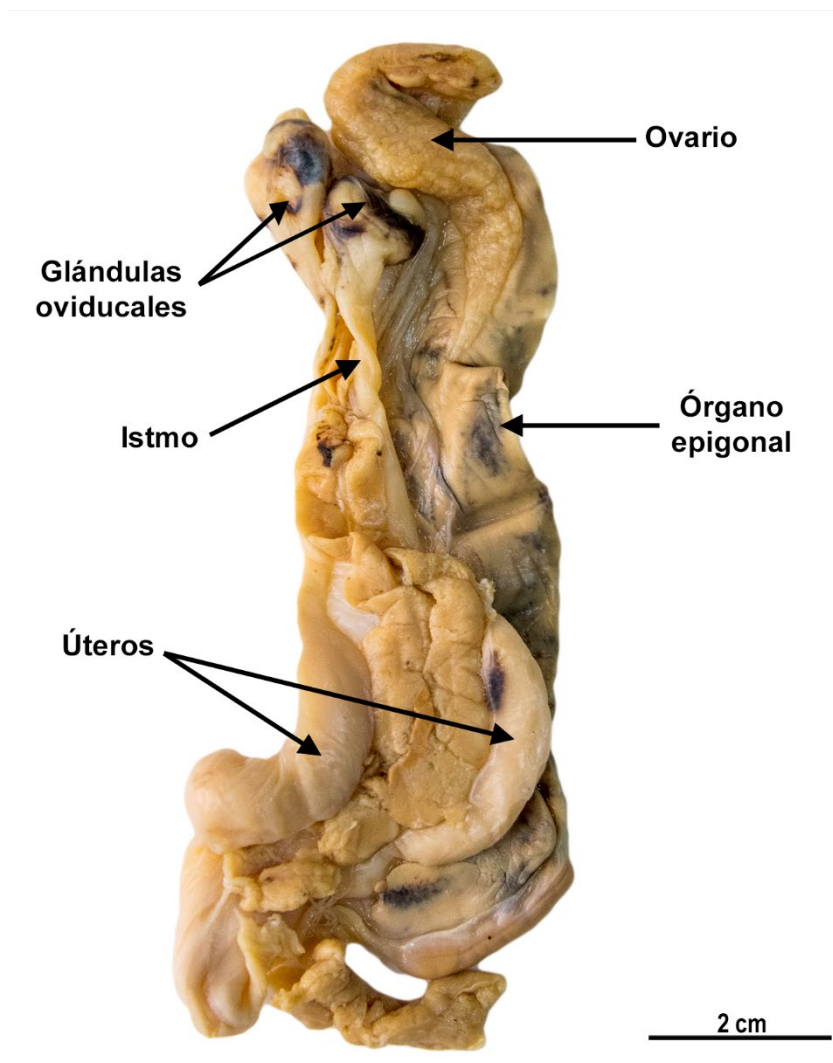


**Figura 6.** Regresión exponencial entre el ancho del útero y la longitud total de las hembras de *M. lunulatus* en Bahía Tortugas, BCS.

## 7.2.1 Estadios de madurez

### 7.2.1.1 Inmadura

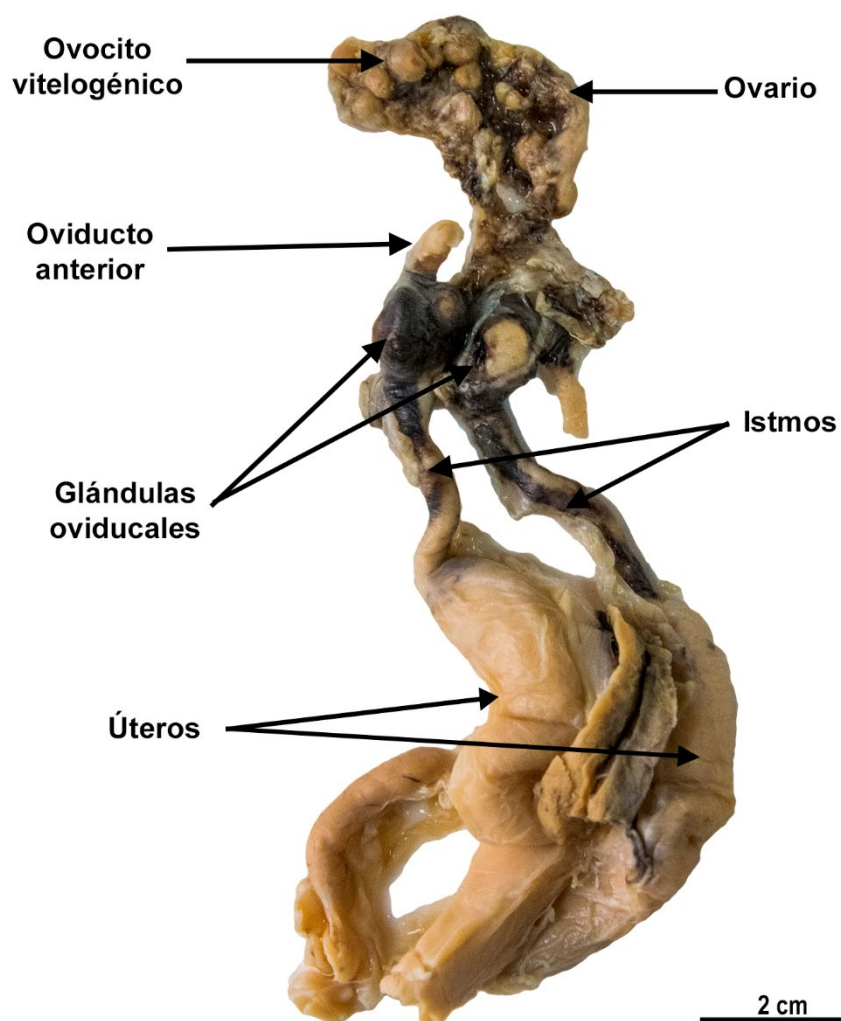
Las hembras en este estadio presentan un ovario pequeño aplanado dorsoventralmente embebido en el órgano epigonal, ovocitos blanquecinos poco perceptibles de 0.1 a 0.3 cm de diámetro. Los conductos como el oviducto y el istmo son delgados de consistencia flácida. Las glándulas oviduciales tienen un ancho de 0.7 cm a 1.2 cm de forma ovalada. Los úteros son angostos de forma tubular que van de los 0.3 cm a los 1.2 cm de ancho. Todas las estructuras son de color amarillo lechoso (Fig. 7).



**Figura 7.** Anatomía del aparato reproductor de una hembra inmadura de *M. lunulatus*.

### 7.2.1.2 Madura

Los ejemplares clasificados como maduras presentan un cambio notorio en las estructuras reproductivas. En el ovario se observan ovocitos vitelogénicos en diferentes grados de desarrollo de varios tonos de color amarillo con un diámetro de 1.1 a 2 cm, glándulas oviducaltes totalmente definidas. El oviducto anterior y el istmo aumentan de grosor tornándose firmes. Las glándulas oviducaltes definidas toman la forma característica acorazonada con un ancho de 1 a 1.7 cm. Los úteros adquieren una tonalidad rosada que van de los 0.6 a los 3.7 cm de ancho (Fig. 8).



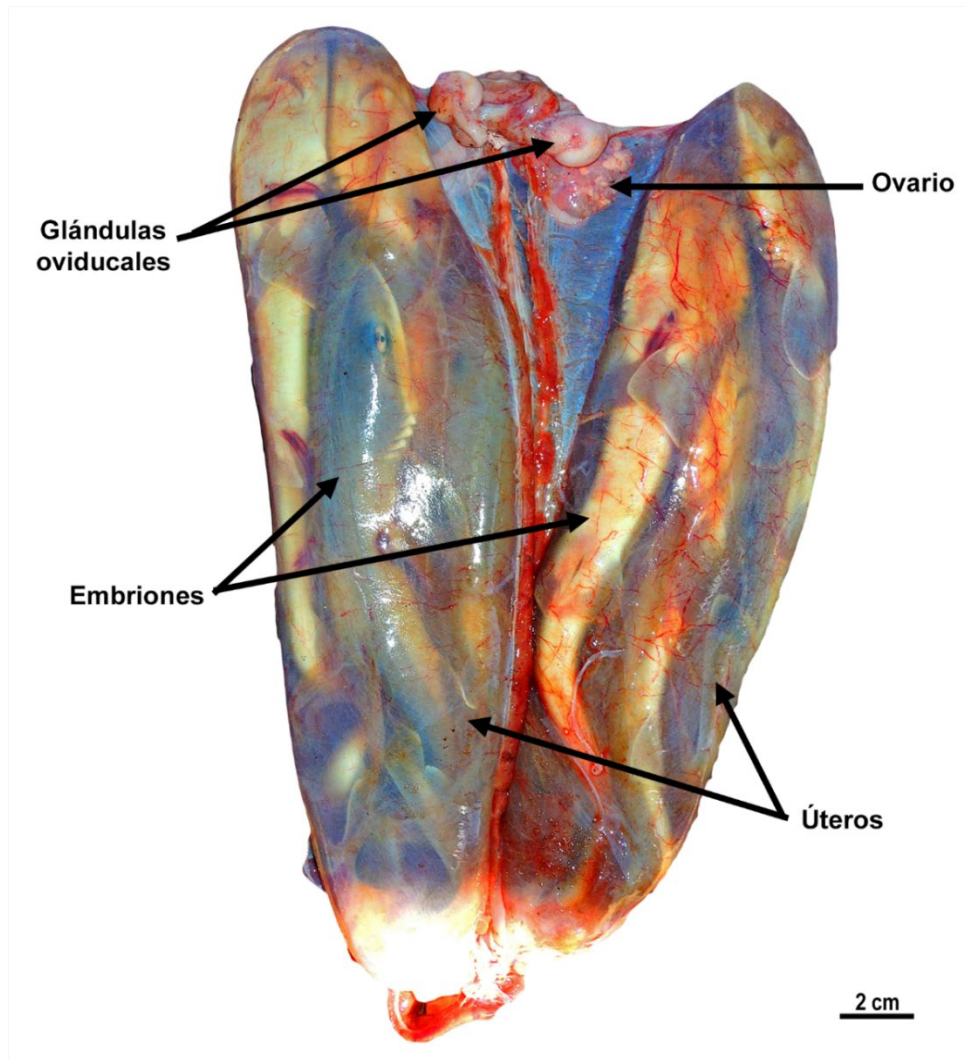
**Figura 8.** Anatomía del aparato reproductor de una hembra madura de *M. lunulatus*.

### 7.2.1.3 Grávida

La principal característica de las hembras grávidas fueron los úteros distendidos por la presencia de embriones dentro de ellos. El ovario, el oviducto anterior, el istmo y la glándula oviducal conservan la morfología de las hembras en estadio maduro (Fig. 9 y 10).

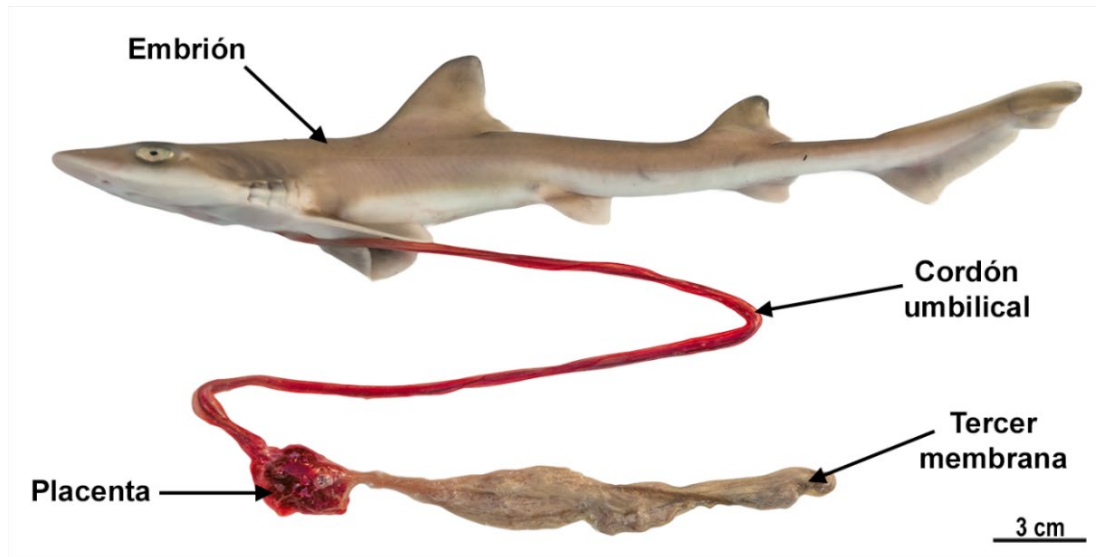


**Figura 9.** Anatomía del aparato reproductor de una hembra grávida de *M. lunulatus* con los úteros distendidos sin embriones.



**Figura 10.** Anatomía del aparato reproductor de una hembra grávida de *M. lunulatus* con los úteros distendidos y presencia de embriones.

Cada embrión se encuentra conectado a la madre por medio del cordón umbilical liso y la placenta (Fig. 11), así mismo, está rodeado por los compartimentos uterinos y la membrana terciaria. Están acomodados paralelamente a la espina dorsal, con la cabeza orientada al cráneo de la madre y el cuerpo en forma de “u” para maximizar el espacio dentro del órgano.



**Figura 11.** Embrión del tiburón *M. lunulatus*.

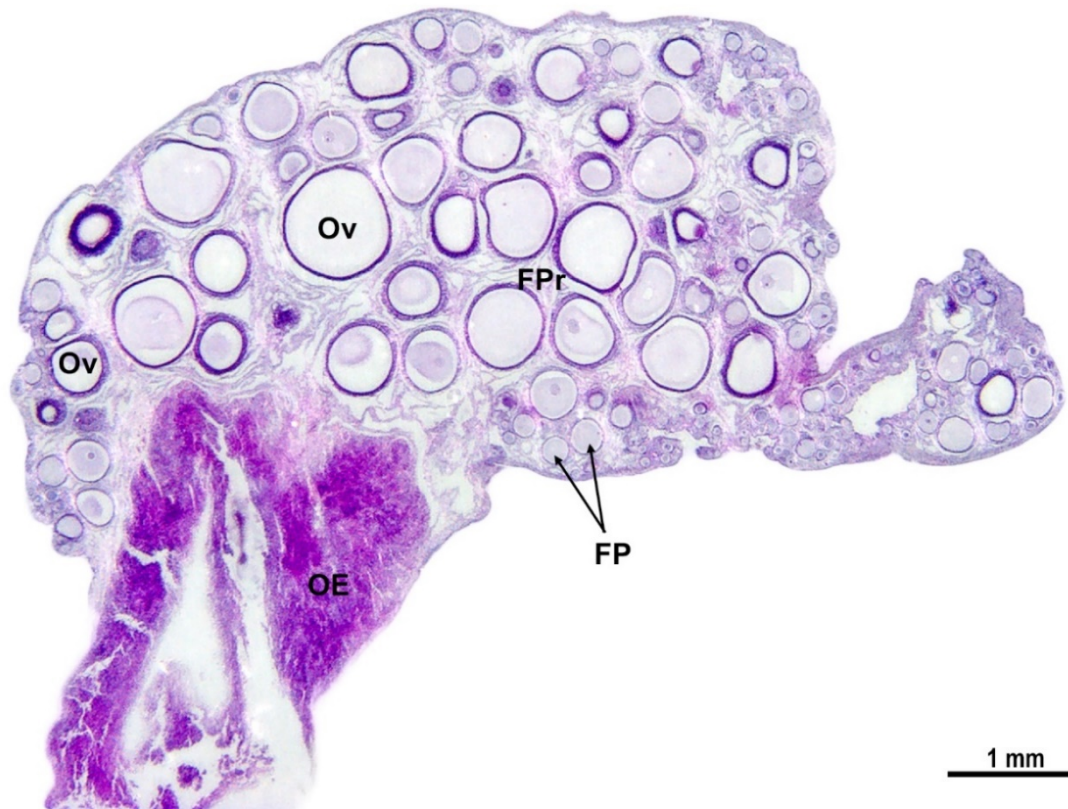
### **7.3 Descripción histológica del aparato reproductor de las hembras**

#### **7.3.1 Ovario**

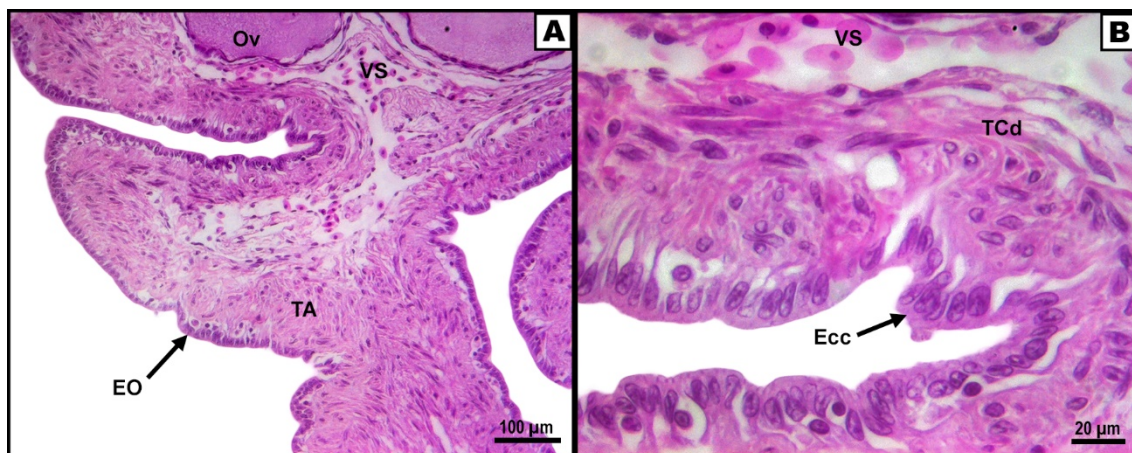
El tiburón hembra de *M. lunulatus* presenta un ovario funcional asociado al órgano epigonal. La relación entre ambas estructuras es inversa, por lo cual, en hembras inmaduras, predomina el tejido linfomieloide, en tanto que, en las maduras, éste tejido está reducido y bordea el ovario. Histológicamente el ovario está tapizado por un epitelio simple cúbico ciliado y por debajo se encuentra la túnica albugínea. La misma comprende tejido conectivo denso con fibras musculares lisas intercaladas. Esta capa tiene un grosor variable, alcanza su máximo espesor en los ovarios maduros. Los folículos ocupan el parénquima ovárico y entre ellos se observan codones de tejido conectivo laxo e infiltraciones de tejido linfomieloide (Fig. 12 y 13).

En hembras inmaduras, los folículos se ubican inmediatamente por debajo de la albugínea, en tanto que, en las maduras, se ubican en el interior del parénquima y desplaza al tejido linfomieloide.





**Figura 12.** Anatomía microscópica del ovario de *M. lunulatus*. Nótese el órgano epigonal (OE), los ovocitos (Ov), los folículos primordiales (FP) y los folículos primarios (FPr). Tinción H-E, aumento: 12X.

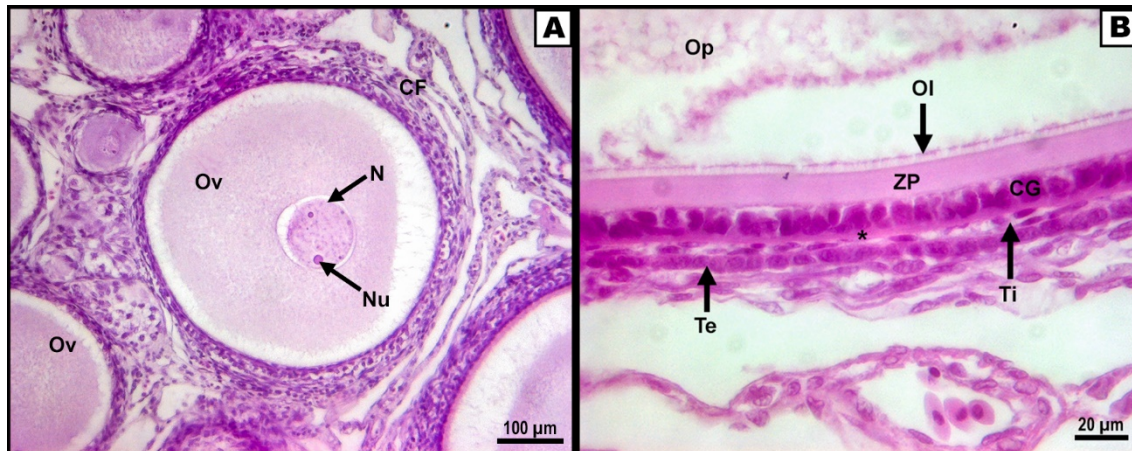


**Figura 13.** Ovario de *M. lunulatus*. **A)** Se observa el epitelio ovárico (EO), la túnica albugínea (TA), los ovocitos (Ov) y los vasos sanguíneos (VS). Tinción H-E, 10X. **B)** Detalle del epitelio ovárico. Se observa el epitelio simple cúbico ciliado (Ecc), el tejido conjuntivo denso (TCd) y los vasos sanguíneos (VS). Tinción H-E, 40X.



### 7.3.2 Ovogénesis y foliculogénesis

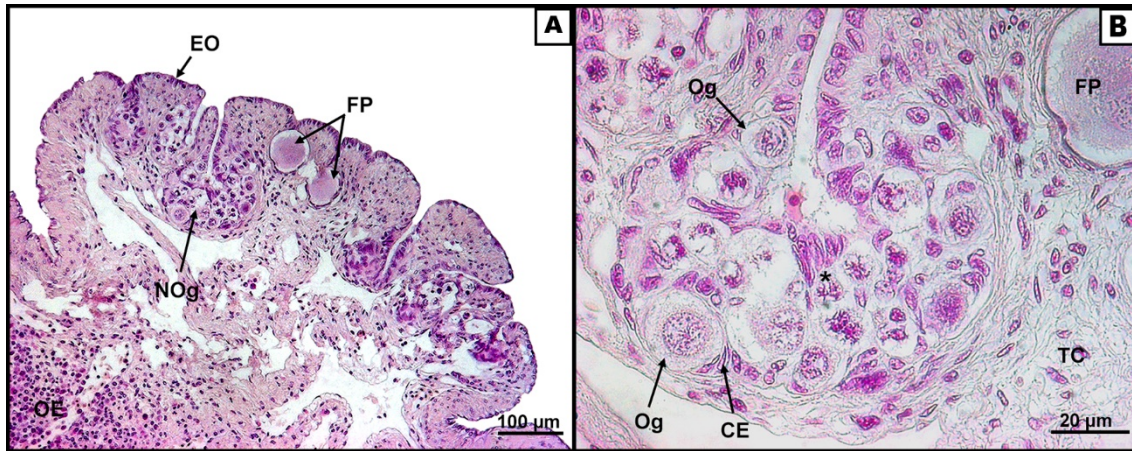
Cada folículo de adentro hacia fuera consiste en: un ovocito, una zona pelúcida, una capa granulosa, la membrana basal y dos tecas (Fig. 14). Con base en las características citológicas y los cambios estructurales de los folículos, se determinaron las siguientes etapas de desarrollo para el estudio de la ovogénesis y foliculogénesis.



**Figura 14.** Folículo y ovocito. **A)** Se observan los ovocitos (Ov), las células foliculares (CF), el núcleo (N) y el nucléolo (Nu). Tinción H-E, 10X. **B)** Detalle del ovocito. Se observa el ooplasma (Op) y el oolema (OI) del ovocito, la zona pelúcida (ZP), la capa granulosa (CG), la membrana basal (\*), la teca interna (Ti) y la teca externa (Te). Tinción H-E, 40X.

### Ovogonias

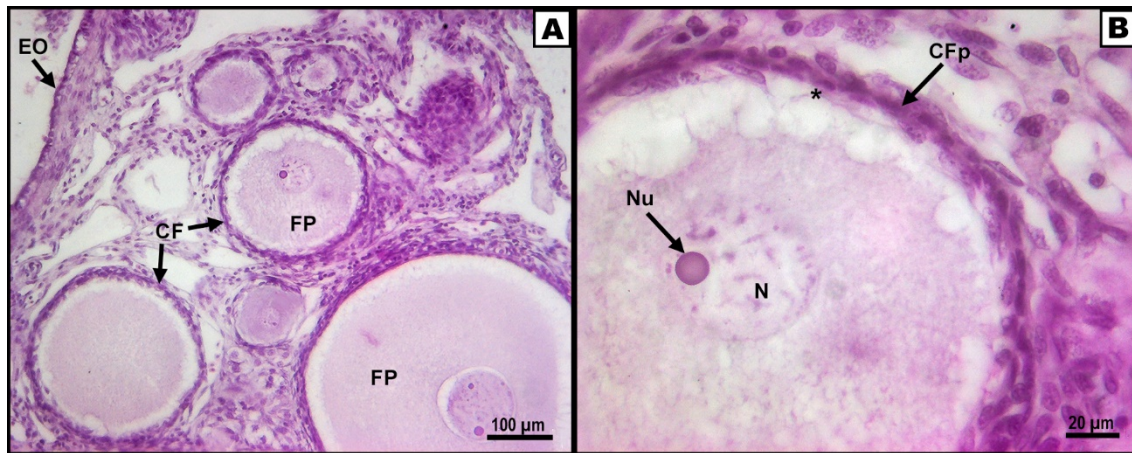
Se encontraron ovogonias en todos los estadios de madurez de las hembras, siendo más numerosas en hembras inmaduras y en maduración. Se ubican inmediatamente por debajo de la albugínea, formando nidos de varias células. Son células moderadamente grandes, con un diámetro variable de 15 a 22.5 µm. Exhiben una alta relación núcleo:citoplasma. El núcleo es eucromático con varios nucléolos y el citoplasma se observa levemente acidófilo. Entre las ovogonias, en los nidos, se encuentran células con características similares a las epiteliales. Estas células no rodean completamente a la célula germinal (Fig. 15).



**Figura 15.** Ovogonias. **A)** Se observa el epitelio ovárico (EO), los folículos primordiales (FP), el órgano epigonal (OE) y el nido de ovogonias (NOg). Tinción H-E, 10X. **B)** Detalle del nido de ovogonias. Se observan ovogonias (Og), ovogonias con cromosomas en división (\*), células epiteliales (CE), el tejido conjuntivo y un folículo primordial (FP). Tinción H-E, 40X.

### Estadio 1. Folículos Primordiales

En esta etapa las ovogonias se encuentran completamente rodeadas por una monocapa de células foliculares planas. El ovocito es de disposición central y tiene un diámetro de 50 a 220  $\mu\text{m}$ , su citoplasma es acidófilo y el núcleo es de menor tamaño que en la etapa anterior, presenta parches de heterocromatina y uno o dos nucléolos. A medida que avanza en su diferenciación, comienza la deposición de la zona pelúcida, en forma difusa y discontinua. Las tecas no se diferencian aún, hay una densificación del tejido conectivo circundante (Fig. 16).

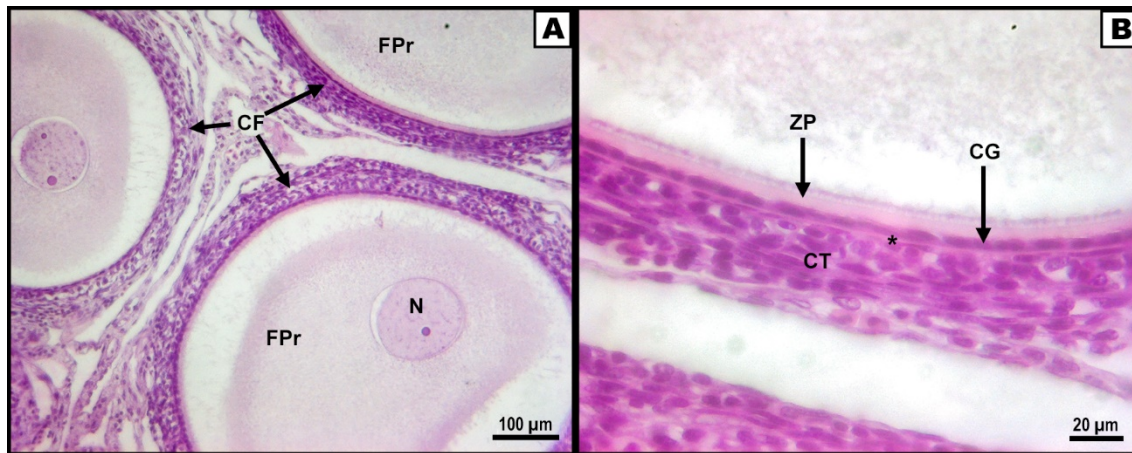


**Figura 16.** Folículos primordiales. **A)** Se observan los folículos primordiales (FP), las células foliculares (CF) y el epitelio ovárico (EO). Tinción H-E, 10X. **B)** Detalle del folículo primordial. Se observan las células foliculares planas (CFp), la zona pelúcida difusa (\*), el núcleo (N) y el nucléolo (Nu). Tinción H-E, 40X.

## Estadio 2. Folículos Primarios

A medida que el folículo aumenta su tamaño, la granulosa se transforma en una monocapa de células cúbicas basófilas con núcleo heterocromático. El diámetro de los ovocitos en esta etapa varía de 200 a 900 µm. El ovocito conserva su citoplasma acidófilo y su núcleo con parches de heterocromatina y varios nucléolos. La zona pelúcida se distingue como una banda delgada y homogénea, con un grosor de 2.5 a 10 µm. Asimismo, se evidencia claramente la membrana basal folicular, como una banda acidófila PAS (+) y las tecas comienzan a diferenciarse (Fig. 17).

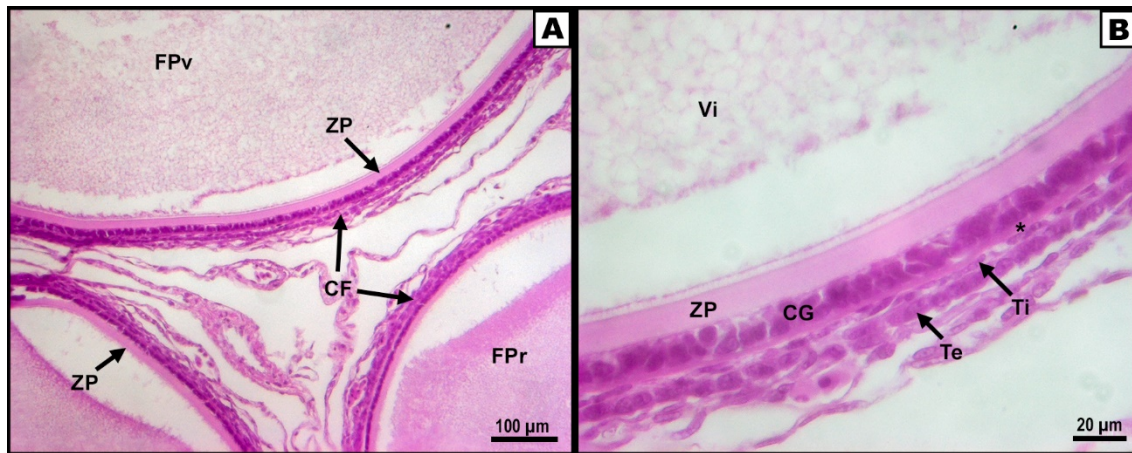




**Figura 17.** Folículos primarios. **A)** Se observan los folículos primarios (FPr), las células foliculares (CF) y el núcleo (N). Tinción H-E, 10X. **B)** Detalle del folículo primario. Se observa la zona pelúcida (ZP), la capa granulosa (CG), la membrana basal (\*) y las células de la teca (CT). Tinción H-E, 40X.

### Estadio 3. Folículos Previtelogénicos

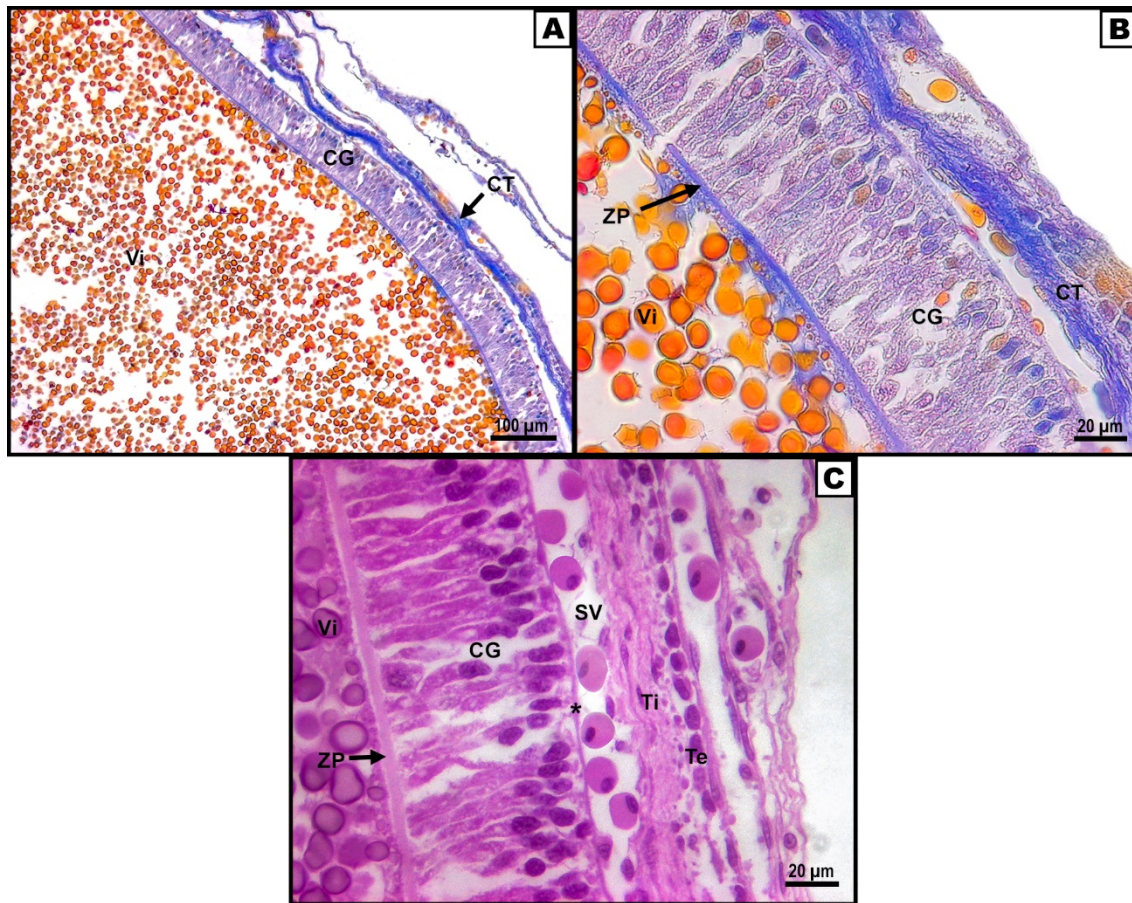
Esta etapa se caracteriza por el inicio de la acumulación de vitelo y el incremento de tamaño, donde el diámetro folicular varía de 650 a 1850 µm. Las características citoplásmicas y nucleares del ovocito son comparables a las de la etapa anterior, aunque el ooplasma cortical acumula pequeños gránulos de precursores vitelínicos. La zona pelúcida alcanza su máximo grosor, durante la foliculogénesis, alcanzan valores de 12.5 a 37.5 µm. Las células de la granulosa incrementan en número y altura, tornándose cilíndricas y conservando las características citológicas de la etapa anterior. Esto otorga a la capa folicular el aspecto de un epitelio pseudoestratificado. En esta etapa las tecas se diferencian por completo, siendo la interna de naturaleza fibrosa y con numerosos fibroblastos y la externa adquiere un aspecto glandular, caracterizado por células poliédricas (Fig. 18).



