



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



**BIOLOGÍA REPRODUCTIVA DEL TIBURÓN**  
*Cephaloscyllium ventriosum*  
(Carcharhiniformes: Scyliorhinidae) EN BAHÍA  
TORTUGAS, BAJA CALIFORNIA SUR, MÉXICO.

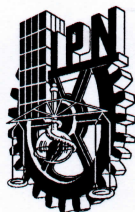
**TESIS**

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

PRESENTA

STEPHANIE BERNAL PÉREZ

LA PAZ, B.C.S., DICIEMBRE DE 2017



**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 28 del mes de Noviembre del 2017 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 *Cephaloscyllium ventriosum***  
**(Carcharhiniformes: Scyliorhinidae) EN BAHÍA TORTUGAS, BAJA CALIFORNIA SUR, MÉXICO**

Presentada por el alumno:

**BERNAL**

Apellido paterno

**PÉREZ**

materno

**STEPHANIE**

nombre(s)

Con registro: 

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

Aspirante de:

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

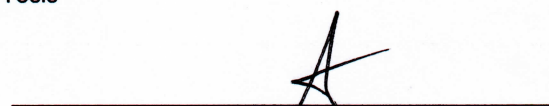
Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA DEFENSA DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

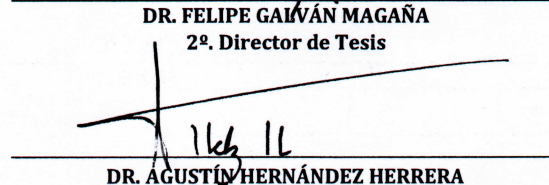
**LA COMISION REVISORA**

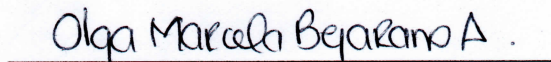
Directores de Tesis

  
 \_\_\_\_\_  
**DRA. ROSA ISABEL OCHOA BÁEZ**  
 Directora de Tesis

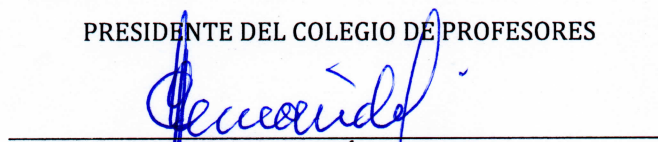
  
 \_\_\_\_\_  
**DR. LEONARDO ANDRÉS ANTA CÁRDENAS**

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

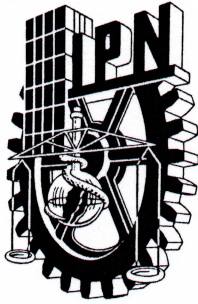
  
 \_\_\_\_\_  
**DR. AGUSTÍN HERNÁNDEZ HERRERA**

  
 \_\_\_\_\_  
**DRA. MARCELA BEJARANO ÁLVAREZ**

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

  
 \_\_\_\_\_  
**DR. SERGIO HERNÁNDEZ TRUJILLO**





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

**CARTA CESIÓN DE DERECHOS**

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 04 del mes de Diciembre del año 2017

El (la) que suscribe BIÓL. STEPHANIE BERNAL PÉREZ Alumno (a) del Programa

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

con número de registro B150206 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 TIBURÓN *Cephaloscyllium ventriosum*

(Carcharhiniformes: Sphylorhinidae) 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: safan7@hotmail.com - rochoa@ipn.com - felipe.galvan@gmail.com

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

BIÓL. STEPHANIE BERNAL PÉREZ

*Nombre y firma del alumno*

## DEDICATORIA

En memoria de mi padre

*Luis Ricardo Bernal Topete*

Quien vive por siempre en mis recuerdos.

Padre mío, te agradezco por darme LA VIDA. Te agradezco el amor incondicional que me diste. Los abrazos y besos que recibí, toda la sabiduría y consejos que me brindaste ¡Son tesoros que guardo en mi corazón!

A mi madre

*Francisca Pérez López*

A quien le tengo infinito amor y gratitud.

Madre mía, te agradezco LA VIDA. Te agradezco todo el tiempo y apoyo que me das. Los consejos, la paciencia y el gran amor incondicional, que me han brindado tú y mi padre son el reflejo de quien soy y donde estoy. Eres la mujer de mi vida, invencible y siempre fuerte.

¡Guíame por siempre, que yo te escuchare!

A mis hermanos:

*Jair, Vladimir, Christian y Grecia*

Siempre dándome ánimos y calmando mis miedos con sus excelentes consejos: “Si lo vas a hacer, hazlo bien”, “No pasará nada si no sale, tranquila”, “Eres buena, échale ganas”, “Hay que buscar ser siempre el mejor”.

De los cuatro, tengo ejemplo a seguir. ¡Gracias por su apoyo incondicional!

A mi tía *Alejandra* y mi prima *conchita*

Por siempre apoyarme en cada decisión, por sus sabios consejos y gran amor. Por nunca dejarnos solos.

Los Amo a todos

*¡Gracias familia mía, por seguir adelante a pesar de la adversidad!*

## **AGRADECIMIENTOS**

Al **IPN-CICIMAR**, por abrir sus puertas a estudiantes amantes de la ciencia y el mundo marino. A **CONACYT** por la manutención ofrecida a cambio de ser alumnos destacados. A los diversos proyectos de los Doctores que hacen posible la investigación. Gracias.

A mis directores de tesis, **Dra. Rosa Isabel Ochoa Báez** y **Dr. Felipe Galván Magaña**, gracias por darme la oportunidad de vivir esta experiencia. Su inteligencia y pasión hacia su trabajo generan en mi gran admiración y motivación para continuar superándome. ¡Gracias infinitas!

Al **Dr. Rene Torres**, por su amplio conocimiento y siempre hacerme razonar de manera filosófica, además por enseñarme a tomar buenas microfotografías. Muchas gracias.

Al **Dr. Agustín Hernández Herrera**, por ser tan educado y amable, por siempre tener tiempo para recibirme y apoyarme. Gracias por sus acertadas observaciones hacia mi trabajo.

Al **Dr. L. Andrés Abitia**, por su tiempo, comentarios y sugerencias, buscando mejorar mi trabajo. Muchas gracias.

A la **Dra. Marcela Bejarano**, por su amable apoyo, sus comentarios y la disponibilidad hacia mi trabajo. Muchas gracias.

A **Katherine Soto López**, por ser mi maestra y amiga en todo momento. Porque todo lo que se de tiburones es gracias a ella. Siempre con tiempo para mí, aunque no lo tuviera. ¡MUCHAS GRACIAS!

A mi compañero **Uriel Valdez** por siempre apoyarme en el laboratorio. Por escuchar mis presentaciones una y mil veces y darme consejos. Por todos los días que nos hicimos compañía para trabajar. Muchas gracias.

A todo el “**Galván Team**” (2015-2017), por enriquecer la convivencia, por siempre estar en la novedad científica y los chismes. Un gran laboratorio en todo CICIMAR.

A los encargados de llaves, congeladores, salidas a campo, los que organizaban las carnitas y las idas al sushi, a todos los Galván team, ¡Gracias!

A los compañeros, los pescadores y sus familias que no conocí, pero que sin ellos no fuera posible tener las muestras de Bahía Tortugas con las que se logró este trabajo.

A mis viejos amigos, **Sandra, Migue y Ely**, porque a pesar de la distancia y el no escribirnos tan seguido, sabía que podía contar con ustedes y de verdad siempre estuvieron para apoyarme y darme consejos. ¡Muchas gracias!

A mi **familia paceña**:

**Laura, René, Diego y Pablo** por apoyarme incondicionalmente cuando más los necesite. Por no dejarme morir de hambre y frío, y en su lugar ofrecerme mucha alegría y oportunidad para continuar.

Mi **Viris y Lupe**, por ser mis viejas amigas pulpitas y ahora todas unas señoritas respetables, por esos días de playa, chisme y baile. Por ser mis consejeras en las buenas y en las malas, por apoyarme en todo. ¡Mis viborillas favoritas, las quiero!

A mis brothis **Jorge, Lety y Edgar**, por tener actitud para salir a bailar y comer alitas, por no tener miedo al Jungle, por siempre reír y pasarla bien.

**Luis Salgado, 2017**. Amor, por siempre estar cerca de mí, por ser mi amigo todo oídos incondicional, por apoyarme en todo momento y lugar. Porque llegaste sin querer, pero ahora buscamos un camino juntos. Por ser el perfecto para mí. ¡MIL GRACIAS!

Y finalmente a mi princesa, **Chessy**, por viajar en avión sin saber a dónde iba, por soportar los fuertes calores, por ser mi compañera fiel. Por ponerse feliz al verme y por disfrutar la playa tanto como yo. ¡Espero se quede mil años!

Deseo tener la compañía de todos ustedes por mucho tiempo más.

**¡A TODOS, GRACIAS!**

## ÍNDICE GENERAL

<b>DEDICATORIA</b> .....	I
<b>AGRADECIMIENTOS</b> .....	II
<b>ÍNDICE GENERAL</b> .....	IV
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b> .....	VIII
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b> .....	XII
<b>GLOSARIO</b> .....	XIII
<b>RESUMEN</b> .....	XVII
<b>ABSTRACT</b> .....	XVIII
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
<b>ANTECEDENTES</b> .....	5
<b>JUSTIFICACIÓN</b> .....	9
<b>OBJETIVOS</b> .....	10
Objetivo principal .....	10
Objetivos específicos .....	10
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	11
Área de estudio .....	11
Trabajo de campo .....	12
Trabajo de laboratorio .....	14
Análisis estadísticos .....	20
<b>RESULTADOS</b> .....	22
Composición de tallas por sexo y estadio de madurez .....	23
Distribución temporal del tiburón inflado .....	26
Proporción de sexos .....	29
Talla media de madurez sexual (L <sub>50</sub> %) .....	30

<b>DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA DEL SISTEMA REPRODUCTOR DE LAS HEMBRAS.....</b>	<b>31</b>
<b>Ovario.....</b>	<b>31</b>
Estadio de Inmadurez.....	32
En desarrollo inicial.....	33
Estadio de Pre-madurez.....	34
Estadio de Madurez.....	35
Estadio de Preñez .....	36
<b>Glándula Oviducal.....</b>	<b>38</b>
<b>Cápsulas Ovíferas .....</b>	<b>39</b>
<b>DESCRIPCIÓN ANATÓMICA E HISTOLÓGICA DE LA OVOGÉNESIS .....</b>	<b>41</b>
Folículos primordiales (fase 1) .....	44
Folículos primarios (fase 2) .....	45
Folículos en desarrollo (fase 3) .....	45
Folículo pre-ovulatorio (fase 4).....	47
<b>DESCRIPCIÓN MICROSCÓPICA DE LA GLÁNDULA OVIDUCAL .....</b>	<b>47</b>
Zona club .....	52
Zona papillary.....	53
Zona baffle .....	55
Zona terminal .....	57
<b>ALMACÉN DE ESPERMA EN GLÁNDULA OVIDUCAL DE TIBURÓN</b> <b><i>Cephaloscyllium ventriosum</i>.....</b>	<b>59</b>
<b>DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA DEL SISTEMA REPRODUCTOR DE LOS MACHOS.....</b>	<b>60</b>
<b>Testículos .....</b>	<b>60</b>
Estadio de Inmadurez.....	61



Estadio de Pre-madurez.....	62
Estadio de Madurez.....	63
<b>DESCRIPCIÓN ANATÓMICA E HISTOLÓGICA DE LA ESPERMATOGÉNESIS</b>	<b>66</b>
Espermatogonia primaria (etapa 1).....	69
Espermatogonia secundaria (etapa 2) .....	70
Espermatocito primario (etapa 3) .....	71
Espermatocito secundario (etapa 4) .....	72
Espermátida (etapa 5).....	73
Espermatozoide inmaduro (etapa 6) .....	74
Espermatozoides maduros (etapa 7) .....	75
<b>ESPERMA EN EPIDÍDIMOS Y CONDUCTOS DEFERENTES EN MACHOS DE</b> <b><i>Cephaloscyllium ventriosum</i></b> .....	<b>76</b>
<b>DISCUSIÓN</b> .....	<b>81</b>
Composición de tallas.....	81
Distribución temporal en la maduración reproductiva .....	82
Proporción de sexos .....	84
Talla media de madurez sexual (L <sub>50</sub> %).....	85
<b>DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA DEL SISTEMA REPRODUCTOR DEL</b> <b>TIBURÓN <i>Cephaloscyllium ventriosum</i></b> .....	<b>86</b>
Hembras.....	86
Cápsula ovígera de <i>Cephaloscyllium ventriosum</i> .....	90
Machos.....	92
<b>DESCRIPCIÓN ANATÓMICA E HISTOLÓGICA EN EL PROCESO DE</b> <b>OVOGÉNESIS Y ESPERMATOGÉNESIS</b> .....	<b>93</b>
Ovogénesis .....	93
Espermatogénesis .....	97

<b>GLÁNDULA OVIDUCAL</b> .....	98
Almacén de esperma en hembras: Glándula oviducal .....	102
Almacén de esperma en machos .....	105
<b>CONCLUSIÓN</b> .....	108
<b>RECOMENDACIONES</b> .....	109
<b>LITERATURA CITADA</b> .....	110
<b>Anexo 1.</b> Tiempos de deshidratación empleados en la Técnica Histológica para las sub-muestras de <i>C. ventriosum</i> . .....	A

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Morfología externa de <i>Cephaloscyllium ventriosum</i> en vista dorsal. Abdomen inflado con aire, como mecanismo de defensa contra depredadores. ....	2
<b>Figura 2.</b> Área de estudio: Bahía Tortugas, Baja California Sur., México. ....	12
<b>Figura 3.</b> Composición de tallas (Lt en cm) para machos y hembras de <i>C. ventriosum</i> en Bahía Tortugas, B.C.S. ....	22
<b>Figura 4.</b> Composición de tallas (Lt en cm) por estadio de madurez en hembras de tiburón inflado. ....	23
<b>Figura 5.</b> Composición de tallas (Lt en cm) de los machos del tiburón inflado por estadio de madurez sexual. ....	24
<b>Figura 6.</b> Regresión lineal entre la longitud total de <i>C. ventriosum</i> con el ancho de la glándula oviducal. ....	25
<b>Figura 7.</b> Regresión lineal entre la longitud total de <i>C. ventriosum</i> con la longitud del gonopterigio. ....	25
<b>Figura 8.</b> Regresión lineal entre la longitud total de <i>C. ventriosum</i> con la longitud del testículo. ....	26
<b>Figura 9.</b> Distribución temporal de machos y hembras del tiburón <i>C. ventriosum</i> . ....	27
<b>Figura 10.</b> Distribución temporal de los estadios de madurez sexual de hembras del tiburón inflado. ....	28
<b>Figura 11.</b> Distribución temporal de los estadios de madurez sexual de machos del tiburón <i>C. ventriosum</i> . ....	29
<b>Figura 12.</b> Proporción sexual del tiburón <i>C. ventriosum</i> . ....	30
<b>Figura 13.</b> Talla media de madurez sexual ( $L_{50\%}$ ) en hembras y machos del tiburón <i>Cephaloscyllium ventriosum</i> en Bahía Tortugas, B.C.S. ....	31