**Figura 18.** Folículos previtelogénicos. **A)** Se observa el folículo primario (FPr) y previtelogénico (FPv), la zona pelúcida (ZP) y las células foliculares (CF). Tinción H-E, 10X. **B)** Detalle del folículo previtelogénico. Se observa el vitelo (Vi), la zona pelúcida (ZP), la capa granulosa (CG), la lámina basal (\*) la teca interna (Ti) y la externa (Te). Tinción H-E, 40X.

#### Estadio 4. Folículos Vitelogénicos

Estos folículos son los de mayor tamaño, el diámetro mínimo de 2.06 mm y el máximo registrado en los cortes histológicos de 15 mm. El ooplasma se caracteriza por la abundante presencia de placas vitelinas elipsoidales. La zona pelúcida disminuye su espesor, siendo de 5 a 12.5 µm. La granulosa es similar a la observada en la etapa anterior, aunque sus células siguen creciendo en altura. La teca interna aumenta su grosor conservando el aspecto fibroso y desarrolla un seno vascular dispuesto inmediatamente por debajo de la membrana basal folicular. La teca externa también se aprecia engrosada y compuesta por células cuboidales, de aspecto glandular (Fig. 19).



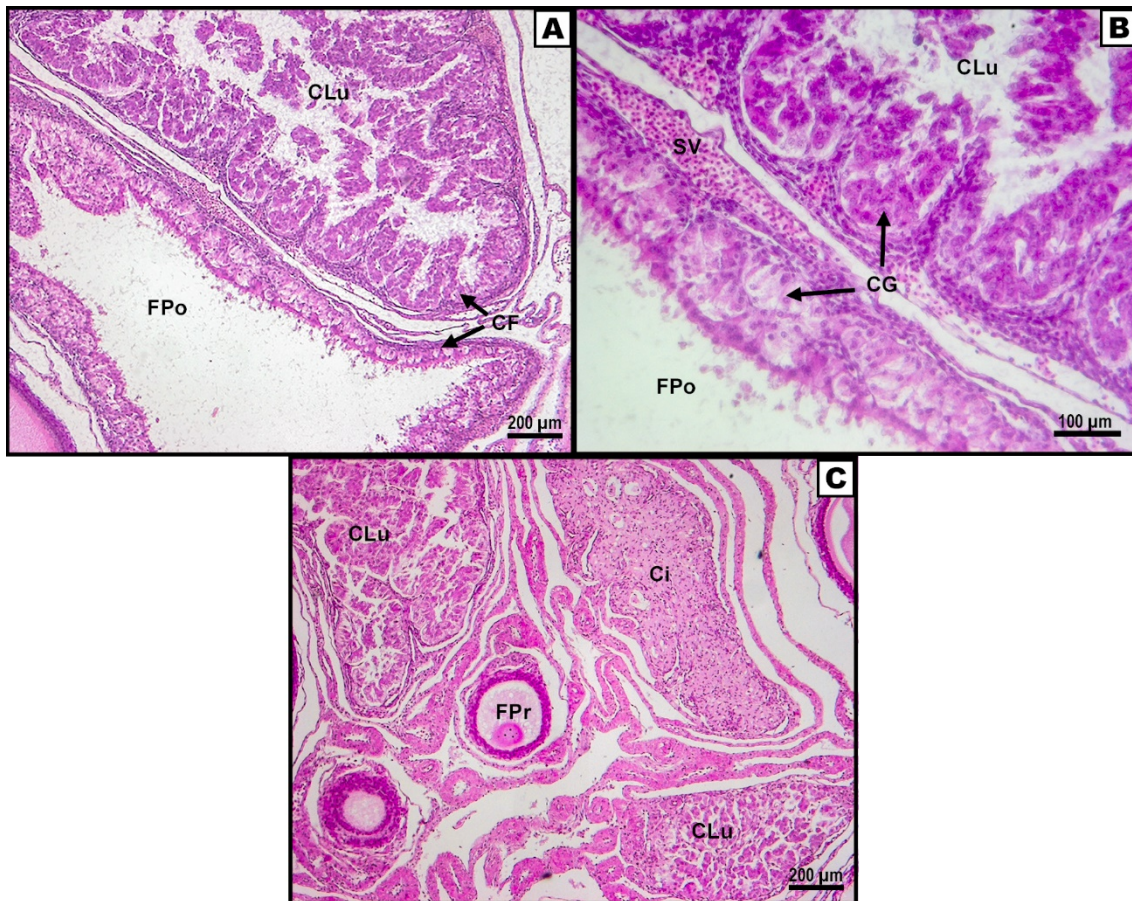
**Figura 19.** Folículos vitelogénicos. **A)** Se observa el vitelo (Vi) la capa granulosa (CG) y las células de la teca (CT). Tinción Tricrómica de Mallory, 10X. **B)** Detalle del folículo vitelogénico. Se observa el vitelo (Vi), la zona pelúcida (ZP), la capa granulosa (CG) y las células de la teca (CT). Tinción Tricrómica de Mallory, 40X. **C)** Se observa el vitelo (Vi) la zona pelúcida (ZP) la capa granulosa (CG), la membrana basal (\*), el seno vascular (SV), la teca interna (Ti) y la externa (Te). Tinción H-E, 40X.

## Estadio 5. Folículos Postovulatorios y Cuerpos Lúteos

Después de la ovulación, el resto de la estructura folicular comienza una serie de transformaciones, la talla de estos folículos cuando son ovulados alcanza los 20 mm. Las células de la granulosa se cargan de vesículas secretoras apocrinas. El epitelio, adquiere una estructura estratificada. A medida que esto sucede, la pared folicular se repliega formando cordones celulares secretores, infiltrados por capilares desarrollados a partir del seno vascular periférico. La cavidad folicular se reduce hasta quedar casi por completo obliterada por los cordones celulares secretores. Las tecas se adelgazan y la fibrilar interna emite tabiques que participan en la formación de los



pliegues epiteliales. En la base de cada uno de ellos, se observa un seno vascular mediano. En los restos de la cavidad folicular, mientras existe, pueden observarse algunos residuos de gránulos de vitelo descamados. Las etapas finales se caracterizan por una invasión masiva del tejido conectivo, el cual reemplaza el epitelio secretor y forma estructuras similares a cicatrices (Fig. 20).

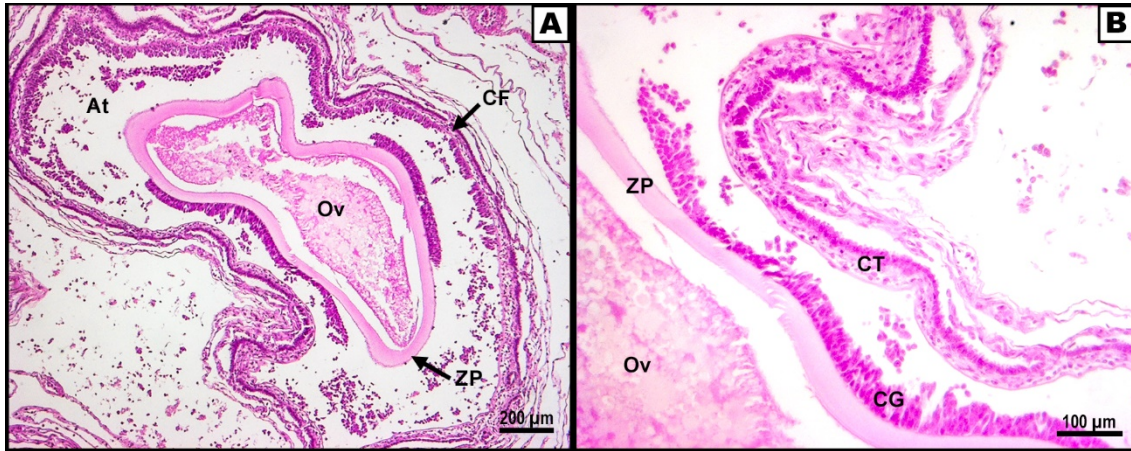


**Figura 20.** Folículos postovulatorios y cuerpos lúteos. **A)** Vista general del folículo postovulatorio (FPo), cuerpo lúteo (CLu) y las células foliculares (CF). Tinción H-E, 2.5X. **B)** Detalle del folículo postovulatorio (FPo), el cuerpo lúteo (CLu) la capa granulosa (CG) y el seno vascular (SV). Tinción H-E, 10X. **C)** Vista general de los cuerpos lúteos (CLu) y una cicatriz (Ci). Tinción H-E, 2.5X.

### Folículos Atrésicos

La atresia folicular sólo se identificó en folículos previtelogénicos. La integridad de la granulosa se pierde y la zona pelúcida se observa deteriorada o en algunos casos se reduce notoriamente adquiriendo un aspecto irregular. Entre los núcleos de las células

foliculares pueden observarse células con señales de apoptosis. Si el ovocito está presente, muestra signos de muerte celular como irregularidades en la carioteca (Fig. 21).

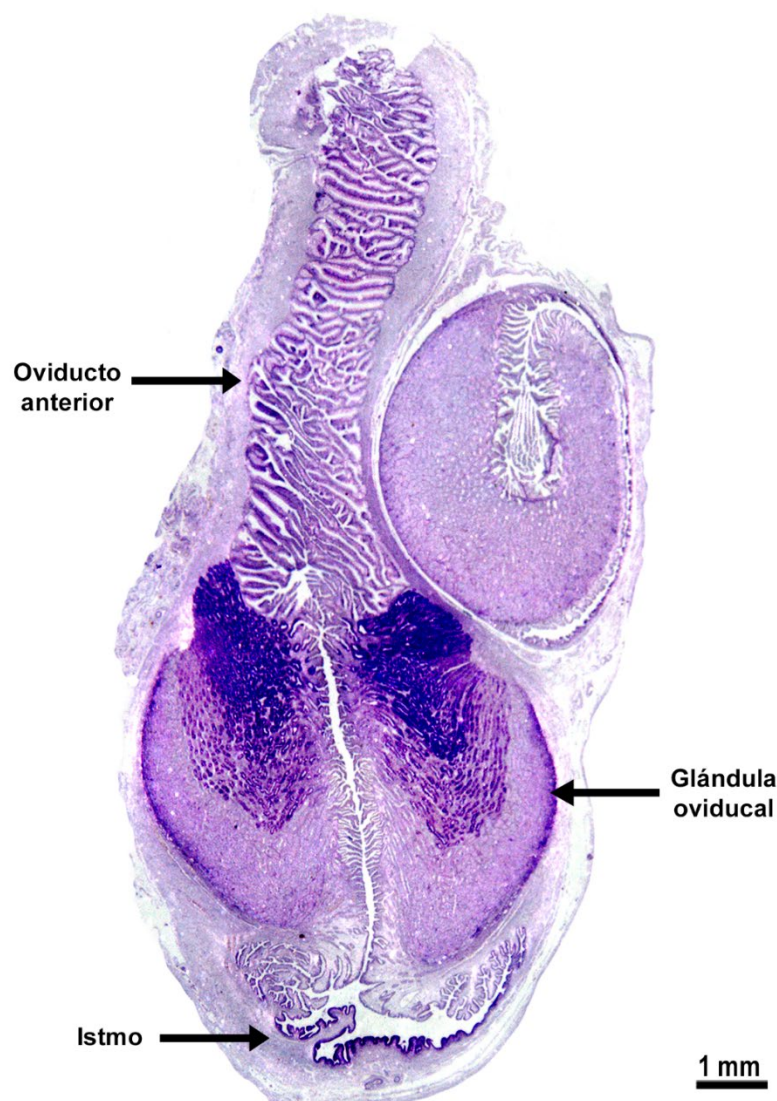


**Figura 21.** Folículos atrésicos. **A)** Vista general de una atresia (At). Se observa el ovocito atrofiado (Ov), la zona pelúcida (ZP) y las células foliculares (CF). Tinción H-E, 2.5X. **B)** Detalle de la atresia. Se observa el ovocito (Ov), la zona pelúcida (ZP), la capa granulosa (CG) y las células de la teca (CT). Tinción H-E, 10X.

### 7.3.3 Conductos genitales

Los conductos genitales de las hembras del tiburón segador están compuestos por dos oviductos anteriores, un par de glándulas oviducuales, el istmo, los úteros y un seno urogenital. Histológicamente los conductos genitales están definidos por tres túnicas: mucosa, muscular y serosa. Especialmente la túnica mucosa varía en cuanto al grado de madurez de los individuos (Fig. 22).



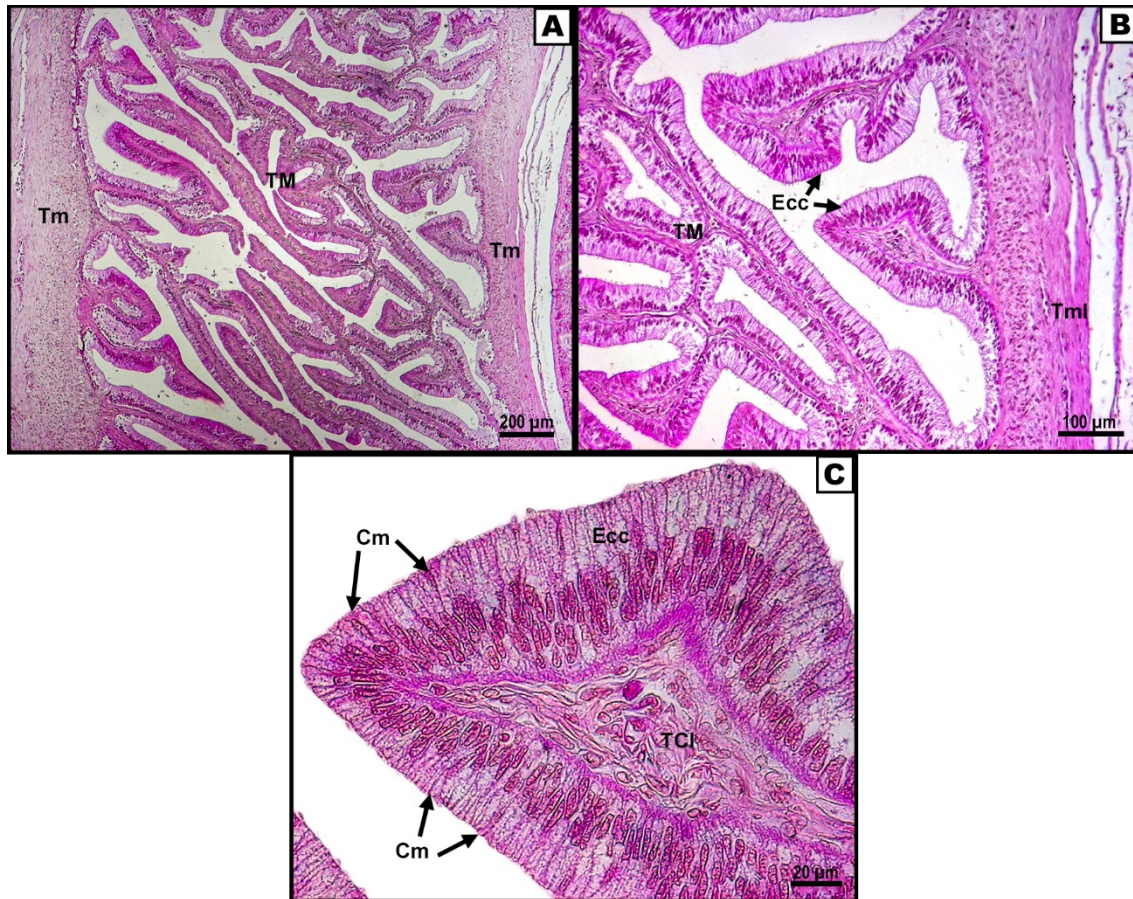


**Figura 22.** Anatomía microscópica en vista transversal del conducto genital de una hembra de *M. lunulatus*. Tinción H-E, 12X.

#### 7.3.4 Oviducto anterior

En las hembras de *M. lunulatus* los oviductos son pares, tubulares y se extienden hasta la glándula oviducal. La estructura del oviducto se define por tres túnicas: mucosa, muscular y serosa. La túnica mucosa presenta pliegues longitudinales revestidos por epitelio cilíndrico simple ciliado, con células mucosas intercaladas. Las células ciliadas tienen núcleo eucromático y el citoplasma apical levemente PAS (+). Por debajo del epitelio se observa tejido conjuntivo laxo vascularizado, con fibras musculares lisas dispersas. La túnica muscular comprende una capa de tejido muscular liso, en

disposición longitudinal. Todo el órgano se encuentra rodeado por una serosa típica de tejido conjuntivo laxo y epitelio simple plano. No se registró la presencia de espermatozoos en esta región (Fig. 23).



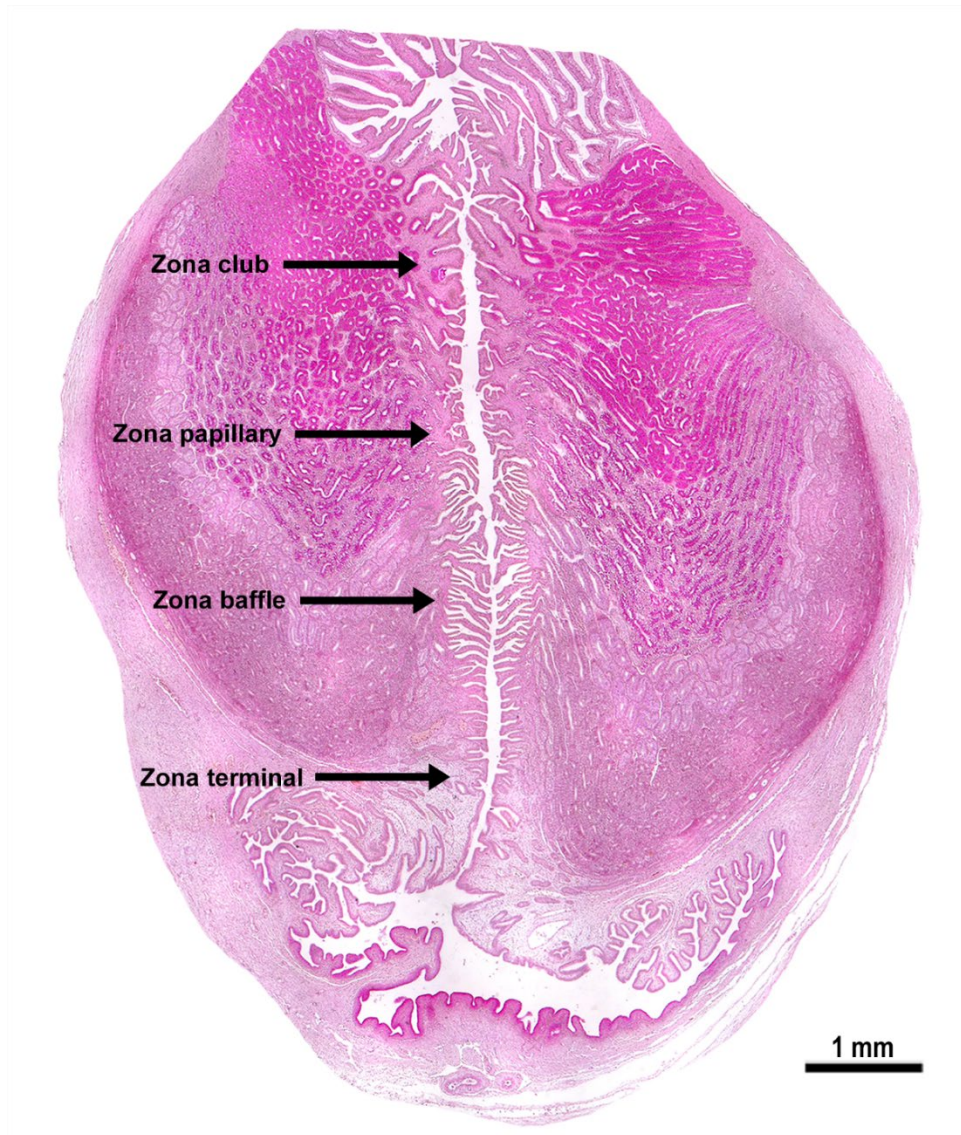
**Figura 23.** Oviducto anterior. **A)** Vista general del oviducto anterior donde se observa la túnica muscular (Tm) y la túnica mucosa (TM). Tinción PAS, 2.5X. **B)** Se observa la túnica de musculo liso (Tml), la túnica mucosa (TM) revestido por el epitelio cilíndrico simple ciliado (Ecc). Tinción PAS, 10X. **C)** Detalle del epitelio cilíndrico simple ciliado (Ecc) donde se observan las células mucosas (Cm) y el tejido conjuntivo laxo (TCI). Tinción PAS, 40X.

### 7.3.5 Glándula oviducal

La glándula oviducal es un órgano par ubicado entre el oviducto y el útero, de forma acorazonada y está organizada en túnicas. La mucosa comprende el epitelio de revestimiento y el tejido conectivo de sostén; la muscular formada por tejido muscular liso de disposición longitudinal y la serosa de organización característica de los órganos internos.



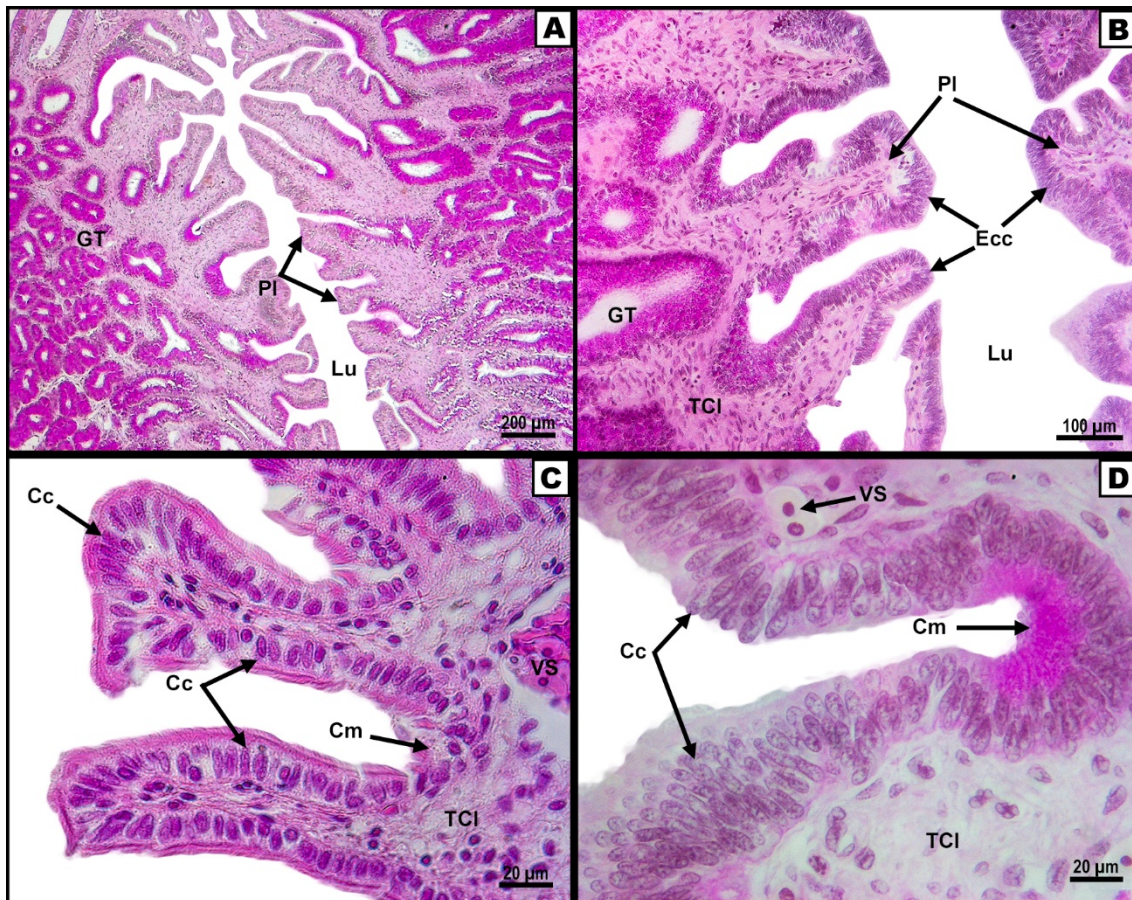
La estructura de la túnica mucosa varía con relación al grado de madurez de las hembras. En los ejemplares inmaduros está poco plegada, el epitelio de revestimiento es cilíndrico simple y por debajo se encuentra tejido conectivo denso. En ejemplares maduros, la mucosa está notablemente plegada. En función de la estructura de la mucosa y la presencia de glándulas, así como la naturaleza de la secreción, se reconocen cuatro zonas diferentes: *club*, *papillary*, *baffle* y *terminal* (Fig. 24).



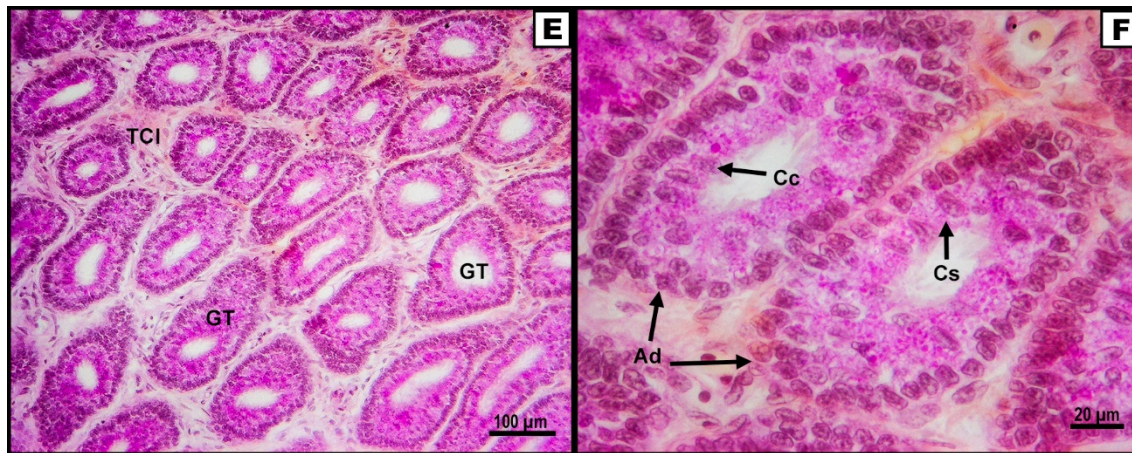
**Figura 24.** Vista panorámica transversal de la glándula oviducal de una hembra de *M. lunulatus*. Tinción PAS, 12X.

### **Zona club**

Está caracterizada por presentar pliegues de la mucosa en forma de “T” (entre 4 y 8 pliegues). El epitelio es cilíndrico simple ciliado con células de núcleo eucromático, ubicado en la zona media a basal de la célula. En el fondo de los pliegues se observan células mucosas con núcleo basal y citoplasma apical PAS (+). En esta zona desembocan glándulas tubulares simples, cuyos adenómeros exhiben dos tipos celulares intercalados: células cilíndricas ciliadas con núcleo eucromático y células secretoras con abundantes gránulos PAS (+). El tejido conjuntivo laxo, vascularizado, se encuentra restringido al espacio entre los adenómeros (Fig. 25).





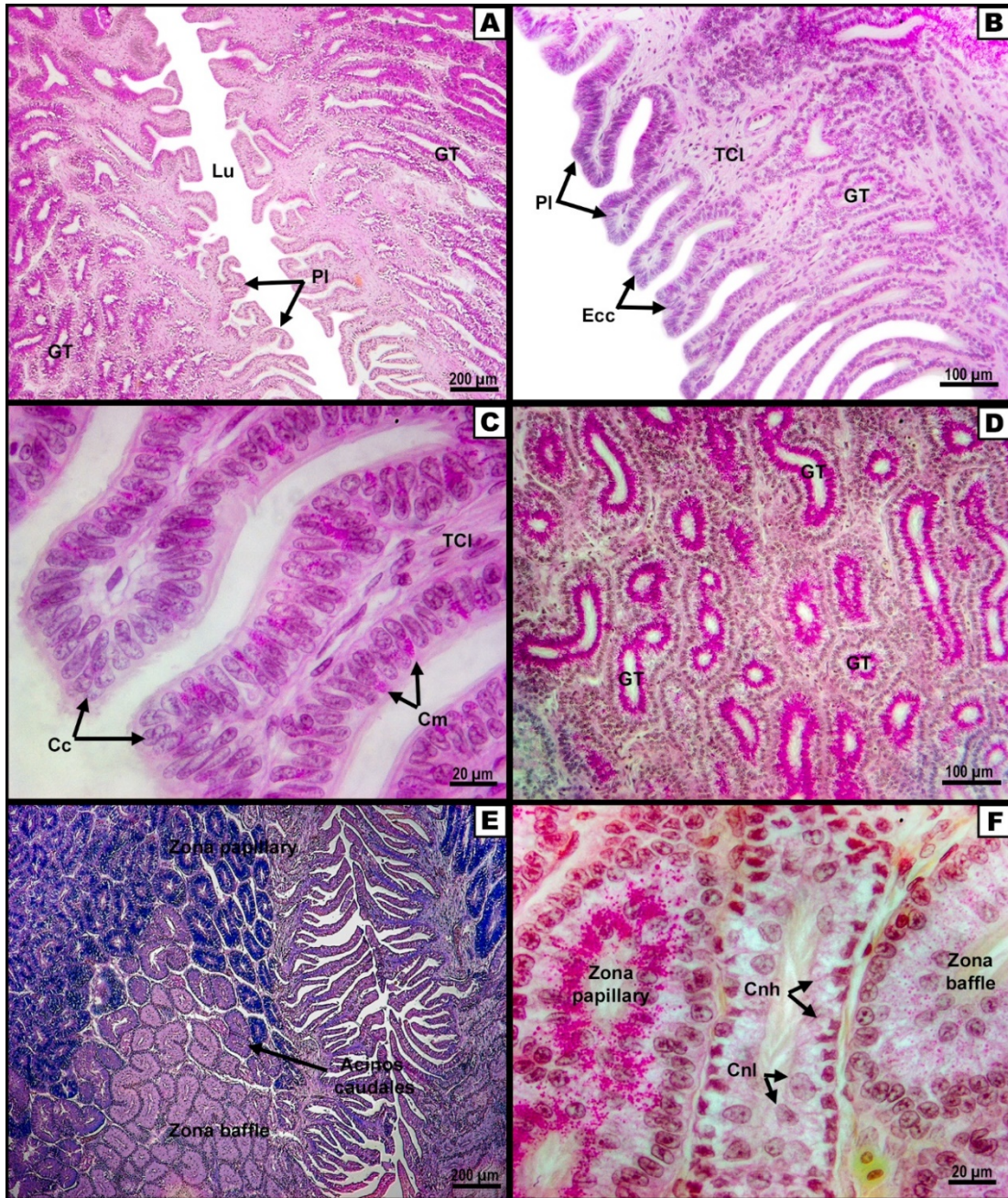


**Figura 25.** Zona club. **A)** Vista general de la zona club donde se observan los pliegues (PI) de la túnica mucosa, el lumen (Lu) y las glándulas tubulares (GT). Tinción PAS, 2.5X. **B)** Se observa el epitelio cilíndrico simple ciliado (Ecc) que recubre a los pliegues (PI), las glándulas tubulares (GT) y el tejido conjuntivo laxo (TCI). Tinción PAS, 10X. **C y D)** Detalle del epitelio cilíndrico simple ciliado, se observan las células ciliadas (Cc) y las células mucosas (Cm), así como los vasos sanguíneos y el tejido conjuntivo laxo (TCI). Tinción PAS, 40X. **E)** Vista general de las glándulas tubulares (GT) y el tejido conjuntivo laxo (TCI) entre las mismas. Tinción PAS, 10X. **F)** Detalle de los adenómeros (Ad), se observan las células ciliadas (Cc) y las células secretoras (Cs). Tinción PAS, 40X.

### **Zona papillary**

Presenta pliegues más numerosos y bajos en comparación con la zona club (entre 7 y 10 pliegues). El epitelio de revestimiento es cilíndrico simple ciliado con células de núcleo eucromático, intercaladas con células mucosas dispersas con núcleo basal y gránulos PAS (+). Los adenómeros conservan las características citológicas de la zona anterior. Esta región no solo es más extensa que la *club*, sino que presenta una mayor cantidad de glándulas tubulares simples, densamente empaquetadas. El tejido conjuntivo queda restringido al espacio entre adenómeros. La fila más caudal de las glándulas tubulares consiste en una hilera simple de adenómeros PAS (-). El epitelio de estas glándulas presentó dos tipos de células que se caracterizan por núcleos basales heterocromáticos y núcleos luminales con componentes eucromáticos (Fig. 26).



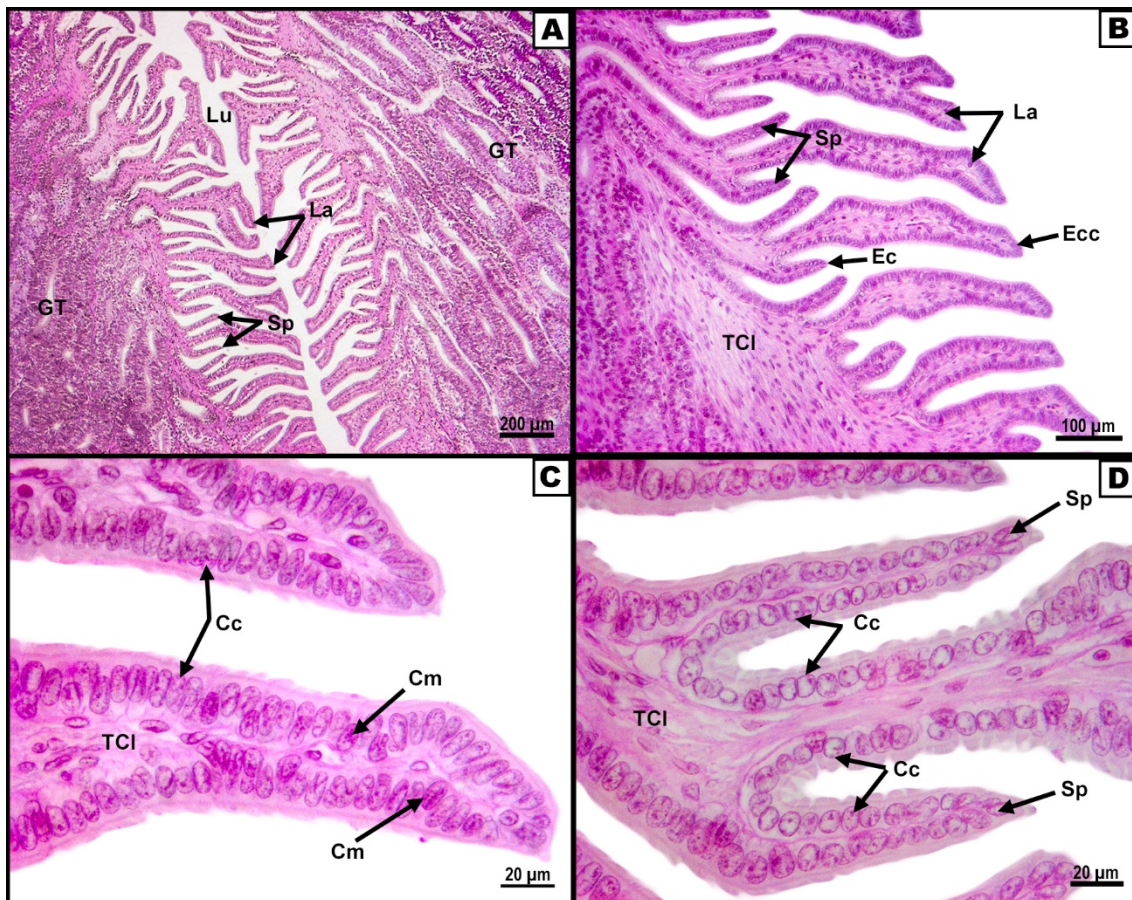


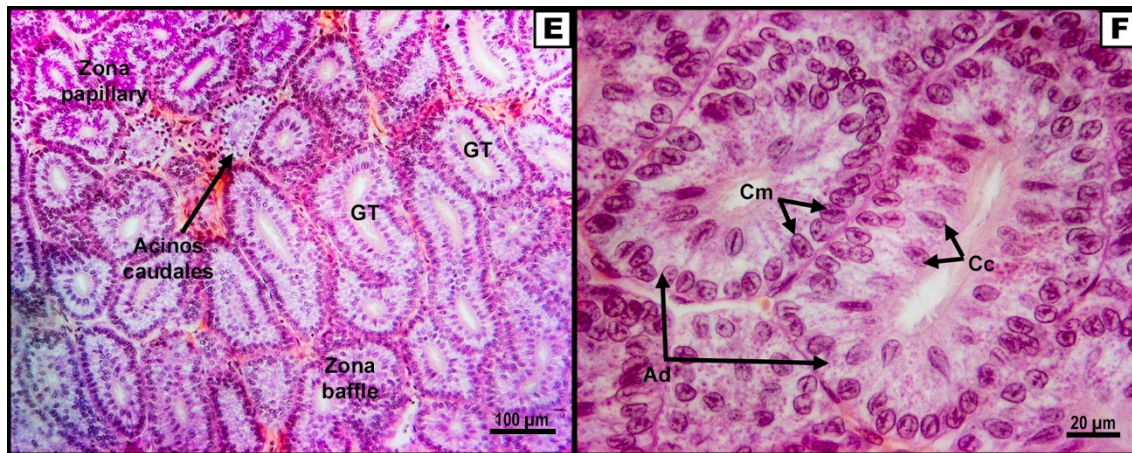
**Figura 26.** Zona papillary. **A)** Vista general de los pliegues (PI) el lumen (Lu) y las glándulas tubulares (GT) de la zona papillary. Tinción PAS, 2.5X. **B)** Se observa el epitelio cilíndrico simple ciliado (Ecc) que recubre a los pliegues (PI), las glándulas tubulares (GT) y el tejido conjuntivo laxo (TCI). Tinción PAS, 10X. **C)** Detalle del epitelio cilíndrico simple ciliado, se observan las células ciliadas (Cc) y las células mucosas (Cm), así como el tejido conjuntivo laxo (TCI). Tinción PAS, 40X. **D)** Vista general de las glándulas tubulares (GT). Tinción PAS, 10X. **E)** Vista general de los adenómeros caudales de la zona papillary. Tinción Tricrómica de Mallory, 2.5X. **F)** Detalle del acino caudal de la zona papillary, se observan las células con núcleo heterocromático (Cnh) y las células con núcleo luminal (Cnl). Tinción PAS, 40X.



## Zona baffle

Es la zona más extensa, presenta una mucosa formada por lamelas (entre 13 y 20), separadas por pliegues bajos llamados “*spinnerets*”. Las lamelas son angostas en la base, se ensanchan conforme aumenta su altura, formando placas. El epitelio que las recubre es cilíndrico simple bajo, ciliado, con núcleo eucromático basal con algunas células mucosas intercaladas PAS (-). Los *spinnerets* presentan un epitelio cúbico simple ciliado con núcleo eucromático central y sin células mucosas. Las glándulas tubulares simples desembocan entre cada *spinneret* y su correspondiente lamela, los adenómeros muestran células de dos tipos: células cilíndricas ciliadas con núcleo eucromático apical y células secretoras con núcleo basal y gránulos de secreción PAS (-). En hembras grávidas se observó la presencia ocasional de espermatozoides en el interior de los adenómeros (Fig. 27).



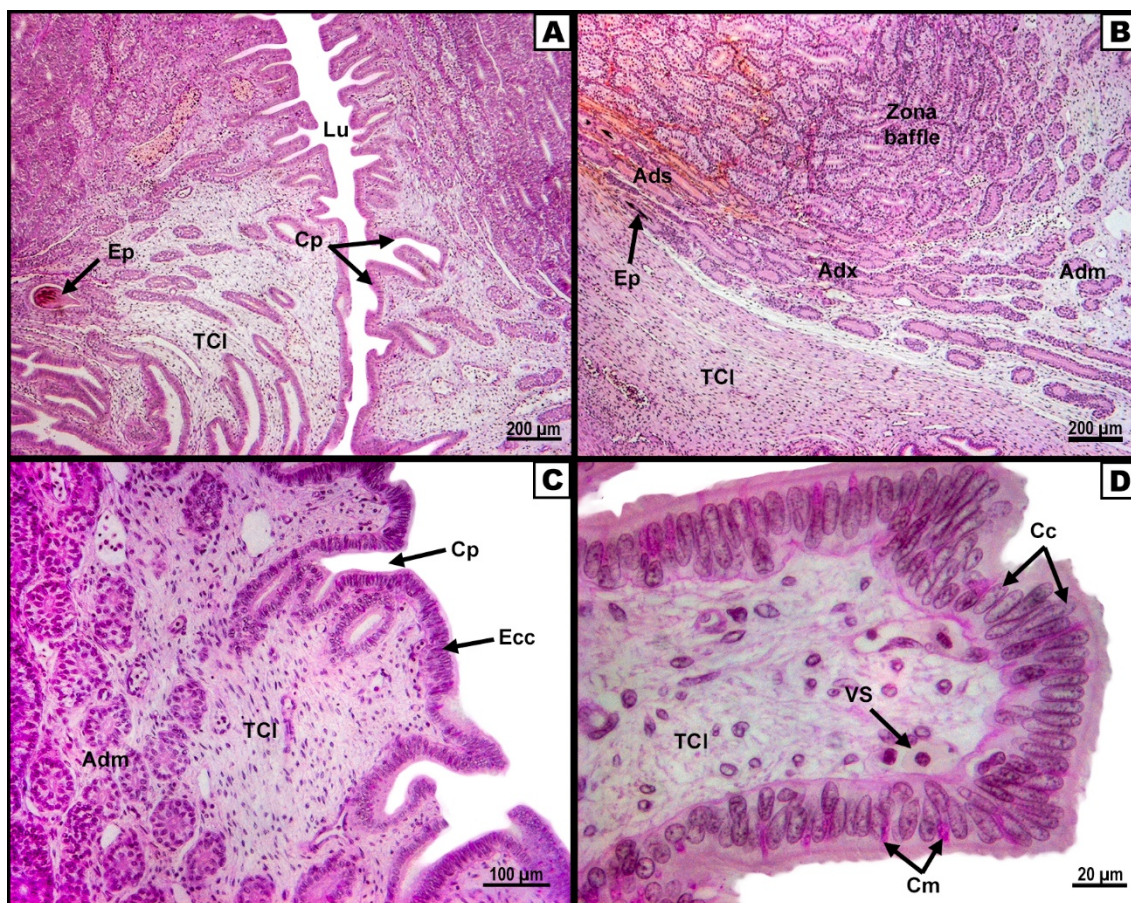


**Figura 27.** Zona baffle. **A)** Vista general de la zona baffle donde se observan las lamelas (La) y los *spinnerets* (Sp) de la túnica mucosa, el lumen (Lu) y las glándulas tubulares (GT). Tinción PAS, 2.5X. **B)** Se observa el epitelio cilíndrico simple ciliado (Ecc) que recubre a las lamelas (La), el epitelio cubico simple ciliado (Ec) de los *spinnerets* (Sp) y el tejido conjuntivo laxo (TCI). Tinción PAS, 10X. **C)** Detalle del epitelio cilíndrico simple ciliado, se observan las células ciliadas (Cc), las células mucosas (Cm) y el tejido conjuntivo laxo (TCI). Tinción PAS, 40X. **D)** Detalle del epitelio cúbico simple ciliado (Ec) de los spinnerets (Sp) y el tejido conjuntivo laxo (TCI). Tinción PAS, 40X. **E)** Vista general de las glándulas tubulares (GT). Tinción PAS, 10X. **F)** Detalle de los adenómeros (Ad), se observan las células ciliadas (Cc) y las células mucosas (Cm). Tinción PAS, 40X.

### Zona terminal

La mucosa de esta zona no presenta pliegues, solo se invagina formando criptas. El epitelio superficial es cilíndrico simple ciliado con células de núcleo eucromático apical y por ocasionales células mucosas con núcleo eucromático basal y gránulos PAS (+). Se observan glándulas tubulares simples de manera ocasional y de diferente naturaleza: mucosas, mixtas y serosas. Los adenómeros que se encuentran cerca del lumen de la glándula son mucosos, con células cilíndricas ciliadas intercalas con células secretoras que reaccionan levemente al PAS. Los adenómeros más profundos son serosos e intercalados entre ambos se encuentran adenómeros mixtos. La zona se caracterizó por presentar almacenamiento espermático en el interior de los adenómeros mucosos adluminales y en mayor cantidad en los más profundos, el tejido conjuntivo laxo se encuentra bien representado (Fig. 28).





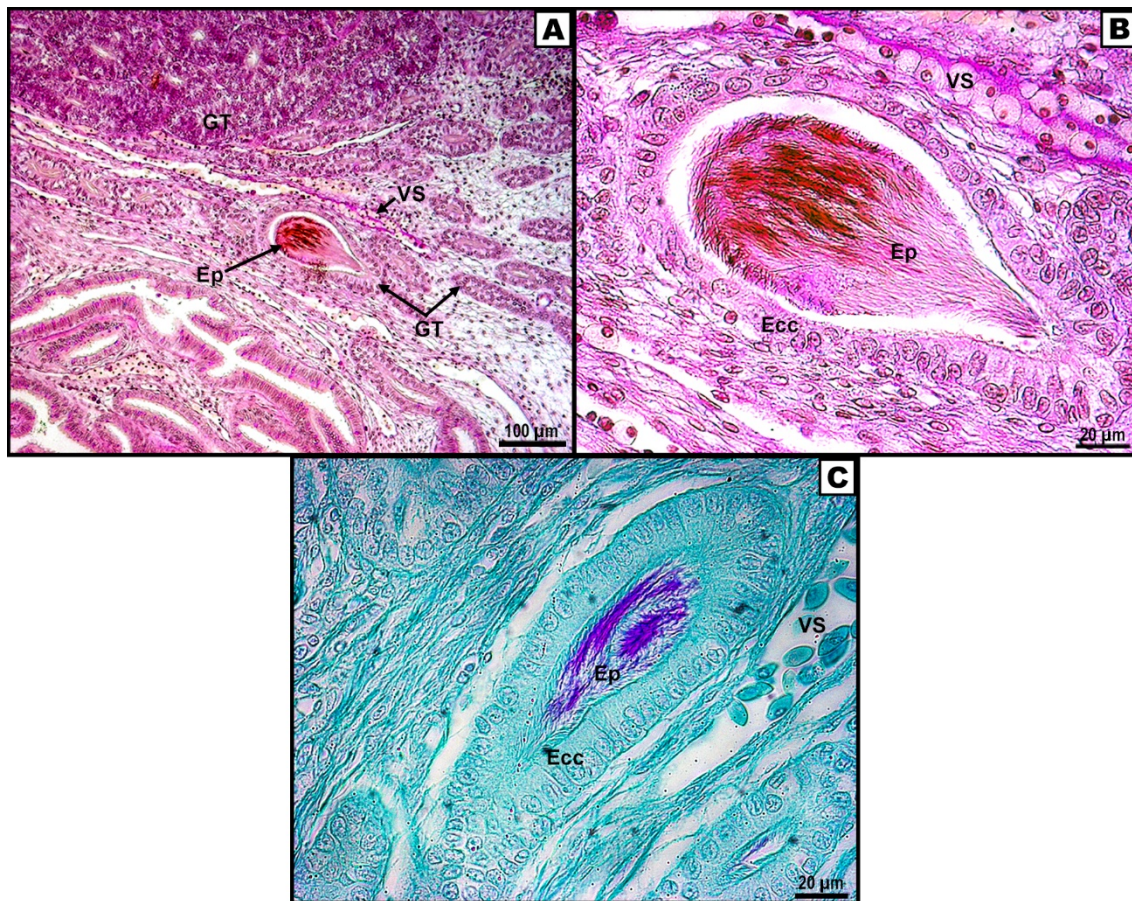
**Figura 28.** Zona terminal. **A)** Vista general de la zona terminal, se observan las criptas (Cp) de la túnica mucosa, el lumen (Lu), el tejido conjuntivo laxo (TCI) y el almacén de esperma (Ep). Tinción PAS, 2.5X. **B)** Vista general de los adenómeros mucosos (Adm), mixtos (Adx) y serosos (Ads), el almacén de esperma (Ep) y el tejido conjuntivo laxo (TCI). Tinción PAS, 2.5X. **C)** Se observa el epitelio cilíndrico simple ciliado (Ecc) que recubre a las criptas (Cp), el tejido conjuntivo laxo (TCI) y los adenómeros mucosos (Adm). Tinción PAS, 10X. **D)** Detalle del epitelio cilíndrico simple ciliado, se observan las células ciliadas (Cc) y las células mucosas (Cm), el tejido conjuntivo laxo (TCI) y algunos vasos sanguíneos (VS). Tinción PAS, 40X.

### 7.3.6 Almacén de esperma en la glándula oviducal

Se observó la presencia de esperma en hembras grávidas en las zonas baffle y terminal. Los espermatozoides se presentaron en grandes acumulaciones alineados en el lumen de los adenómeros (preferentemente aquellos de la zona terminal) sin alguna asociación con el epitelio de los túbulos. Las glándulas tubulares están recubiertas por un epitelio cilíndrico simple ciliado, con células de núcleo basal



euromático y células secretoras sin afinidad a la reacción del PAS. Estas glándulas tubulares se encontraron asociadas con vasos sanguíneos (Fig. 29).

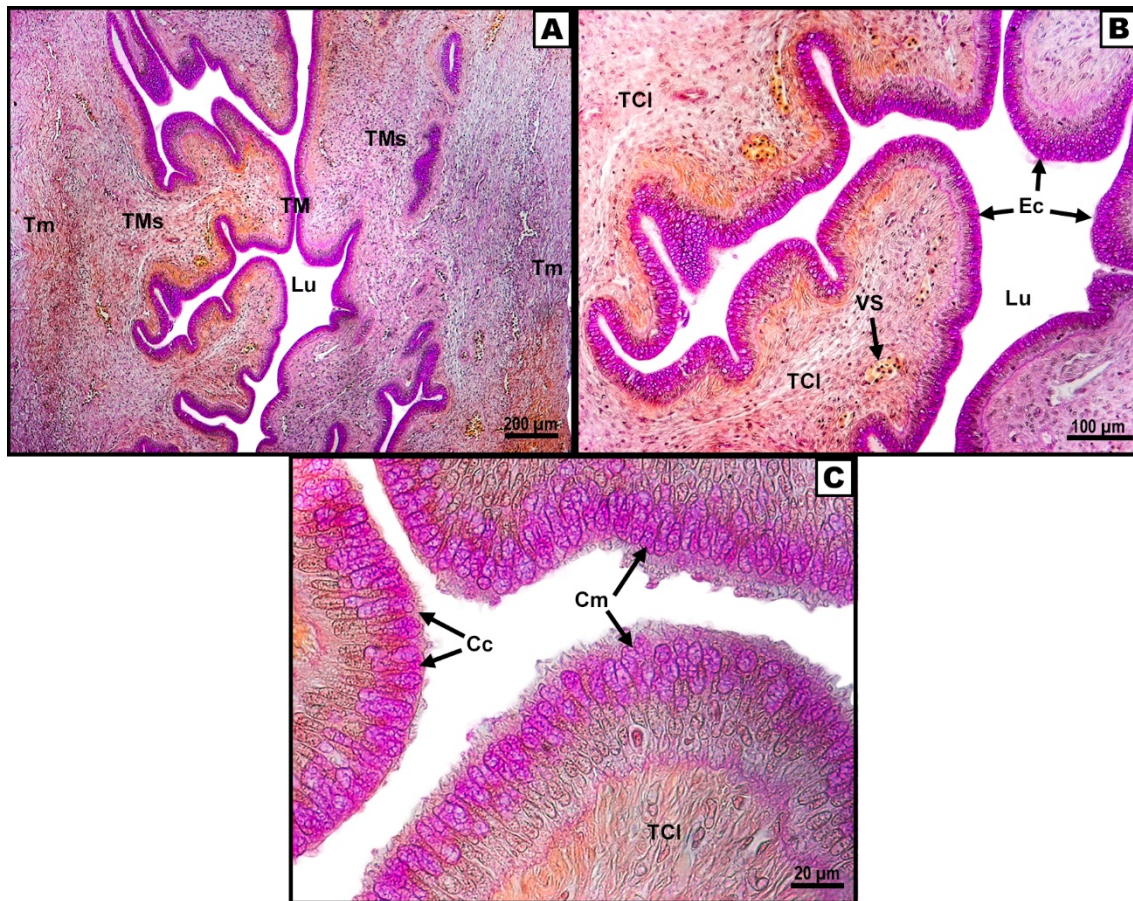


**Figura 29.** Almacén de esperma en la glándula oviducal. **A)** Vista general del almacén de esperma en la zona terminal, se observa el esperma (Ep) dentro de una glándula tubular (GT) acompañado de los vasos sanguíneos (VS). Tinción PAS, 10X. **B)** Detalle del almacén de esperma en la zona terminal, se observa el epitelio cilíndrico simple ciliado (Ecc) de la glándula tubular, gran acumulación de esperma (Ep) y los vasos sanguíneos (VS). Tinción PAS, 40X. **C)** Almacén de esperma en la zona baffle, se observa poca cantidad de esperma (Ep), el epitelio cilíndrico simple ciliado (Ecc) de la glándula tubular y los vasos sanguíneos (VS). Tinción Feulgen, 40X.

### 7.3.7 Istmo

Se considera istmo a la zona de transición entre la glándula oviducal y el cuerpo uterino. Se caracteriza por una túnica mucosa con epitelio de revestimiento cilíndrico simple con dos tipos de células. Se observan células ciliadas con núcleo euromático elongado localizado en la parte media de la célula. Estas últimas fueron las menos

abundantes. Por otra parte, se observaron células mucosas PAS (+) con núcleo eucromático redondeado. La túnica submucosa está compuesta por tejido conjuntivo laxo poco vascularizado. La túnica muscular comprende dos capas de músculo liso, la interna de disposición circular. Finalmente, la serosa delimita el órgano, es una fina capa de tejido conjuntivo denso y un epitelio cúbico simple (Fig. 30).



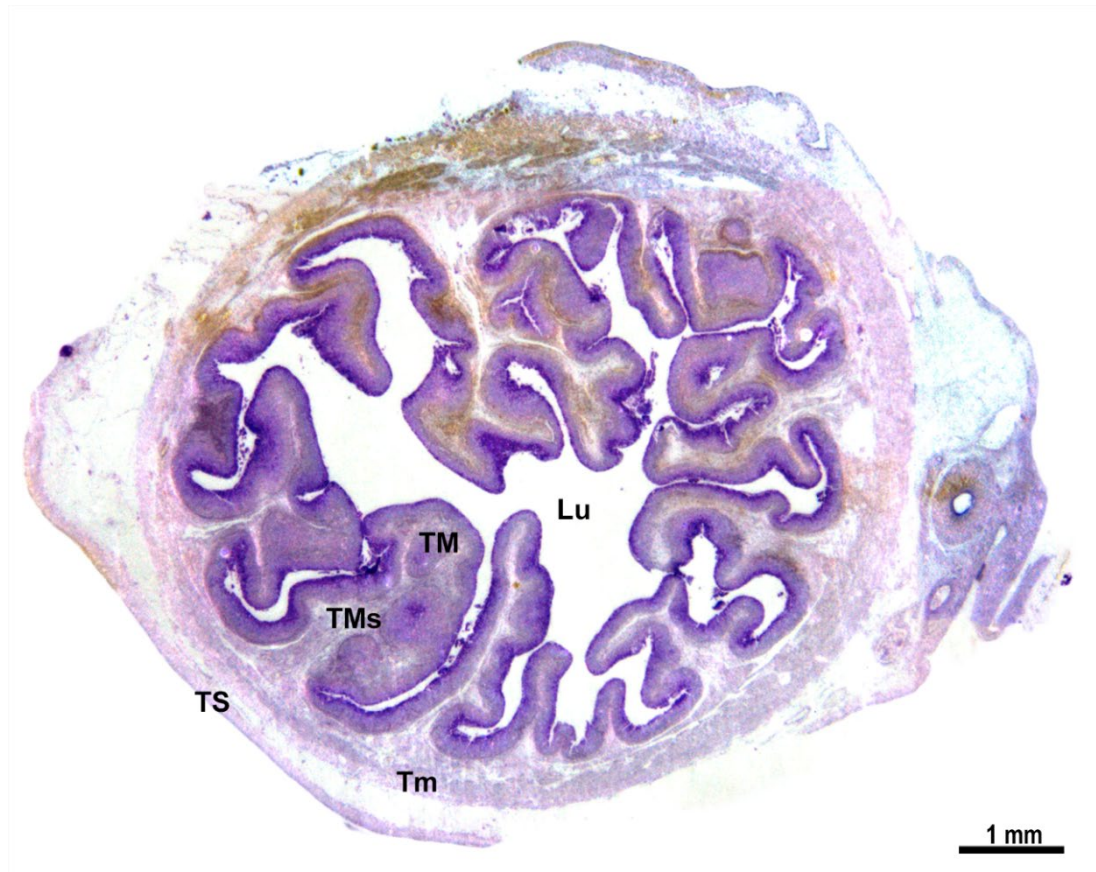
**Figura 30.** Isthmo. **A)** Vista general del istmo donde se observa la túnica muscular (Tm), la túnica submucosa (TMs), la túnica mucosa (TM) y el lumen. Tinción PAS, 2.5X. **B)** Se observa el epitelio cilíndrico simple (Ec) que recubre a la túnica mucosa, el tejido conjuntivo laxo (TCI) y los vasos sanguíneos (VS). Tinción PAS, 10X. **C)** Detalle del epitelio cilíndrico simple, se aprecian las células ciliadas (Cc), las células mucosas (Cm) y el tejido conjuntivo laxo (TCI). Tinción PAS, 40X.

### 7.3.8 Útero

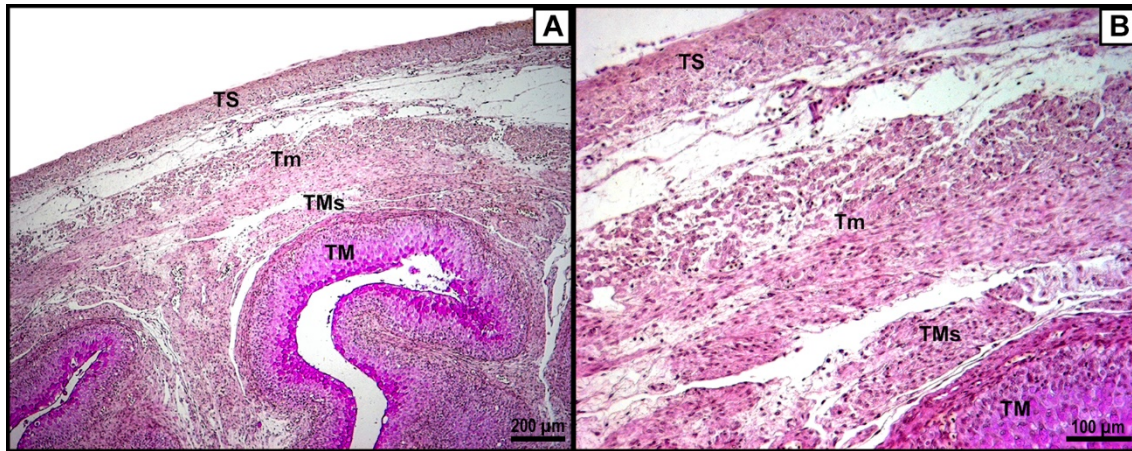
El útero es un órgano par localizado hacia la parte posterior del istmo. Independientemente del estadio de madurez, la pared del útero está compuesta por una túnica mucosa formada por un epitelio de revestimiento y tejido conjuntivo denso;



una túnica submucosa de tejido conjuntivo laxo; una túnica muscular está formada por fibras musculares lisas con abundante tejido conjuntivo entre ellas, orientadas internamente en sentido circular y externamente en sentido longitudinal y una túnica serosa formada por tejido conjuntivo tapizado por epitelio cubico simple. No se observaron diferencias en la estructura de la pared uterina a lo largo del eje cráneo-caudal (Figs. 31 y 32).



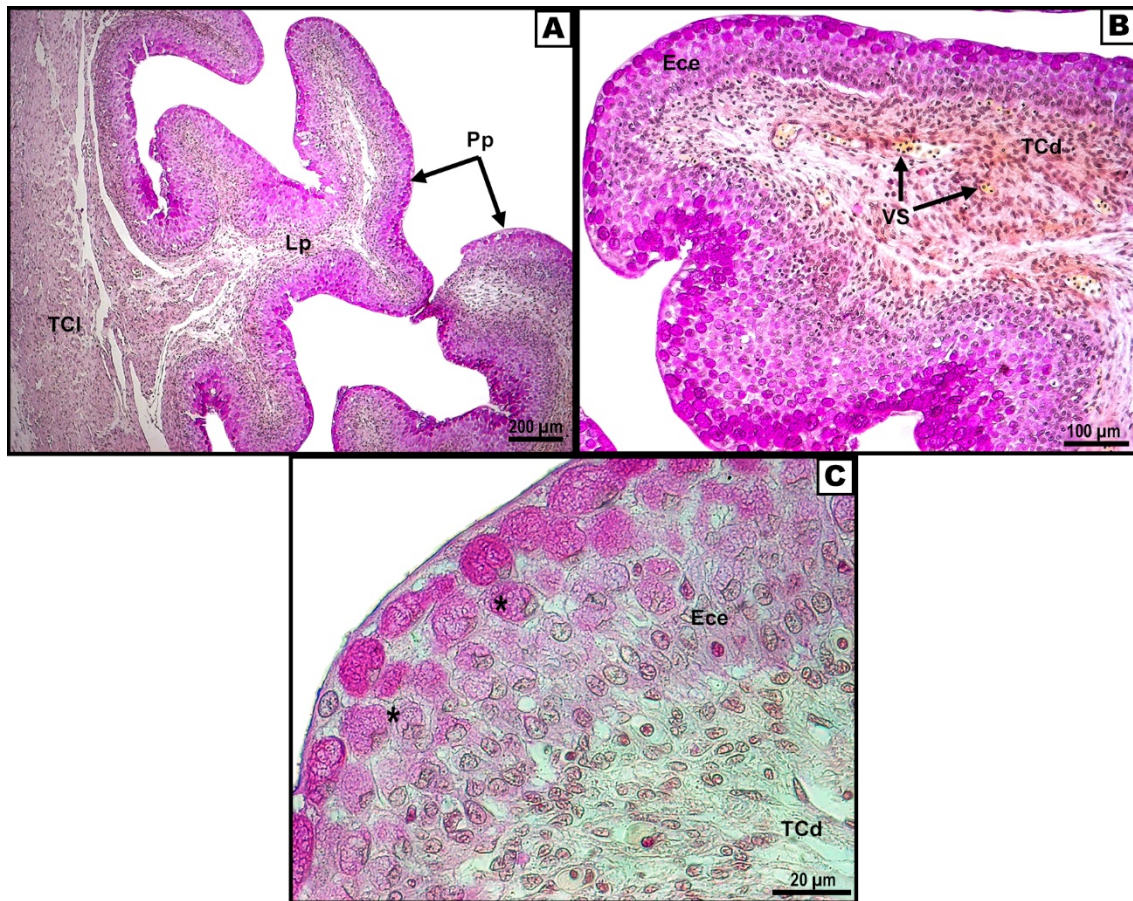
**Figura 31.** Anatomía microscópica del útero en corte transversal de *M. lunulatus*. Se observa la túnica serosa (TS), la túnica muscular (Tm), la túnica submucosa (TMs), la túnica mucosa (TM) y el lumen. Tinción PAS, 12X.



**Figura 32.** Útero de *M. lunulatus*. **A)** Vista general de la túnica serosa (TS), muscular (Tm), submucosa (TMs) y mucosa (TM). Tinción PAS, 2.5X. **B)** Detalle de la túnica serosa (TS), muscular (Tm), submucosa (TMs) y mucosa (TM). Tinción PAS, 10X.

### Ejemplares inmaduros y maduros

La túnica mucosa se encuentra marcadamente plegada, con largos pliegues primarios ramificados. El epitelio de revestimiento es cúbico estratificado, formado por células de núcleo eucromático y citoplasma apical con abundantes gránulos acidófilos. Todas las células muestran evidencia de secreción mucosa PAS (+), aunque algunas muestran signos de apoptosis y descamación. La lamina propia es de tejido conjuntivo denso escasamente vascularizado. La túnica muscular de musculo liso, por fuera de esta túnica se encuentra una serosa típica (Fig. 33).