<b>Figura 14.</b> Aparato reproductor de <i>C. ventriosum</i> , una hembra inmadura.....	33
<b>Figura 15.</b> Anatomía interna del aparato reproductor de hembra de <i>C. ventriosum</i> en desarrollo sexual. ....	34
<b>Figura 16.</b> Aparato reproductor de hembra pre-madura de <i>C. ventriosum</i> . ....	35
<b>Figura 17.</b> Aparato reproductor de una hembra madura de <i>C. ventriosum</i> , oocitos en diferente grado de desarrollo.....	36
<b>Figura 18.</b> Aparato reproductor de <i>C. ventriosum</i> , hembra embarazada con una cápsula ovígera en cada cuerno del útero. ....	37
<b>Figura 19.</b> Aparato reproductor de hembra preñada de <i>C. ventriosum</i> en presencia de dos cápsulas ovígeras en cada cuerno de útero. ....	38
<b>Figura 20.</b> Glándula oviducal de una hembra madura de tiburón inflado. ....	39
<b>Figura 21.</b> Cápsulas ovígeras del tiburón inflado <i>C. ventriosum</i> . En el interior del recuadro se muestra el saco vitelino. ....	40
<b>Figura 22.</b> Ovario de <i>C. ventriosum</i> de una hembra pre-madura, midió 78.6 cm de longitud total .....	42
<b>Figura 23.</b> Ovario de una hembra inmadura de tiburón <i>C. ventriosum</i> de 71.6 cm de longitud total .....	43
<b>Figura 24.</b> Folículos primordiales en hembra pre-madura de 75 cm de longitud total .....	44
<b>Figura 25.</b> Folículo primario en hembra en desarrollo de 73.3 cm de longitud total .	45
<b>Figura 26.</b> Folículo en desarrollo de hembra pre-madura de 77 cm de longitud total. ....	46
<b>Figura 27.</b> Folículo pre-ovulatorio de hembra pre-madura de 78.6 cm de longitud total. ....	47

<b>Figura 28.</b> Glándula oviducal de hembra madura de <i>Cephaloscyllium ventriosum</i> . Cuatro zonas morfofuncionales.....	50
<b>Figura 29.</b> Glándula oviducal de hembra inmadura de <i>C. ventriosum</i> . Cuatro zonas morfofuncionales.....	51
<b>Figura 30.</b> Zona club de la glándula oviducal de hembra madura de <i>C. ventriosum</i> .	53
<b>Figura 31.</b> Zona papillary de la glándula oviducal de hembra madura de <i>C. ventriosum</i> . .....	54
<b>Figura 32.</b> Zona baffle de la glándula oviducal de hembra madura de <i>C. ventriosum</i> . .....	56
<b>Figura 33.</b> Zona terminal de la glándula oviducal de hembra madura de <i>C. ventriosum</i> .....	58
<b>Figura 34.</b> Esperma almacenado en glándula oviducal de <i>C. ventriosum</i> . .....	60
<b>Figura 35.</b> Aparato reproductor de macho de <i>C. ventriosum</i> en estadio inmaduro...	62
<b>Figura 36.</b> Aparato reproductor de machos de <i>C. ventriosum</i> en estadio pre-maduro. .....	63
<b>Figura 37.</b> Aparato reproductor de un macho de <i>C. ventriosum</i> en estadio maduro.	64
<b>Figura 38.</b> Corte transversal de testículo diamétrico de <i>C. ventriosum</i> pre-maduro de 76.6 cm de longitud total. ....	67
<b>Figura 39.</b> Corte transversal de testículo diamétrico de <i>C. ventriosum</i> inmaduro de 59 cm de longitud total. ....	68
<b>Figura 40.</b> Etapa 1; zona germinal sin acomodo de <i>C. ventriosum</i> acompañado de espermatogonias primarias .....	70
<b>Figura 41.</b> Etapa 2; Espermatogonia secundaria de <i>C. ventriosum</i> envuelta por la membrana basal.....	71

**Figura 42.** Etapa 3; Espermátocitos primarios de *C. ventriosum* iniciando la primera división meiótica. .... 72

**Figura 43.** Etapa 4; Espermátocitos secundarios de *C. ventriosum*. .... 73

**Figura 44.** Etapa 5; Espermátidas con formas elípticas antes de formar los flagelos del espermatozoide. .... 74

**Figura 45.** Etapa 6; Espermatozoides inmaduros de *C. ventriosum* con la cabeza dirigida hacia la periferia. .... 75

**Figura 46.** Etapa 7; Manojos de espermatozoides maduros de *C. ventriosum* con la cabeza dirigida hacia la periferia. .... 76

**Figura 47.** Corte trasversal del epidídimo y glándula de Leydig de *C. ventriosum* ... 77

**Figura 48.** Corte trasversal del conducto deferente de *C. ventriosum*. .... 79

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Clave Juliana utilizada en <i>C. ventriosum</i> .....	17
<b>Tabla 2.</b> Guía para la caracterización de las fases de la ovogénesis en <i>C. ventriosum</i> . .....	18
<b>Tabla 3.</b> Etapas de la espermatogénesis en <i>C. ventriosum</i> , clasificación Parsons & Grier (1992).....	19
<b>Tabla 4.</b> Medidas de cada zona de la glándula oviducal en vista vertical. ....	49
<b>Tabla 5.</b> Estadios de madurez sexual de <i>C. ventriosum</i> por método morfométrico ..	65
<b>Tabla 6.</b> Características generales del aparato reproductor de machos de diversos elasmobranquios con distinto modo reproductivo. ....	92

## GLOSARIO

**Acino:** Unidad estructural y funcional de la glándula, constituido por células secretoras (Leeson & Leeson, 1985).

**Acrosina:** Enzima que se encuentra en el acrosoma de los espermatozoides, que actúa sobre la zona pelúcida del óvulo, permite la penetración hacia el huevo (Lender *et al.*, 1982).

**Adenómero:** Conjunto de células epiteliales, las cuales representan la porción secretora de una glándula. Sinónimo al acino (Leeson & Leeson, 1985).

**Atresia:** Proceso de reabsorción de gametos no desovados. Normalmente ocurre en gametos posvitelogénicos, pero puede ocurrir en previtelogénesis. Las células foliculares adquieren propiedades fagocitarias, reabsorbiendo al oocito (Leeson & Leeson, 1985).

**Células de Leydig:** Células localizadas en el tejido conjuntivo, forman parte de una glándula (glándula de Leydig) anexa al conducto genital masculino. Estas células son secretoras de la testosterona; secretan la mayor parte del líquido seminal (Leeson & Leeson, 1985).

**Células de Sertoli:** Células ubicadas en los túbulos seminíferos en los testículos, que brindan soporte estructural y metabólico a las células durante la espermatogénesis (Leeson & Leeson, 1985).

**Células foliculares:** Células que se adhieren a la periferia de los oocitos formando el folículo y nutriéndolo (Leeson & Leeson, 1985).

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

**Clave juliana:** Conjunto de datos abreviados y ordenados en códigos para la identificación de muestras analizadas. Incluye el día de obtención de la muestra basado en el calendario juliano.



**Epidídimo:** Órgano contiguo al testículo que recibe los espermatozoides provenientes de este último y los lleva al conducto deferente. En él tiene lugar el almacenamiento temporal y maduración de los espermatozoides (Leeson & Leeson, 1985).

**Epitelio:** Lámina de células estrechamente unidas entre sí, reviste todas las superficies externas e internas. Se puede componer de una única capa de células (epitelio simple) o de varias capas (epitelio estratificado) (Leeson & Leeson, 1985).

**Esclerotización:** Proceso de endurecimiento de la cápsula ovígera debido a su composición química de proteínas y colágeno (Musick & Ellis, 2005).

**Espermátida:** Célula haploide (n) formada por división de un espermatocito secundario en el testículo que da lugar a un espermatozoide (Leeson & Leeson, 1985).

**Espermatocito:** Célula germinal masculina que se encuentra en proceso de maduración (Lender *et al.*, 1982).

**Espermatocisto:** Unidades componentes de los testículos donde se lleva a cabo la espermatogénesis o producción de los espermatozoides, acompañados de células de Sertoli, rodeados por una membrana basal (Galíndez, 2016).

**Espermatóforos:** Saco o paquete que contiene cúmulos alineados de espermatozoides rodeados por una matriz (Reardon *et al.*, 2002).

**Espermatogénesis:** Proceso biológico llevado a cabo en los testículos, por el cual la espermatogonia se transforma en un espermatozoide maduro (Wourms, 1977).

**Espermatogonia:** Célula germinal masculina diploide, que inicia la espermatogénesis, se multiplica por mitosis en la zona germinativa de los testículos (Wourms, 1977).

**Espermatozeugmata:** Conjunto de masas organizadas de espermatozoides unidos por una matriz cohesiva para formar masas ovoides o amorfas (Pratt & Tanaka, 1994).

**Espermiogénesis:** Proceso en el cual las espermátidas sufren la segunda división meiótica y se convierten en espermatozoides (Houillon, 1978).

**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).

**Fecundidad ovárica:** Número de folículos ováricos maduros en el ovario (Powter & Gladstone, 2008).

**Folículo:** Estructura anatómica básica de la biología reproductiva en hembras que hace referencia al oocito y los tejidos que lo envuelven (zona pelúcida, capa granulosa, teca) (Leeson & Leeson, 1985).

**Glándula oviducal:** Modificación del oviducto del tracto reproductivo de las hembras, en la cual se almacena el esperma, se fertiliza el oocito y se produce la capsula dura en las especies ovíparas (Hamlett, 2005).

**Gonopterigios:** Órganos copuladores del macho, característicos de los elasmobranquios. Son modificaciones de los bordes internos de las aletas pélvicas y se prolongan hacia atrás, más que las aletas mismas. Sinónimo a clasper (Álvarez del Villar, 1978)

**Granulosa:** Capa de epitelio que envuelve al ovocito y cuyas células son de origen mesenquimal o epitelial, secretan estrógenos (Leeson & Leeson, 1985).

**Oocito:** Célula sexual femenina en crecimiento que proveniente de la oogonia, el proceso de división meiótica dará origen a gametos haploides (Curtis *et al.*, 2008).

**Órgano epigonal:** Órgano linfomieloide adyacente a las gónadas, puede envolverles en su totalidad o solo una parte de ellas (Honma *et al.*, 1984).

**Ovarios con desarrollo asincrónico:** Presencia simultánea de oocitos en varios estados de desarrollo dentro del ovario (Babin *et al.*, 2007).

**Ovogénesis:** Proceso biológico mediante el cual los gametos femeninos pasan por las etapas de multiplicación y maduración hasta transformarse en óvulos (Curtis *et al.*, 2008).

**Ovario externo:** Se caracteriza por presentar los oocitos expuestos sobre el estroma. Este ovario es característico de la familia Carcharhinidae y Sphyrnidae (Pratt, 1988).

**Oviducto:** Tubo por el cual se conducen los óvulos del ovario al útero. Transporta los huevos o hacia el útero; también llamado tubo uterino o trompa de Falopio (en los humanos) (Hamlett, 2005).

**Partenogénesis:** Modo de reproducción asexual, basado en células sexuales femeninas no fecundadas que generan nuevos individuos (Leeson & Leeson, 1985).

**Talla media de madurez:** Estadísticamente se le conoce como  $L_{50}$ , a la talla cuando al menos el 50% de la población entra a la etapa reproductiva (Pratt & Otake, 1990).

**Vitelo:** Conjunto de sustancias nutritivas (ricas en lípidos, carbohidratos y proteínas) almacenadas en forma de gránulos en el citoplasma de un huevo destinado a la nutrición del embrión (Curtis *et al.*, 2008).

**Zona club:** representa la zona más anterior de la glándula oviducal cercana al oviducto. Muestra epitelio simple columnar ciliado con pliegues cuadrados con terminación en forma de hacha. Secreta jalea mucosa que envuelve y protege al óvulo (Smith *et al.*, 2004).

**Zona papillary:** Área contigua a la zona club, muestra epitelio columnar ciliado con proyecciones cónicas de bajo relieve. Región secretora de moco, genera una envoltura que rodea y lubrica al óvulo (Smith *et al.*, 2004).

**Zona baffle:** Área de la glándula oviducal que presenta pliegues largos que se alternan a otros cortos. Epitelio columnar ciliado con secreción mucosa que guía la elaboración multilaminar de la cápsula ovígera (Smith *et al.*, 2004).

**Zona terminal:** Área no plegada. Consiste en túbulos aislados dispersos que producen las ornamentaciones de las cápsulas ovígera y otros túbulos producen la reserva espermática (Smith *et al.*, 2004).

## RESUMEN

El tiburón *Cephaloscyllium ventriosum* conocido como tiburón inflado, se distribuye desde la Bahía de Monterey, California, en el Pacífico mexicano y centro de Chile. Es considerada una especie endémica del Pacífico oriental. Habita fondos rocosos o arenosos cubiertos de algas en aguas templadas o subtropicales. En México, es capturado por la pesca artesanal. Actualmente se carece de información biológica de la especie en la zona de investigación, por lo que el objetivo del estudio fue describir la biología reproductiva de la especie con énfasis en identificar la presencia de reproductores en la población y estimar la talla media de madurez sexual ( $L_{50}$ ). Se analizaron 95 gónadas (68 hembras y 27 machos). Se realizó la descripción de la anatomía e histología de los órganos reproductores de ambos sexos. La longitud total ( $L_t$ ) de los ejemplares fue de 59 a 94 cm. La mayor presencia en la captura y el mayor número de organismos maduros se registró en el mes de marzo. La proporción sexual fue dominada por las hembras (2.52H:1M). Esta especie de tiburón es ovípara y se encontraron hembras preñadas durante todos los meses de muestreo. La talla media de madurez sexual ( $L_{50}$ ) en hembras fue de 78.38 cm y para machos de 74.24 cm de  $L_t$ . Con base a los análisis histológicos se concluyó que la anatomía microscópica de los testículos de este tiburón pertenece al tipo diamétrico, con una zonación gradual de los espermatocistos en maduración dentro del testículo. En las hembras se observó un ovario funcional de tipo externo, con cuatro fases de la ovogénesis. La glándula oviducal al igual que otras especies de elasmobranquios presentó cuatro zonas morfofuncionales con evidencia de almacenamiento de esperma.

## ABSTRACT

The shark *Cephaloscyllium ventriosum*, known as swellshark, is distributed from the Monterey Bay, California, in the Mexican Pacific and central Chile. Is considered an endemic species in the Eastern Pacific. It inhabits rocky or sandy bottoms covered with algae in temperate or subtropical waters. In Mexico, it is captured by artisanal fishing. There is no biological information on this species in the research area, Bahía Tortugas, B.C.S. Mexico, so this study aimed to describe the reproductive biology of this species with an emphasis on identifying the presence of breeding stock in the population and to estimate the average size of sexual maturity ( $L_{50}$ ) used as a guide for the management of the capture minimum size. A total of 95 gonads (68 females and 27 males) were reviewed. We analyzed the anatomy and histology of the reproductive organs of both sexes. The total length (Lt) of the specimens ranges from 59 to 94 cm. The greatest number of mature organisms was recorded in March. The sex ratio was dominated by females (2.52H: 1M). This species of shark is oviparous and pregnant females were found during all months of sampling. The mean size of sexual maturity ( $L_{50}$ ) in females was 78.38 cm and for males of 74.24 cm in Lt. Histological analysis concluded that the microscopic anatomy of the testicles of the species studied belongs to the diametric type. There is a gradual zonation of spermatocysts in maturation within the testis. In females, a functional external ovary with four phases of oogenesis was observed. The oviducal gland, like other species of elasmobranchs, presents four morphofunctional zones with evidence of sperm storage.

## INTRODUCCIÓN

El tiburón *Cephaloscyllium ventriosum* (Garman, 1880) conocido comúnmente como tiburón inflado, globo o pejegato hinchado. Tiene hábitos demersales, durante el día permanece inactivo oculto en grietas de rocas y arrecifes, se considera un depredador nocturno que se alimenta de pequeños peces de arrecife y de invertebrados bentónicos (Grover, 1970; Nelson & Johnson, 1970; Schaaf-Da Silva & Ebert, 2008). Etimológicamente el nombre del género se deriva del griego “*kephale*” que significa cabeza y “*skylion*” que significa cazón (Schaaf-Da Silva & Ebert, 2008a). El nombre “*ventriosus*” proviene del latín, que significa hinchar, referido al nombre común y su capacidad de inflar su estómago con agua o aire (Fig. 1) (Schaaf-Da Silva & Ebert, 2008b).

Pertenece al orden Carcharhiniformes de la familia Scyliorhinidae. Los tiburones pertenecientes a esta familia son conocidos comúnmente como tiburones: pintarrojas, lijas o pez gato (pejegato) (Compagno, 1984; Human *et al.*, 2006), además de ser nombrados en general como tiburón cazón, por presentar tallas menores al metro y medio (Nakaya, 1975). Dentro de la familia Scyliorhinidae se encuentran 16 géneros y aproximadamente 151 especies distribuidas en todo el mundo, representando el 13% de todos los peces cartilaginosos (Human *et al.*, 2006; Flammang *et al.*, 2008; Schaff-Da Silva & Ebert, 2008a).

La taxonomía del género *Cephaloscyllium* resulta confusa, en parte, debido a la presencia de varias especies no descritas, y el mayor conflicto se debe al uso de patrones de color como un carácter, cuando en realidad tienden a variar con el crecimiento y se vuelven caracteres morfológicos poco confiables (Inoue & Nakaya, 2006), por lo que la clasificación está en constante cambio por la inconsistencia morfológica dentro del grupo, sin poder establecer claves taxonómicas confiables, debido a que dependen de una combinación de caracteres a menudo minúsculos (Schaaf-Da Silva & Ebert, 2008a).

Solo siete especies descritas formalmente eran reconocidas en el género (Compagno, 1984), entre ellas *C. ventriosum*, y seis especies sin describir. En la actualidad se han ido sumando más especies descritas, acumulándose un total de 18 especies dentro del género (Schaaf-Da Silva & Ebert, 2008a; Nakaya *et al.*, 2013).

Schaaf-Da Silva & Ebert (2008b) y Castro (2011) hacen referencia a *C. ventriosum* como una especie endémica del Pacífico oriental, la única de las 18 especies reconocidas. Los tiburones del género *Cephaloscyllium* son los más sobresalientes dentro de la familia, debido a su excepcional capacidad para inflar su cuerpo con agua o aire (si es retirado del mar) como un mecanismo de defensa en contra de sus depredadores, por ello el nombre coloquial de “tiburón inflado” (Schaaf-Da Silva & Ebert, 2008a; Castro, 2011; Clark & Randall, 2011). Por otro lado, los miembros de este género se distinguen de otros dentro de la misma familia, por la falta de surcos labiales, una segunda aleta dorsal notablemente menor que la primera y la presencia de crestas supraorbitales en el cráneo (Compagno, 1984, 1999; Inoue & Nakaya, 2006; Schaaf-Da Silva & Ebert, 2008).



Figura 1. Morfología externa de *Cephaloscyllium ventriosum* en vista dorsal. Abdomen inflado con aire como mecanismo de defensa contra depredadores.

La especie mantiene sinonimia con *Catulus uter* o *Cephaloscyllium uter* (Schaff-Da Silva & Ebert, 2008b). El tiburón *C. ventriosum* (Garman, 1880) originalmente fue

clasificado con el nombre de *Sckllyum ventriosum*, etimológicamente significa cazón hinchado.

El tiburón *C. ventriosum* habita fondos rocosos o arenosos cubiertos de algas en aguas templadas a subtropicales con profundidades entre 5-37 metros; aunque, en ocasiones se encuentra a profundidades mayores a 200 metros (457 m) (Grover, 1970; Nakaya, 1975; Compagno, 1984; Castro, 2011). Los adultos alcanzan tallas de 90cm hasta los 110cm, las hembras en la población presentan mayor longitud (Grover, 1970; Compagno, 1984). Los tiburones juveniles al eclosionar alcanzan tallas entre 13-15 cm y son capaces de alimentarse inmediatamente de pequeños invertebrados (Compagno, 1984).

La especie se distribuye desde la Bahía de Monterey, California, en el Pacífico mexicano y en el centro de Chile (Grover, 1970; Schaaf-Da Silva & Ebert, 2008b; Castro, 2011). Se le considera solitario, aunque pueden permanecer en agregaciones de varios individuos mientras descansan, a veces apilados uno encima del otro (Compagno, 1984; Schaaf-Da Silva & Ebert, 2008b).

La información reproductiva disponible hasta antes del presente estudio, indica que *C. ventriosum* es una especie ovípara con un ovario funcional, deposita los huevos en cápsulas cerradas, que son producidas por la glándula oviducal (Grover, 1970, Bejarano-Álvarez, 2011). La producción de esta cápsula varía entre especies (Hamlett, 2005; Lutton *et al.*, 2005) y requiere de pocas horas o hasta 16 días como el tiburón *Scyliorhinus retifer*. En cautiverio se ha observado que la eclosión de *C. ventriosum* toma de 7.5 a 10 meses aproximadamente, en relación con la temperatura del agua (Grover, 1970; Schaaf-Da Silva & Ebert, 2008b; Castro, 2011, Smith *et al.*, 2004). Se sabe que posee la característica de almacenar esperma en sus glándulas oviducal y recientemente se ha documentado la estrategia de generar organismos mediante partenogénesis (Grover, 1970; Feldheim *et al.*, 2016).

La cápsula ovígera llega a medir entre 9-12.5 cm de largo, 2.8 a 5.5 cm de ancho y 2.5 cm de profundidad y son depositados dos a la vez sobre rocas cubiertas por algas (Grover, 1970), aunque no se sabe cuántos embriones llegan a eclosionar y no se tiene



estimado el número de tiburones que alcanzan tallas adultas (Schaaf-Da Silva & Ebert, 2008; Castro, 2011).

El tiburón inflado se pesca en la zona de Bahía Tortugas, B.C.S., tiene importancia comercial menor, es capturado con redes de enmalle de fondo. Se conoce poco de la biología de esta especie, lo cual limita el recomendar medidas de manejo adecuadas para su aprovechamiento.

Para investigar la biología reproductiva de las especies, generalmente se utilizan los datos morfométricos de los organismos, es necesario combinar la morfometría externa con el análisis interno de las gónadas, considerándose las características macroscópicas y microscópicas (Maruska *et al.*, 1996; Carrera-Fernández, 2004), debido a que existen diversos trabajos que estudian el aparato reproductor de manera superficial.

Estudios recientes realizados acerca de la biología reproductiva de diferentes especies de tiburones se realizan para establecer bases biológicas para recomendar medidas de manejo pesquero. Por lo antes señalado, el objetivo de la presente investigación se orientó al estudio de la biología reproductiva de la especie *C. ventriosum* abordando la descripción macroscópica e histológica del sistema reproductor en los dos sexos, así como estimar la proporción de sexos, la talla media de madurez sexual en machos y hembras, registrar la estacionalidad con presencia de organismos maduros y/o con almacén de esperma.

## ANTECEDENTES

Los peces cartilaginosos, de la clase Chondrichthyes se les considera como uno de los grupos supervivientes más antiguos de los vertebrados mandibulados (Wourms & Demski, 1993). Se estima existen 1188 especies de condriktios, válidas a nivel mundial (Ebert & Van Hees, 2015; Weigmann, 2016), se sabe de la existencia de especies descritas a la actualidad y de otras que necesitan más investigación para evitar sinonimias (Weigmann, 2016).

Los Condriktios muestran una larga historia existencial, se data de al menos 400 millones de años, presentan mecanismos importantes que los distinguen como un grupo con gran éxito evolutivo. Este éxito se atribuye a las estrategias reproductivas del grupo, presenta fertilización interna, desarrollan crías completamente formadas, similares a un adulto con mayor probabilidad de supervivencia. Por otro lado, cuentan con una amplia diversidad de modos reproductivos, protección y nutrición del embrión durante el desarrollo embrionario, almacenamiento de esperma en algunas especies, presente en machos y hembras (Wourms, 1977; Compagno, 1999; Hamlett, 2005; Powter & Glandstone, 2008; Moura *et al.*, 2011).

Algunas características del grupo los evidencian como un recurso pesquero vulnerable y susceptible a la sobrepesca, debido a su potencial reproductivo bajo, un reducido número de crías, sus periodos largos de gestación y su crecimiento individual lento, por otro lado, requieren de un periodo largo para alcanzar la madurez sexual y comenzar a reproducirse (Salomón-Aguilar *et al.*, 2009).

Trabajos como el de Harahush *et al.* (2007) describen de manera detallada el desarrollo embrionario de una especie, bajo condiciones controladas, *Chiloscyllium punctatum*, ellos reportaron el comportamiento reproductivo y la temporada de puesta. Bejarano-Álvarez (2011), realizó una descripción de la morfología de diferentes elasmobranquios que presentaban diversos modos reproductivos. Reportó información base sobre la biología reproductiva de *C. ventriosum*, como el ser una especie ovípara que deposita dos capsulas ovígeras a la vez y la estrategia de almacenar esperma en las

glándulas oviducuales, lo cual coincide con lo reportado por Grover (1970) en una población de California.

Los estudios de Teshima *et al.* (1971) y Wourms (1977) parten de una base biológica, dividen en dos grupos el modo reproductivo de acuerdo con el desarrollo embrionario. Fuera del cuerpo de la madre oviparidad, o interno viviparidad. Como se mencionó anteriormente el éxito de este grupo se debe a la gran variedad de modos reproductivos con los que cuentan; la oviparidad y viviparidad se dividen a su vez por el tipo de nutrición que recibe el embrión en desarrollo: “lecitotróficas”, aquellas especies donde el desarrollo del embrión depende exclusivamente de las reservas de vitelo, el cual es producido por la madre y acumulado en el huevo durante la ovogénesis y que se encierra en la cápsula ovígera hasta la eclosión, y especies “matrotroficas”, aquellas en las cuales el desarrollo embrionario se nutre por la madre, completamente sostenido por esta o recibiendo nutrición por diferentes variantes (Wourms, 1977, 1981; Musick & Ellis, 2005; Galíndez, 2016).

La oviparidad, es el modo reproductivo que presenta el tiburón *C. ventriosum*, y es la condición más primitiva presente en los elasmobranquios; aproximadamente el 40% de las especies de tiburones son ovíparos (Hamlett & Koob, 1999). Las especies ovíparas presentan sólo nutrición lecitotrófica. Las familias de tiburones Heterodontidae, Scyliorhinidae y Orectolobidae, quimeras y las rayas con espina del orden Rajiformes son ovíparos (Wourms, 1977; Compagno, 1999; Bejarano-Álvarez, 2011). Estas especies tienden a producir grandes y numerosas cápsulas ovígeras, con estructuras duras por periodos estacionales (Wourms, 1977; Galíndez, 2016).

Por otro lado, la mayoría de los tiburones (60%) y todas las rayas sin espina (orden Myliobatiformes) son vivíparos, las cuales presentan alguna variante del matrotrofismo. Entre las familias de tiburones que presentan alguna variante se encuentran Carcharhinidae, Sphyrnidae, Squalidae, Triakidae y Lamnidae; dentro de las rayas por nombrar algunas familias se encuentran: Pristidae, Rhinobatidae, Narcinidae, Torpedinidae, Urolophidae, Dasyatidae entre otras (Wourms, 1977; Hamlett & Koob, 1999; Bejarano-Álvarez, 2011; Galíndez, 2016).

Se reconocen cuatro variantes nutricionales del matrotrofismo, ya que presentan adaptaciones de tejidos especiales, embrionarios o maternos que facilitan la transferencia de nutrientes de la madre al feto: la histotrofia, la oofagia, la adelfofagia o canibalismo intrauterino y el matrotrofismo propiamente dicho (placentario) o con dependencia de vitelo (lecitotrófico), con intervención materna mínima, sucede solo al final de la gestación (Wourms, 1977, 1981; Hamlett, 2005; Galíndez, 2016).

Las adaptaciones y condición reproductiva (madurez sexual) optimizan o limitan el éxito reproductivo. Compagno (1984) y Castro (2011) estimaron madurez sexual en machos de *C. ventriosum* a partir de los 82-85 cm de longitud total y la probabilidad de madurez en hembras al alcanzar los 90cm, sin embargo, estos datos no son confiables, debido a que no se reportó el modo por el cual esta estimación fue realizada.

Grover (1972) analizó y concluyó que la población de *C. ventriosum* cercana a la costa de California era diferente a la población presente en la isla Sta. Catalina, California, debido a las adaptaciones morfológicas presentes en las cápsulas ovígeras desovadas por ambas poblaciones.

Grover (1974) estudió la función de unos dentículos del tiburón que aparecen antes de la eclosión. Estos dentículos especializados ayudan en la mecánica de romper la membrana coriónica facilitando la eclosión, los cuales desaparecen poco después del nacimiento.

Lutton *et al.* (2005) describieron que algunas especies presentan uno o dos ovarios funcionales, mostrando diferencias en la ovulación y ciclos ováricos.