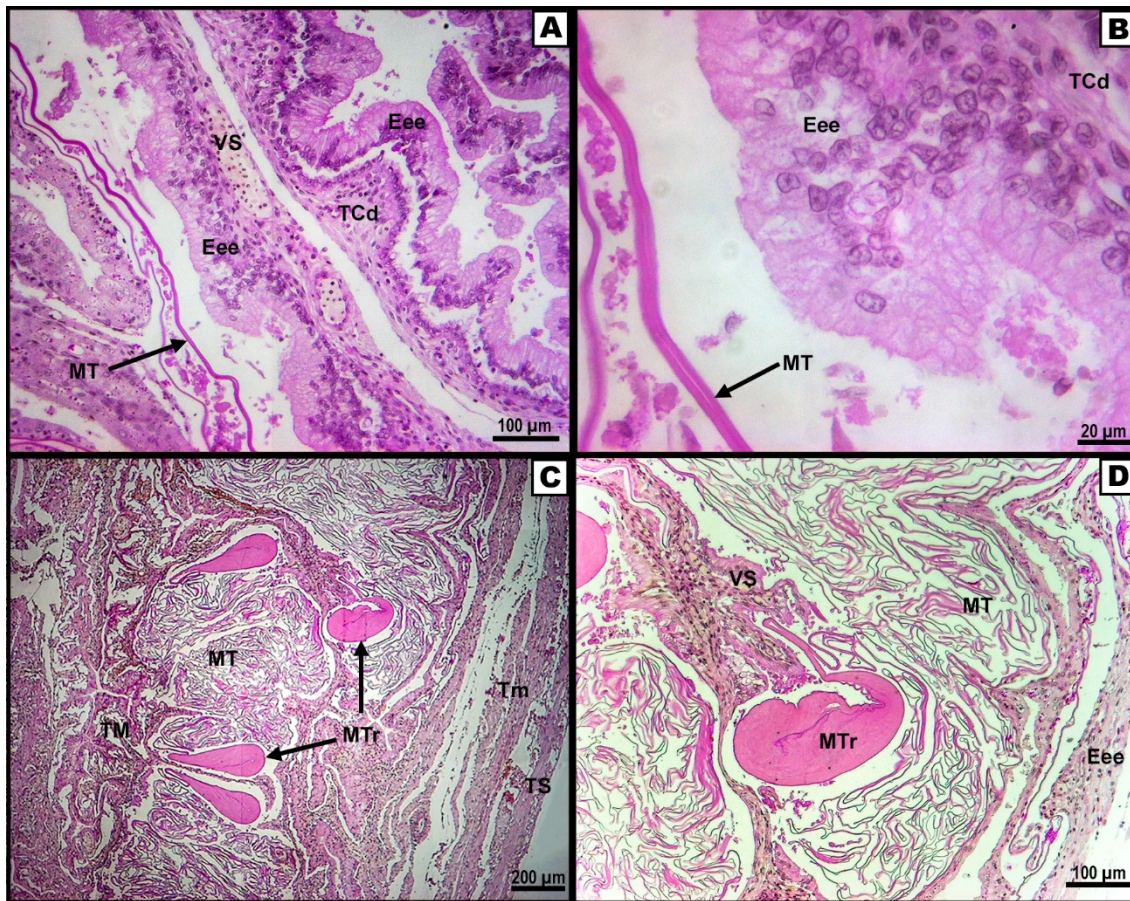


**Figura 33.** Útero de ejemplares inmaduros y maduros. **A)** Vista general de los pliegues primarios (Pp) de la túnica mucosa, la lámina propia (Lp) y el tejido conjuntivo laxo (TCl). Tinción PAS, 2.5X. **B)** Se observa el epitelio cubico estratificado (Ece) que recubre a los pliegues primarios de la túnica mucosa, el tejido conjuntivo denso (TCd) y los vasos sanguíneos (VS). Tinción PAS, 10X. **C)** Detalle del epitelio cubico estratificado, se aprecian células con signos de apoptosis (\*) y el tejido conjuntivo denso (TCd). Tinción PAS, 40X.

### Ejemplares grávidos

Los pliegues de la mucosa son extremadamente finos, revestidos por un epitelio estratificado escamoso con células de núcleo eucromático. Entre estos pliegues se observa la membrana terciaria que envuelve al embrión y el reservorio de esta. La vascularización aumenta notándose reducciones drásticas en la secreción mucosa, el grosor epitelial y el grosor del tejido conjuntivo. Se observa una serosa simple (Fig. 34).



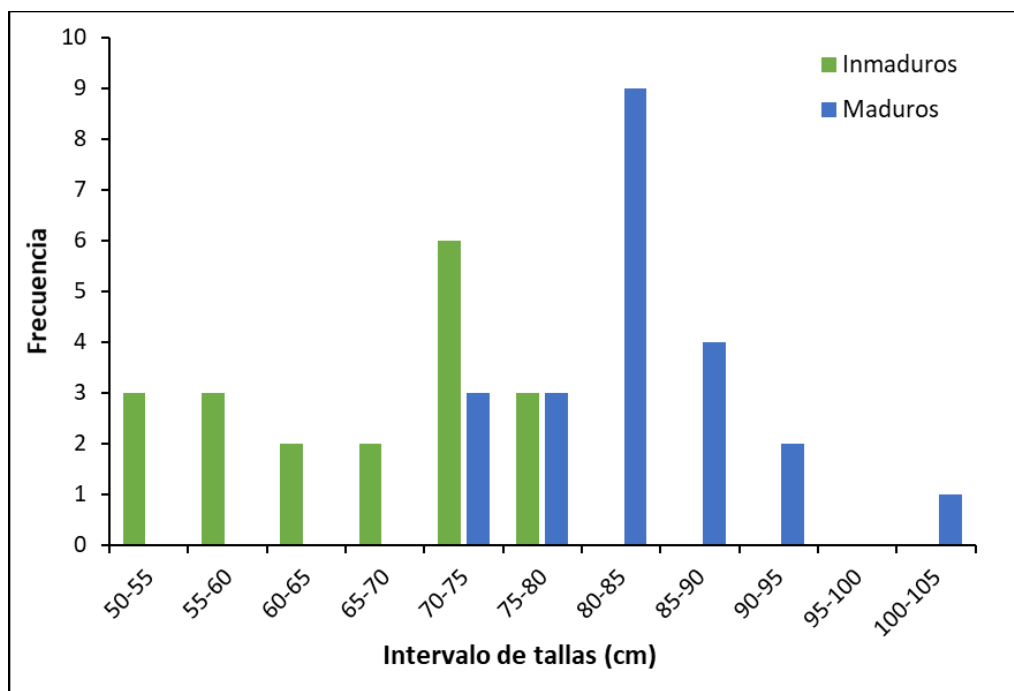


**Figura 34.** Útero de ejemplares grávidos. **A)** Se observa el epitelio escamoso estratificado (Eee), los vasos sanguíneos (VS), el tejido conjuntivo denso (TCd) y la membrana terciaria (MT). Tinción PAS, 10X. **B)** Detalle del epitelio escamosos estratificado (Eee), el tejido conjuntivo denso (TCd) y la membrana terciaria (MT). Tinción PAS, 40X. **C)** Vista general del reservorio de la membrana terciaria (MTr), se observa la túnica serosa (TS), muscular (Tm) y mucosa (TM). Tinción PAS, 2.5X. **D)** Detalle del reservorio de la membrana terciaria (MTr), se observan los vasos sanguíneos (VS), la membrana terciaria (MT) y el epitelio escamoso estratificado (Eee). Tinción PAS, 10X.

#### 7.4 Descripción macroscópica del aparato reproductor de machos

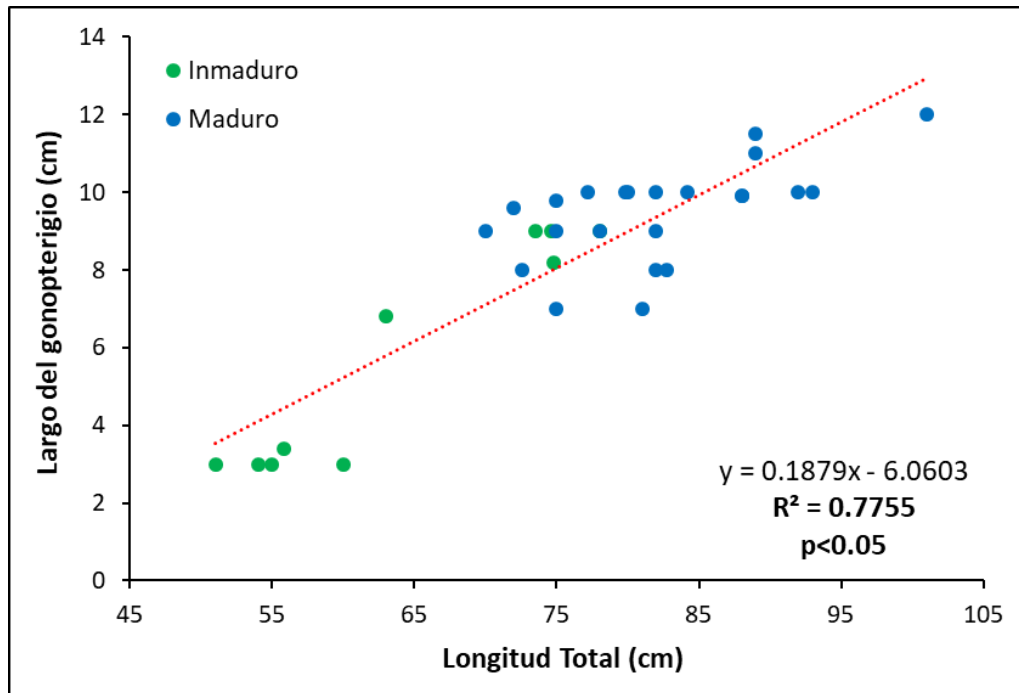
El aparato reproductor de machos de *M. lunulatus* externamente está conformado por un par de gonopterigios situados a la altura de las aletas pélvicas. Internamente está compuesto por dos testículos rodeados por el órgano epigonal, los conductos eferentes que llegan al epidídimo, los conductos deferentes y la vesícula seminal que se encuentra acompañada del riñón.

Se establecieron dos estadios de madurez: inmaduros y maduros. De los 41 machos, 19 fueron inmaduros con un intervalo de tallas entre los 51 y 78 cm de LT y 22 se catalogaron como maduros oscilando entre los 70 a los 101 cm de LT (Fig. 35).

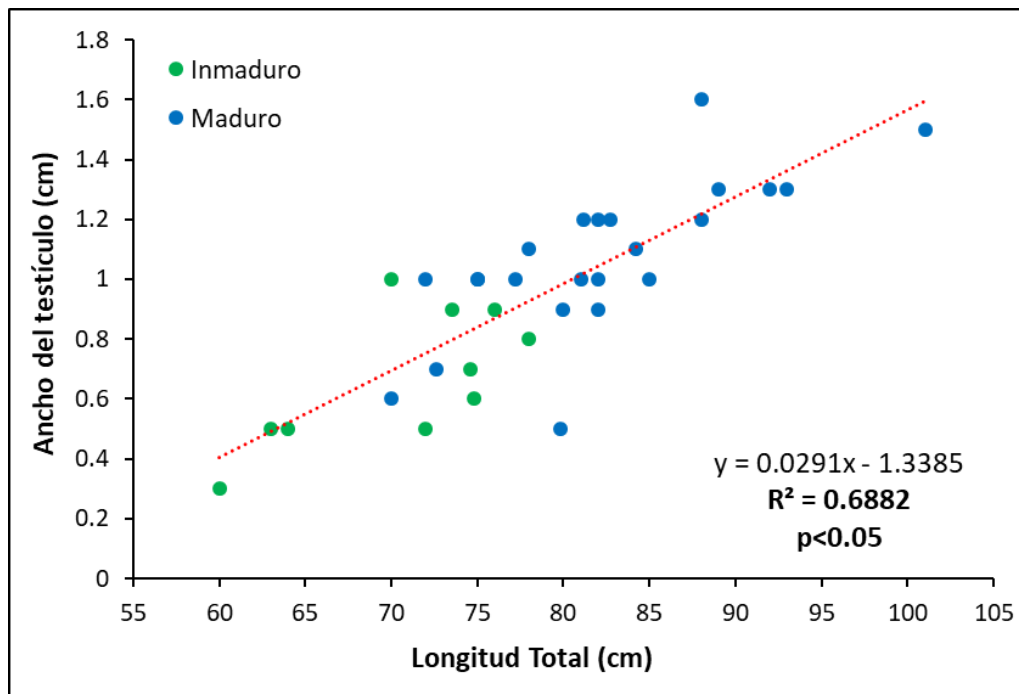


**Figura 35.** Composición de tallas por estadio de madurez de machos de *M. lunulatus* en Bahía Tortugas, BCS.

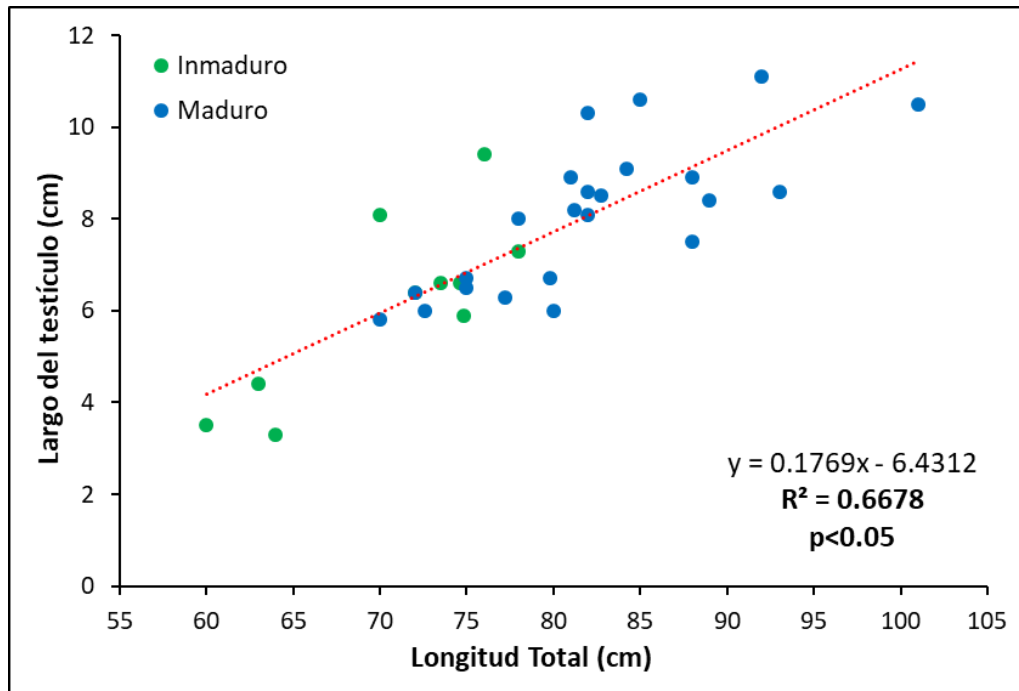
Los resultados de las regresiones lineales entre la LT y el largo del gonopterigio y el ancho y largo del testículo mostraron relación positiva significativa sugiriendo que estos órganos tienen crecimiento gradual y que pueden ser indicadores apropiados para determinar la madurez sexual del individuo (Figs. 36, 37 y 38).



**Figura 36.** Regresión lineal entre el largo del gonopterigio y la longitud total de los machos de *M. lunulatus* en Bahía Tortugas, BCS.



**Figura 37.** Regresión lineal entre el ancho del testículo y la longitud total de los machos de *M. lunulatus* en Bahía Tortugas, BCS.

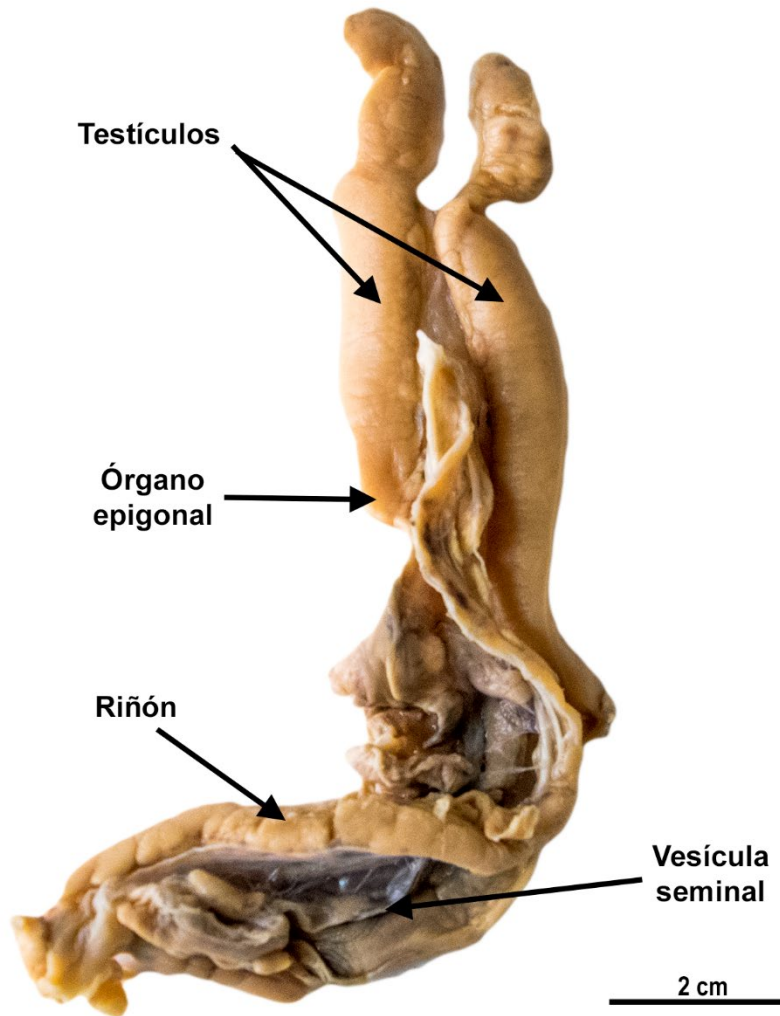


**Figura 38.** Regresión lineal entre el largo del testículo y la longitud total de los machos de *M. lunulatus* en Bahía Tortugas, BCS.

#### 7.4.1 Estadios de madurez

##### 7.4.1.1 Inmaduro

Los machos inmaduros presentan los gonopterigios cortos, sin pasar las aletas pélvicas con una longitud de 3 a 9 cm, son blandos sin calcificación y sin rotación de 180°. Los testículos están elongados y angostos, miden entre los 3.3 y 9.4 cm de largo mientras que de ancho miden de 0.3 a 1 cm. El órgano epigonal rodea todo el órgano en mayor representación. Los conductos deferentes, epidídimo, conductos eferentes y vesícula seminal son delgados y poco definidos. Todas estas estructuras se muestran de color amarillo lechoso (Fig. 39).

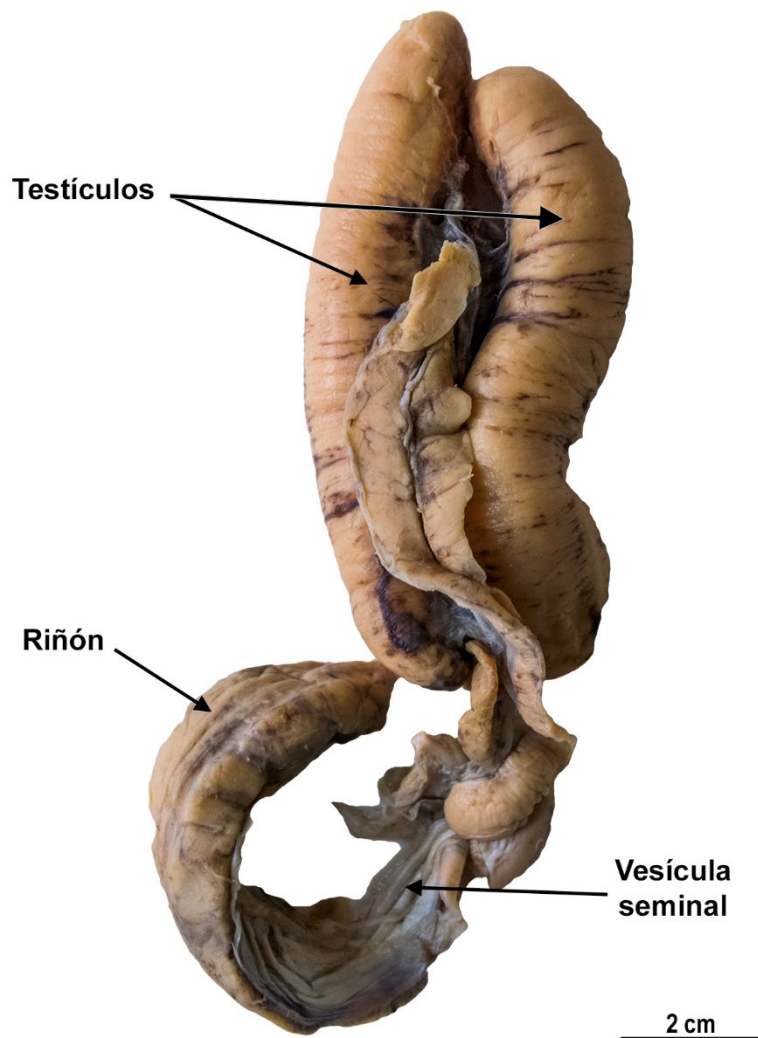


**Figura 39.** Anatomía del aparato reproductor de un macho inmaduro de *M. lunulatus*.

#### 7.4.1.2 Maduro

Los machos maduros exhiben los gonopterigios calcificados y rígidos en su totalidad con una longitud de 7 a 12 cm sobrepasando las aletas pélvicas, la rotación es de 180°, el rifiodón se abre y existe la presencia de semen. Los testículos aumentan de tamaño con 5.8 a 11.1 de largo y 0.5 a 1.6 cm de ancho, existe un cambio de coloración con vascularización profusa. El epidídimo y la vesícula seminal se diferencian por completo y aumentan en grosor (Fig. 40).





**Figura 40.** Anatomía del aparato reproductor de un macho maduro de *M. lunulatus*.

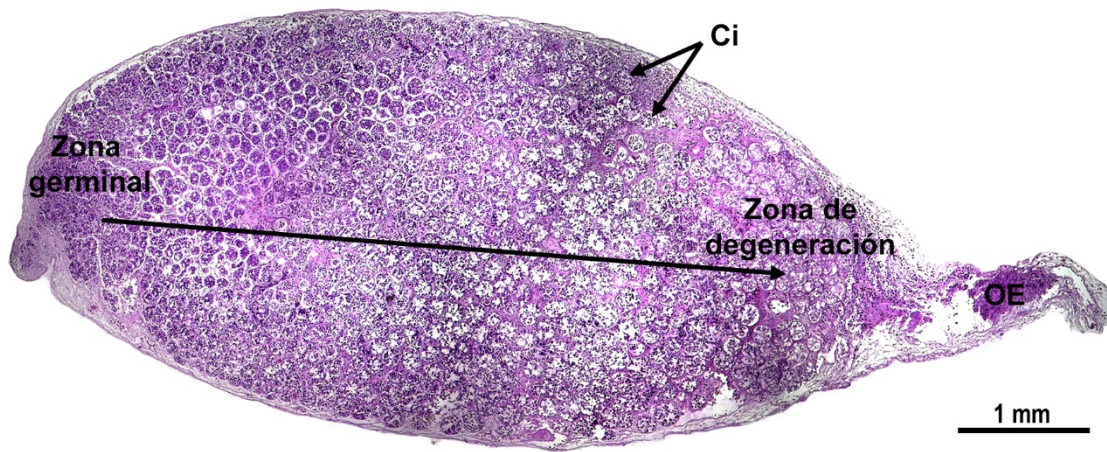
## 7.5 Descripción histológica del aparato reproductor de machos

### 7.5.1 Testículo

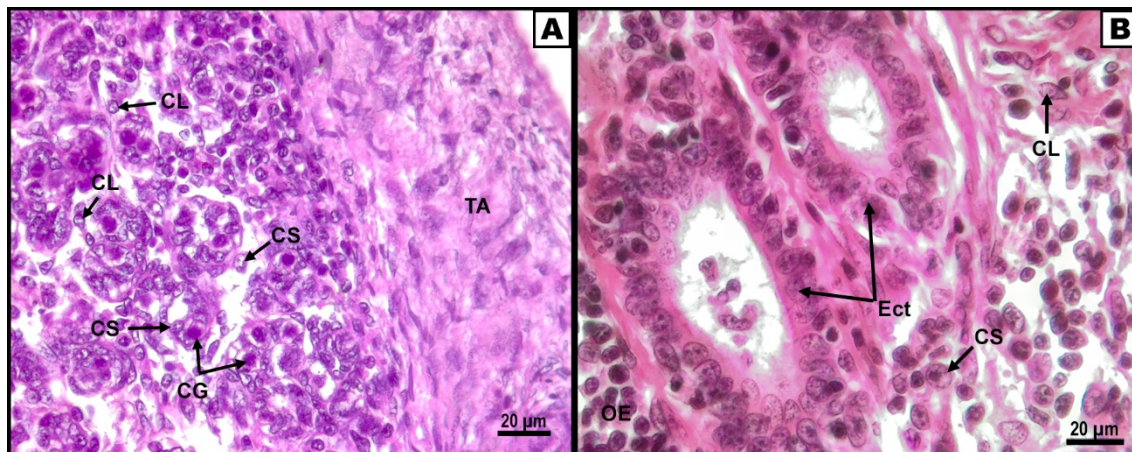
Los testículos son órganos pares y simétricos, situados en la parte anterior de la cavidad abdominal. Histológicamente se encuentra revestido por un epitelio cúbico simple y por debajo se observa una túnica albugínea delgada de fibras colágenas. El testículo de *M. lunulatus* es de tipo diamétrico, esto quiere decir que el desarrollo de los espermatocistos procede diamétricamente hacia los conductos eferentes, cada espermatocisto contiene células espermátogénicas en el mismo estado de desarrollo (Fig. 41). El tejido intersticial está compuesto por tejido conectivo laxo poco

vascularizado e infiltraciones de tejido linfomieloide. Se observan células de Leydig de núcleo grande y redondo con heterocromatina marginal marcada y escaso citoplasma acidófilo. Los conductos intersticiales presentes se encuentran revestidos por epitelio cilíndrico simple con estereocilios (Fig. 42).

En testículos de ejemplares inmaduros, el órgano epigonal tiene un porcentaje de ocupación mayor. Al avanzar la maduración testicular este porcentaje disminuye.



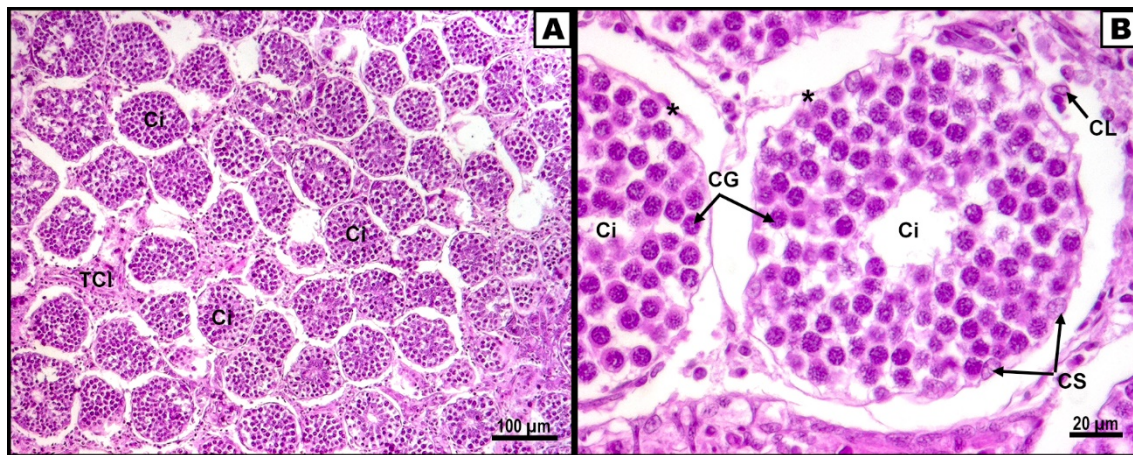
**Figura 41.** Anatomía microscópica en vista transversal del testículo de *M. lunulatus*. Se observa el órgano epigonal (OE), los cistos (Ci), la zona germinal y la zona de degeneración. Tinción H-E, 12X.



**Figura 42.** Testículo de *M. lunulatus*. **A)** Se observa la túnica albugínea (TA), las células de Sertoli (CS), las células de Leydig (CL) y las células germinales (CG). Tinción H-E, 40X. **B)** Conductos intersticiales, se observa el epitelio cilíndrico simple con estereocilios (Ect), el órgano epigonal (OE), células de Sertoli (CS) y células de Leydig (CL). Tinción H-E, 40X.

### 7.5.2 Espermatogénesis

Los cistos o espermatocistos constituyen la unidad funcional y estructural del testículo, está delimitado por la membrana basal y en su interior se encuentran células de Sertoli y células germinales, sincronizadas en la misma etapa de desarrollo. Con base en las características citológicas y la organización interna de los espermatocistos, se determinaron las siguientes etapas de desarrollo para el estudio de la espermatogénesis (Fig. 43).

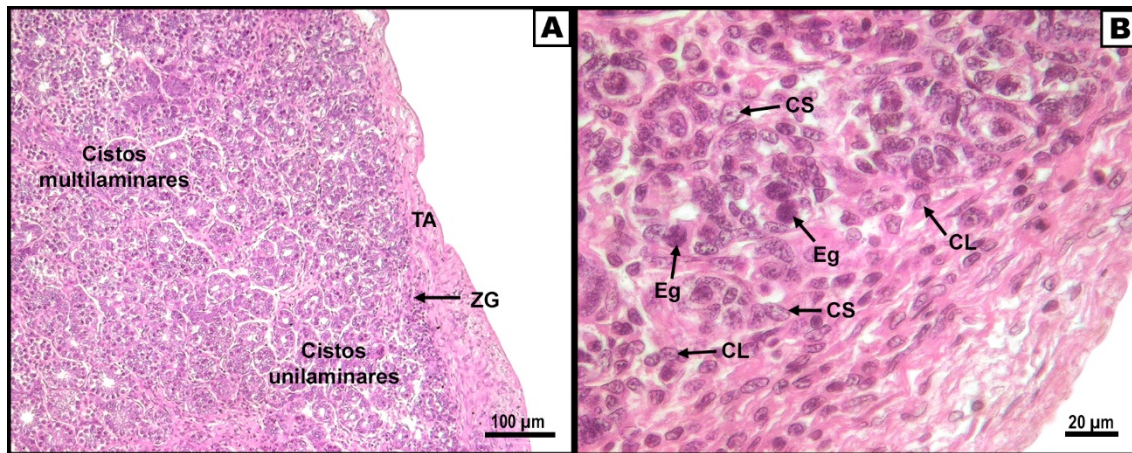


**Figura 43.** Espermatocisto. **A)** Vista general de los cistos (Ci) y el tejido conjuntivo laxo (TCI). Tinción H-E, 10X. **B)** Detalle del espermatocisto, se observan las células germinales (CG) y células de Sertoli (CS) delimitados por la membrana basal (\*) y algunas células de Leydig (CL) en el tejido intersticial. Tinción H-E, 40X.

#### Estadio I. Zona germinal

El proceso de espermatogénesis comienza en la zona germinal, la cual se encuentra reducida en ejemplares maduros. Se observan espermatogonias de diámetro comprendido entre 7 y 10 µm. Presentan núcleos esféricos grandes con parches de heterocromatina. Estas células están dispuestas asiladas sin formar cistos. Acompañando a las células germinales, se encuentran otras de mayor tamaño (6-12 µm), con núcleo eucromático oval y un nucléolo evidente. Estas células son llamadas “de Sertoli” y conservan su tamaño a lo largo del todo el proceso de maduración (Fig. 44).

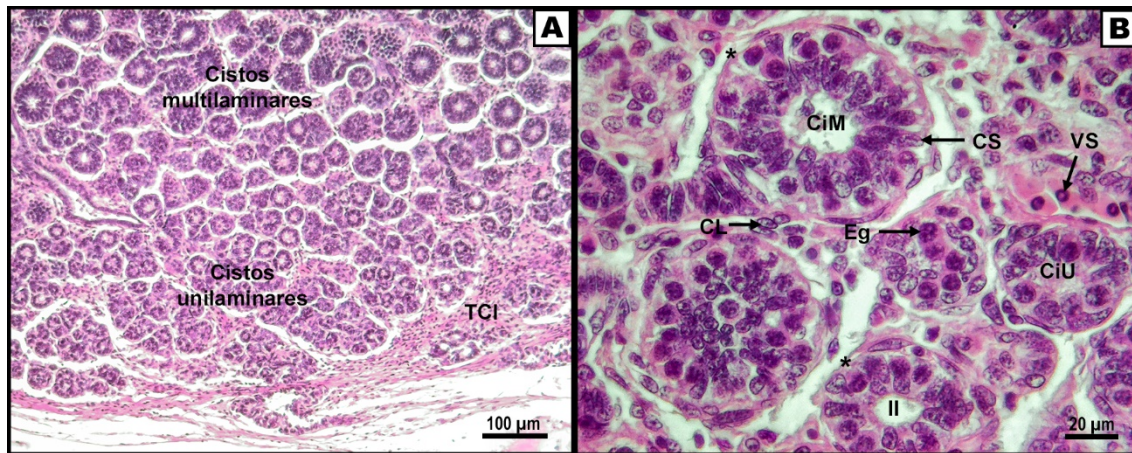




**Figura 44.** Zona germinal. **A)** Se observa la túnica albugínea (TA) y se señala la zona germinal (ZG). Tinción H-E, 10X. **B)** Detalle de la zona germinal, se observan espermatogonias (Eg) y células de Sertoli (CS) aisladas, así como algunas células de Leydig (CL). Tinción H-E, 40X.

## **Estadio II. Espermatocistos con espermatogonias**

El estadio II está caracterizado por la formación de espermatocistos, la cual comienza con la secreción de la membrana basal por parte del epitelio germinativo. El diámetro de los cistos, en este estadio, varía de 35 a 77.5 µm. En principio los espermatocistos son unilaminares, constituidos por una capa de espermatogonias y células de Sertoli entremezcladas alrededor del lumen. Posteriormente, el epitelio germinal se estratifica, dando lugar a espermatocistos multilaminares donde las espermatogonias proliferan y empujan a las células de Sertoli hacia el lumen. Hacia el final de este periodo, el diámetro luminal disminuye y las células de Sertoli comienzan a migrar hacia la membrana basal del espermatocisto y mantienen esta ubicación durante el posterior desarrollo espermatogénico (Fig. 45).