En términos generales, se conoce que la glándula oviducal puede funcionar como un almacenamiento de esperma; Lo Bianco (1909) fue el primero en sugerir esta condición, esto citado en el trabajo de Smith *et al.* (2004) donde se describió la estructura y función a nivel histológico de la glándula oviducal.

Wourms (1977) realizó una serie de observaciones en hembras mantenidas en aislamiento, las cuales fueron capaces de depositar repetidamente y por largos

periodos huevos fertilizados después de un apareamiento inicial, sugiriendo, un almacén de esperma viable.

Se ha reportado en diversos acuarios que las rayas hembras del género *Raja* ovipositan cápsulas ovígeras fertilizadas, posterior de haber sido separadas de los machos (Bejarano-Álvarez, 2011).

En relación con la estrategia reproductiva de *C. ventriosum*, se describió la presencia de esperma almacenado en la zona “terminal” de la glándula oviducal (Grover, 1970; Bejarano-Álvarez, 2011). La glándula oviducal es un órgano especializado morfofuncional. En especies ovíparas como es el caso del tiburón inflado, este órgano se encarga de formar la envoltura terciaria o cascara dura de la cápsula ovígera, secretar una sustancia gelatinosa la cual envuelve al oocito para su protección y tiene la capacidad de almacenar esperma en algunas zonas (Smith *et al.*, 2004; Galíndez *et al.*, 2010; Moura *et al.*, 2011).

Por otro lado, Feldheim *et al.* (2016) documentaron el primer caso en cinco organismos de *C. ventriosum* nacidos por partenogénesis. Reportaron que la partenogénesis ha sido documentada en otras especies de elasmobranquios cautivos: tiburón cabeza de pala *Sphyrna tiburo*, tiburón puntas negras *Carcharhinus limbatus*, tiburón de arrecife de puntas blancas *Triaenodon obesus*, tiburón cebrá *Stegostoma fasciatum*, raya jaspeada *Aetobatus narinari* y recientemente han informado que el pez sierra *Pristis pectinata*, lo hizo en el medio silvestre (Fields, *et al.*, 2015). Esto es particularmente importante para especies que se encuentran amenazadas o en peligro de extinción, generando una alternativa a su existir.

## JUSTIFICACIÓN

El conocimiento de la biología reproductiva de *C. ventriosum* ha tenido poca atención, por tratarse de una especie con importancia comercial menor en la zona de Bahía Tortugas, B.C.S., México. Por lo que es necesario investigarla desde su base. En este sentido y debido a que los tiburones presentan características reproductivas particulares, el presente trabajo ampliará y generará información científica relevante que permita comprender los procesos reproductivos de dicha especie, los cuales serán parte fundamental de estudios que busquen proponer medidas regulatorias, conservación y manejo sustentable de las poblaciones.

A partir de la combinación de análisis macroscópicos e histológicos se consigue generar información precisa sobre *C. ventriosum*, describiendo a detalle rasgos de la historia de vida, principalmente características de la maduración sexual, almacén de esperma, estacionalidad reproductiva e identificación de reproductores en la población. Además de ello, el presente estudio, contribuirá por vez primera en conocer la talla media de madurez sexual de esta especie.

## **OBJETIVOS**

### **Objetivo principal**

Describir la biología reproductiva de *Cephaloscyllium ventriosum*, a través del estudio anatómico e histológico de los órganos reproductores de ambos sexos, recolectados en la zona de Bahía Tortugas, Baja California Sur, México.

### **Objetivos específicos**

- 1) Describir la composición de tallas de los organismos capturados por la pesca comercial en la zona de estudio.
- 2) Determinar la proporción de sexos.
- 3) Determinar la talla media de madurez sexual para machos y hembras.
- 4) Describir la anatomía macroscópica externa del sistema reproductor en los dos sexos.
- 5) Analizar y describir la anatomía microscópica e histología de los órganos reproductores de ambos sexos.
- 6) Describir el proceso de espermatogénesis y ovogénesis
- 7) Localizar y describir el almacenamiento de esperma en machos y hembras.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Área de estudio**

Bahía Tortugas se ubica en el municipio de Mulegé en la porción central de la costa oeste de la Península de Baja California, entre Punta Eugenia al norte y Bahía Asunción al sur, en Baja California Sur, México. Coordenadas geográficas 27°41' y 27°47' de Latitud Norte y 114°39' y 114°04' de Longitud Oeste (Figura 2) (Turrubiates-Morales, 1990; Guzmán-Del Prío *et al.*, 1991).

El clima es cálido-seco durante el verano y parte del otoño; fresco y húmedo durante el invierno y la primavera. La bahía presenta variación de temperatura, de 12.7°C en mayo a 19°C en agosto. Las temperaturas más frías provienen del sureste en el mes de agosto, mientras que en noviembre se presentan en el noroeste. Los vientos dominantes son del norte, son los más fuertes durante el invierno y la primavera (Turrubiates-Morales, 1990; Guzmán-Del Prío *et al.*, 1991)

La temperatura ambiental varía entre los 14°C y 36°C en verano y otoño; y entre los 10°C y 26°C durante la primavera y el invierno. La costa que circunda a la bahía presenta fondos conformados en su mayoría por rocas ígneas (Turrubiates-Morales, 1990; Hernández-Rivas *et al.*, 2000).

La costa del Pacífico de Baja California es una zona que se ubica dentro de la región de la Corriente de California. Los vientos predominantes del noroeste dan lugar a procesos físicos como giros y surgencias, por lo que, esta península es una región natural de alta productividad biológica la cual puede sostener poblaciones de diversos organismos (Guzmán-Del Prío *et al.*, 1991; Hernández-Rivas *et al.*, 2000).

La Bahía de Sebastián Vizcaíno, cercana a Bahía Tortugas, se le reconoce como Centro de Actividad Biológica o BAC. Presenta alta producción y/o biomasa de plancton y altos niveles tróficos de especies de importancia comercial (Hernández-Rivas *et al.*, 2000).



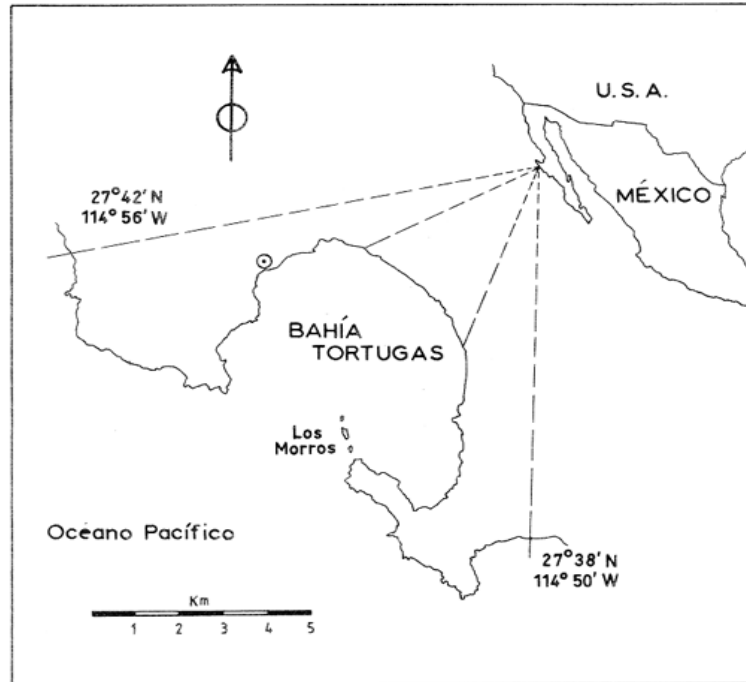


Figura 2. Área de estudio: Bahía Tortugas, Baja California Sur.

### Trabajo de campo

Los ejemplares de *C. ventriosum* fueron recolectados desde el 2013 a 2016 a partir de las capturas comerciales de tiburones realizadas en la zona de Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. Los muestreos se realizaron en mayor proporción en los meses de marzo-abril, agosto y noviembre.

La captura del tiburón se realizó con embarcaciones pequeñas llamadas pangas con dimensiones de alrededor de 23 a 27 pies de eslora con motor de borda de 75 a 115 caballos de fuerza. Esta especie fue capturada por medio de redes de enmalle con una luz de malla de 10-15 cm (4-6 pulgadas), con extensiones de 700 m a 1 km, con un ancho de red de un metro a una profundidad de 70 a 110 metros (40 a 60 brazas), las cuales fueron colocadas a una distancia de la costa de entre 5 y 7 millas náuticas. El trabajo de maniobra se efectuó por las tardes (entre 12:00 pm a 2:00 pm), la red de pesca instalada permaneció durante toda la noche. Los pescadores regresaron a recogerlo por la mañana del día siguiente, esto se realizó todos los días mientras las condiciones climáticas lo permitieron.

Los tiburones capturados se desembarcaron e inmediatamente se pesaron y evisceraron. En cada muestreo se registró la fecha de captura, la localidad, el arte de pesca y la distancia de la costa a la zona. Todos los organismos fueron identificados, medidos, sexados y se examinó su condición reproductiva externa.

Una vez identificados, a cada ejemplar se le midió la longitud total (Lt) en mm por medio de una cinta métrica graduada en centímetros, a través una línea recta natural de la punta de la cabeza hasta la parte terminal de la aleta caudal.

Se identificó el sexo de los machos por medio de la presencia de gonopterigios (órgano copulador) y la longitud total del mismo. Las hembras se identificaron por la ausencia del gonopterigio.

La madurez sexual en machos se identificó por observación de la anatomía externa, de acuerdo con los criterios de Clark & Von Schmidt (1965) y Pratt (1988). El indicador principal fue el grado de calcificación de los gonopterigios: calcificado "3" (madurez), calcificado intermedio "2", poco calcificado "1" o sin calcificar "0" (inmaduro). Se comprobó la rotación de 180° y se confirmó la presencia de semen al abrirse el rifiodón. Otro criterio utilizado para determinar la madurez fue la observación de puntos hematosos en los gonopterigios (indicadores de cópula reciente) (Hoyos-Padilla, 2003).

En el caso de las hembras, la determinación de su madurez sexual se realizó por observación directa a través de la disección en la parte ventral del cuerpo, desde la cloaca hasta el centro de las aletas pectorales. Se observaron los ovarios y la presencia de oocitos en desarrollo (vitelogénicos). Además, la presencia de cápsulas ovígeras dentro del útero. Asimismo, se revisó el cuerpo a fin de registrar la presencia de heridas (marcas de dientes) causadas por la actividad de cortejo en los flancos o en las aletas pectorales.

En los machos después de registrar los datos de la morfología externa, se realizó la incisión ventral para la extracción de los testículos y los órganos reproductores. Los órganos disectados fueron colocados en bolsas de plástico con formol al 10% para su fijación inmediata, a fin de evitar daños a la muestra y garantizar

su conservación para su revisión y análisis en laboratorio, en donde posteriormente se llevó a cabo un recambio del formol al 10% neutralizado dentro de las primeras 48 horas, con el fin de asegurar la fijación completa de los órganos.

De las hembras se extrajeron: el ovario, las glándulas oviducuales y los úteros (incluidas las cápsulas ovígeras). En el caso de los machos se extrajeron los testículos, epidídimos, y conductos deferentes.

### **Trabajo de laboratorio**

En el laboratorio de Morfofisiología del Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR-IPN) las muestras fueron lavadas con agua corriente durante 6 a 8 horas, con la finalidad de eliminar residuos de arena y formol que pudieran dificultar el trabajo histológico. Todos los órganos fueron lavados con abundante agua corriente hasta eliminar el formol. Posteriormente cada muestra fue revisada y etiquetada, anotándose los datos de localidad, fecha (de acuerdo con el calendario juliano), especie y número de organismo. Finalmente, las muestras fueron colocadas en recipientes de plástico con alcohol al 70% para su preservación.

La descripción morfológica externa se realizó por observación, describiendo características como: tamaño, coloración, consistencia y aspecto, registrándose medidas de cada órgano en milímetros. En el caso de las hembras, se registró la longitud total y ancho del ovario, el diámetro del oocito más grande, el conteo total de oocitos vitelogénicos, además diámetro y longitud de las glándulas oviducuales. Cuando fueron encontrados úteros grávidos se registró el número total de cápsulas ovígeras por útero, así como la longitud total y el ancho de estos. En el caso de los machos se tomaron las medidas del largo y ancho de los testículos. Todas estas medidas fueron realizadas con un vernier electrónico, y se tomaron fotografías de cada órgano como evidencia general. Antes de proceder a los cortes histológicos se identificó visualmente el estado de madurez de cada una de las muestras, empleando criterios morfométricos de acuerdo con Mendizábal-Oriza (1995). Posteriormente las muestras se sumergieron nuevamente en su recipiente con alcohol al 70% para su preservación hasta el proceso histológico.

Finalizada la descripción anatómica externa del sistema reproductor se obtuvieron submuestras de cada órgano para la realización de los cortes histológicos en el laboratorio de Morfofisiología del CICIMAR-IPN de las estructuras reproductivas mencionadas. Se obtuvieron piezas mayores a 1.0 cm de ancho, en consideración del tamaño y eje principal del órgano seleccionado. Las submuestras fueron colocadas dentro de bolsas de tul acompañadas de una etiqueta con su clave de identificación.

En el caso de los machos, se realizaron cortes en la parte anterior, media y posterior del testículo, de los epidídimos, debido a su indiferenciación con los conductos eferentes y deferentes se realizaron cortes en la parte anterior, media y posterior para lograr diferenciarlos posteriormente y hacer observaciones del almacén de espermatozoides (Pratt & Tanaka, 1994). En las hembras se realizaron cortes transversales y longitudinales en la parte media o posterior (según la muestra) de la glándula oviducal para observar el almacén de espermatozoides (Pratt, 1993). Se obtuvo corte del ovario, oviducto y útero, todos de un 1.0 cm aproximadamente. Posteriormente se sometieron a la técnica histológica de Humason (1979).

Las submuestras para el estudio histológico fueron deshidratadas mediante cambios sucesivos de alcohol etílico en un procesador de tejidos a concentraciones crecientes (Anexo A), comenzado con alcohol al 70% hasta llegar a alcohol absoluto. Los tiempos utilizados en cada baño fueron estandarizados para esta especie, de acuerdo con el tamaño de la pieza y del líquido deshidratante. Este proceso se llevó a cabo automáticamente en el Histokinette 2000. Durante este proceso además de los cambios crecientes de alcohol, los tejidos pasan por la fase de aclaración que consiste en baños con sustancias miscibles en parafina (el cloroformo, fue la sustancia utilizada en este estudio y se mezcló adecuadamente con la parafina) y a su vez transparentar el tejido, en este caso se empleó cloroformo. Se finalizó el procesamiento de tejidos al obtener la pieza impregnada en un bloque de parafina.

Al tener los bloques de parafina con el tejido debidamente orientado y etiquetado, se procedió a realizar cortes finos por medio de un micrótopo rotatorio electrónico marca Microm 355S. Se realizaron cortes de 3  $\mu\text{m}$  de grosor y se

extendieron en agua con gelatina en un baño de flotación a temperatura entre 35-40°C. Los cortes extendidos finalmente se montaron en un portaobjetos.

Previo a la tinción, los portaobjetos con los cortes se colocaron en la estufa a 60°C para secarlos, durante 2 horas o más, esto con el fin de eliminar el exceso de parafina. Para terminar de eliminar los restos de parafina los portaobjetos con los cortes de tejido se sumergieron en baños consecutivos de un solvente de la parafina (americlear) eliminándose el exceso durante 5 min, y finalmente pasaron por alcohol a concentraciones decrecientes el cual elimina el disolvente utilizado y prepara el corte para la tinción. Las laminillas con los cortes permanecen en alcohol al 70% hasta el momento de la tinción y se lavan en agua destilada antes de colorearse.

Se aplicaron tinciones, a fin de distinguir los diferentes tejidos y los componentes celulares indicadores de la estructura topográfica de los órganos y los tejidos. La técnica de tinción con Hematoxilina-Eosina se aplicó en los testículos, epidídimos y glándulas oviducuales. La técnica de coloración Tricrómica de Mallory se aplicó en todos los tejidos tanto para machos como para hembras. La reacción de Feulgen se realizó en testículos, epidídimos y glándula oviducal. La reacción de PAS solo fue en la glándula oviducal.

La tinción de Hematoxilina-Eosina y Tricrómica de Mallory son tinciones topográficas generales utilizadas para observar la microestructura por efectos de contraste de colorantes (componentes del tejido conjuntivo y en general). Las técnicas restantes, reacción de Feulgen y PAS se emplearon para el análisis histoquímico. La reacción del ácido peryódico-Schiff (PAS) es un método para mostrar la presencia de polisacáridos, particularmente glucógenos, mucinas, mucoproteínas, ácido hialurónico y quitina. La reacción de Feulgen es utilizada para la identificación de ADN, evidencia la cabeza de los espermatozoides de un color magenta y los componentes del citoplasma y otras sustancias en color verde, por ello su aplicación en testículos y glándula oviducal, este último para observar si existe almacén de esperma.

Una vez teñidas se realizó la deshidratación del corte de la laminilla, que consistió en pasar por cambios ascendentes de concentración de alcohol etílico,

seguido de una mezcla 1:1 de acetona-americlear, acetona, americlear y por último fueron colocadas en xileno antes del montaje. Cada laminilla se cubrió con un cubreobjetos, utilizando Cytoseal como medio de montaje definitivo, poco después cada laminilla se etiquetó con los datos correspondientes para su identificación posterior y catalogación con los siguientes datos: 15BT091CVH018, esta clave representa: año de muestreo, lugar de muestreo, día juliano, iniciales de la especie, inicial del sexo del organismo, “M” en caso de ser macho y “H” en caso de ser hembra, y por último el número en orden ascendente asignado al día de captura (Tabla 1). La colección de laminillas obtenidas fue debidamente catalogada para ser consultada por los usuarios.

Tabla 1. Clave Juliana utilizada en *C. ventriosum*.

<b>15</b>	<b>BT</b>	<b>091</b>	<b>CV</b>	<b>H</b>	<b>018</b>
Año	Lugar de muestreo	Día juliano	Iniciales de la especie	Sexo	Número ordenado al día de captura

La observación de los cortes histológicos de cada órgano se realizó por medio de un microscopio óptico, a diferentes aumentos, 2.0X, 2.5X, 10X, 20X, 40X y 100X. Aquellas laminillas en las cuales las estructuras se presentaron en mejores condiciones, fueron seleccionadas y fotografiadas, mismas que se utilizaron para las descripciones.

El análisis histológico de cada órgano se llevó a cabo por medio del registro de indicadores en un formulario que permite identificar estructuras en cada órgano. Para la caracterización de las fases de la ovogénesis se usó de guía la clasificación de Díaz-Andrade *et al.* (2011):

Tabla 2. Guía para la caracterización de las fases de la ovogénesis en *C. ventriosum*.

<p><b>Folículos primordiales:</b> <b>Fase 1</b></p>	<p>Folículos formados por células germinales. Están rodeadas por una capa simple de células foliculares planas (capa granulosa). El oocito muestra un núcleo grande. La zona pelúcida muestra una estructura difusa y discontinua. Se observan células globosas entre las células foliculares planas.</p>
<p><b>Folículos primarios</b> <b>Fase 2</b></p>	<p>El oocito aumenta de tamaño, está rodeado por células foliculares cuboides dispuestas en una capa, con numerosas células en forma de globo. La zona pelúcida se vuelve una línea homogénea. La capa tecal comienza a diferenciarse en una teca interna y teca externa, ambas con células planas.</p>
<p><b>Folículos en desarrollo</b> <b>Fase 3</b></p>	<p>También llamado pre-vitelogénico. A medida que crece el oocito, las células foliculares se vuelven cilíndricas, a mayor tamaño del oocito, estas células comienzan a estratificar. La zona pelúcida se vuelve gruesa e irregular. Se comienza a acumular ligeramente gránulos de vitelo. Estos gránulos seguirán en crecimiento a medida que el desarrollo continúa.</p>
<p><b>Folículos pre-ovulatorios</b> <b>Fase 4</b></p>	<p>Folículos vitelogénicos. Las células foliculares tienden a regresar a su disposición de una capa cilíndrica, y la zona pelúcida se hace más delgada. La teca interior se estratifica y la teca exterior se vuelve simple. El oocito presenta gránulos de vitelo en su máximo volumen.</p>
<p><b>Cuerpo lúteo</b></p>	<p>Esta fase es conocida también como folículos post ovulatorios una vez liberados los oocitos. Las células foliculares cilíndricas comienzan a degenerar, presenta superficies apicales irregulares. El tejido conjuntivo se infiltra en esta estructura y las células foliculares se vuelven cúbicas.</p>
<p><b>Folículos atrésicos</b></p>	<p>Estos folículos pueden presentarse en cualquier etapa de maduración de las hembras. Las células pierden completamente su estructura y el folículo atrésico esta infiltrada por el tejido conjuntivo.</p>

Para la caracterización de las fases de la espermatogénesis se usó la clasificación descrita por Parsons & Grier (1992):

Tabla 3. Etapas de espermatogénesis para *C. ventriosum*.

<p><b>Etapa 1</b> Espermatogonia primaria</p>	<p>Consiste en espermatogonias primarias ubicadas en la zona germinal del testículo, acompañadas de células de Sertoli. Ambas en desorden, sin organizar y otras en inicio de ser rodeadas por una membrana basal. Al ser rodeadas por la membrana basal, pasan a ser espermatogonias secundarias, con un arreglo característico: las espermatogonias se concentran en la periferia y las células de Sertoli en el lumen del espermatocisto. Están en una fase de proliferación (mitosis).</p>
<p><b>Etapa 2</b> Espermatogonia secundaria</p>	<p>Durante esta etapa las células de Sertoli comienzan a migrar de la posición del lumen del espermatocisto hacia la periferia junto a la membrana basal, encontrándose en transición. Las espermatogonias incrementan en número y tamaño</p>
<p><b>Etapa 3</b> Espermatocito primario</p>	<p>En la etapa 3, se ha completado la migración de la célula de Sertoli dentro del espermatocisto, encontrándose en la periferia de este. Se da inicio a la primera división meiótica, pasando la espermatogonia a ser llamada ahora espermatocito primario. Estos contienen un núcleo grande y granular.</p>
<p><b>Etapa 4</b> Espermatocito secundario</p>	<p>Termina la primera división meiótica de los espermatocitos primarios, dando lugar a los espermatocitos secundarios los cuales presentan núcleos muy pequeños y redondeados.</p>
<p><b>Etapa 5</b> Espermátida</p>	<p>Los espermatocitos secundarios presentan la segunda división meiótica, justo antes de la espermiogénesis, originando las espermátidas. Las espermátidas presentan núcleos elípticos, muestran el inicio de la formación de flagelos. Las espermátidas se encuentran en desorden dentro del espermatocisto.</p>
<p><b>Etapa 6</b></p>	<p>Presenta espermatozoides inmaduros con flagelo, al término de la espermiogénesis. La cabeza del espermatozoide se dirige</p>



Espermatozoide inmaduro	hacia la membrana basal y la cola se proyecta hacia el lumen. Inicio de agrupación en manojos hacia la periferia del espermatocistos. Se conocen como espermatozoides inmaduros debido a que la enzima acrosina se dispone solo en la región apical de la vesícula acrosómica.
<b>Etapas 7</b> Espermatozoide maduro	Espermatozoides maduros unidos en manojos compactos, formándose paquetes de esperma en el espermatocisto. Se conoce como espermatozoides maduros debido a que la acrosina se extiende a lo largo de toda la vesícula acrosómica.

En la descripción de la glándula oviducal se utilizó la terminología empleada por Hamlett (2005).

### **Análisis estadísticos**

Se determinó la proporción de sexos de los organismos capturados, dividiendo el número total de hembras entre el número total de machos y aplicando la prueba estadística Chi-cuadrada ( $X^2$ ) para saber si existían diferencias significativas, observando si se cumplía el criterio de 1:1, siendo esto cuando nuestro valor calculado de  $X^2$  era menor a nuestro valor de tablas ( $X^2= 3.841$ ,  $gl=1,0.05$ ) aceptando la hipótesis nula.

Para observar si existía relación entre la longitud del testículo y la talla de los machos, así como relación entre la longitud del gonopterigio y la talla de algunos organismos machos, fue necesario aplicar la prueba estadística de regresión lineal. En hembras se utilizó la misma prueba estadística para observar la relación entre la longitud de la glándula oviducal y la talla, además se aplicó la prueba estadística *t de Student* para observar si existían diferencias significativas entre las tallas de hembras con respecto a las tallas de los machos.

La talla media de madurez sexual en hembras y machos se consideró cuando el 50% de los individuos en las muestras se encontraron sexualmente maduros (Pratt & Otake, 1990). Para ello se ajustó a la ecuación logística solo a organismos maduros,

y así obtener la proporción de primera madurez con respecto a su talla (Mollet *et al.* 2000), siendo la ecuación:

$$P_m = 1 / [1 + \text{Exp}(b + a \cdot L_t)]$$

*Donde:*  $P_m$  = Proporción sexual de organismos maduros (variable binomial que asume organismos inmaduros como 0 y organismos maduros como 1);  $a$  = constante de la ecuación que determina el punto de origen de la curva;  $b$  = constante de la ecuación que determina la inclinación de la curva y  $L_t$  = Longitud total del organismo.

## RESULTADOS

Del tiburón inflado se obtuvieron un total de 95 gónadas procedentes de los campos pesqueros de Bahía Tortugas, en Baja California Sur, de los cuales 68 fueron hembras y 27 machos.

La estructura de tallas de la captura se realizó mediante histogramas de frecuencia de aparición para cada sexo (total, mensual y por estadio de madurez sexual), agrupando los datos en intervalos de 4 cm. La estructura de tallas de los 95 organismos capturados fue de los 59 a 94 cm de longitud total (Lt) (Figura 3). Las hembras fueron las que alcanzaron la mayor longitud respecto a los machos, encontrando diferencias significativas en la talla de captura de ambos sexos ( $p < 0.05$ ). Se observó una mayor frecuencia de aparición de organismos de tallas entre los 73 hasta los 87 cm de Lt. La talla media de los organismos capturados fue de 79.42 cm de Lt.

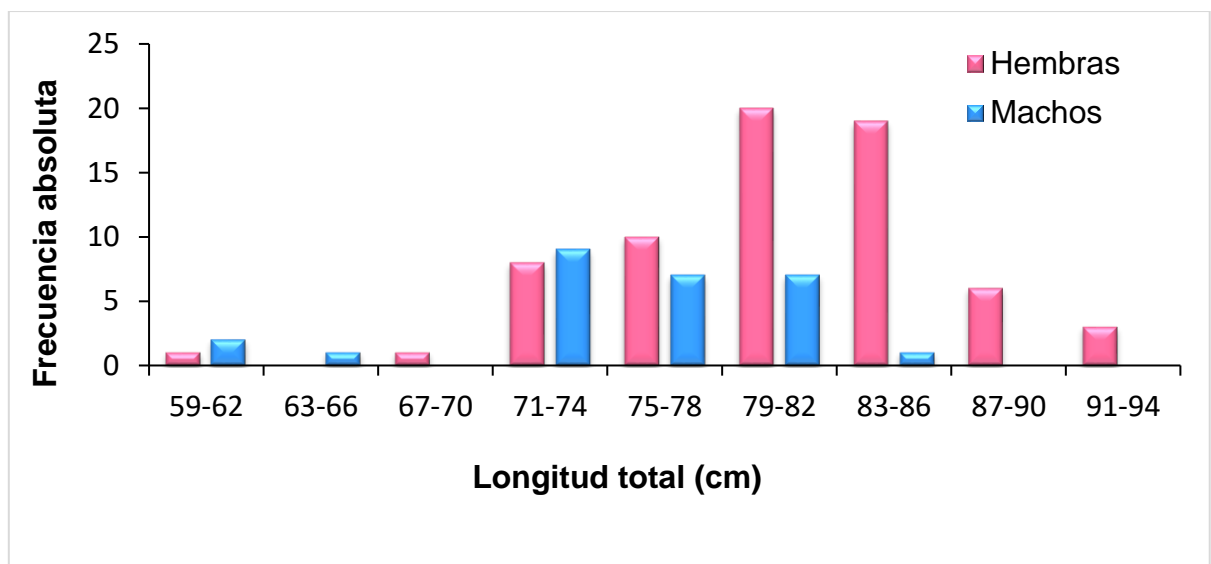


Figura 3. Composición de tallas (Lt en cm) para machos y hembras de *C. ventriosum* en Bahía Tortugas, B.C.S.

### Composición de tallas por sexo y estadio de madurez

Se registraron organismos maduros desde los 76 cm de Lt, para ambos sexos. A su vez se realizó la composición por estadios de madurez durante los meses muestreados, con la finalidad de además de conocer el número de organismos maduros durante todos estos meses, determinar la totalidad de los estadios determinados.

Se realizó la composición de tallas por estadio de madurez para 68 hembras registradas, las cuales presentaron mayor amplitud, de los 59 a los 94 cm de Lt, con una media de 81.17 cm (Figura 4).