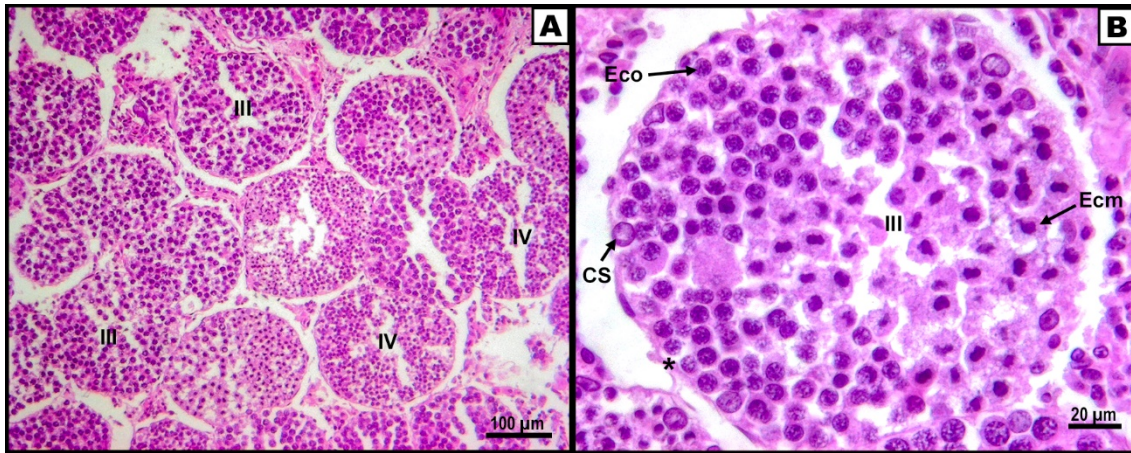


**Figura 45.** Espermatocistos con espermatogonias. **A)** Vista general de los espermatocistos unilaminares y multilaminares y del tejido conjuntivo laxo (TCI). Tinción H-E, 10X. **B)** Detalle del espermatocisto multilaminar (CiM) y del unilaminar (CiU) delimitados por la membrana basal (\*), se observan espermatogonias (Eg), células de Sertoli y en el tejido intersticial células de Leydig (CL) y vasos sanguíneos (VS). Tinción H-E, 40X.

### **Estadio III. Espermatocistos con espermatocitos primarios**

Estos espermatocistos alcanzan un diámetro de 87.5 a 175  $\mu\text{m}$ . Las espermatogonias, por mitosis, se diferencian en espermatocitos primarios de 7 a 12  $\mu\text{m}$  de diámetro. Son células esféricas con núcleo grande heterocromático, el patrón cromatínico es característico de la profase I y eventualmente, de la metafase I. El citoplasma es levemente acidófilo. En esta etapa no se observa un lumen central, dando la apariencia de una estructura compacta (Fig. 46).

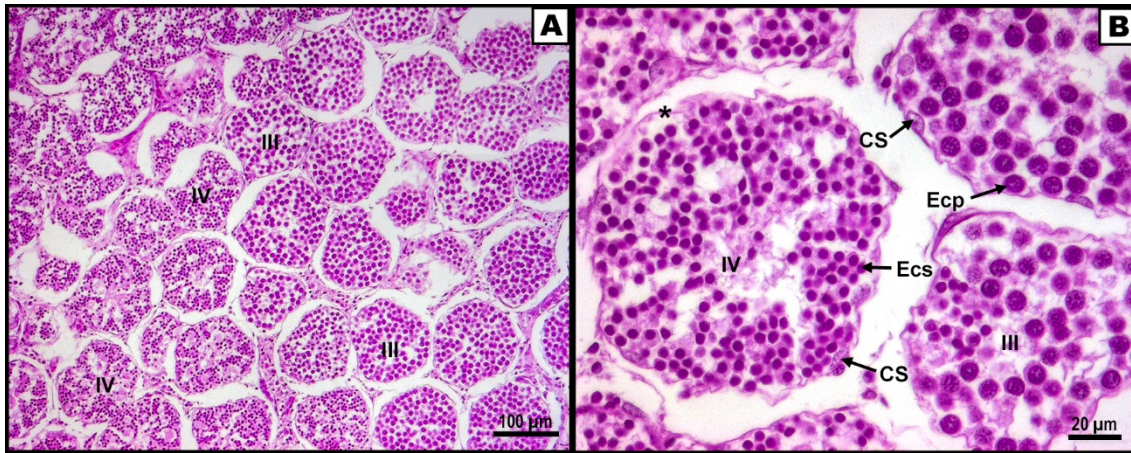




**Figura 46.** Espermatocistos con espermatocitos primarios. **A)** Vista general de los espermatocistos en estadio III y IV. Tinción H-E, 10X. **B)** Detalle del espermatocisto en estadio III, se observan espermatocitos primarios en profase (Eco) y espermatocitos primarios en metafase (Ecm), células de Sertoli (CS) y la membrana basal (\*). Tinción H-E, 40X.

#### **Estadio IV. Espermatocistos con espermatocitos secundarios**

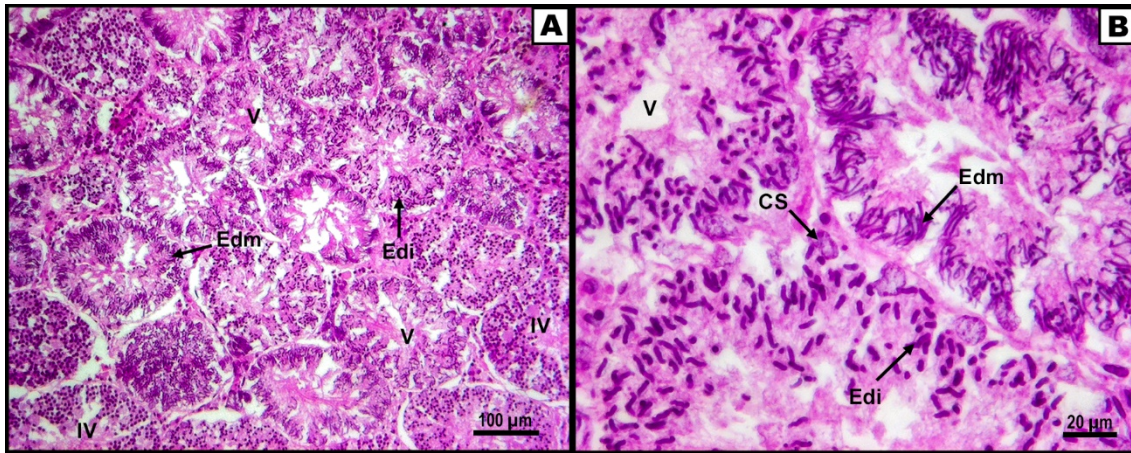
El diámetro de estos espermatocistos varía de 132.5 a 187.5 µm. En este estadio los espermatocitos primarios completan la primera división meiótica, dan lugar a los espermatocitos secundarios. Son células de tamaño menor (4-6 µm de diámetro), con núcleos fuertemente heterocromáticos. En esta etapa se da la segunda división meiótica (Fig. 47).



**Figura 47.** Espermatocistos con espermatocitos secundarios. **A)** Vista general de los espermatocistos en estadio III y IV. Tinción H-E, 10X. **B)** Detalle del espermatocisto en estadio IV, se observan espermatocitos secundarios (Ecs), células de Sertoli (CS) y la membrana basal (\*), se observan espermatocitos primarios en espermatocistos en estadio III. Tinción H-E, 40X.

### **Estadio V. Espermatocistos con espermátidas**

Este estadio está definido por el comienzo de la espermiogénesis, marcado por la aparición de las espermátidas en los cistos, tienen un diámetro de 130 a 210 µm. Pueden diferenciarse dos etapas en la maduración de las espermátidas: inmaduras y maduras. Las espermátidas inmaduras ocupan todo el espacio del cisto, son células de tamaño menor que los espermatocitos secundarios (3-5 µm de diámetro) de núcleo esférico. En las espermátidas maduras el núcleo comienza a ovalarse, estas células tienen un tamaño de 5 a 12 µm. A medida que avanza el desarrollo, estas células se agrupan en manojos laxos, con los núcleos orientados hacia la membrana basal y con los esbozos flagelares hacia el lumen (Fig. 48).

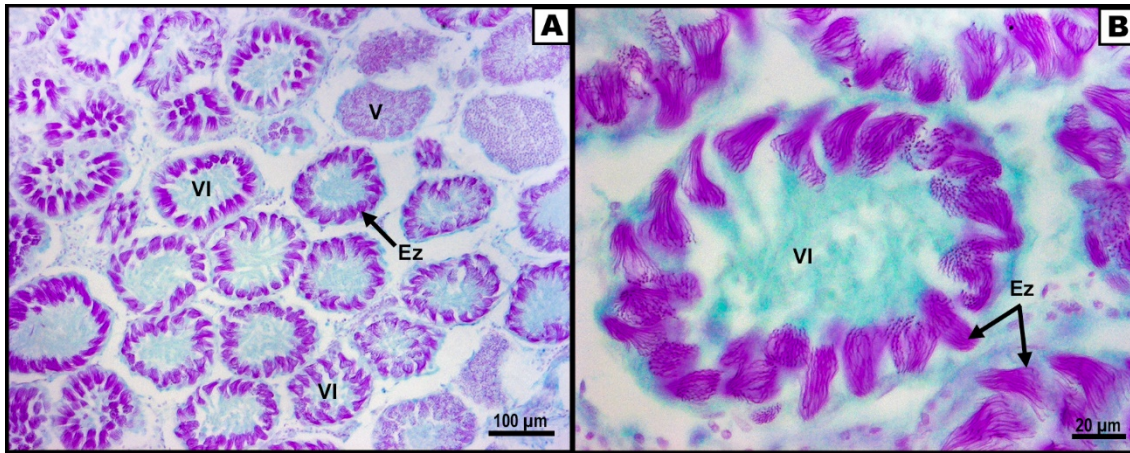


**Figura 48.** Espermatocistos con espermátidas. **A)** Vista general de los espermatocistos en estadio IV y V, se observan espermátidas inmaduras (Edi) y maduras (Edm). Tinción H-E, 10X. **B)** Detalle del espermatocisto en estadio V, se observan espermátidas inmaduras (Edi), espermátidas maduras (Edm) y células de Sertoli (CS). Tinción H-E, 40X.

#### **Estadio VI. Espermatocistos con espermatozoides inmaduros**

El diámetro de estos espermatocistos es de 155 a 200 µm. La etapa se caracteriza por una mayor condensación cromática en el núcleo celular y por la diferenciación evidente de la cabeza y la cola de los espermatozoides. Los espermatozoides inmaduros se encuentran agrupados en manojos laxos, con la cabeza embebida en las células de Sertoli y los flagelos filiformes hacia el lumen. Estos ramilletes laxos tienen una longitud de 20 a 35 µm (Fig. 49).

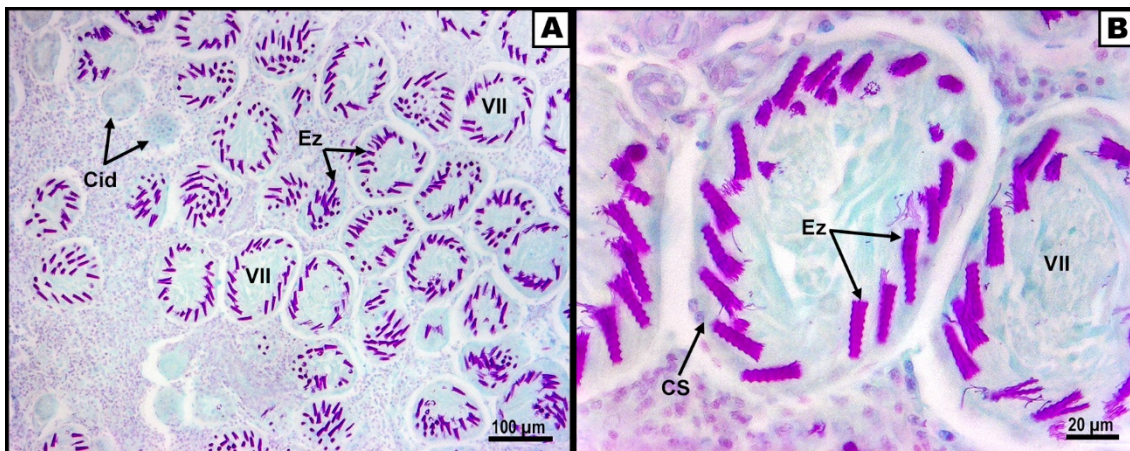




**Figura 49.** Espermatocistos con espermatozoides inmaduros. **A)** Vista general de los espermatocistos en estadio V y VI, se observa espermia inmaduro (Ez). Tinción Feulgen, 10X. **B)** Detalle del espermatocisto en estadio VI, se observan los paquetes laxos formados por espermatozoides inmaduros (Ez). Tinción Feulgen, 40X.

### **Estadio VII. Espermatocistos con espermatozoides maduros**

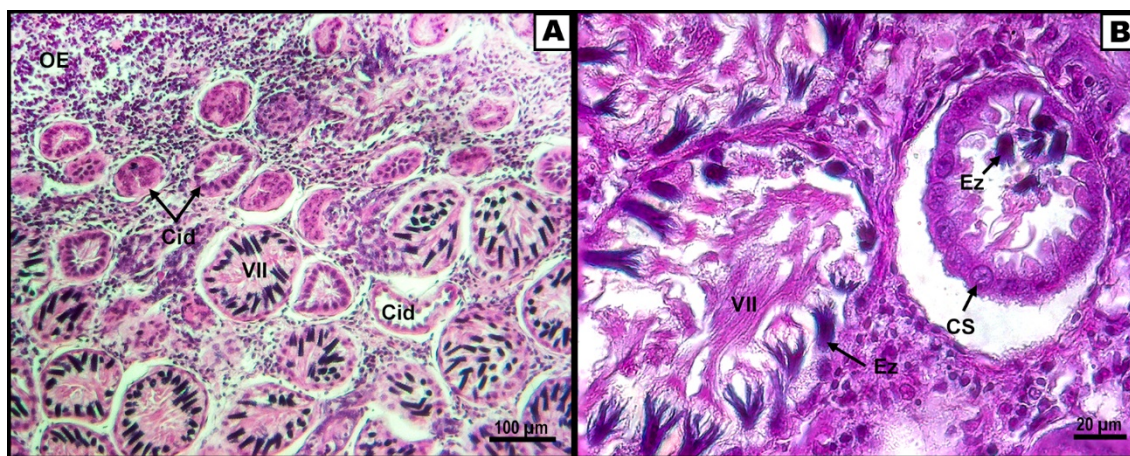
En este estadio los espermatozoides están completamente diferenciados, el diámetro de los espermatocistos varía de 100 a 175 µm. Se organizan en paquetes compactos de 20 a 34 µm de longitud. Cada uno de los paquetes se encuentra asociado a una célula de Sertoli (Fig. 50).



**Figura 50.** Espermatocistos con espermatozoides maduros. **A)** Vista general de los espermatocistos en estadio VII, se observa espermia maduro (Ez) y espermatocistos en degeneración (Cid). Tinción Feulgen, 10X. **B)** Detalle del espermatocisto en estadio VII, se observan los paquetes compactos formados por espermatozoides maduros (Ez) y células de Sertoli (CS). Tinción Feulgen, 40X.

## Zona de degeneración

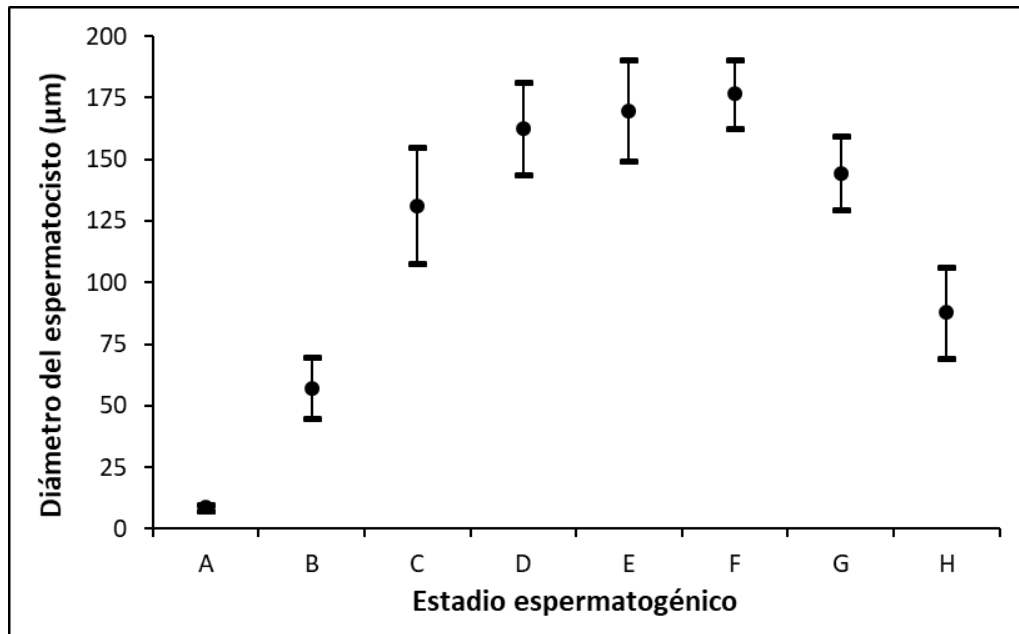
Esta área sigue a la anterior y se encuentra más cercana a los conductos. Se observan cistos de menor tamaño (50-125  $\mu\text{m}$  de diámetro) con restos de espermatozoides y células de Sertoli en degeneración. Estos cistos son el resultado de la eliminación del espermatozoides transportados al sistema de conductos intratesticulares (Fig. 51).



**Figura 51.** Zona de degeneración. **A)** Vista general de espermatocistos en degeneración (Cid), espermatocitos en estadio VII y órgano epigonal (OE). Tinción H-E, 10X. **B)** Detalle de un espermatocisto en degeneración, se observa resto de espermatozoides (Ez) y células de Sertoli (CS). Tinción H-E, 40X.

El diámetro de los espermatocistos medidos nos indica que estos aumentan en tamaño a medida que avanza el proceso de la espermatogénesis y disminuyen al término de esta. Los espermatocistos con espermátidas fueron los que presentaron el mayor diámetro (Fig. 52).





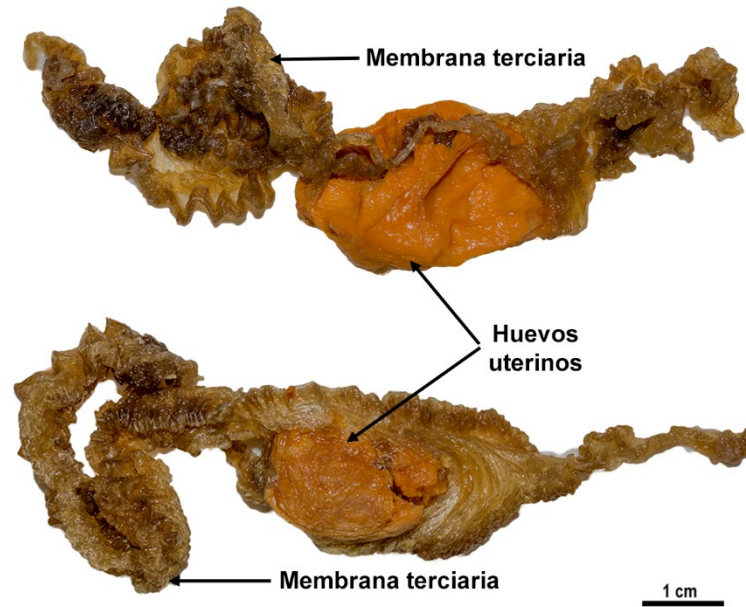
**Figura 52.** Relación entre el diámetro de los espermatocistos contra el estadio espermatogénico. Los valores indican el promedio y la desviación estándar. **A:** Espermatogonias; **B:** Espermatocistos con espermatogonias; **C:** Espermatocistos con espermatocitos primarios; **D:** Espermatocistos con espermatocitos secundarios; **E:** Espermatocistos con espermátidas; **F:** Espermatocistos con espermatozoides inmaduros; **G:** Espermatocistos con espermatozoides maduros; **H:** Espermatocistos en degeneración.

## 7.6 Crecimiento fetal y embrionario

Para caracterizar el crecimiento fetal y embrionario se establecieron seis etapas de desarrollo, cabe mencionar que todos los embriones se encontraban dentro de la membrana terciaria y esta fue retirada para una mejor descripción.

### Etapas 1

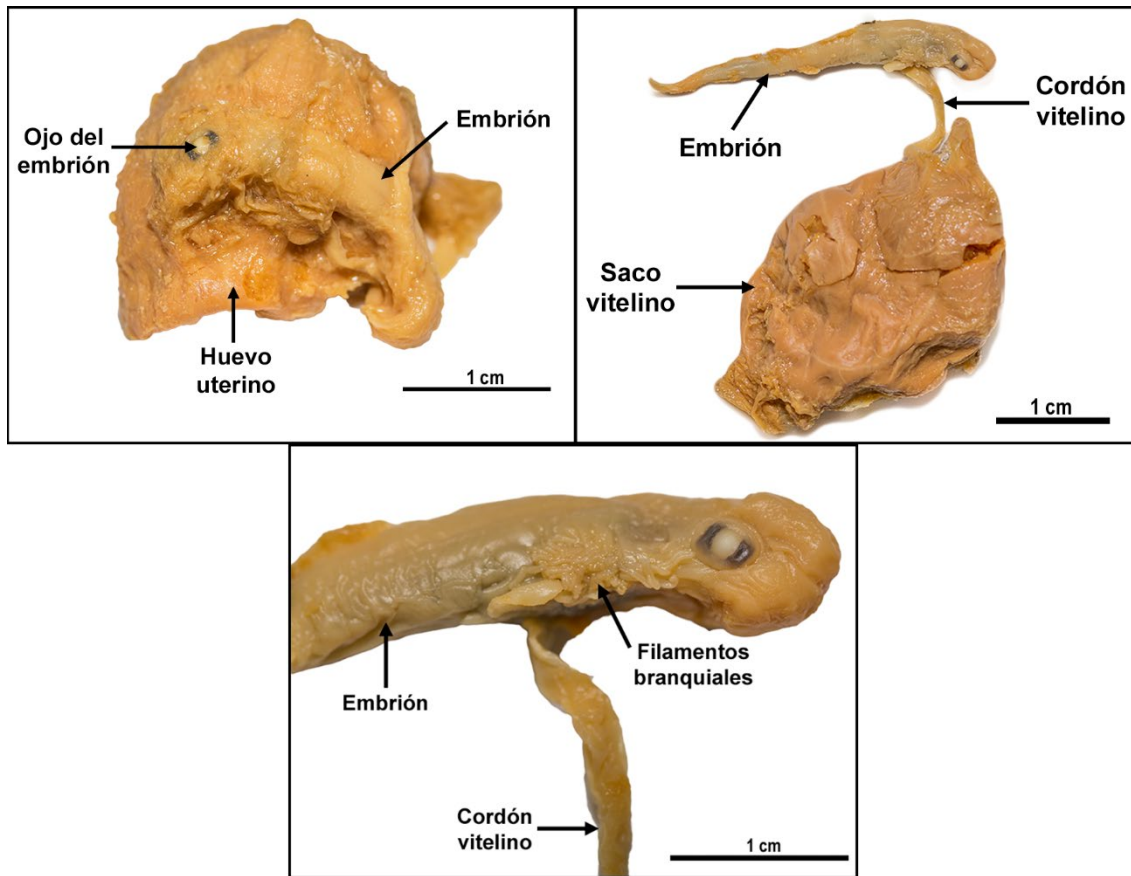
Esta etapa se encuentra caracterizada por huevos uterinos con un diámetro de 2 a 4.8 cm, los cuales presentaban gran cantidad de vitelo de color amarillo y una membrana terciaria que lo rodeaba en su totalidad. Este huevo uterino será el saco vitelino del que dependerá el embrión en las primeras etapas de desarrollo (Fig. 53).



**Figura 53.** Etapa 1 del crecimiento fetal y embrionario de *M. lunulatus*.

## **Etapa 2**

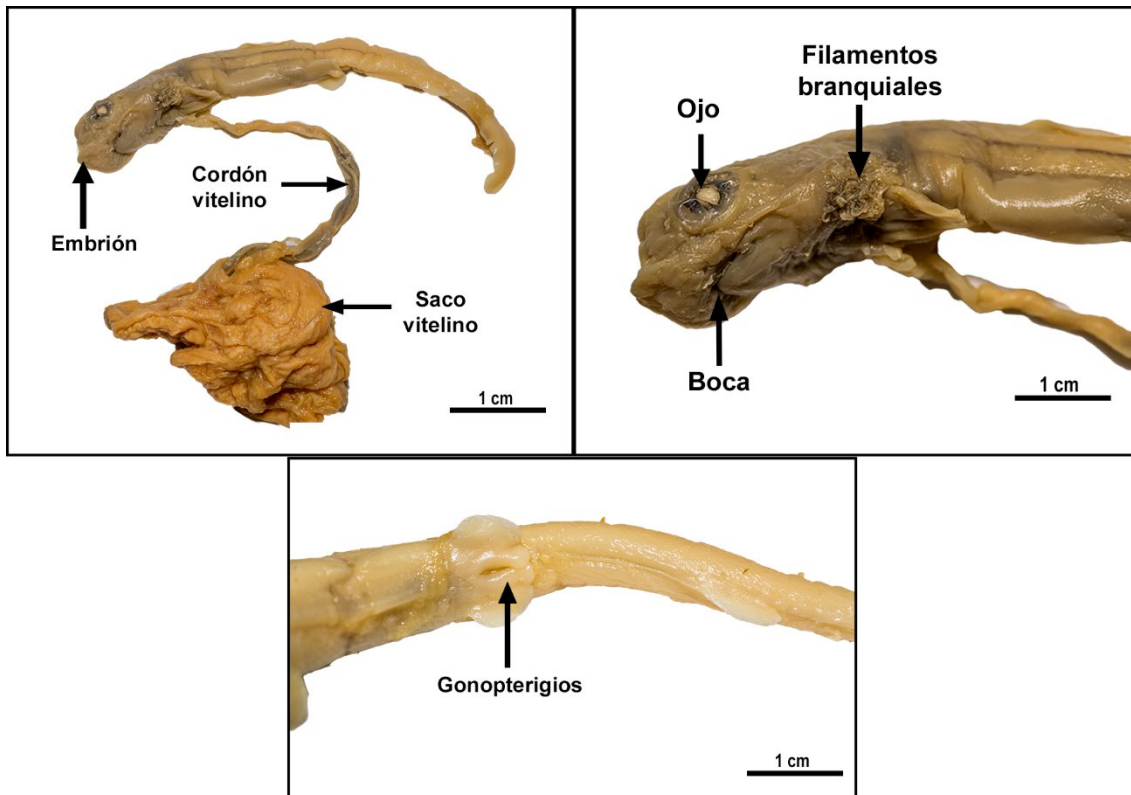
En esta etapa se consideraron embriones de 1.3 a 3.5 cm de longitud, se encuentran unidos al saco vitelino por medio de un cordón vitelino corto y delgado. El embrión es de forma semitubular con coloración amarilla lechosa, presentan protuberancias en la cabeza y cuatro orificios lateralmente las cuales darán origen a las hendiduras branquiales, mismas que están cubiertas por los filamentos branquiales. En algunos casos, el embrión es poco perceptible ya que se encuentra unido al huevo uterino. Las demás estructuras no se encuentran definidas (Fig. 54).



**Figura 54.** Etapa 2 del crecimiento fetal y embrionario de *M. lunulatus*.

### **Etapas 3**

Los embriones en esta etapa tienen una longitud de 3.6 a 5.2 cm, un cambio de coloración a amarillo oscuro, la boca y los orificios nasales se encuentran definidos, así como las aletas pectorales, pélvicas y caudal. Se pueden identificar la presencia o ausencia de los gonopterigios. El cordón vitelino continúa corto y es robusto (Fig. 55).

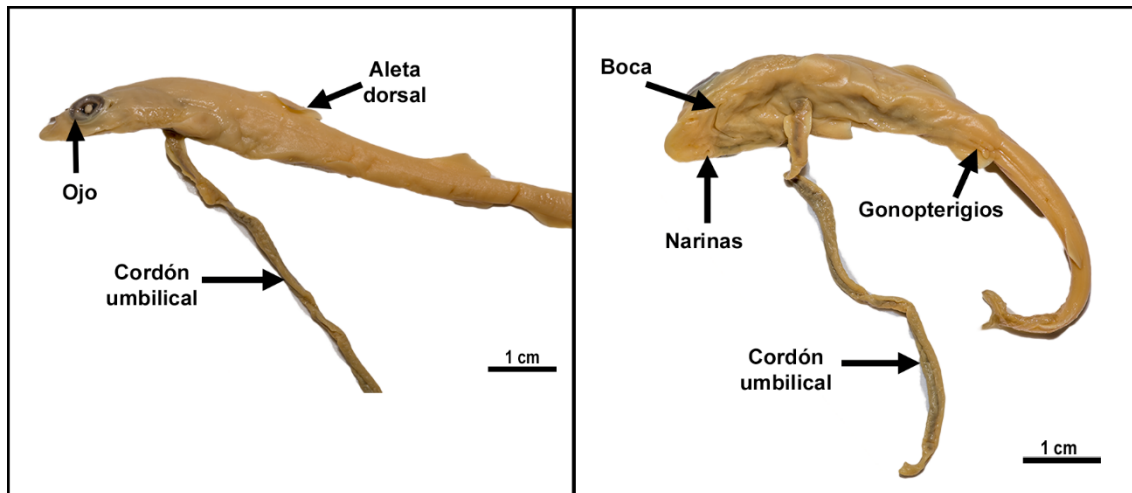


**Figura 55.** Etapa 3 del crecimiento fetal y embrionario de *M. lunulatus*.

#### **Etapas 4**

Se observaron embriones con tallas de 5.3 a 8.7 cm de LT. La cabeza comienza a aplanarse para formar el rostrum, las hendiduras branquiales están completamente definidas sin la presencia de los filamentos branquiales, la piel esta escasamente pigmentada. El tamaño del saco vitelino ha disminuido, este se implantará en el útero de la madre para formar la placenta. Los embriones están unidos al útero de la madre por medio de un cordón umbilical (Fig. 56).

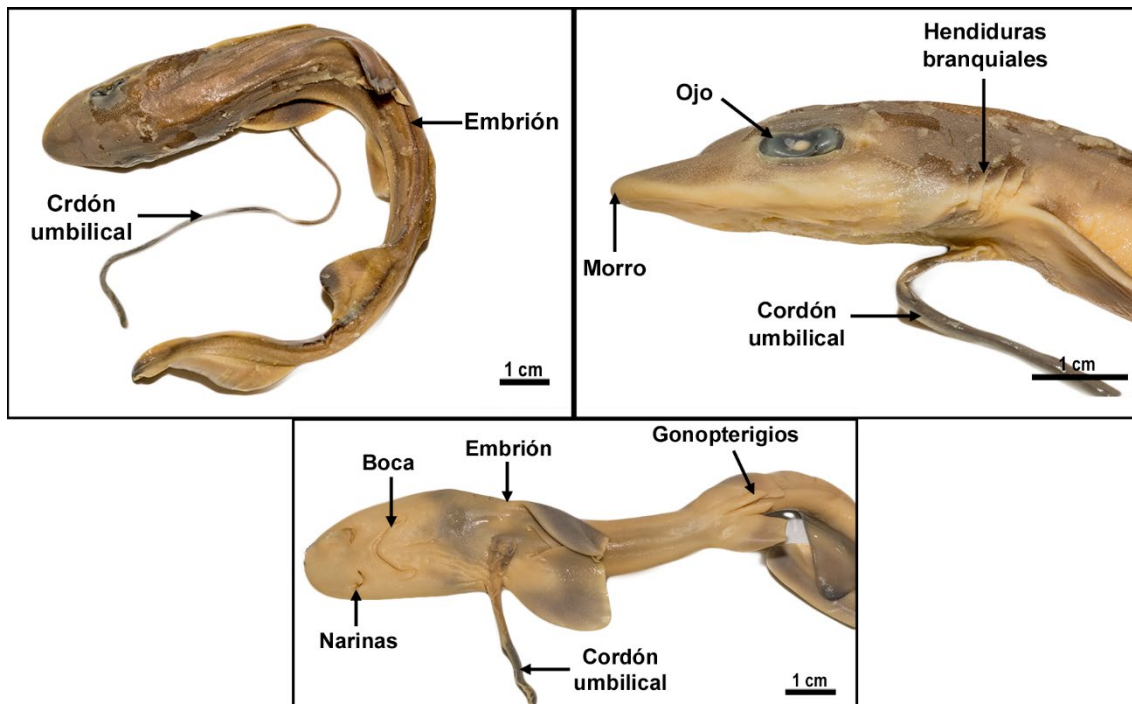




**Figura 56.** Etapa 4 del crecimiento fetal y embrionario de *M. lunulatus*.

### Etapa 5

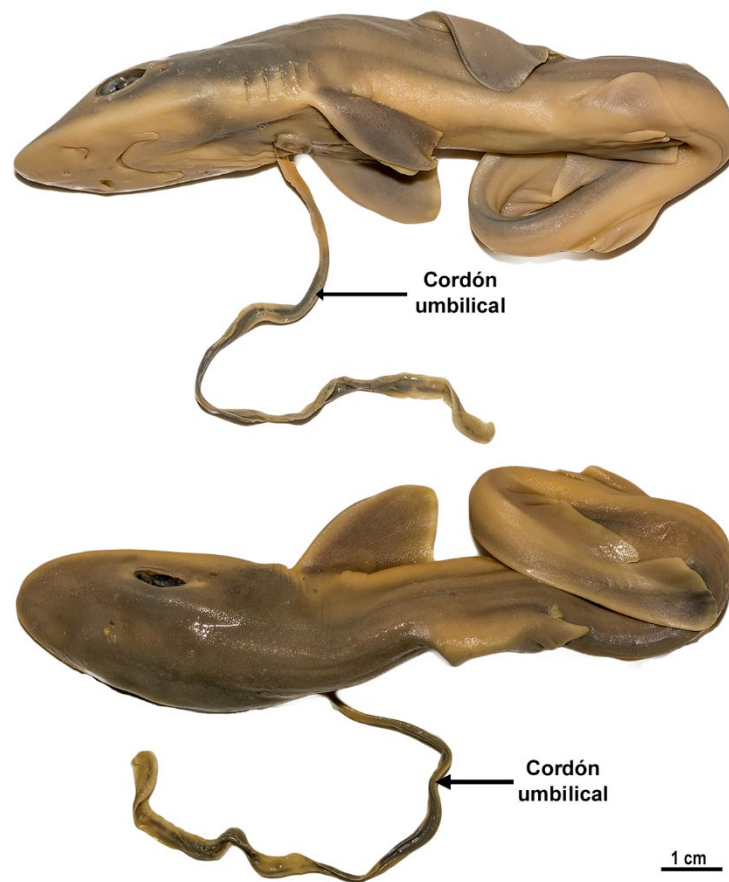
Los embriones en esta etapa oscilan entre los 8.8 y 18 cm de LT y su cuerpo se encuentra en forma de “u” para maximizar el espacio dentro del útero. Presentan un rostrum formado completamente, las aletas perfectamente definidas y el desarrollo de los dientes. Comienzan a adquirir la coloración de un ejemplar adulto (Fig. 57).