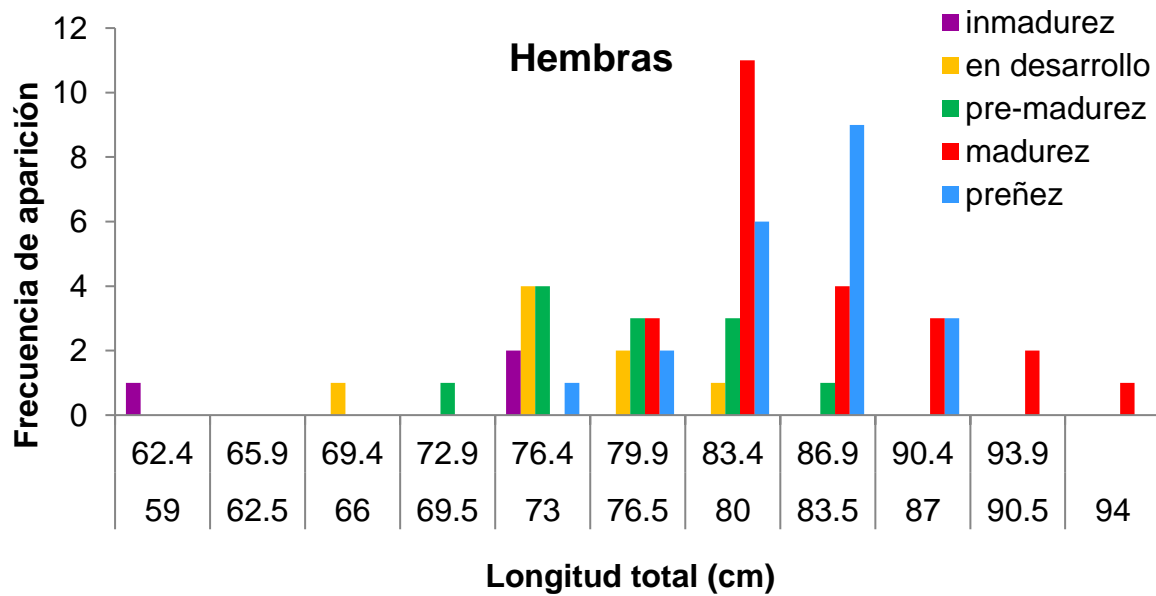


Figura 4. Composición de tallas (Lt en cm) por estadio de madurez en hembras de tiburón inflado.

Para el caso de los machos se usó el registro de 27 organismos, los cuales presentaron tallas que van desde los 59 hasta los 87 cm de Lt, con una media de 75.01 cm de longitud total (Figura 5).

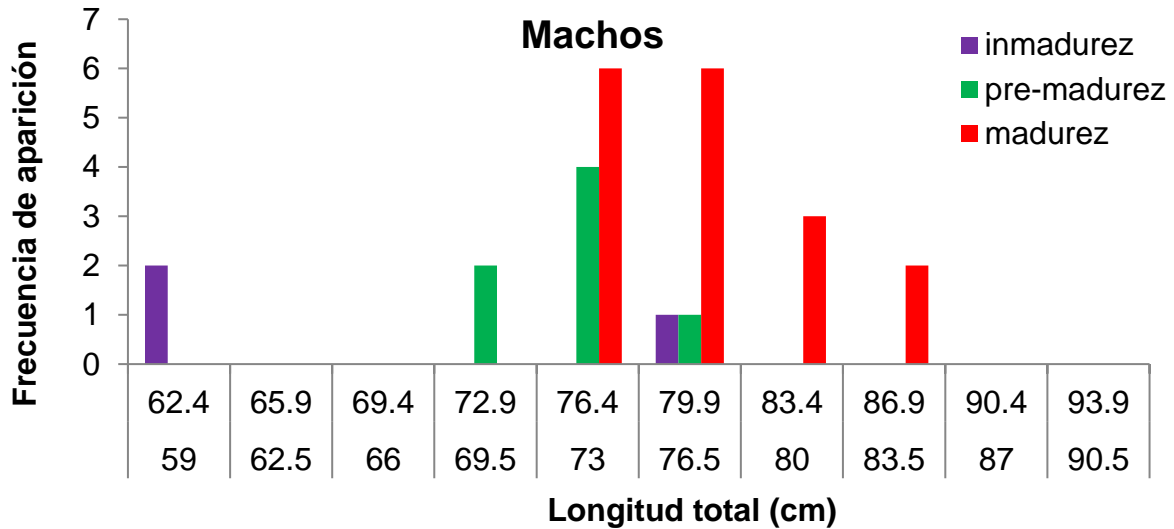


Figura 5. Composición de tallas (Lt en cm) de los machos del tiburón inflado por estadio de madurez sexual.

La longitud total de los organismos relacionada con la longitud de los órganos reproductores mostró una relación positiva, solamente en las hembras. Se registró una relación entre el ancho de la glándula oviducal con respecto a la longitud total del organismo, ya que a medida que el organismo fue más grande, la glándula oviducal aumentó su tamaño (Figura 6), indica que se trata de un órgano con crecimiento gradual.

En el caso de los machos no se observó una relación entre el largo de los gonopterigios (Figura 7) y el largo de los testículos (Figura 8) con respecto a la longitud total de los organismos, debido al bajo número de muestras obtenidas; sin embargo, se sugiere que, existe relación, con base en lo observado macroscópicamente, ya que se observó que los órganos mantuvieron un crecimiento gradual con relación al estadio de madurez en que se encuentra.

Los órganos pareados como testículos y glándulas oviducal no mostraron diferencias significativas entre ellos ( $p < 0.05$ ), es decir el órgano derecho no difiere al órgano izquierdo en alto y ancho. En este sentido, se puede analizar en cualquiera de los dos lados obtenidos al momento del muestreo.

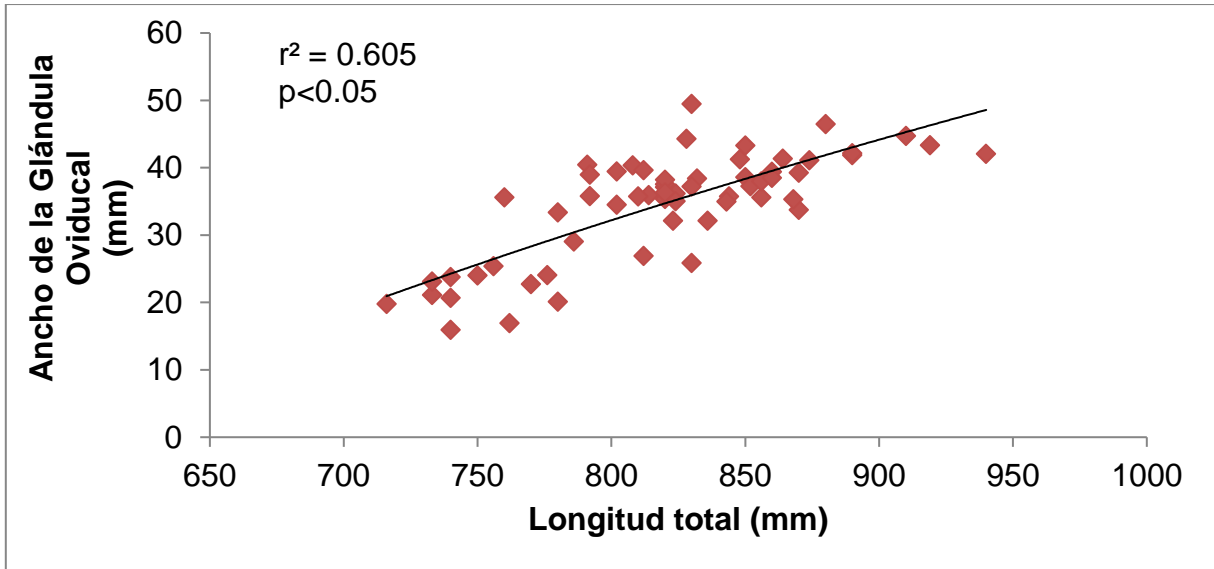


Figura 6. Regresión lineal entre la longitud total de *C. ventriosum* con el ancho de la glándula oviducal.

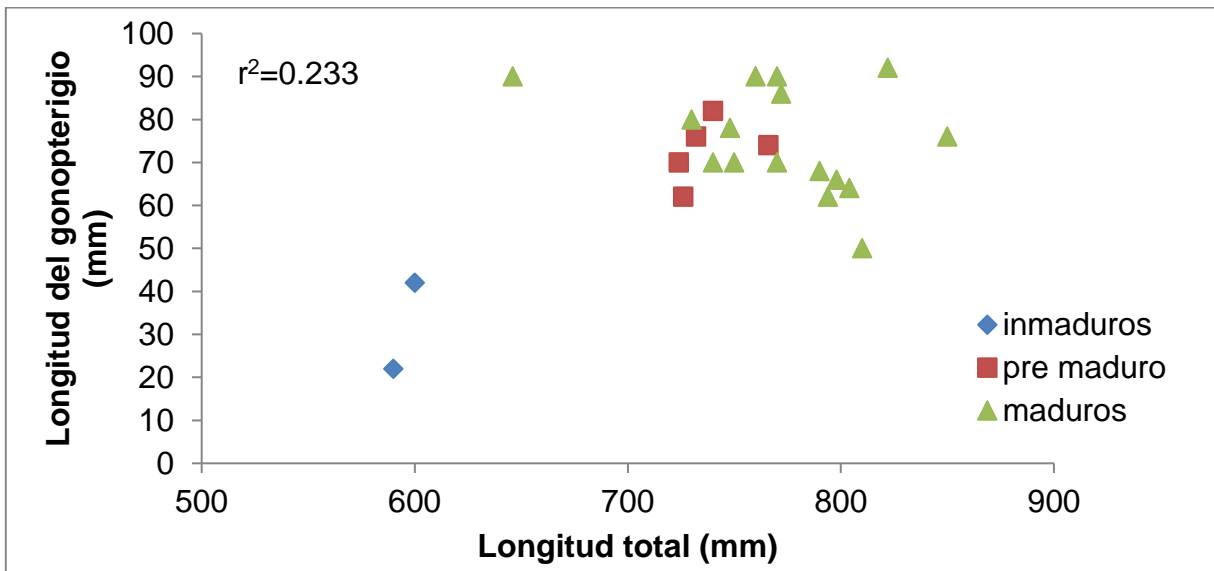


Figura 7. Regresión lineal entre la longitud total de *C. ventriosum* con la longitud del gonopterigio.

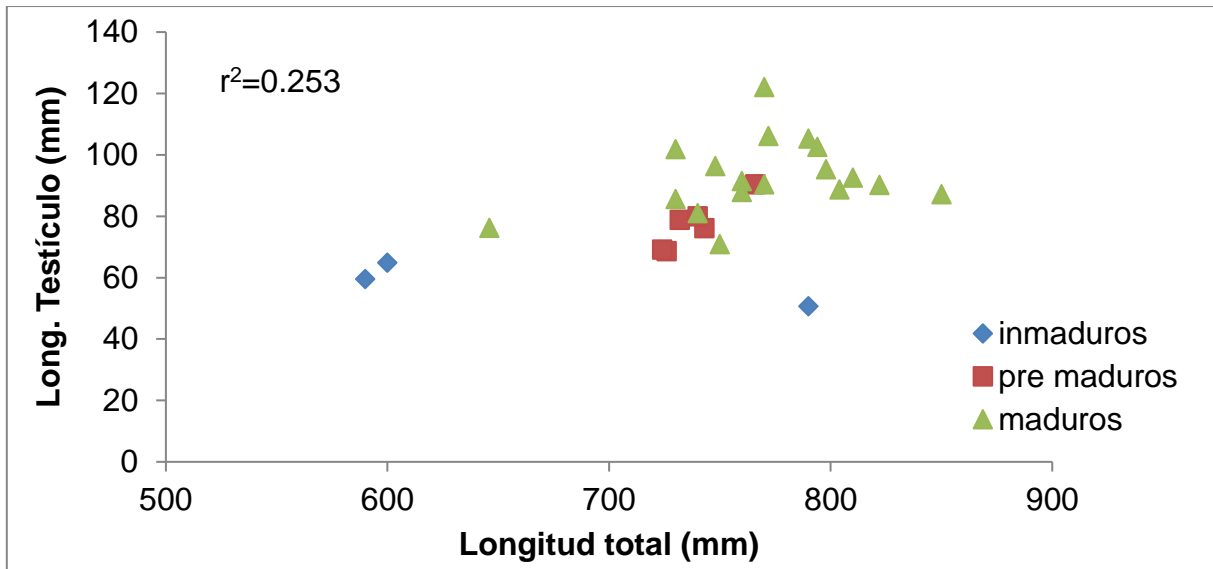


Figura 8. Regresión lineal entre la longitud total de *C. ventriosum* con la longitud del testículo.

### Distribución temporal del tiburón inflado

El histograma de frecuencia por temporadas de muestreos presenta registros durante los meses de agosto 2013, marzo a abril de 2014, agosto y noviembre 2014, marzo y agosto 2015 y noviembre 2016.

Se observaron dos picos de aparición en hembras, en marzo y agosto; mientras que para los machos su mayor frecuencia de aparición fue en marzo y después se registró una disminución en los siguientes meses de muestreo (Figura 9).

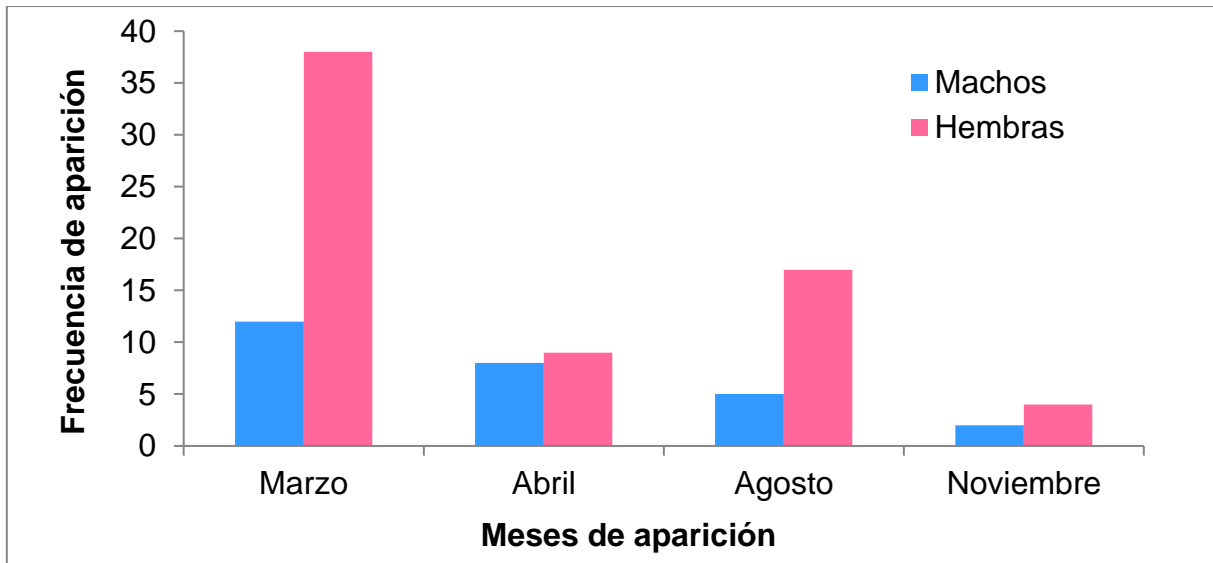


Figura 9. Distribución temporal de machos y hembras del tiburón *C. ventriosum*.