**Figura 57.** Etapa 5 del crecimiento fetal y embrionario de *M. lunulatus*.

## Etapa 6

En esta etapa se consideraron embriones con tallas mayores a los 18 cm de LT. Ya no presentan cambios en su anatomía, todas las estructuras se encuentran completamente definidas, adquiere la coloración característica de la especie, gris en el dorso y blanco en el abdomen. El tamaño máximo fue de 26 cm de LT (Fig. 58).



**Figura 58.** Etapa 6 del crecimiento fetal y embrionario de *M. lunulatus*.

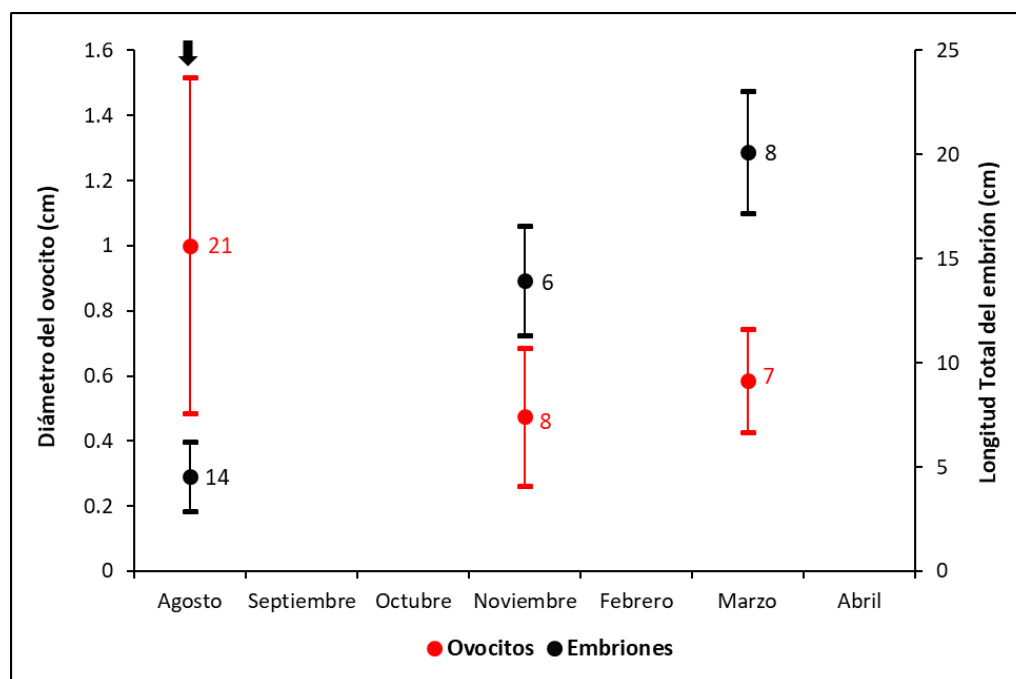
### 7.7 Ciclo reproductivo

De acuerdo con la variación mensual del diámetro promedio de los ovocitos presentes en hembras maduras, se determinó que las hembras con los ovocitos más grandes y vitelogénicos listos para ser ovulados se encontraron en el mes de agosto. Así mismo,

en agosto se registraron hembras con huevos uterinos, lo que nos sugiere que la ovulación se lleva a cabo en un periodo de tres meses, de julio a septiembre.

Por otra parte, mediante el análisis del crecimiento fetal y embrionario a través de los meses, se puede inferir que el periodo de gestación de *M. lunulatus* tiene una duración aproximada de 11 meses y el alumbramiento ocurriendo durante los meses de veda ya que los primeros estadios embrionarios aparecen durante el mes de agosto continuando con su desarrollo embrionario a lo largo del año y las mayores longitudes observadas en este trabajo se presentaron durante el mes de abril (Fig. 59). No se logró determinar la talla de nacimiento del tiburón segador en Bahía Tortugas, BCS, por la falta de ejemplares neonatos.

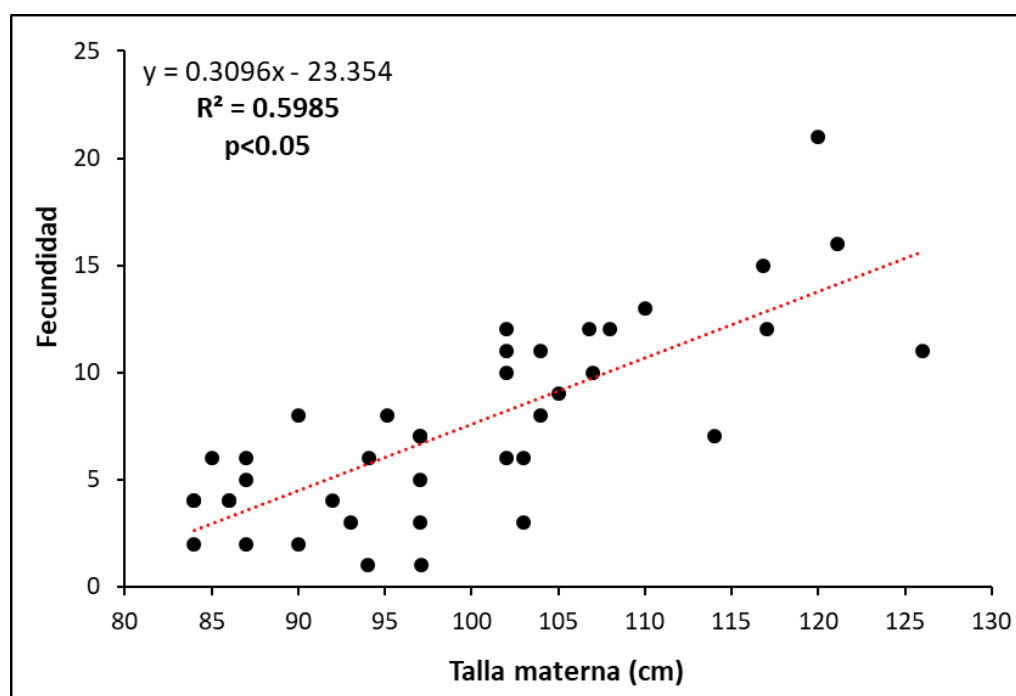
Con base en la variación mensual del diámetro de los ovocitos y la LT de los embriones, se sugiere que el tiburón segador tiene un ciclo reproductivo anual continuo.



**Figura 59.** Variación mensual del diámetro de los ovocitos y la LT del embrión. Los valores indican el promedio y la desviación estándar. El número indica el tamaño de muestra mensual de hembras grávidas. La flecha señala el mes dónde se registraron hembras con huevos uterinos.

## 7.8 Fecundidad uterina

Del total de las hembras registradas, se encontraron embriones en 28 hembras con tallas mayores a 84 cm de LT. El número de embriones varió de 1 a 21, con una moda de 12 y un promedio de  $8.32 (\pm 4.78)$ . El resultado de la regresión lineal indica la existencia de una relación positiva significativa entre la talla materna y la fecundidad ya que conforme aumenta el tamaño de la hembra aumenta el número de embriones (Fig. 60).

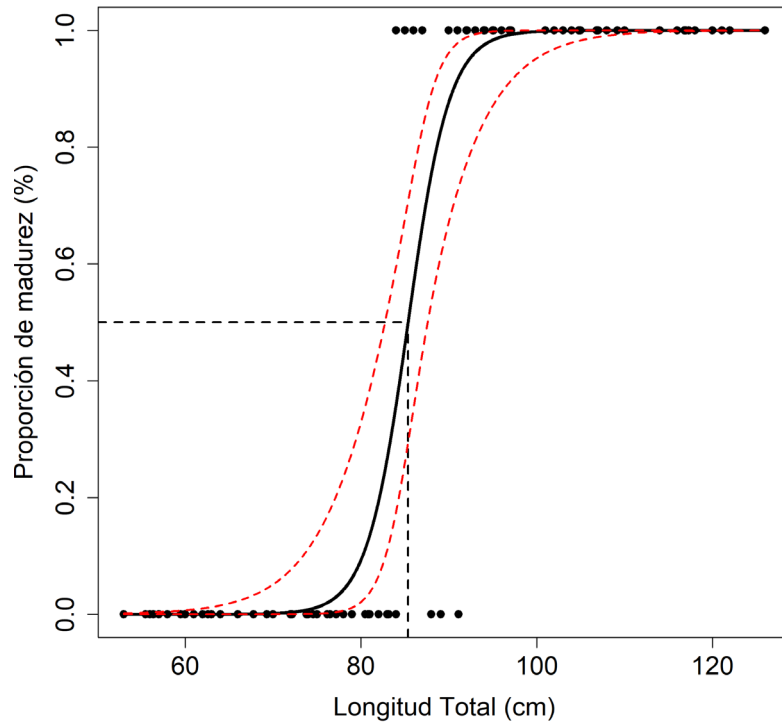


**Figura 60.** Regresión lineal entre la fecundidad y la talla materna de *M. lunulatus* en Bahía Tortugas, BCS.

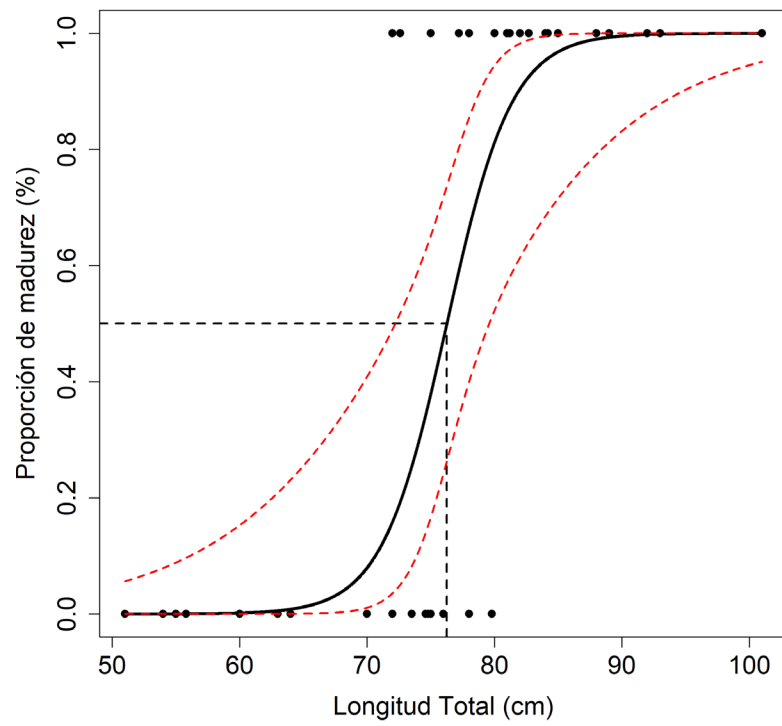
## 7.9 Talla media de madurez sexual ( $L_{50}$ )

Con base en las características macroscópicas y la validez del estadio de madurez mediante el análisis histológico, se obtuvo una talla media de madurez sexual para hembras de *M. lunulatus* de 85.36 cm de LT (IC al 95% de 83.29 y 87.43 cm de LT) (Fig. 61) y para machos de 76.26 cm de LT (IC al 95% de 73.63 y 78.89 cm de LT) (Fig. 62).





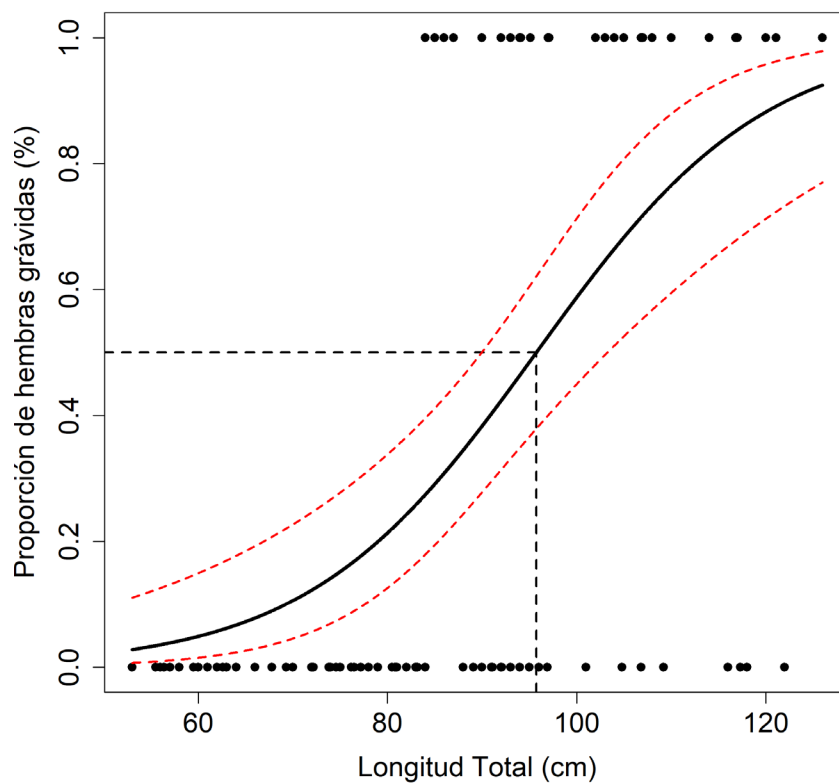
**Figura 61.** Talla media de madurez sexual para hembras de *M. lunulatus* en Bahía Tortugas, BCS.



**Figura 62.** Talla media de madurez sexual para machos de *M. lunulatus* en Bahía Tortugas, BCS.

### 7.10 Talla de maternidad ( $L_{m50}$ )

De acuerdo con la proporción de hembras en condición no materna y condición materna de *M. lunulatus*, se estimó una talla de maternidad de 95.73 cm de LT (IC al 95% de 89.78 y 101.69 cm de LT) (Fig. 63)



**Figura 63.** Talla de maternidad para hembras de *M. lunulatus* en bahía Tortugas BCS.

A continuación, se muestra una tabla comparativa entre los trabajos previos y el presente estudio sobre los parámetros reproductivos de *M. lunulatus*.

**Tabla 4.** Comparación de los parámetros reproductivos de *M. lunulatus*.

| <b>Parámetros reproductivos</b>                 | <b>¿? (Compagno, 1984)</b> | <b>Colombia (Navia <i>et al.</i>, 2006)</b> | <b>Norte del Golfo de California (Pérez-Jiménez &amp; Sosa-Nishizaki, 2010)</b> | <b>Bahía Tortugas, BCS (Presente estudio)</b> |
|-------------------------------------------------|----------------------------|---------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Ciclo reproductivo                              | -                          | -                                           | Anual                                                                           | Anual                                         |
| Periodo de gestación                            | -                          | -                                           | 11 meses                                                                        | 11 meses                                      |
| Periodo de ovulación                            | -                          | -                                           | marzo-junio                                                                     | julio-septiembre                              |
| Periodo de nacimiento                           | -                          | -                                           | febrero-mayo                                                                    | mayo-julio                                    |
| Talla de nacimiento (cm de LT)                  | 32-35                      | -                                           | 28-34.5                                                                         | -                                             |
| Fecundidad                                      | -                          | 4-8                                         | 6-19                                                                            | 1-21                                          |
| Relación LT materna vs fecundidad               | -                          | -                                           | Si                                                                              | Si                                            |
| Talla de madurez sexual para hembras (cm de LT) | 97                         | 79.9- 93.5                                  | 103.2                                                                           | 84.42                                         |
| Talla de madurez sexual para machos (cm de LT)  | 70-83                      | 79.9- 93.5                                  | 91.5                                                                            | 77.28                                         |
| Talla de maternidad (cm de LT)                  | -                          | -                                           | -                                                                               | 95.73                                         |

## 8. DISCUSIÓN

### 8.1 Composición de tallas y proporción de sexos

El tiburón *Mustelus lunulatus* es una especie capturada por la pesca artesanal de las costas de BCS, en donde representa el 0.54% de la captura total de condriccios (Ramírez-Amaro *et al.*, 2013).

En el presente estudio se registraron tallas dentro del intervalo reportado por Navia *et al.* (2006) en el pacífico colombiano y Pérez-Jiménez & Sosa-Nishizaki, (2010) en el G.C. Sin embargo, en el G.C. se capturaron individuos de mayor tamaño, lo cual pudo deberse al uso de dos diferentes artes de pesca, redes de enmalle y palangre. Con las redes de enmalle se pescan individuos pequeños con una talla media de captura (T.M.C.) de 46.66 cm de LT y con el palangre organismos más grandes con una TMC de 83.46 cm de LT (Cortés, 2000; Bustamante, 2007).

En este estudio se demostró que las hembras son de mayor tamaño que los machos, en elasmobranquios es común encontrar hembras de mayor tamaño que los machos (Downton-Hoffmann, 2007). Las diferencias en tamaño podrían estar relacionadas con la estrategia reproductiva, a medida que aumenta el tamaño, mayor es la cavidad abdominal y por ende puede haber un mayor número de crías (Walmsley-Hart *et al.* 1999, Cortés, 2000).

La proporción sexual nos permite inferir la existencia de una probable segregación espacial por sexos, respondiendo a la fase del ciclo reproductivo que se presente en el momento (Grijalba-Bendeck *et al.*, 2008). Wourms (1977) menciona que los elasmobranquios tienden a segregarse después de haber llegado a la madurez sexual.

En Colombia esta reportada una proporción de sexos de *M. lunulatus* de 1H:1M (Navia *et al.*, 2006), en el presente estudio se encontraron más hembras que machos sugiriendo una segregación sexual en la zona de Bahía Tortugas, ya que las hembras preñadas y juveniles se encuentran cerca de la costa con el fin de evadir la depredación (Muñoz-Chápuli, 1984), así mismo la presencia de tiburones costeros en

bahías y estuarios podría estar relacionado con el apareamiento, el parto y la búsqueda de alimento (Espinoza *et al.*, 2011).

Por otra parte, Torres-Huerta *et al.*, (2008) menciona que las hembras de mayor tamaño que los machos, tienden a ser más vulnerables a la pesca con redes agalleras de deriva, susceptibles de ser atrapadas con mayor facilidad.

Pratt & Otake (1990) recomiendan obtener la proporción sexual con base en las crías intrauterinas. En el presente estudio se obtuvo una proporción de embriones de 1H:1M, coinciden con lo encontrado en otros tiburones de este género como *M. henlei* (Silva-Santos, 2012; Soto-López *et al.*, 2018) *M. punctulatus* (Saïdi *et al.*, 2009), *M. lenticulatus* (Francis & Mace, 1980) y *M. schmitti* (Sidders *et al.*, 2005).

## **8.2 Descripción macroscópica e histológica del aparato reproductor de *Mustelus lunulatus***

El plan de organización de los peces cartilaginosos es un modelo persistente a lo largo de más de 400 millones de años (McEachran & Dunn, 1998; Musick & Ellis, 2005).

La anatomía general del tracto reproductor de ambos sexos de *M. lunulatus* concuerda en aspectos generales con la de otras especies de tiburones vivíparos (Dood, 1983; Hamlet, 2005; Kunz *et al.*, 2009).

### **8.2.1 Ovario**

La presencia de un solo ovario funcional acompañado del órgano epigonal en *M. lunulatus* confirma una característica usual del género (TeWinkel, 1950; Storrie *et al.*, 2009; Silva-Santos, 2012; Galíndez *et al.*, 2014).

El órgano epigonal es un órgano linfomieloide, exclusivo de los condriictios y especializado en la producción de granulocitos y linfocitos (Honma *et al.*, 1984; Galíndez & Aggio, 1997; 2002). Está íntimamente asociado a las gónadas y su interrelación varía con la madurez sexual y la especie (Galíndez & Aggio, 2002). En el cazón segador, el órgano epigonal es notorio en todas las hembras, menos representado en las maduras y grávidas. De igual manera, esto fue observado en otras



especies de condriictios (Galíndez *et al.*, 2014; Díaz-Andrade, 2010; Bernal-Pérez, 2017).

La estructura ovárica del cazón segador, en la que se observan folículos en distintas etapas del desarrollo, localizados debajo de un epitelio simple y una túnica albugínea desarrollada, es característica del modelo de “ovario externo”, típico de los miembros del orden Carcharhiniformes (Pratt, 1988).

En individuos inmaduros, el ovario se caracteriza por la presencia de ovocitos blanquecinos poco perceptibles, histológicamente forman nidos de ovogonias, folículos primordiales y primarios. Los ejemplares analizados de *M. lunulatus* presentan ovogonias incluso en hembras grávidas, de igual manera que en *M. schmitti* (Galíndez *et al.*, 2010a) lo que nos sugiere que el potencial reproductivo de la especie o incluso del género es alto. Esto no es frecuente en los condriictios, en algunas especies como *Sympterygia acuta* (Díaz-Andrade, 2010), *Zearaja chilensis* (Wehitt *et al.*, 2015) y *Atlantaroja platana* (Moya, 2016) las ovogonias sólo se encuentran en embriones y neonatos, lo cual suele asociarse con un bajo potencial reproductivo (Koob & Callard, 1991; Prisco *et al.*, 2001).

En individuos sexualmente maduros, se observan ovocitos vitelogénicos en diferentes grados de desarrollo con tonos amarillos, su estructura histológica da la evidencia de diferentes etapas de desarrollo folicular, estos están conformados por un epitelio folicular asociado a su lámina basal y un revestimiento tecal, tal como ha sido observado para la mayoría de los condriictios (Walker, 2005).

El proceso de desarrollo y maduración de los folículos se denomina foliculogénesis y se consideran dos etapas consecutivas: previtelogénesis y vitelogénesis. En la primera, como parte del proceso meiótico, los ovocitos experimentan un incremento progresivo de tamaño debido a la acumulación de precursores de ADN, ARN y proteínas, seguido por un aumento del número de organelos subcelulares (Davidson, 1994; Barone *et al.*, 2007; Beyo *et al.*, 2008). En el cazón segador se observó el incremento progresivo del diámetro folicular, a medida que se avanza en las etapas de la foliculogénesis, sin embargo, no fue posible identificar los cuerpos de Balbiani. Los cuerpos de Balbiani, asociados a la biosíntesis

de proteínas, tanto en folículos primarios como en desarrollo, son clave para las actividades metabólicas que anteceden a la vitelogénesis (Selman & Wallace, 1989).

La vitelogénesis es el proceso por el cual se acumula vitelo en el ooplasma. La acumulación de vitelo produce en gran medida el incremento del diámetro folicular y es esencial para el posterior desarrollo embrionario (Mannire *et al.*, 2004; Barone *et al.*, 2007). En el comienzo del proceso, los folículos se caracterizan por la presencia de gránulos pequeños de vitelo dispersos en la periferia del citoplasma. En los folículos más grandes, los precursores tienden a empaquetarse, formando discos elípticos (Prisco *et al.*, 2007). La maduración de los precursores vitelínicos en forma centrípeta fue observado en *M. lunulatus* y es un aspecto común en otros elasmobranquios como *M. schmitti* (Galíndez *et al.*, 2014).

La zona pelúcida es una delgada capa acelular compuesta por glicoproteínas y es producida, en parte, por las células foliculares y el ovocito (Hamlett *et al.*, 1999b; Prisco *et al.*, 2003). Está involucrada en funciones tales como la reacción acrosómica, el bloqueo de la polispermia y en la protección del embrión (Ravaglia & Maggese, 2003). En los peces cartilaginosos presenta un comportamiento atípico, dado que incrementa su espesor drásticamente, logrando alcanzar anchos extremos (Davenport *et al.*, 2011). En *M. lunulatus* la deposición de la zona pelúcida es temprana, observándose ya en los folículos primordiales. El grosor de esta región mostró un incremento marcado durante la etapa previtelogénica, mayor a 37.5 µm de espesor, y un posterior adelgazamiento, como lo observado en *M. canis* (Davenport *et al.*, 2011) y *M. schmitti* (Galíndez *et al.*, 2014). Esto último podría deberse a un aumento del diámetro folicular.

En los condriictios, como *M. lunulatus*, la pseudoestratificación de la capa folicular sólo perdura hasta el inicio de la vitelogénesis, es una característica observada en otras especies del género como *M. antarcticus* (Storrie *et al.*, 2009) y *M. schmitti* (Galíndez *et al.*, 2010a; Galíndez *et al.*, 2014). Por el contrario, los Rájidos y Torpediniformes muestran estratificación con la presencia de distintos tipos celulares foliculares hasta la ovulación (Prisco *et al.*, 2001; Díaz-Andrade *et al.*, 2009; Wehitt *et al.*, 2015).

Al igual que otros condriktios (Díaz-Andrade *et al.*, 2009; Prisco *et al.*, 2007, Wehitt *et al.*, 2015, Galíndez *et al.*, 2014), *M. lunulatus* presenta una doble teca por fuera de la granulosa. La interna incrementa su vascularización en el comienzo de la vitelogénesis. Esto puede interpretarse como una adaptación tendiente a optimizar el flujo de precursores vitelinos. La teca externa, por su parte, es de naturaleza glandular y se le atribuyen funciones esteroideogénicas que contribuirían con dicho proceso (Prisco *et al.*, 2007).

En hembras maduras y grávidas de *M. lunulatus*, el ovario tiene una cantidad variable de cuerpos lúteos. Considerando que el cazón segador es una especie vivípara matrotrofica (Pérez-Jiménez & Sosa-Nishizaki, 2010), se sugiere que su presencia es clave para sustentar la gestación ya que existe evidencia de la función esteroidogénica de los cuerpos lúteos en condriktios (Hamlett, 2005, Waltrick *et al.*, 2017). Las especies ovíparas presentan cuerpos lúteos en forma momentánea, mientras en las especies vivíparas matrotroficas tienen una permanencia prolongada (Hamlett & Koob, 1999; Galíndez *et al.*, 2010a; Galíndez, 2016).

Los folículos atrésicos resultan de la involución folicular en cualquier etapa de su desarrollo; en los condriktios, la frecuencia de atresia es alta (Hisaw & Hisaw, 1959; Hamlett & Kobb, 1999). En *M. lunulatus*, solo se observó la evidencia de atresia en folículos previtelogénicos. En *M. schmitti*, Galíndez *et al.*, (2010a; 2014) reportaron atresia en folículos en cualquier etapa de desarrollo. El mecanismo por el cual se desencadena este proceso en los peces cartilaginosos es desconocido (Hamlett & Kobb, 1999). Independientemente de los mecanismos de autocontrol de la viabilidad folicular, es probable que la atresia contribuya a regular la frecuencia de la ovulación y a mantener constantes las cohortes foliculares durante el ciclo reproductivo (Galíndez *et al.*, 2010a).

En este estudio, la talla máxima registrada de los folículos ovulados fue de 20 mm, en coincidencia con el intervalo de valores reportados en otras especies del género como *M. antarcticus* (Walker, 2005), *M. asterias* (Capapé, 1983), *M. canis* (TeWinkel, 1950), *M. henlei* (Pérez-Jiménez & Sosa-Nishizaki, 2008), *M. griseus*, *M. manazo* (Teshima, 1981), *M. lenticulatus* (Francis & Mace, 1980), *M. mustelus* (Saïdi

*et al.*, 2008), *M. punctulatus* (Saïdi *et al.*, 2009) y *M. schmitti* (Galíndez *et al.*, 2014), señalan que los folículos "a término" varían de 15 a 28 mm. Esta condición podría no estar relacionada con el modo reproductivo o el tamaño de la madre, ya que las especies mencionadas anteriormente, incluyen animales placentarios y aplacentarios y comprenden tiburones de 95 a 185 cm de L.T.

### 8.2.2 Oviducto anterior

El sistema de conductos genitales presente en los elasmobranquios sigue patrones semejantes a los observados en vertebrados superiores (Nelson, 2006; Mc Millan, 2007). Además, muestran diferentes especializaciones en función al modo reproductivo de cada especie.

Una de las funciones más conocidas atribuidas a los oviductos anteriores es el transporte del ovocito, este transporte se da exclusivamente por la acción de los cilios, favorecido por la secreción de las células glandulares que actúan como lubricante (Metten, 1939). Hamlett & Koob (1999) sostienen que la ausencia de una capa muscular desarrollada en la pared del oviducto sustentaría la teoría del movimiento ciliar como motor del transporte de los ovocitos hacia la glándula oviducal. En *M. lunulatus* la túnica muscular poco desarrollada sugiere una contribución menor al movimiento del ovocito, sustentando así la teoría de Metten (1939). Por otra parte, en otras especies de condriktios como *Atlantaroja platana*, la túnica muscular está bien desarrollada y junto con las especializaciones del epitelio, favorecerían en gran medida al transporte del ovocito (Moya, 2016).

Otra función atribuida al oviducto anterior consiste en proveer el lugar donde se lleva a cabo la fertilización (Metten, 1939; Hamlett *et al.*, 2002b; Smith *et al.*, 2004; Storrie *et al.*, 2008). Se han observado espermatozoides en esta región en especies como *Scyliorhinus canicula* (Metten 1939), *Carcharias taurus*, (Gilmore, 1993) y *M. antarcticus* (Storrie *et al.*, 2008). En los ejemplares analizados de *M. lunulatus* no se observó esperma en el oviducto. Si tenemos en cuenta que las cubiertas del huevo de los elasmobranquios carecen de micrópilo y que la glándula oviducal es la responsable de la producción y secreción de las envolturas terciarias del huevo, lo más probable es que la fertilización ocurra en un sitio anterior a ella (Galíndez, 2016), ya que el esperma

no sería capaz de atravesar dichas cubiertas. Storrie *et al.* (2008), sugieren que la secreción de las células glandulares del oviducto anterior de *M. antarcticus* podría cumplir cierto papel en el proceso de fertilización de los ovocitos.

### 8.2.3 Glándula oviducal

La glándula oviducal es una estructura persistente a lo largo de la evolución de los condriktios, la función de este órgano es clave para el éxito reproductivo y de supervivencia de las especies. La encapsulación de los huevos es un proceso fundamental, mientras que las especies vivíparas forman envolturas terciarias transparentes y delgadas (Hamlett *et al.*, 2002a; Hamlett, 2005) como es el caso de *M. lunulatus*, las especies ovíparas forman cápsulas rígidas que protegen al huevo y al embrión durante el desarrollo, con el fin de evitar la acción corrosiva del agua de mar y los ataques de depredadores (Koob & Cox, 1988; Smith *et al.*, 2004; Galíndez & Estecondo, 2008).

Este órgano presenta la misma organización básica en todos los elasmobranquios estudiados, pero la relevancia de cada región glandular se correlaciona con las adaptaciones reproductivas de la especie (Hamlett, 2005). Presenta características histoquímicas, morfológicas y fisiológicas típicas en cada especie, variando básicamente en la representatividad de las distintas zonas (Galíndez & Estecondo, 2008).

El diseño funcional de la glándula oviducal de *M. lunulatus* concuerda con lo observado en la mayoría de los Elasmobranquios y especialmente con otros miembros de la familia Triakidae (Hamlett, 2005; Storrie *et al.*, 2008; Elías, 2015).

Al igual que sucede en el oviducto, los cilios presentes en el epitelio superficial de la glándula oviducal, en combinación con las secreciones mucosas, favorecen al tránsito anteroposterior del ovocito (Hamlett *et al.*, 2002a).

Como se mencionó previamente, las diferentes zonas pueden reconocerse y diferenciarse según su morfología y afinidad tintorial. Anteriormente, las regiones que se reconocían eran denominadas “zona secretora del albumen” y “zona secretora de la cáscara” (Metten, 1939; Prasad, 1945). Sin embargo, esta terminología basada en



la funcionalidad no era aplicable a todas las especies por lo que Hamlett *et al.* (1998) propusieron una terminología con base en la morfología de la túnica mucosa. En el presente trabajo se ha seguido este criterio para evitar confusiones debido a que, en la actualidad, es la utilizada con mayor frecuencia en la bibliografía.

Las zonas *club* y *papillary* corresponderían a la “zona secretora del albumen”. Esta región de la glándula es la encargada de producir la parte gelatinosa (“egg jelly”) de las envolturas terciarias que recubren al huevo y que son críticas en las primeras etapas del desarrollo embrionario (Smith *et al.*, 2004). En especies ovíparas la gelatina del huevo funciona como un soporte hidrodinámico del huevo y del embrión (Koob & Straus, 1998). En cambio, en especies vivíparas, la gelatina ocupa solo una pequeña proporción de la envoltura, mientras que, en tiburones placentarios, la parte gelatinosa rodea al óvulo fertilizado solo durante las primeras etapas de la gestación (Hamlett *et al.*, 2002a).

Las reacciones histoquímicas de PAS en la zona *club* de la glándula oviducal de *M. lunulatus* indican la presencia de mucopolisacáridos, ácidos sulfatados y carboxilados, observado también en otras especies, como *Urobatis jamaicensis* (Hamlett, 2005), *M. schmitti* (Díaz-Andrade *et al.*, 2008), *Raja velezi* (Soto-López, 2014) y *Cephaloscyllium ventriosum* (Bernal-Pérez, 2017).

La reacción histoquímica en la zona *papillary* en *M. lunulatus* es similar a la de otras especies, tales como *Iago omanensis*, (Hamlett *et al.*, 2002b), *M. schmitti*, *Sympterygia bonapartii* (Díaz-Andrade *et al.*, 2008), *R. velezi* (Soto-López, 2014) y *C. ventriosum* (Bernal-Pérez, 2017), confirman la presencia de glicoproteínas o cualquier sustancia mucoide con azúcares neutros, las secreciones mucoides de esta zona actúan como un lubricante entre el huevo y la cápsula (Nalini, 1940; Knight *et al.*, 1996)

Las zonas *baffle* y terminal corresponden con la anteriormente denominada “zona secretora de la cáscara”. La zona *baffle* es la encargada de producir los distintos tipos de cápsulas (“egg case”) o envolturas terciarias (“candle”) que se observan en los condriictios (Hamlett *et al.*, 1998; Hamlett *et al.*, 2002a). Varía en función, tamaño y complejidad de acuerdo con el modo reproductivo de cada especie. En especies

vivíparas como *M. lunulatus* (presente estudio), *M. canis*, *U. halleri*, *U. jamaicensis* (Hamlett *et al.*, 1998) y *M. schmitti* (Díaz-Andrade *et al.*, 2008) esta zona puede estar poco desarrollada, reducida o incluso ausente, mientras que, en las especies ovíparas como *S. acuta*, *S. bonapartii*, (Díaz-Andrade, 2010), *R. velezi* (Soto-López, 2014), *A. platana* (Moya, 2016) y *C. ventriosum* (Bernal-Pérez, 2017) está altamente especializada y marcadamente desarrollada. De acuerdo con Knight *et al.* (1996), las glándulas de la zona *baffle* producen un material que podría semejar al “cristal líquido”, negativo a la reacción del PAS y esto pareciera ser el caso del cazón segador.

Ninguno de los ejemplares analizados de *M. lunulatus* mostró la secreción activa de la membrana terciaria, pero la semejanza estructural de la zona *baffle* con otras especies sugiere que el mecanismo secretor se conserva.

La zona terminal es nombrada así por su posición, en especies ovíparas es la encargada de generar las ornamentaciones, como filamentos (tendrillios) y curvaturas (cuernos) que acompañan a la cápsula ovígera, facilitando la adhesión al sustrato. De acuerdo con Smith *et al.* (2004) y Hamlett *et al.* (2005), los adenómeros serosos de las glándulas de esta región son los que producen las proyecciones, mientras que los adenómeros mucosos las recubrirían con su secreción, facilitando el camuflaje en el medio exterior. Siendo *M. lunulatus* una especie vivípara, esta zona sólo almacena esperma y desarrolla pliegues bajos que descienden en altura hacia el útero, es comparable a lo observado en *M. antarcticus* (Storrie *et al.*, 2008) y *M. canis* (Hamlett *et al.*, 2002a) con criptas de perfil bajo y adenómeros incrustados en tejido conjuntivo laxo, que corren adyacentes a la zona *baffle* y donde los espermatozoides están comúnmente presentes.

#### **8.2.4 Almacén de esperma en la glándula oviducal**

El almacenamiento de esperma en la glándula oviducal, ha sido reportado para algunas especies de condictios de varias familias como Alopiidae, Lamnidae, Carcharhinidae, Triakidae, Sphyrnidae y Callorhynchidae (Metten, 1939; Prasad, 1945; Pratt, 1993; Hamlett *et al.*, 1998; Conrath & Musick, 2002; Hamlett, 2002a; Smith *et al.*, 2004; Storrie *et al.*, 2008). Este evento no es exclusivo de los peces cartilaginosos ya que se presenta en otros vertebrados como peces óseos, reptiles, anfibios y

mamíferos, almacenando esperma en diferentes órganos (Birkhead & Moller, 1993; Holt & Lloyd, 2010). El almacén de esperma conservado evolutivamente en el tiempo se explica como un mecanismo de adaptación destinado a asegurar la fertilización en especies migratorias o en aquellas con baja densidad poblacional (Pratt, 1993; Holt & Lloyd, 2010).

La presencia de esperma observado en hembras grávidas de *M. lunulatus* en las zonas baffle y terminal proporcionó la evidencia de que los espermatozoides están alineados en el lumen de los adenómeros sin ninguna asociación con el epitelio de los túbulos, mucho más abundantes en los de la zona terminal.

Se ha confirmado la presencia de esperma en el útero y en otras zonas de la glándula oviducal en especies como *Iago omanensis* (Hamlett *et al.*, 2002b), *M. antarcticus* (Storrie *et al.*, 2008), *M. canis* (Hamlett *et al.*, 2002a), *M. mustelus* (Maduna *et al.*, 2018) y *M. schmitti* (Elías, 2015). Estos autores postulan que, la presencia de esperma en estas zonas es una ocurrencia incidental de aquellos espermatozoides que se mueven hacia la región craneal, para llevar a cabo la fertilización, o que podría ser indicio de una cópula reciente.

### **8.2.5 Istmo y útero**

Entre la glándula oviducal y el cuerpo uterino de *M. lunulatus*, se presenta una zona estrecha llamada istmo. Esta zona es similar a lo observado en otras especies placentarias y aplacentarias como *Carcharias taurus* (Grant *et al.*, 1983), *I. omanensis* (Fishelson & Baranes, 1998), *M. antarcticus* (Storrie *et al.*, 2009) y *M. schmitti* (Galíndez *et al.*, 2010b).

La naturaleza mucosa del epitelio del istmo se ha demostrado en otros Triakidos como *I. omanensis* (Fishelson & Baranes, 1998), *M. antarcticus* (Storrie *et al.*, 2009) y *M. schmitti* (Galíndez *et al.*, 2010b). El músculo liso y el tejido conjuntivo laxo presentes en la pared de esta estructura, junto con la presencia de cilios y las secreciones de las células mucosas, pueden jugar un papel importante en la lubricación y movimiento del cigoto de la glándula oviducal hacia el útero (Storrie *et al.*, 2009; Galíndez *et al.*, 2010b).

En *M. lunulatus* ambos úteros son funcionales y comparten características estructurales con otros condriictios. Al igual que otros peces cartilaginosos, el útero crece en tamaño conforme a la madurez y el diámetro aumenta de posterior a anterior, a medida que avanza la gestación (Teshima, 1981; Mollet *et al.*, 2000; Hamlett *et al.*, 2002a; Storrie *et al.*, 2009, Galíndez *et al.*, 2010b).

El útero de *M. lunulatus* exhibe características morfológicas, histológicas e histoquímicas similares a otras especies vivíparas estudiadas (Gilbert & Schlernitzauer, 1966; Schlernitzauer & Gilbert, 1966; Hamlett & Wourms, 1984; Hamlett, 1990; Hamlett & Hysell, 1998; Fishelson & Baranes, 1998; Storrie *et al.*, 2009; Galíndez *et al.*, 2010b). En los ejemplares inmaduros y maduros del cazón segador, el útero está poco desarrollado y no presenta especializaciones evidentes, lo cual es concordante con la maduración de las hembras. Las especializaciones en el útero de hembras grávidas son adaptaciones a procesos funcionales como la gestación de los embriones.

A lo largo de la gestación, se observa un adelgazamiento de las capas de la pared uterina de *M. lunulatus*, reducciones drásticas en las formas y capas de las células epiteliales, así como en la secreción mucoide, con evidencia de descamación, aumento de la vascularización y formación de compartimentos uterinos. Esto concuerda con lo observado en otras especies vivíparas placentarias como *Rhizoprionodon terraenovae* (Hamlett & Hysell, 1998), *C. falciformis* (Gilbert & Schlernitzauer, 1966), *Sphyrna tiburo* (Schlernitzauer & Gilbert, 1966) e *I. omanensis* (Fishelson & Baranes, 1998). Storrie *et al.*, (2009); Galíndez *et al.*, (2010b) han demostrado que especies vivíparas aplacentarias como *M. antarcticus* y *M. schmitti* muestran cierto grado de matrotrofismo ya que a lo largo de la gestación el útero desarrolla especializaciones similares.

Cada embrión de *M. lunulatus* se encuentra ubicado en su propio compartimento uterino y rodeado por la membrana terciaria, estos permanecen intactos durante la gestación y solo se rompen al parto. Los compartimentos están dispuestos transversalmente y están rodeados por tejido uterino que crece entre los huevos. La presencia de compartimentos uterinos es típica de los tiburones

placentarios, sin embargo, no son exclusivos (Storrie *et al.*, 2009; Galíndez *et al.*, 2010b).

Si bien en este trabajo no se ha investigado la implantación del saco vitelino al útero se sabe que, durante las primeras semanas de la gestación, los embriones de los tiburones vivíparos placentarios se nutren directamente del saco vitelino. A medida que este se agota, el saco vitelino se alarga y su superficie distal se vuelve altamente vascularizada. Cuando la superficie vascularizada del saco vitelino toca la pared uterina, los tejidos de la madre y el embrión crecen en contacto íntimo, formando la placenta, a través de esta los embriones son nutridos directamente desde el torrente sanguíneo de la madre por medio del “cordón umbilical” (Gilbert & Schlernitzauer, 1966; Schlernitzauer & Gilbert, 1966; Hamlett, 1990; Jones & Hamlett, 2004; Carrier *et al.*, 2012)

Al igual que sucede en todos los condrictios estudiados, los úteros de *M. lunulatus* desembocan en forma independiente, uno a cada lado, del seno urogenital (Hamlett & Koob, 1999; Storrie *et al.*, 2009; Díaz-Andrade, 2010; Galíndez *et al.*, 2010b). Este último no ha sido estudiado en profundidad en los trabajos sobre morfofisiología e histología de los órganos reproductores. Sunyem & Vooren (1997), reportan que el seno urogenital de especies vivíparas aplacentarias tales como *Squatina guggenheim* y *S. occulata*, cumple un rol más activo en el ciclo reproductivo, los embriones en desarrollo pasan la última mitad de la gestación en una cámara conformada tanto por el útero como por el seno urogenital. Una vez que los embriones están listos para la vida independiente, la pared del seno urogenital se contrae espontáneamente, de forma similar al útero, permitiendo la salida de las crías al medio externo.

#### **8.2.6 Testículo**

La estructura anatómica del testículo de *M. lunulatus* coincide con lo observado en la mayoría de los condrictios (Walker, 2005).

Las observaciones macroscópicas y microscópicas del cazón segador mostraron que la relación órgano epigonal y tejido testicular disminuyen



considerablemente de manera gradual con la maduración sexual. La relación existente entre estos dos órganos a lo largo de la etapa ontogénica concuerda con lo observado en otras especies de tiburones (Silva-Santos, 2012; Rojas, 2013; Bernal-Pérez, 2017).

De acuerdo con Loir *et al.* (1995) en los elasmobranquios, las células de Leydig están frecuentemente ausentes o son escasas e indiferenciadas. En *M. lunulatus*, se observaron células de Leydig en el intersticio del testículo, se pueden asociar con la producción intratesticular de hormonas esteroideas.

En los anamniotas, como es el caso de los condriictios, la espermatogénesis es de tipo cística (Callard, 1996; Galíndez, 2016). Los cistos o espermatocistos constituyen la unidad funcional y estructural del testículo y en su interior se encuentran células de Sertoli y células germinales, sincronizadas en la misma etapa de desarrollo (Pratt, 1988; Callard, 1996).

La presencia de células de Sertoli en los espermatocistos de *M. lunulatus* cumplen varias funciones durante la espermatogénesis incluidos: el soporte físico de las células germinales en desarrollo, la eliminación de cuerpos residuales desprendidos por el desarrollo de las espermatidas, esteroidogénesis y participación en la evacuación de los espermatozoides (Prisco *et al.*, 2002).

La producción y maduración de los espermatocistos en el testículo, puede seguir patrones diferentes. Definiéndose los modelos testiculares radiales, diamétricos y compuestos (Pratt, 1988). Internamente los testículos de *M. lunulatus* corresponden a la espermatogénesis del tipo diamétrico, característico del orden Carchariniformes, en estos, los cistos se distribuyen desde la zona germinal a través del diámetro de los testículos al extremo opuesto, donde los conductos eferentes concentran los espermatozoides (Pratt, 1988). Este arreglo se ha observado en otras especies del género como *M. canis* (Conrath & Musick, 2002), *M. henlei* (Silva-Santos, 2012), *M. schmitti* (Rojas, 2013) y *M. punctulatus* (Gračan & Lacković, 2016).

En los peces cartilaginosos, existen diferentes maneras de seguir la espermatogénesis, el proceso en *M. lunulatus*, es comparable a lo descrito en otros

elasmobranquios (Maruska *et al.*, 1996; Girard *et al.*, 2000; Conrath & Musick, 2002; Engel & Callard, 2005; Moya, 2016; Bernal-Pérez, 2017). Para este estudio y a fin de poder comparar los resultados con los de otras especies afines, se emplearon los criterios más comunes actualmente (Maruska *et al.*, 1996; Girard *et al.*, 2000; Engel & Callard, 2005). En este trabajo se identificaron 7 estadios de desarrollo, contenidos en cistos con características estructurales diferentes.

El estadio I es la etapa precística y tiene lugar en la zona germinal del testículo cuya localización varía, dependiendo del modelo testicular. En el cazón segador, existe una zona germinal en un extremo del corte transversal del testículo. Registrada en ejemplares inmaduros y maduros, sugiriendo que la espermatogénesis es un proceso continuo.

Los cistos de los estadios II y III, que contienen espermatogonias y espermatocitos respectivamente, muestran una composición celular totalmente similar al resto de los vertebrados (Engel & Callard, 2005).

La espermiogénesis es un proceso continuo y complejo que implica entre otras cosas, la condensación de la cromatina, el alargamiento del núcleo, la pérdida de gran parte del citoplasma y el desarrollo del flagelo. Teniendo en cuenta esto, no es raro encontrar una amplia gama de morfologías celulares incluidas en este estadio. En *M. lunulatus* se diferenciaron espermátidas inmaduras y maduras, las cuales presentaban diferencias morfológicas a nivel del núcleo y disposición dentro del cisto.

En *M. lunulatus*, la zona de degeneración fue reconocida posterior a la localización de los cistos del estadio VII y esto concuerda con otras especies del género como *M. canis* (Conrath & Musick, 2002), *M. schmitti* (Rojas, 2013) y *M. punctulatus* (Gračan & Lacković, 2016). Teshima (1981), no la cita para *M. manazo* y *M. griseus*; mientras que Sumpter & Dood (1979), reportaron que en *Scyliorhinus canicula* esta zona puede variar en su localización, de acuerdo con la estación del año.

Se encontraron cistos con espermatozoides en machos inmaduros de *M. lunulatus*, también observado en los juveniles de *M. manazo*, *M. griseus* (Teshima,

1981), *C. coelolepis* (Girard *et al.*, 2000) y *C. ventriosum* (Bernal-Pérez, 2017), ya que se describen los mismos estadios espermatogénicos que los observados en ejemplares adultos. Según Girard *et al.*, (2000), en estos casos los testículos maduran antes de que los animales puedan reproducirse dado que los gonopterigios no se encuentran totalmente desarrollados. Con base en el resultado de la regresión lineal entre la L.T. y el largo del gonopterigios y lo mencionado por Girard *et al.*, (2000) se considera al gonopterigio el indicador más apropiado para determinar la madurez sexual del individuo.

En este trabajo no fue posible realizar un análisis de los conductos genitales de los machos de *M. lunulatus*, se sabe que, durante la maduración de las gónadas masculinas, los espermatozoides maduros son transportados a los conductos genitales (Walker, 2005). Esto sucede por medio del vaciamiento de los espermatozoides a una red colectora de conductos intralobulares, por donde el espermatozoides llega a los conductos eferentes y baja hacia el conducto de los gonopterigios (Hamlett, 1999; Jones *et al.*, 2005).

Como se mencionó anteriormente, una de las adaptaciones reproductivas de los condriictios, es la capacidad de ambos sexos de almacenar espermatozoides por largos períodos (Smith *et al.*, 2004; Jones *et al.*, 2005). En los machos, puede ser almacenado en la parte media del epidídimo y en las vesículas seminales (Pratt & Tanaka, 1994). Según la especie, los espermatozoides se almacenan formando agregados inmersos en una matriz acidófila (constituyendo espermatóforos), otros pueden formar espermatozeugmata, en estos agregados las colas se proyectan hacia fuera del perímetro de la matriz (Pratt & Tanaka, 1994).

### **8.3 Crecimiento fetal y embrionario y ciclo reproductivo**

El crecimiento fetal y embrionario de *M. lunulatus* a lo largo de la gestación concuerdan en aspectos generales con el crecimiento fetal de otras especies vivíparas placentadas del orden Carcharhiniformes comparable a *M. henlei* (Silva-Santos, 2012) y *Prionace glauca* (Carrera-Fernández, 2004).

*Mustelus lunulatus* al ser una especie vivípara placentada, los embriones se comunican con la madre a través del cordón umbilical. El cordón umbilical del cazón segador es liso a diferencia de los tiburones *Sphyrna tiburo* y *S. lewini* quienes presentan un cordón umbilical con numerosas vellosidades conocidas como apendicularia, se cree que estas estructuras permiten el intercambio respiratorio (Gilbert, 1981).

Con base en la variación mensual de la LT de los embriones y en el registro de crías en abril con talla cercana a la talla de nacimiento reportada (28-35 cm de LT) (Compagno, 1984; Pérez-Jiménez & Sosa-Nishizaki, 2010), se sugiere que *M. lunulatus* tiene un periodo de gestación de 11 meses y el periodo de nacimiento sucede de mayo a julio en Bahía Tortugas, BCS. Por otra parte, considerando el máximo tamaño de los folículos y la variación mensual del diámetro de los ovocitos para el cazón segador, es posible proponer que el periodo de la ovulación ocurra durante los meses de julio a septiembre. El periodo de nacimiento y ovulación difiere con lo mencionado por Pérez-Jiménez & Sosa-Nishizaki, (2010) para el norte del GC, ya que estos ocurren de febrero a mayo y de marzo a junio respectivamente, esto podría atribuirse a las condiciones ambientales de las diferentes zonas de estudio. Las diferencias en el periodo de alumbramiento y ovulación de *M. antarcticus* (Walker, 2007) y *M. manazo* (Yamaguchi *et al.*, 2000) han sido asociados a las variaciones de la temperatura.

De acuerdo con el periodo de gestación y el periodo de la vitelogénesis, se sugiere que *M. lunulatus* tiene un ciclo reproductivo anual continuo en Bahía Tortugas, BCS, coincidiendo con lo reportado por Pérez-Jiménez & Sosa-Nishizaki, (2010). Otras especies del género *Mustelus* presentan un ciclo anual como *M. californicus* (Pérez-Jiménez & Sosa-Nishizaki, 2010), *M. henlei* (Soto-López *et al.*, 2018), *M. antarcticus* (Walker, 2007), *M. lenticulatus* (Francis & Mace, 1980), *M. canis* (Conrath & Musick, 2002) y *M. manazo* (Yamaguchi *et al.* 2000).

De acuerdo con los resultados del presente trabajo, la zona de Bahía Tortugas, BCS, podría considerarse como área de expulsión de crías y reproducción de *M. lunulatus*. Zonas discretas geográficamente en donde las hembras grávidas expulsan

a sus crías o depositan sus huevos, y donde las crías pasan sus primeras semanas, meses o años de vida son consideradas como áreas de crianza (Bass, 1978; Castro 1993). Las áreas de crianza generalmente son aguas someras y altamente productivas (Castro, 1993), en este sentido, se podría considerar la zona de estudio como posible área de crianza, es necesario realizar más investigaciones para determinar la presencia de neonatos en la zona, ya que en este trabajo no se obtuvo registro de ejemplares neonatos debido a la selectividad del arte de pesca.

#### **8.4 Fecundidad uterina**

El número de embriones que puede producir una hembra es ampliamente variable entre los elasmobranchios y los modos reproductivos. El número de embriones para otras especies de *Mustelus* varía de 1 a 31 (Compagno, 1984; Compagno *et al.*, 1989; Ebert, 2003; Compagno *et al.*, 2005; Ebert *et al.*, 2013) y *M. lunulatus* no es la excepción ya que puede tener de 1 a 21 embriones por camada en Bahía Tortugas, BCS.

La fecundidad del cazón segador en Bahía Tortugas, BCS, es mayor con respecto a lo reportado para el norte del GC (Pérez-Jiménez & Sosa-Nishizaki, 2010). La diferencia de la fecundidad entre distintas zonas para organismos de la misma especie también ha sido reportada para *M. manazo* (Yamaguchi *et al.*, 2000) y *M. henlei* (Soto-López *et al.*, 2018). Estas variaciones podrían explicarse por factores ambientales como las características de la zona y la disponibilidad de alimento. El aporte suficiente de alimento permite a las hembras disponer de más recursos para incrementar la fecundidad. Sidders *et al.* (2005), mencionan que las hembras de *M. schmitti* de mayor tamaño invierten sus recursos en tener un mayor número de crías y no en tener embriones de mayor tamaño.

La relación positiva entre el número de embriones y la LT de *M. lunulatus*, concuerda con lo reportado por Pérez-Jiménez & Sosa-Nishizaki (2010). Varios estudios de *Mustelus* han demostrado una relación lineal positiva entre la fecundidad y L.T. como *M. manazo* (Yamaguchi *et al.* 2000), *M. canis* (Conrath & Musick, 2002), *M. californicus* (Pérez-Jiménez & Sosa-Nishizaki, 2010) y *M. henlei* (Soto-López *et al.*,



2018), con excepción de *M. lenticulatus* (Francis & Mace, 1980) y *M. antarcticus* (Walker, 2007) que tienen una relación exponencial entre ambas variables. Esta relación positiva nos indica que las hembras de mayor LT pueden tener una camada de tamaño más grande.

### **8.5 Talla media de madurez sexual ( $L_{50}$ ) y talla de maternidad ( $L_{m50}$ )**

La talla de madurez sexual de ambos sexos de *M. lunulatus* es similar a lo reportado por Compagno (1984) y Navia *et al.* (2006), sin embargo, es menor a lo registrado por Pérez-Jiménez & Sosa-Nishizaki (2010) en el norte del G.C. Es importante mencionar que Pérez-Jiménez & Sosa-Nishizaki (2010) reportan una proporción mayor de individuos en estado inmaduro para ambos sexos, lo que podría causar una sobrestimación de la talla de madurez sexual del cazón segador en el norte del G.C.

Yamaguchi *et al.* (2000) encontró que los parámetros reproductivos *M. manazo* son diferentes en 5 localidades de Japón y Taiwán y menciona que dichas diferencias se deben principalmente a la disponibilidad de alimento y las variaciones de la temperatura que presenta cada localidad. Se sugiere que esto mismo sucede con *M. lunulatus* en Bahía Tortugas y el norte del G.C.

De igual manera, la diferencia en la talla de madurez entre los estudios podría deberse a la diversidad de criterios para determinar la madurez, ya que solo se basan en características morfométricas y macroscópicas. En este estudio se combinó el análisis macroscópico con el histológico para dar mayor precisión al diagnóstico obtenido.

Por otra parte, la talla de madurez en las hembras de *M. lunulatus* fue mayor a la de los machos, es un dimorfismo común en las especies del género *Mustelus* (Francis & Mace, 1980; Yamaguchi *et al.* 2000; Conrath & Musick, 2002; Oddone *et al.*, 2005; Walker, 2007; Pérez-Jiménez & Sosa-Nishizaki, 2008).

Cortés (2000) menciona que las hembras tienden a madurar más tarde e incluso ser más longevas que los machos, la diferencia se puede deber a la necesidad de que las hembras alcancen un tamaño mayor y una mayor fecundidad, por lo que invierten

energía en el crecimiento antes que, en la reproducción, lo que origina un retraso en el inicio de la madurez sexual en las hembras.

En el presente estudio se estimó por primera vez la  $L_{m50}$  para *M. lunulatus* en Bahía Tortugas B.C.S. con base en un modelo logístico, siendo esta mayor a la  $L_{50}$ . La estimación de la  $L_{m50}$  ha sido reportada para otras especies de *Mustelus* como *M. antarcticus* en el sur de Australia (Walker. 2007) y *M. henlei* en Bahía Tortugas (Soto-López *et al.*, 2018). En este trabajo la proporción de hembras en condición no materna fue mayor a las hembras en condición materna, por tal motivo se recomienda considerar con cautela la talla de maternidad estimada, sin embargo, no deja de ser un aporte más para el conocimiento de la biología reproductiva del cazón segador en el área de estudio.

El análisis realizado en este trabajo proporciona, no sólo información más detallada sobre la morfología y dinámica de las gónadas de *M. lunulatus*, sino que también ha demostrado ser un enfoque complementario que puede contribuir a un mejor conocimiento y cuidado de esta especie de interés comercial.

## 9. CONCLUSIONES

- ♦ *Mustelus lunulatus*, capturado en Bahía Tortugas, BCS alcanza tallas hasta los 100 cm de LT.
- ♦ En promedio, las hembras son 20% más grandes que los machos.
- ♦ En el periodo de captura de la especie estuvieron representados los dos sexos en madurez reproductiva.
- ♦ Las características morfométricas del gonopterigio, resultaron indicadores confiables para estimar la madurez sexual en los machos.
- ♦ El sistema de conductos genitales presentes en *M. lunulatus* concordó con lo observado en la mayoría de los peces cartilagosos.
- ♦ El testículo de *M. lunulatus* es de tipo cístico y su desarrollo correspondió al modelo “diamétrico”.
- ♦ Se confirmó una organización estructural de “ovario externo”.
- ♦ La espermatogénesis y ovogénesis en *M. lunulatus* fue comparable a la de otras especies afines.
- ♦ Las ovogonias presentes en todos los estadios de la maduración ovárica de las hembras de *M. lunulatus* indicaron un alto potencial reproductivo.
- ♦ La estructura interna de la glándula oviducal en general, coincidió con la histología morfofuncional de la mayoría de los condriictos.
- ♦ El almacenamiento de esperma en hembras grávidas se localizó en las zonas baffle y terminal.

- ♦ *Mustelus lunulatus* tiene un ciclo reproductivo anual continuo.
- ♦ El tiburón segador en promedio tiene 8.26 embriones por hembra.
- ♦ Las hembras maduran a partir de los 85.36 cm de L.T. y los machos a partir de los 76.26 cm de L.T.
- ♦ La talla de maternidad fue de 95.73 cm de L.T.

## 10. RECOMENDACIONES

- ♦ Debido a que el tiburón *M. lunulatus* es un recurso pesquero de la costa de Baja California, se recomienda que la captura del tiburón segador incida sobre los individuos con tallas mayores a 90 cm de L.T. para que puedan reproducirse al menos una vez en su vida.
- ♦ Es necesario dar continuidad a las investigaciones de *M. lunulatus*. Se recomienda llevar a cabo un estudio sobre la edad y crecimiento del tiburón segador para poder aplicar estudios demográficos, estos nos permitirán conocer el estado actual de la población e implementar medidas de manejo sustentable de su pesquería.
- ♦ Debido a la distancia entre Bahía Tortugas, B.C.S. y el G.C., se recomienda realizar estudios de genética con el fin de determinar si se trata de dos subpoblaciones o una población aislada.
- ♦ Es necesario realizar muestreos en zonas profundas y oceánicas, así como un estudio de telemetría con el fin de confirmar la segregación sexual.
- ♦ Se recomienda capturar a los neonatos para poder determinar la talla de nacimiento de *M. lunulatus* en Bahía Tortugas, B.C.S.



## 11. REFERENCIAS

- Álvarez del Villar, J. 1978. Los Cordados. Origen, evolución y hábitos de los vertebrados. *CECSA*. México D.F. 372 pp.
- Arreguín-Sánchez, F., A. Hernández-Herrera, M. Ramírez-Rodríguez & H. Pérez-España H. 2004. Optimal management scenarios for the artisanal fisheries in the ecosystem of La Paz Bay, Baja California Sur, Mexico. *Ecol. Model.* 172: 373–382.
- Babin, J.P., J. Cerdà & E. Lubzens. 2007. The fish oocyte from basic studies to biotechnological applications. *Springer Science & Business Media*. 508 pp
- Barone, M., S. De Ranieri, O. Fabiani, A. Pirone & F. Serena. 2007. Gametogenesis and maturity stages scale of *Raja asterias* Delaroche, 1809 (Chondrichthyes, Rajidae) from the South Ligurian Sea. 245-254, *In*: Relini G. & J. Ryland (Eds.), Biodiversity in Enclosed Seas and Artificial Marine Habitats. *Dev. Hydrob.*, vol. 193. Springer, Dordrecht.
- Bass, A.J. 1978. Problems in studies of sharks in the Southern Indian Ocean. 545-594. *In*: Hodgson, E.S. & R.F. Mathewson (Eds.), Sensory Biology of Sharks, Skates and Rays, *ONR, Department of the Navy*.
- Bernal-Pérez, S. 2017. Biología reproductiva del tiburón *Cephaloscyllium ventriosum* (Carcharhiniformes: Scyliorhinidae) en Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S. México. 141 pp.
- Belmar-Pérez, J., & S. A. Guzmán del Prío. 1992. Madurez sexual y ciclo gonádico de *Haliotis fulgens* y *Astrea undosa* en Bahía Tortugas, BCS (1986- 1988). *Memorias del Taller México-Australia sobre Reclutamiento de Recursos Bentónicos de Baja California*, 121-129 pp.
- Beyo, R.S., L. Divya, M. Smita, O.V. Oommen & M.A. Akbarsha. 2008. Stages in follicle cell/oocyte interface during vitellogenesis in caecilians *Ichthyophis tricolor* and *Gegeneophis ramaswamii*: a transmission electron-microscopic study. *Cell Tissue Res.*, 331(2): 519-528.

- Birkhead, T. R. & A.P. Moller. 1993. Sexual selection and the temporal separation of reproductive events: sperm storage data from reptiles, birds and mammals. *Biol. J. Linn Soc.*, 50(4): 295-311.
- Bizzarro, J.J., W.D. Smith, J.F. Márquez-Farias & R.E. Hueter. 2007. Artisanal fisheries and reproductive biology of the golden cownose ray, *Rhinoptera steindachneri* Evermann and Jenkins, 1891, in the northern Mexican Pacific. *Fish. Res.* 84: 137–146.
- Bizzarro, J.J., W.D. Smith, J.F. Márquez-Farias, J. Tyminski & R.E. Heuter. 2009. Temporal variation in the artisanal elasmobranch fishery of Sonora, Mexico. *Fish. Res.*, 97: 103-117.
- Bonfil, R.S., F. De Anda. & A. Mena. 1990. Shark fisheries in México: The case of Yucatán as an example. 427-441. *In*: Pratt, H.L., S.H. Gruber & T. Taniuchi. (Eds.). Elasmobranchs as Living Resources: Advances in the Biology, Ecology, Systematic and the Status of the Fisheries. *NOAA Technical Report NMFS*, vol. 90.
- Bustamante, D.C.C. 2007. Análisis histórico del recurso tiburón y bases biológico-pesqueras del Tollo vieja (Chondrichthyes Triakidae) *Mustelus henlei* (Gill, 1863) capturado en la pesca camaronera y artesanal en el puerto de Buenaventura, Pacífico Colombiano. Tesis de licenciatura. Universidad Jorge Tadeo Lozano. Facultades de Ciencias Marinas. Colombia. 169 pp.
- Callard, G.V. 1996. Endocrinology of Leydig cells in nonmammalian vertebrates. 308-331. *In*: Payne, A.H., M.P. Hardy & L.D. Russell. (Eds.), The Leydig Cell. *Cache River Press*. Vienna.
- Carrera-Fernández, M. 2004. Biología reproductiva del Tiburón Azul *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758) en la costa occidental de Baja California Sur, México. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S. México. 66 pp.

- Carrier J.C., H.L. Jr. Pratt & J.I. Castro. 2004. Reproductive Biology of Elasmobranchs. 269-286. *In*: Carrier, J.C., J.A. Musick & M.R. Heithaus. (Eds.), Biology of sharks and their relatives. *CRC Press*, Florida.
- Castro, J.I. 1993. The shark nursery of Bulls Bay, South Carolina, with a review of the shark nurseries if the southeastern coast of the United States. *Environ. Biol. Fish.*, 38: 37-48.
- Castro, J.I. 1996. The sharks of north American waters. *University Press.*, College Station. Texas, USA. 180 pp.
- Castro J.I., L. Antuna-Mendiola, A. González-Acosta & J. De la Cruz-Agüero. 2005. *Mustelus albipinnis* sp. nov. (Chondrichthyes: Carcharhiniformes: Triakidae) de la costa suroccidental de Baja California Sur, México. *Hidrobiológica*, 15(2): 123-130.
- Capapé, C. 1983. Nouvelles données sur la biologie de la reproduction de *Mustelus asterias* Cloquet, 1821 (Pisces, Pleurotremata, Triakidae) de côtes Tunisiennes. *Vie et Milieu*, 33: 143-152.
- Clark, E., & K. Von Schmidt. 1965. Sharks of the central Gulf coast of Florida. *B. Mar. Sci.*, 15(1): 13-83.
- Compagno, L.J.V. 1984. FAO Species Catalogue. Vol. 4. Sharks of the World. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Part 2. Carcharhiniformes. *FAO Fish. Synop.*, 125: 251-655.
- Compagno, L.J.V., D.A. Ebert, & M.J. Smale. 1989. Guide to the sharks and rays of Southern Africa. *Struik*, Ciudad del Cabo, Sudáfrica. 160 pp.
- Compagno, L.J.V., M. Dando, & S.L. Fowler. 2005. Sharks of the World: Field Guides. *Princeton University Press*. Princeton and Oxford.
- Conrath, C.L. & J.A. Musick. 2002. Reproductive biology of the smooth dogfish, *Mustelus canis*, in the northwest Atlantic Ocean. *Environ. Biol. Fish.*, 64: 367-377.
- Cortés, E. 2000. Life history patterns and correlations in sharks. *Rev. Fish. Sci.*, 8(4): 299-344.