En hembras la distribución temporal de los diferentes estadios de madurez sexual estuvo representado por organismos inmaduros, en desarrollo, pre-maduro, maduro y preñadas. Encontrándose todos los estadios de desarrollo en todos los meses de muestreo, se observaron dos picos con hembras maduras en marzo y agosto, así como hembras con cápsulas ovígeras en marzo y abril. Se observó que de abril a agosto se presentó una disminución de hembras con cápsulas ovígeras, aumentando para el mes de agosto las hembras maduras, sin presencia de cápsulas ovígeras.

Las hembras en desarrollo mostraron picos en marzo y agosto; mientras que los organismos pre-maduros solo mantuvieron un pico notable en marzo. Se hizo evidente, que todos los estadios de madurez sexual establecidos, ya sea en mayor o menor frecuencia estuvieron presentes en todos los meses de muestreo (Figura 10). Se observó que a partir del mes de abril los estadios, inmaduro, en desarrollo y pre-maduro mostraron una misma frecuencia de aparición.



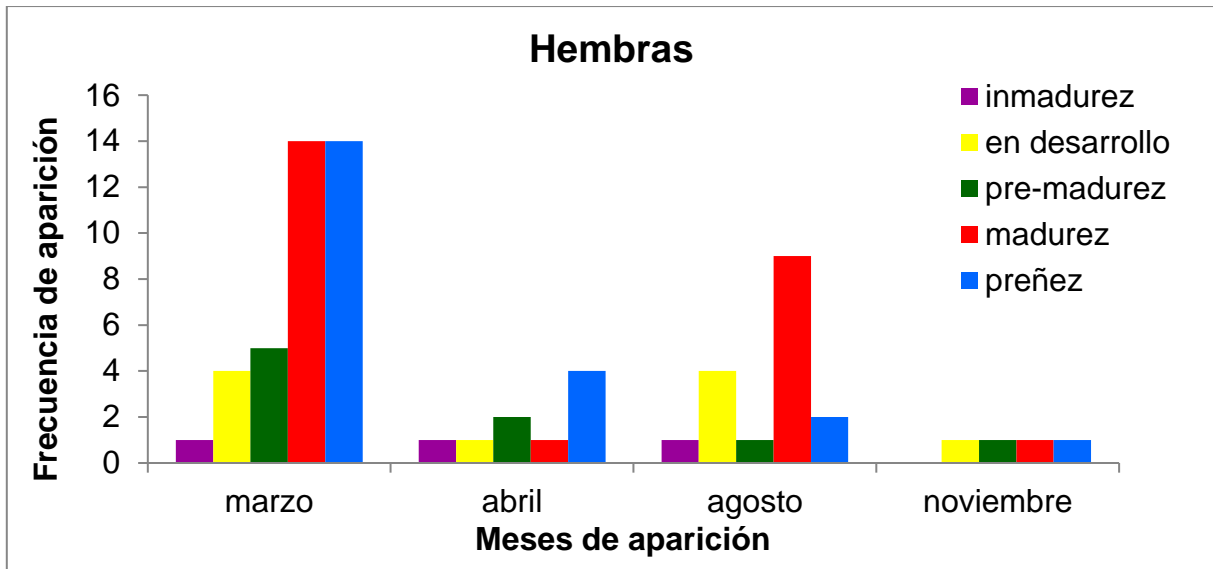


Figura 10. Distribución temporal de los estadios de madurez sexual de hembras del tiburón inflado.

En machos la distribución de los diferentes estadios de madurez estuvo mejor representada por organismos inmaduros, pre-maduros y maduros, estos últimos en mayor frecuencia de aparición, con un pico en el mes de marzo, seguido de una disminución en los siguientes meses de muestreo. Los individuos pre-maduros mantuvieron dos picos en marzo y abril, reapareciendo hasta el mes de noviembre. Los organismos inmaduros, solo estuvieron presentes en los meses de marzo y agosto (Figura 11).

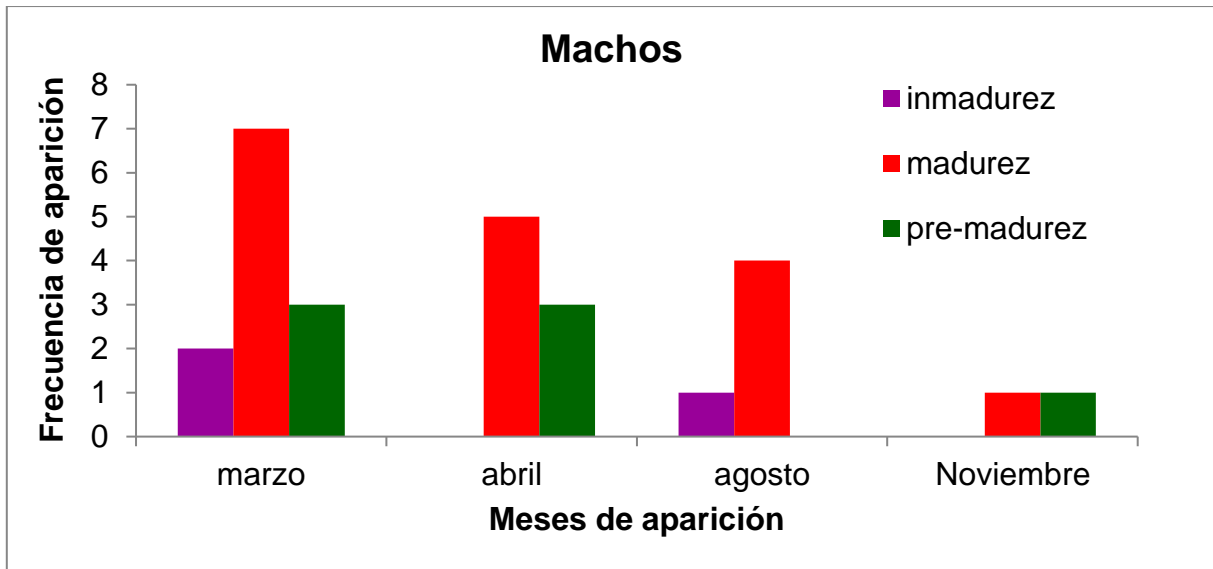


Figura 11. Distribución temporal de los estadios de madurez sexual de machos del tiburón *C. ventriosum*.

### Proporción de sexos

Durante todo el muestreo, los organismos capturados presentaron una proporción sexual de 2.52:1 (H:M), mostrando diferencias estadísticas significativas ( $X^2=17.69$ ,  $p<0.05$ ) (Figura 12) por medio del análisis de  $X^2$  (Chi-cuadrada). Observando que las hembras fueron más abundantes que los machos en todos los meses de muestreo.

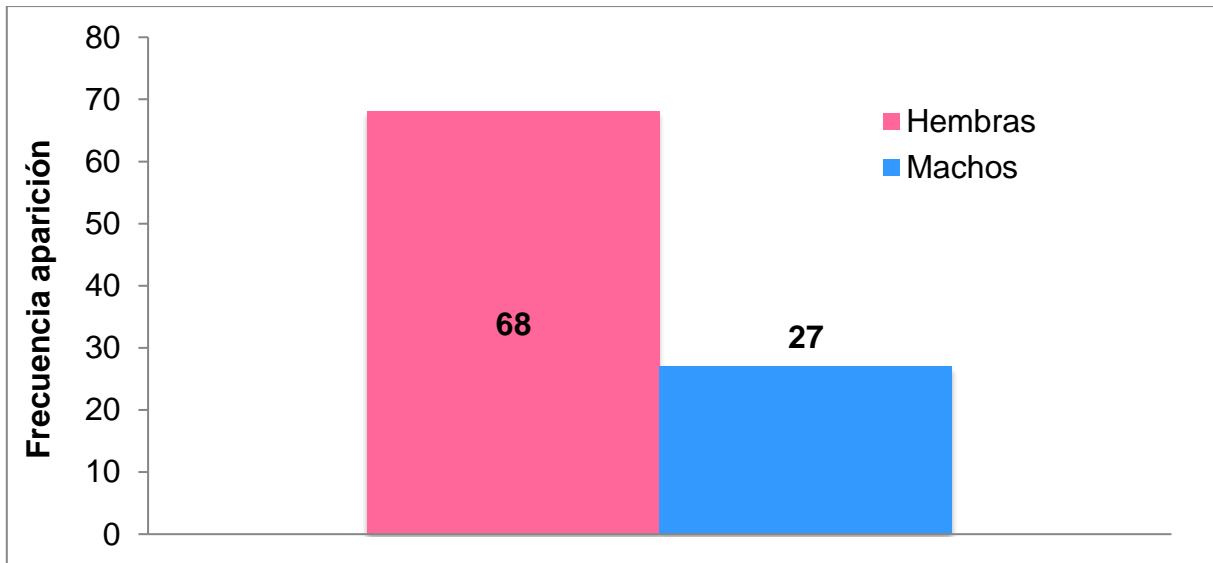


Figura 12. Proporción sexual del tiburón *C. ventriosum*.

#### Talla media de madurez sexual (L<sub>50</sub>)

La talla de media madurez sexual, donde se considera el 50% de los organismos sexualmente maduros o reclutados a la reproducción, se obtuvieron por medio de la ecuación logística. Los indicadores morfométricos e histológicos que se consideraron en el caso de las hembras, fue el tamaño de los oocitos, tamaño de la glándula oviducal y presencia de cápsulas ovígeras. Para machos solo se emplearon datos morfométricos del grado de calcificación del gonopterigio.

Se obtuvo una talla media de madurez sexual para hembras de 78.38 cm de Lt, y para machos la talla media de madurez sexual fue de 74.24 cm de Lt (Figura 13), ambos con intervalo de confianza de 95%.

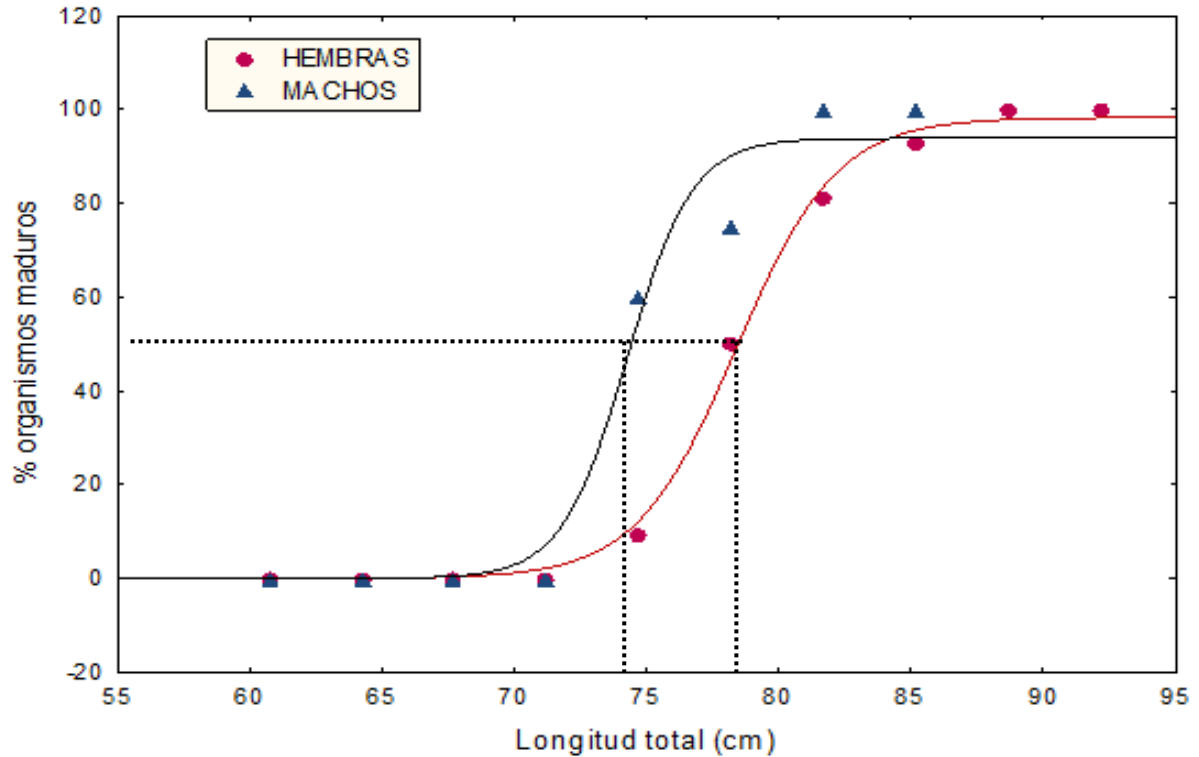


Figura 13. Talla media de madurez sexual ( $L_{50\%}$ ) en hembras y machos del tiburón *Cephaloscyllium ventriosum* en Bahía tortugas, B.C.S.

## DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA DEL SISTEMA REPRODUCTOR DE LAS HEMBRAS

### Ovario

El aparato reproductor de las hembras de *C. ventriosum* consta de un ovario funcional y otro vestigial. El ovario funcional está acompañado del órgano epigonal, ambos están recubiertos por una membrana mesotelial que los sostiene y protege. Presenta dos glándulas oviducuales, encargadas de formar la cápsula ovígera y almacenar esperma, así como un par de úteros funcionales. La forma y tamaño del ovario varía en relación con su estado de maduración, algunos ovarios presentan oocitos más desarrollados con abundante vitelo (vitelogénicos), en tanto otros ovarios presentan oocitos en maduración poco granulados y de superficie más lisa. Asimismo, la forma y tamaño de la glándula oviducal está en relación directa con el estadio de maduración.

Mediante el análisis macroscópico del aparato reproductor femenino de *C. ventriosum* se establecieron diferentes escalas de estadios de desarrollo, distinguiéndose claramente cinco estadios: inmadurez, en desarrollo, pre-madurez, madurez y preñez, todos estos estadios caracterizados por los indicadores morfológicos como tamaño, presencia y modificaciones en las estructuras celulares de los oocitos, como son: la presencia de vitelo en el citoplasma, grosor de la zona pelúcida, cambios en la capa granulosa, teca interna y teca externa.

### **Estadio de inmadurez**

Las hembras clasificadas como inmaduras presentaron ovarios de tamaño pequeño (50-59 mm de largo con 16-30 mm de ancho), lisos e incoloros. No se apreciaron granulaciones de oocitos en desarrollo. Se distinguieron conductos finos y cortos (ostium) que conectan al ovario con las glándulas oviducuales, estas últimas presentaron dimensiones de 20-30 mm de ancho y un largo de 25-35 mm, su forma es ovalada o periforme, son flácidas e incoloras, se conectan en su parte posterior con oviductos y úteros. Los oviductos posteriores son conductos delgados y rectos, de consistencia flácida, sin diferencias macroscópicas claras con el útero. Los dos cuernos uterinos son de consistencia flácida, con forma tubular, dimensiones desde 13 mm a los 27 mm de largo, estos conductos aumentan de grosor conforme avanza el desarrollo y son los encargados de recibir la formación final de las cápsulas ovígeras (Figura 14).