- Cudney-Bueno, R. & P.J. Turk-Boyer. 1998. Pescando entre mareas del Alto Golfo de California. Una guía sobre la pesca artesanal, su gente y sus propuestas de manejo. A.C. Technical Series No 1. Centro Intercultural de Estudios de Desiertos y Océanos.
- Daniel, W.W. 2002. Bioestadística: Base para el análisis de las ciencias de la salud. *Limusa*. México. 915 pp.
- Davenport, I.R., A.L. Weaver & J.P. Wourms. 2011. A novel set of structures within the elasmobranch, ovarian follicle. *J. Morphol.*, 272(5): 557-565.
- Davidson, E.H. 1994. Molecular biology of embryonic development: how far have we come in the last ten years? *Bioessays*, 16: 603-615.
- Díaz-Andrade, M.C., E.J. Galíndez, S. Avaca & S. Estecondo. 2008. Morfohistoquímica de la glándula oviductal de *Sympterygia bonapartii* y *Mustelus schmitti* (Chondrichthyes; Elasmobranchii). *Int. J. Morphol.*, 26(3): 765.
- Díaz-Andrade, M.C., E.J. Galíndez & S. Estecondo. 2009. The ovary of the big nose fanskate *Sympterygia acuta* Garman, 1877 (Chondrichthyes, Rajidae) in the Bahía Blanca estuary, Argentina: morphology and reproductive features. *Braz. J. Biol.*, 69(2): 405-413.
- Díaz-Andrade, M.C. 2010. Morfofisiología de la biología reproductiva de las especies del género *Sympterygia* que habitan el estuario de Bahía Blanca. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina. 243 pp.
- [DOF] Diario Oficial de la Federación. 2007. Norma Oficial Mexicana NOM-029-PESC-2006, Pesca responsable de tiburones y rayas. Especificaciones para su aprovechamiento. SAGARPA, México.
- [DOF] Diario Oficial de la Federación. 2012. Acuerdo por el que se da a conocer el establecimiento de épocas y zona de veda para la pesca de diferentes especies de la fauna acuática en aguas de jurisdicción federal de los Estados Unidos

- Mexicanos. Tiburones y rayas en el Océano Pacífico y tiburones en el Golfo de México. SAGARPA, México.
- Dood, J.M. 1983. Reproduction in cartilaginous fishes (Chondrichthyes). 31-95. *In*: Hoar, W.S., D.J. Randall & E.M. Donalson (Eds.), Fish Physiology. *Academic Press*. vol. 9
- Downton-Hoffmann, C.A. 2007. Biología del pez guitarra *Rhinobatos productus* (Ayres, 1856), en Baja California Sur, México. Tesis de Doctorado. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S. México. 213 pp.
- Ebert, D.A. 2003. Sharks, rays and chimaeras of California. University of California Press Berkley, California, USA. 284 pp.
- Ebert, D.A., S. Fowler & L.J.V. Compagno. 2013. Sharks of the world: a fully illustrated guide. *Wild Nature Press*, Plymouth. 528 pp.
- Elías, F.G. 2015. Histochemical study of the oviducal gland and analysis of the sperm storage tubules of *Mustelus schmitti* Springer, 1939 (Chondrichthyes, Triakidae). *Pesqui. Vet. Bras.*, 35(8): 741-748.
- Engel, K.B. & G.V. Callard. 2005. The testis and spermtogenesis. 171-200. *In*: W.C. Hamlett (Ed.), Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes, Sharks, Batoid and Chimaeras. *Enfield, NH: Science Publishers Incorporated*, vol. 3. USA.
- Espinoza, M., T.J. Farrugia & C.G. Lowe. 2011. Habitat use, movements and site fidelity of the gray smooth-hound shark (*Mustelus californicus* Gill 1863) in a newly restored southern California estuary. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 401(1-2): 63-74.
- [FAO] Food and Agriculture Organization. 2009. Fishstat Plus (v.2.30), capture production data base, 1950-2007. *FAO*, Roma, Italia.
- Fishelson, L., & A. Baranes. 1998. Observations on the Oman shark, *Iago omanensis* (Triakidae), with emphasis on the morphological and cytological changes of the oviduct and yolk sac during gestation. *J. Morphol.*, 236(3): 151-165.

- Francis, M.P. & J.T. Mace. 1980. Reproductive biology of *Mustelus lenticulatus* from Kaikoura and Nelson. *New. Zeal. J. Mar. Fresh.*, 14(3): 303-311.
- Galíndez, E.J. & M.C. Aggio. 1997. The hemopoietic system: A phylogenetic approach. *Histol. Histopathol.*, 12(3): 823-826.
- Galíndez E.J. & M.C. Aggio. 2002. The granulopoietic organs of the narrow nose smooth hound *Mustelus schmitti* (Chondrichthyes, Triakidae). A light and electron microscopic study. *Rev. Chil. Anat.*, 20(1): 49-54.
- Galíndez, E.J. & S. Estecondo. 2008. Histological remarks of the oviduct and the oviducal gland of *Sympterygia acuta* Garman, 1877. *Braz. J. Biol.*, 68(2): 359-365.
- Galíndez, E.J., J.M. Piscicelli, A. Wehitt, S. Fuentes, M.C. Díaz-Andrade & S. Estecondo. 2010a. Desarrollo y microanatomía del ovario de *Mustelus schmitti* (Chondrichthyes, Triakidae) a través del ciclo reproductivo. *Cs. Morfol.*, 12(2): 7-17.
- Galíndez, E.J., M.C. Díaz Andrade, A.C. Moya & S. Estecondo. 2010b. Morphological changes in the pregnant uterus of the smooth hound dogfish *Mustelus schmitti* Springer, 1939 (Gatuzo) (Chondrichthyes, Triakidae). Microscopic study and phylogenetic reproductive implications. *Int. J. Morphol.*, 28(4): 1003-1010.
- Galíndez, E.J., M.C. Díaz Andrade & S. Estecondo. 2014. Morphological indicators of initial reproductive commitment in *Mustelus schmitti* (Springer 1939) (Chondrichthyes, Triakidae): folliculogenesis and ovarian structure over the life cycle. *Braz. J. Biol.*, 74(3), 154-163.
- Galíndez, E.J. 2016. Reproducción de peces cartilaginosos. Una revisión de algunas adaptaciones reproductivas. *Cs. Morfol.*, 18(1): 20-33.
- Gilbert, P. W. 1981. Patterns of shark reproduction. *Oceanus* 24(4): 30-39.
- Gilbert, P.W. & D.A. Schlernitzauer. 1966. The placenta and gravid uterus of *Carcharhinus falciformis*. *Copeia*, 3: 451-457.



- Gilbert, S.F. 2005. Developmental Biology. *Medica Panamericana*. Massachusetts. 882 pp.
- Gilmore, R.G. 1993. Reproductive biology of lamnoid sharks. *Environ. Biol. Fish.*, 38(1-3): 95-114.
- Girard, M., P. Rivalan & G. Siquin. 2000. Testis and sperm morphology in two deep-water squaloid sharks, *Centroscyrnus coelolepis* and *Centrophorus squamosus*. *J. Fish. Biol.*, 57(6): 1575-1589.
- Gračan, R., & G. Lacković. 2016. Histological and morphological aspects of reproduction in male blackspotted smooth-hound *Mustelus punctulatus* in the Adriatic Sea (Eastern Mediterranean Sea). *J. Mar. Biol.*, 2016: 1-6.
- Grant, R., W. Dodrill & A. Linley. 1983. Reproduction and embryonic development of the sand tiger shark, *Odontaspis taurus* (Rafinesque). *Fish. Bull.*, 81(2): 201-225.
- Grijalba-Bendeck, M., A.P. Acero & E. González. 2008. Biología reproductiva de *Rhinobatos percellens* (Walbaum, 1792) (Batoidea: Rajiformes) en el Caribe colombiano. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.*, 43(3): 469-481.
- Guzmán-Del Próo, S.A., S.R. Mille-Pagaza, R. Guadarrama-Granados, S. De la Campa-De Guzmán, J. Carrillo-Laguna, A. Pereira-Corona, J. Belmar-Pérez. M. De J. Parra-Alcocer & A. C. Luque-Guerrero. 1991. La comunidad bentónica de los bancos de abulón (*Haliotis spp.* mollusca: gastropoda) en Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. *An. Esc. Nac. Cienc. Biol.*, 36: 27-59.
- Hamlett, W.C. & J.P. Wourms. 1984. Ultrastructure of the pre-implantation shark yolk sac placenta. *Tissue Cell*, 16(4): 613-625 Hamlett, W.C. 1990. Elasmobranch species as models for studies of placental viviparity and its endocrine regulation. *J. Exp. Zool.*, 256(S4): 129-131.
- Hamlett, W.C., D.P. Knight, T.J. Koob, M. Jezior, T. Luong, T. Rozycki, N. Brunette & M.K. Hysell. 1998. Survey of oviducal gland structure and function in elasmobranchs. *J. Exp. Zool.*, 282(4-5): 399-420.

- Hamlett, W.C. & M.K. Hysell. 1998. Uterine specializations in elasmobranchs. *J. Exp. Zool.*, 282(4-5), 438-459.
- Hamlett, W.C. 1999. Male reproductive system. 444-470. *In*: Hamlett, W.C. (Ed.), Sharks, Skates and Rays. The biology of Elasmobranch Fishes. *The John Hopkins University Press*. Baltimore.
- Hamlett, W.C. & T.J. Koob. 1999. Female reproductive system. 398-443. *In*: Hamlett, W.C. (Ed.), Sharks, Skates and Rays. The biology of Elasmobranch Fishes. *The John Hopkins University Press*. Baltimore.
- Hamlett, W.C., M. Jezior & R. Spieler. 1999. Ultrastructural analysis of folliculogenesis in the ovary of the yellow spotted stingray, *Urolophus jamaicensis*. *Ann. Anat.*, 181(2), 159-172.
- Hamlett, W.C., J.A. Musick, C.K. Hysell & D.M. Sever. 2002a. Uterine epithelial-sperm interaction, endometrial cycle and sperm storage in the terminal zone of the oviducal gland in the placental smoothhound, *Mustelus canis*. *J. Exp. Zool.*, 292: 129-144.
- Hamlett, W.C., L. Fishelson, A. Baranes, C.K. Hysell & D.M. Sever. 2002b. Ultrastructural analysis of sperm storage and morphology of the oviducal gland in the Oman shark, *Iago omanensis* (Triakidae). *Mar. Freshwater Res.*, 53(2): 601-613.
- Hamlett, W.C. 2005. Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, batoids and chimaeras. *Enfield, NH: Science Publishers Incorporated*, vol. 3. USA. 575 pp.
- Heemstra, P.C. 1997. A review of the smooth-hound sharks (Genus *Mustelus*, Family Triakidae) of the Western Atlantic Ocean, with descriptions of two new species and a new subspecies. *B. Mar. Sci.*, 60: 894-928.
- Hernández-Rivas, M.E., S.P. Jiménez-Rosenberg, R. Funes-Rodríguez & R.J. Saldierna-Martínez. 2000. El centro de actividad biológica de la Bahía de Sebastián Vizcaíno, una primera aproximación. 65-85. *In*: Lluch-Belda, D., J.

- Elourduy-Garay, S.E. Lluch-Cota & G. Ponce-Díaz. (Eds.). BAC Centros de Actividad Biológica del Pacífico mexicano. *Cicimar, Cib, CONACYT*. México.
- Hisaw, Jr, F.L., & F.L. Hisaw. 1959. Corpora lutea of elasmobranch fishes. *Anat. Rec.*, 135(4), 269-277.
- Hoenig, J.M. & S.H. Gruber. 1990. Life-history patterns in the elasmobranchs: implications for fisheries management. *NOAA Technical Report NMFS*, 90(1): 16 pp.
- Holden, M.J. 1974. Problems in the rational exploitation of elasmobranch populations and some suggested solutions. *Sea fisheries research*. 117-137.
- Hueter, R.E, J. Tyminski, G.M. Cailliet, J. Bizzarro, W. Smith, J.F. Márquez-Farias, J.L. Castillo-Géniz & C. Villavicencio-Garayzar. 2002. Artisanal Fisheries for Sharks, Skates and Rays in the Gulf of California. *I Foro Científico de Pesca Ribereña. Guaymas, Sonora*. 44 pp.
- Holt, W.V. & R.E. Lloyd. 2010. Sperm storage in the vertebrate female reproductive tract: how does it work so well? *Theriogenology*, 73(6): 713-722.
- Honma, Y., K. Okabe & A. Chiba. 1984. Comparative histology of the Leydig and epigonal organs in some elasmobranchs. *Jpn. J. Ichthyol.*, 31(1): 47-54.
- Humason, G.L. 1979. Animal Tissue Techniques. 4<sup>a</sup>. Ed. *San Francisco: H. W. Freeman and Company*. U.S.A. 692 pp.
- Jones, C.J.P., & W.C. Hamlett. 2004. Structure and glycosylation of the term yolk sac placenta and uterine attachment site in the viviparous shark *Mustelus canis*. *Placenta*, 25(10): 820-828.
- Jones, C.J.P., T. Walker, J. Bell, M.B. Reardon, C.E. Ambrosio, A. Almeida & W.C. Hamlett. 2005. Male genital ducts and copulatory appendages in Chondrichthyans. 361-393. *In: W.C. Hamlett (Ed.), Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes, Sharks, Batoid and Chimaeras. Enfield, NH: Science Publishers Incorporated*, vol. 3. USA.

- Joung, S.J. & C.T. Chen. 1995. Reproduction in the sand bar, *Carcharhinus plumbeus*, in the waters off Northeastern Taiwan. *Copeia*, (3): 659-665.
- Knight, D.P., D. Feng & M. Stewart. 1996. Structure and function of the salachian egg case. *Biol. Rev.*, 71(1): 81-111.
- Koob, T.J. & D.L. Cox. 1988. Egg capsule catechol oxidase from the little skate *Raja erinacea* Mitchell, 1825. *Biol. Bull.*, 175(2): 202-211.
- Koob, T.J. & I.P. Callard. 1991. Reproduction in female elasmobranchs. 155-209. In: Kinne, R.K.H (Ed.). Comparative physiology. *Karger, Basel*, Switzerland.
- Koob, T.J. & J.W. Straus. 1998. On the role of egg jelly in *Raja erinacea* egg capsule. *Bulletin of the Mount Desert Island Biological Laboratory*, 37: 117-119.
- Kunz, Y.W., C.A. Luer & B.G. Kapoor. 2009. Development of Non-Teleost Fishes. *Science Publishers*. 296 pp.
- Leeson, T.S. & C.R. Leeson. 1985. Histología. Cuarta edición. *Nueva Editorial Interamericana*. México.
- Lender, T., R. Delavault & L. Moigne. 1982. Diccionario de Biología. *Ediciones Grijalvo*, S.A.
- Lynn, R.J. & J.J. Simpson. 1987. The California Current System: The seasonal variability of its physical characteristics. *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 92(C12): 12947-12966.
- Loir, M., P. Sourdain, S.M. Mendis-Handagama & B. Jégou. 1995. Cell-cell interactions in the testis of teleosts and elasmobranchs. *Microsc. Res. Techniq.*, 32(6): 533-552.
- Luer, C.A & P.W. Gilbert. 1991. Elasmobranch fish: oviparous, viviparous and oviviparous. *Oceanus*. 34(3): 47-53.
- Maduna, S.N., J.H. Van Wyk, C. Da Silva, E. Gennari & A.E. Bester-Van Der Merwe. 2018. Evidence for sperm storage in common smoothhound shark *Mustelus*

- mustelus* and paternity assessment in a single litter from South Africa. *J. Fish. Biol.*, 92(4): 1183-1191.
- Mannire, C.A., L.E.L. Rasmussen, J. Gelsleichter & D.L. Hess. 2004. Maternal serum and yolk concentrations in the placental viviparous bonnethead shark, *Sphyrna tiburo*. *Gen. Comp. Endocr.*, 136(2): 241-247.
- Márquez-Farías, J.F. 2000. Tiburones del Golfo de California. 237-257. In: M.A. Cisneros- Mata, M.A. & A.J. Díaz de León (Eds.), *Sustentabilidad y Pesca responsable en México: Evaluación y Manejo, 1999-2000. Instituto Nacional de la Pesca-SAGARPA*. México.
- Maruska, K.P., E.G. Cowie & T.C. Tricas. 1996. Periodic Gonadal Activity and Protracted Mating in Elasmobranch Fishes. *J. Exp. Zool.*, 276: 219-232.
- Mathew, S. 2001. Small-scale Fisheries Perspectives on an Ecosystem-based Approach to Fisheries Management. Reykjavik Conference on Responsible Fisheries in the Marine Ecosystem, 1-4 October, 2001. Food and Agriculture Organization, Reykjavik, 15 p.
- McEachran, J.D. & K.A. Dunn. 1998. Phylogenetic analysis of skates, a morphologically conservative clade of elasmobranchs (Chondrichthyes: Rajidae). *Copeia*, 1998 (2): 271-290.
- Metten, H. 1939. Reproduction of the dogfish. *Nature*. 143: 121-122.
- Mollet, H., J. Cliff, H.L. Pratt Jr. & J. Stevens. 2000. Reproductive biology of the female shortfin mako, *Isurus oxyrinchus* Rafinesque, 1810, with comments on the embryonic development of Lamnoids. *Fish. Bull.*, 98(2): 299-318.
- Moya, C. 2016. Biología reproductiva de dos especies de rayas del golfo San Matías: la raya platana *Atlantaroja platana* y la raya marmorada *Sympterygia bonapartii*. Un enfoque morfofuncional. Tesis de doctorado. Universidad Nacional del Sur. Bahía Blanca, Buenos Aires, Argentina. 198 pp.
- Muñoz-Chápuli, R. 1984. Ethologie de la reproduction chez quelques requins de l'Atlantique Nord-Est. *Cybiurn*, 8: 1-14.

- Musick, J.A. & J.K. Ellis. 2005. Reproductive evolution of chondrichthyans. 45-79. *In*: Hamlett, W.C. (Ed.), Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes, Sharks, Batoid and Chimaeras. *Enfield, NH: Science Publishers Incorporated*, vol. 3. USA.
- Nalini, M.K. 1940. Structure and function of the nidamental gland of *Chiloscyllium griseum* (Müller & Henle). *P. Indian. Acad. Sci.*, 12(5): 189-214.
- Natanson, L.J. & G.M. Cailliet. 1986. Reproduction and development of the pacific angel shark, *Squatina californica*, off Santa Barbara, California. *Copeia* (4):987-994.
- Navia, F.A., A. Giraldo & P.A. Mejía-Falla. 2006. Notas sobre la biología y dieta del toyo vieja (*Mustelus lunulatus*) en la zona central de pesca del Pacífico colombiano. *Invest. Mar*, 34(2): 217-226.
- Nelson, J.S. 2006. Fishes of the world. Fourth Edition. *John Wiley y Sons*. 600 pp.
- Oddone, M.C., L. Paesch & W. Norbis. 2005. Reproductive biology and seasonal distribution of *Mustelus schmitti* (Elasmobranchii, Triakidae) in the Rio de la Plata oceanic front, SW Atlantic. *J. Mar. Biol. Assoc. Uk.*, 85: 1193-1198.
- Olsen, A.M. 1954. The biology, migration and growth rate of the school shark, *Galeorhinus australis* (Macleay) (Carcharhinidae) in southeastern Australian waters. *Aust. Mar. Freshwater Res.*, 5(3): 353-410.
- Parker, J. & S. Parker. 2002. The encyclopedia of shark. Rev. Second edition. *New York: Firefly books*. USA. 192 pp.
- Parsons, G.R. & H.J. Grier. 1992. Seasonal Changes in Shark Testicular Structure and Spermatogenesis. *J. Exp. Zool.*, 261: 173-184.
- Pérez-Jiménez, J.C., O. Sosa-Nishizaki, & J.L. Castillo-Geniz. 2005. A new Eastern North pacific Smoothhound shark (genus *Mustelus*, Family Triakidae) from the gulf of California. *Copeia* 4: 834–845.



- Pérez-Jiménez, J.C. 2006. Biología y taxonomía de los tiburones del género *Mustelus* (Elasmobranchii) de la región norte del Golfo de California. CICESE. Tesis de Doctorado. Ensenada, Baja California, México. 174 pp.
- Pérez-Jiménez, J.C. & O. Sosa-Nishizaki. 2008. Reproductive biology of the brown smoothhound shark *Mustelus henlei*, in the northern Gulf of California, Mexico. *J. Fish Biol.*, 73(4): 782-792.
- Pérez-Jiménez, J.C., & O. Sosa-Nishizaki. 2010. Determining reproductive parameters for population assessments of two smoothhounds (*Mustelus californicus* and *Mustelus lunulatus*) from the northern Gulf of California, Mexico. *B. Mar. Sci.*, 86(1): 3-13.
- Prasad, R.R. 1945. The structure, phylogenetic significance, and function of the nidamental glands of some elasmobranchs of the Madras coast. *Proceedings of the National Institute of Science India*, 11: 282-302.
- Pratt, H.L. & S. Tanaka. 1994. Sperm storage in male elasmobranchs: a description and survey. *J. Morphol.*, 219(3): 297-308.
- Pratt Jr., H.L. 1979. Reproduction in the blue shark, *Prionace glauca*. *Fish B.*, 77(2): 445-470.
- Pratt Jr. H.L. 1988. Elasmobranch gonad structure: a description and survey. *Copeia*, 3: 719-729.
- Pratt Jr. H.L. & J.G. Casey. 1990. Shark reproductive strategies as a limiting factor in directed fisheries, with a review of Holden's method of estimating growth parameters. 97-109. In: Pratt Jr H.L., S.H. Gruber & T. Taniuchi (Eds.), Elasmobranchs as Living Resources: Advances in the Biology, Ecology, Systematics, and the Status of Fisheries. *NOAA Tech. Rep.* NMFS 90.
- Pratt Jr., H.L. & T. Otake. 1990. Recommendations for work needed to increase our knowledge of reproduction relative to fishery management. 509-510. In: Pratt Jr H.L., S.H. Gruber & T. Taniuchi (Eds.), Elasmobranchs as Living Resources:

Advances in the Biology, Ecology, Systematics, and the Status of Fisheries. NOAA Tech. Rep. NMFS 90.

- Pratt, Jr. H.L. 1993. The storage of spermatozoa in the oviducal glands of western North Atlantic sharks. *Environ. Biol. Fish.*, 38: 139-149.
- Prisco M., L. Ricchiari & P. Andreuccetti. 2001. An Ultrastructural study of germ cells during ovarian differentiation in *Torpedo marmorata*. *Anat. Rec.*, 263(3): 239-247.
- Prisco, M., A. Liguoro, B. D'Onghi, L. Ricchiari, E. Limatola, P. Andreuccetti & F. Angelini. 2002. Fine structure of Leydig and Sertoli cells in the testis of immature and mature spotted ray *Torpedo marmorata*. *Mol. Reprod. Dev.*, 63(2): 192-201.
- Prisco, M., L. Ricchiari, R. Uliano, A. Pisacane, A. Liguoro, & P. Andreuccetti. 2003. Developing follicles of the spotted ray *Torpedo marmorata* express different glycoside residues in relation to granulosa differentiation and vitelline envelope formation. *Histol. Histopathol.*, 18(4): 1005-1011.
- Prisco M., A. Liguoro, L. Ricchiari, G. Del Giudice & P. Andreuccetti. 2007. Oogenesis in the spotted ray *Torpedo marmorata*. *Rev. Fish Biol. Fisher.*, 17(1): 1-10.
- Ramírez-Amaro, S., D. Cartamil, F. Galván-Magaña, G. González-Barba, J. B. Graham, M. Carrera-Fernández, O. Escobar-Sánchez, O. Sosa-Nishizaki & A. Rochin-Alamillo. 2013. The artisanal elasmobranch fishery of the Pacific coast of Baja California Sur, Mexico, management implications. *Sci. Mar*, 77(3): 473-487.
- Ravaglia, M.A. & M.C. Maggese. 2003. Ovarian follicle ultrastructure in the teleost *Synbranchus marmoratus* (Bloch, 1795), with special reference to the vitelline envelope development. *Tissue Cell*, 35(1): 9-17.
- Rodríguez-Medrano, M.C. & C.O. Almeda-Jauregui. 2002. Análisis de la pesca artesanal en el poblado de Santa Rosalillita, Baja California. Asesores en Biología Pesquera, S. A. De C. V. (BIOPESCA).
- Rojas, F.O. 2013. Testicular histology of *Mustelus schmitti* Springer, 1939 (Elasmobranchii, Triakidae). *Bio. Scriba*. 6(1): 16-32.

- Saïdi, B., M.N. Bradaï & A. Bouaïn. 2008. Reproductive biology of the smooth-hound shark *Mustelus mustelus* (L.) in the Gulf of Gabès (south-central Mediterranean Sea). *J. Fish Biol.*, 72(6): 1343-1354.
- Saïdi, B., M.N. Bradaï & A. Bouaïn. 2009. Reproductive biology and diet of *Mustelus punctulatus* (Risso, 1826) (Chondrichthyes: Triakidae) from the Gulf of Gabès, central Mediterranean Sea. *Sci. Mar.*, 73(2): 249-258.
- Sánchez-Cota, J.A. 2016. Hábitos alimentarios de tres especies del género *Mustelus*, *Mustelus californicus*, *Mustelus henlei* y *Mustelus lunulatus*, en Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. Universidad Autónoma de Baja California Sur. Tesis Profesional. La Paz, Baja California Sur, México. 79 pp.
- Schlernitzauer, D.A. & P.W. Gilbert. 1966. Placentation and associated aspects of gestation in the bonnethead shark, *Sphyrna tiburo*. *J. Morphol.*, 120(3): 219-231.
- Selman, K., & R.A. Wallace. 1989. Cellular aspects of oocyte growth in teleosts. *Zool. Sci.*, 6(2): 211-231.
- Sidders, A.M., L.L. Tamini, E.J. Pérez & E.G. Chairamonte. 2005. Biología reproductiva del gatuzo *Mustelus schmitti* Springer, 1939 (Chondrichthyes, Triakidae) en el área del Puerto de Quequén Provincia de Buenos Aires. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales*. 7(1): 89-101.
- Silva-Santos, J.R. 2012. Biología reproductiva del tiburón mamón pardo *Mustelus henlei* (Gill, 1863) en la costa occidental de Baja California Sur, México. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S. México. 110 pp.
- Smith, R.M., T.I. Walker & W.C. Hamlett. 2004. Microscopic organization of the oviducal gland of the holocephalan elephant fish, *Callorhynchus milii*. *Mar. Freshwater Res.*, 55(2): 155-164.
- Soto-López, K. 2014. Biología reproductiva de la raya *Raja velezi* en el suroeste de la Costa Occidental de Baja California Sur. Tesis de Maestría. UNAM. Ciudad de México. 100 pp.

- Soto-López, K., R.I. Ochoa-Báez, J. Tovar-Ávila & F. Galván-Magaña. 2018. Reproductive biology of the brown smooth-hound shark, *Mustelus henlei* (Chondrichthyes: Triakidae), off northwestern Mexico based on macroscopic and histological analyses. *Cienc. Mar.*, 44(2): 125-139.
- Sosa-Nishizaki, O., J.F. Márquez-Farías & C.J. Villavicencio-Garayzar. 2008. Case study: pelagic shark fisheries along the west coast of Mexico. In Camhi, M.D., E.K. Pikitch & E.A. Babcock. (Eds) Sharks of the open ocean: Biology, fisheries and conservation. *Blackwell Science*, Ames, IA. E.U.A., 502 p.
- Springer, S. 1960. Natural history of the sandbar shark *Eulamia milberti*. U. S. Fish and Wildlife Service, *F. Bulletin*. 61:1-38.
- Storrie, M.T., T.I. Walker, L.J. Laurenson & 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. *J. Morphol.*, 269(11): 1308-1324.
- Storrie, M.T, T.I. Walker, L. Laurenson & W. Hamlett. 2009. Gestational morphogenesis of the uterine epithelium of the gummy shark (*Mustelus antarcticus*). *J. Morphol.*, 270(3): 319-336.
- Sumpter, J.P. & J.M. Dodd. 1979. The annual reproductive cycle of the female lesser spotted dogfish, *Scyliorhinus canicula* and its endocrine control. *J. Fish Biol.*, 15(6): 687-695.
- Sunyem, P.S. & C.M. Vooren. 1997. On cloacal gestation in angel sharks from southern Brazil. *J. Fish Biol.*, 50(1): 86-94.
- Teshima, K., H. Yoshimura & K. Mizue. 1971. Studies on the Sharks—II on the Reproduction of Japanese Dogfish *Mustelus manazo* Bleeker. *Bull. Fac. Fish.*, 32: 41-50.
- Teshima, K. 1981. Studies on the reproduction of Japanese smooth dogfishes, *Mustelus manazo* and *Mustelus griseus*. *Journal of the Shimonoseki University of Fisheries*, 29: 113-199.

- TeWinkel, L.E. 1950. Notes on ovulation, ova and early development in the smooth dogfish, *Mustelus canis*. *Biol. Bull.*, 99(3): 474-486.
- Torres-Huerta, A.M., C. Villavicencio-Garayzar & D. Corro-Espinosa. 2008. Biología reproductiva de la cornuda común *Sphyrna lewini* Griffith & Smith (Sphyrnidae) en el Golfo de California. *Hidrobiológica.*, 18(3): 227-238.
- Turrubiates-Morales J. R. 1990. Edad, crecimiento y reproducción de *Haliotis fulgens* (Philippi, 1845) (Mollusca; Gastropoda), en Bahía Tortugas B.C.S. México. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN. 56 pp.
- Villavicencio-Garayzar, C.J. 1996. Pesquería de tiburón y cazón 305-316. *In*: Casas Valdez, M.M. & G. Ponce Díaz (Eds.), Estudio del potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur. *Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, S.C.* vol. 1. México.
- Walmsley-Hart, S.A., W.H.H. Sauer & C.D. Buxton. 1999. The biology of the skates *Raja wallacei* and *R. pullopunctata* (Batoidea: Rajidae) on the Agulhas Bank, South Africa. *Afr. J. Mar. Sci.*, 21:165-179.
- Walker, T.I. 1992. Fishery simulation model for sharks applied to the gummy shark, *Mustelus antarcticus* (Günther) from southern Australian waters. *Mar. Freshwater Res.*, 43(1): 195-212.
- Walker, T.I. 2005. Reproduction in fisheries Science. 81-127. *In*: W.C. Hamlett (Ed.), Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, batoids and chimaeras. *Enfield, NH: Science Publishers Incorporated*, vol. 3. USA.
- Walker, T.I. 2007. Spatial and temporal variation in the reproductive biology of gummy shark *Mustelus antarcticus* (Chondrichthyes: Triakidae) harvested off southern Australia. *Mar. Freshwater Res.*, 58(1): 67-97.
- Waltrick, D.S., C.A. Simpfendorfer & C.A. Awruch. 2017. A review on the morphology of ovarian follicles in elasmobranchs: A case study in *Rhizoprionodon taylori*. *J. Morphol.*, 278(4): 486-499.

- Wehitt, A., E.E. Di Giácomo & E.J. Galíndez. 2015. The female reproductive system of *Zeraja chilensis* (Guichenot, 1848) (Chondrichthyes, Rajidae). Gametogenesis and microscopic validation of maturity criteria. *Int. J. Morphol.*, 33(1): 309-317.
- Wourms, J.P. 1977. Reproduction and development in chondrichthyan fishes. *Am. Zool.*, 17(2): 379-410.
- Yamaguchi, A., T. Taniuchi & M. Shimizu. 2000. Geographic variations in reproductive parameters of the starspotted dogfish, *Mustelus manazo*, from five localities in Japan and in Taiwan. *Environ. Biol. Fish.*, 57(2): 221-233.
- Yudin, K.G. & G.M. Cailliet. 1990. Age and growth of the gray smoothhound, *Mustelus californicus*, and the brown smoothhound, *M. henlei*, sharks from Central California. *Copeia* 1990(1): 191-204.
- Zapata, L.A., J. Tovar, B. Beltrán & G. Rodríguez. 1996. Crucero de evaluación de recursos demersales por área barrida en el Pacífico colombiano. INPA/VECEP/DIMAR DEMER 9512. Informe técnico preliminar. *Ministerio de Agricultura. Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura INPA. Programa de Pesca VECEP. Buenaventura*, 24 pp.



## ANEXO

**Anexo 1.** Clave juliana establecida para *M. lunulatus*.

| 17  | BT                              | 227         | ML                      | H                 | 015                                                 | G                               |
|-----|---------------------------------|-------------|-------------------------|-------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------------|
| Año | Iniciales del sitio de muestreo | Día juliano | Iniciales de la especie | Sexo del ejemplar | Número ordenado al día de captura de cada individuo | Estadio de madurez del ejemplar |

**Anexo 2.** Tiempos estandarizados para la deshidratación de las piezas obtenidas de los órganos reproductores de *M. lunulatus*.

| Alcoholes               | Tamaño de las piezas |         |         |
|-------------------------|----------------------|---------|---------|
|                         | 0.5 cm.              | 1.0 cm. | 1.5 cm  |
| 80°                     | 30 min.              | 45 min. | 60 min. |
| 96°                     | 30 min.              | 45 min. | 60 min. |
| 96°                     | 30 min.              | 45 min. | 60 min. |
| 96°                     | 30 min.              | 45 min. | 60 min. |
| 100°                    | 30 min.              | 45 min. | 60 min. |
| 100°                    | 30 min.              | 45 min. | 60 min. |
| 100°                    | 30 min.              | 45 min. | 60 min. |
| Alcohol-cloroformo      | 5 min.               | 15 min. | 15 min. |
| Cloroformo              | 4 min.               | 7 min.  | 7 min.  |
| Cloroformo-parafina     | 30 min.              | 30 min. | 30 min. |
| Parafina I              | 1 hora               | 2 horas | 2 horas |
| Parafina II             | 2 horas              | 2 horas | 2 horas |
| Parafina III. Inclusión | 1 hora               | 1 hora  | 1 hora  |