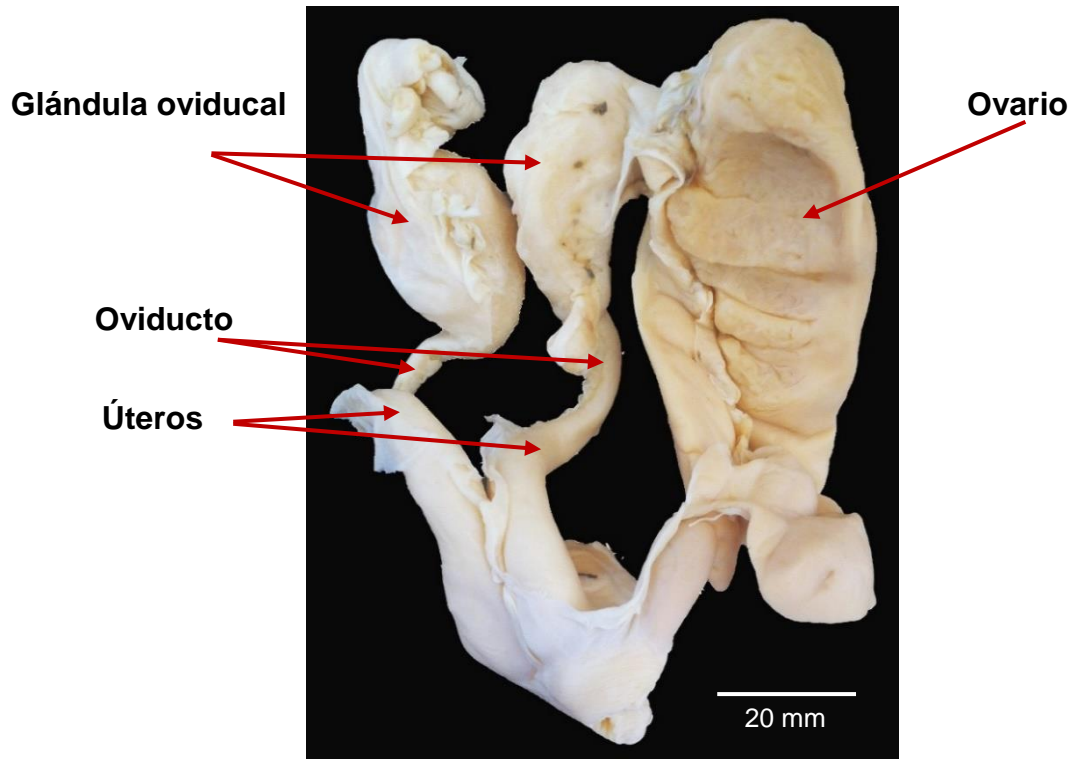


Figura 14. Aparato reproductor de una hembra inmadura de *C. ventriosum*.

### En desarrollo inicial

Los ovarios presentaron folículos en desarrollo (ovario de aspecto granuloso y de consistencia flácida) con un color amarillento o rosado pálido, el tamaño varió, desde los 55 mm a los 60 mm de largo y de los 20-30 mm de ancho. Las glándulas oviducal aumentaron de tamaño, tienen forma de pera (piriforme), miden de 25 a 45 mm de largo y ancho a partir de los 20 mm hasta 26 mm. Los dos cuernos del útero miden cada uno entre 38 y 76 mm de largo (Figura 15).

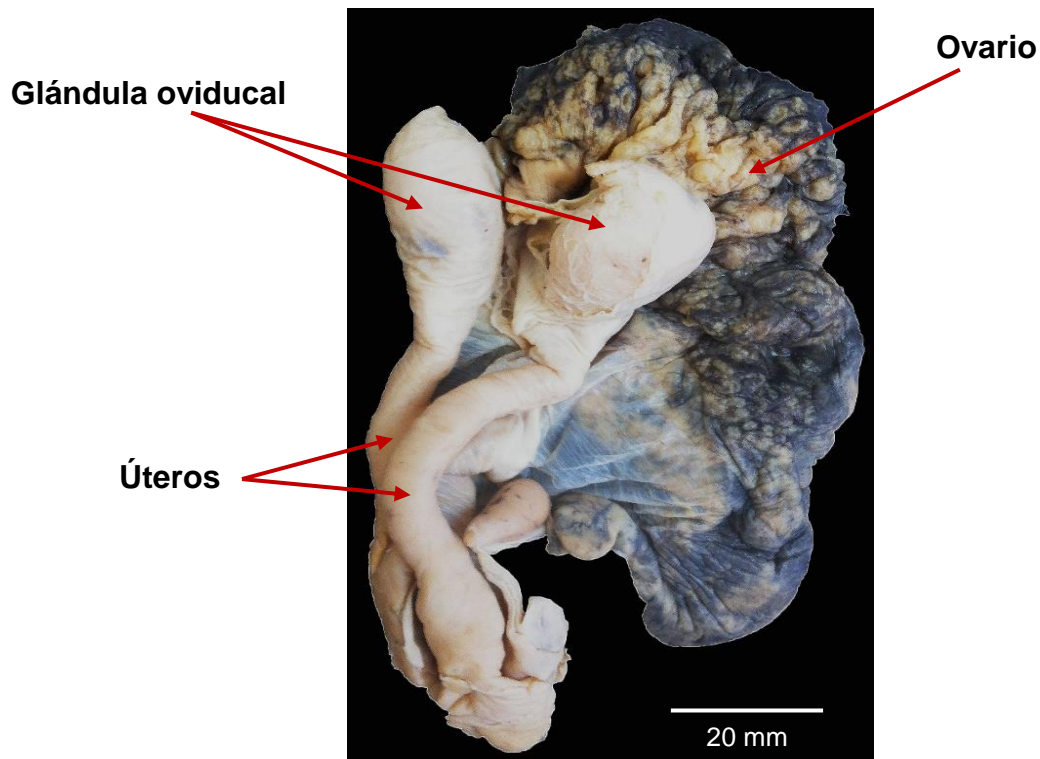


Figura 15. Anatomía interna del aparato reproductor de hembra de *C. ventriosum* en desarrollo sexual.

### Estadio de pre-madurez

En este estadio de desarrollo se apreciaron pequeños folículos amarillentos en el ovario, de tamaño <5mm. El tamaño del ovario varió, mostrando una media de 92.39 mm. La coloración de la gónada se torna en rosa pálido (Figura 16). La glándula oviducal comienza a tomar forma acorazonada, es más ancha que larga, el largo varía de 30 a 40 mm y de 20 a 36 mm de ancho. El oviducto y el útero se diferencian por su diámetro, el útero es más robusto y ancho ( $\pm 8$  mm).

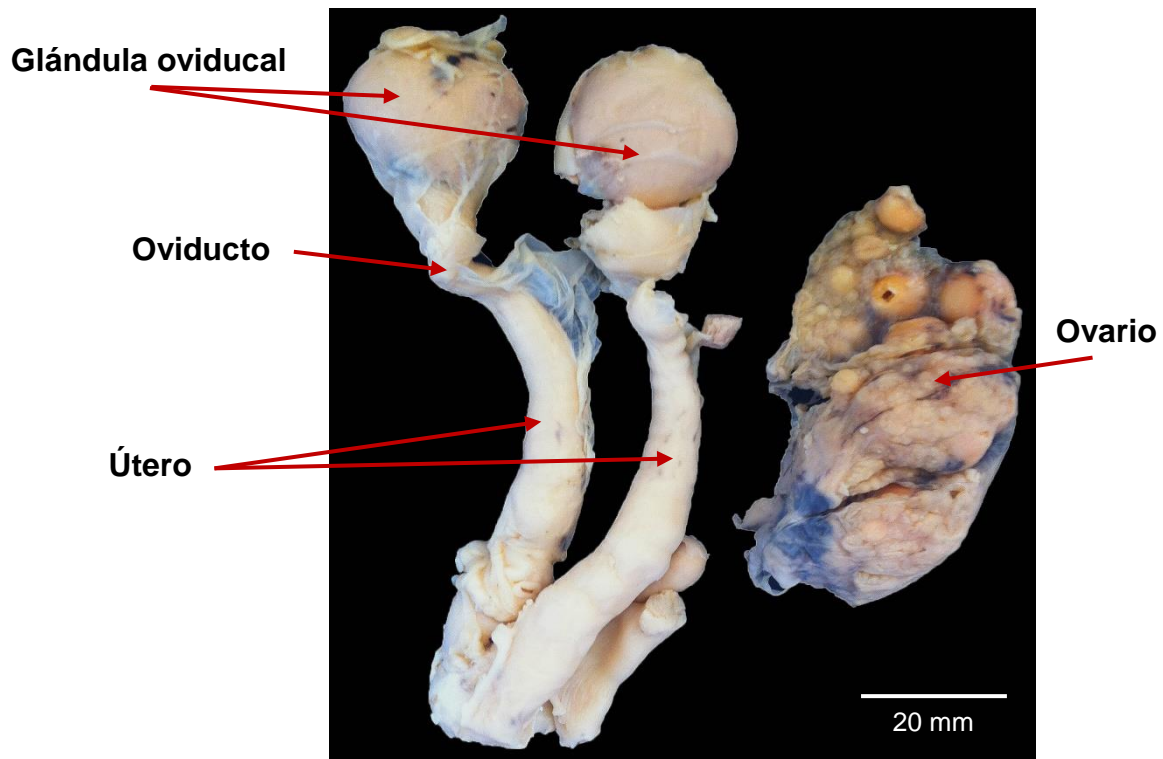


Figura 16. Aparato reproductor de hembra pre-madura de *C. ventriosum*.

### Estadio de madurez

El ovario maduro presentó oocitos vitelogénicos en diferentes grados de desarrollo con coloraciones amarillentas o naranjas. Se observó el inicio de oocitos <5 mm, hasta 26 mm máximo de diámetro mayor, donde la media es 23.94 mm del oocito más grande en diámetro. Este tipo de oocito por lo general ocupa la parte media del ovario, en la periferia, orientado hacia las glándulas oviducuales, sugiere el siguiente en ser ovulado. El tamaño del ovario varió de los 77.44 mm a 118.22 mm, con media de 93.96 mm. Posee una fecundidad ovárica de  $13 \pm 3$  oocitos. Estas hembras no presentaron cápsulas ovígeras en los úteros. La glándula oviducal presentó forma de corazón, su tamaño llegó al máximo con mínimas variaciones de largo se observó a partir de 38 a 44 mm, con una media de 42.16 y de ancho las medidas fueron desde los 37 a 41 mm, obteniendo como media 39.54 mm. El útero se diferenció claramente del oviducto por su grosor mayor y el largo varía de los 81 a 94 mm (Figura 17).



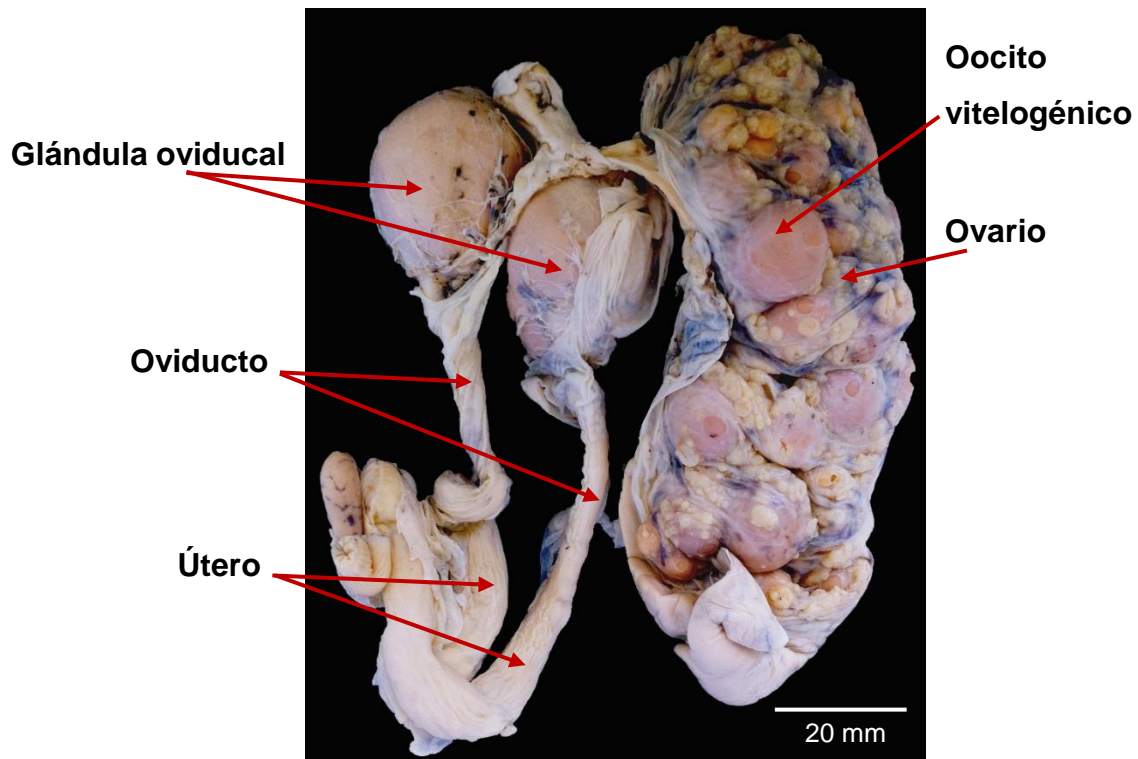


Figura 17. Aparato reproductor de una hembra madura de *C. ventriosum*, oocitos en diferente grado de desarrollo.

### Estadio de preñez

La característica principal de las hembras preñadas fue la presencia de cápsulas ovígeras en el interior del útero, el cual se encuentra distendido y es más voluminoso. En general, se observó una cápsula ovígera por cada cuerno del útero (Figura 18), en raras ocasiones se encontraron dos cápsulas ovígeras por útero al mismo tiempo de desarrollo (Figura 19). El tamaño de las cápsulas ovígeras varió, la media del largo fue de 89.20 mm; y la media del ancho de 44.33 mm. En presencia de dos cápsulas ovígeras por útero el tamaño de estas cápsulas disminuye de 3 a 4 mm de largo. El ovario y la glándula oviducal conservaron su morfología macroscópica y fueron comparables en el estadio de madurez ya que presentaron oocitos en diferentes grados de desarrollo y la glándula oviducal con forma de corazón.

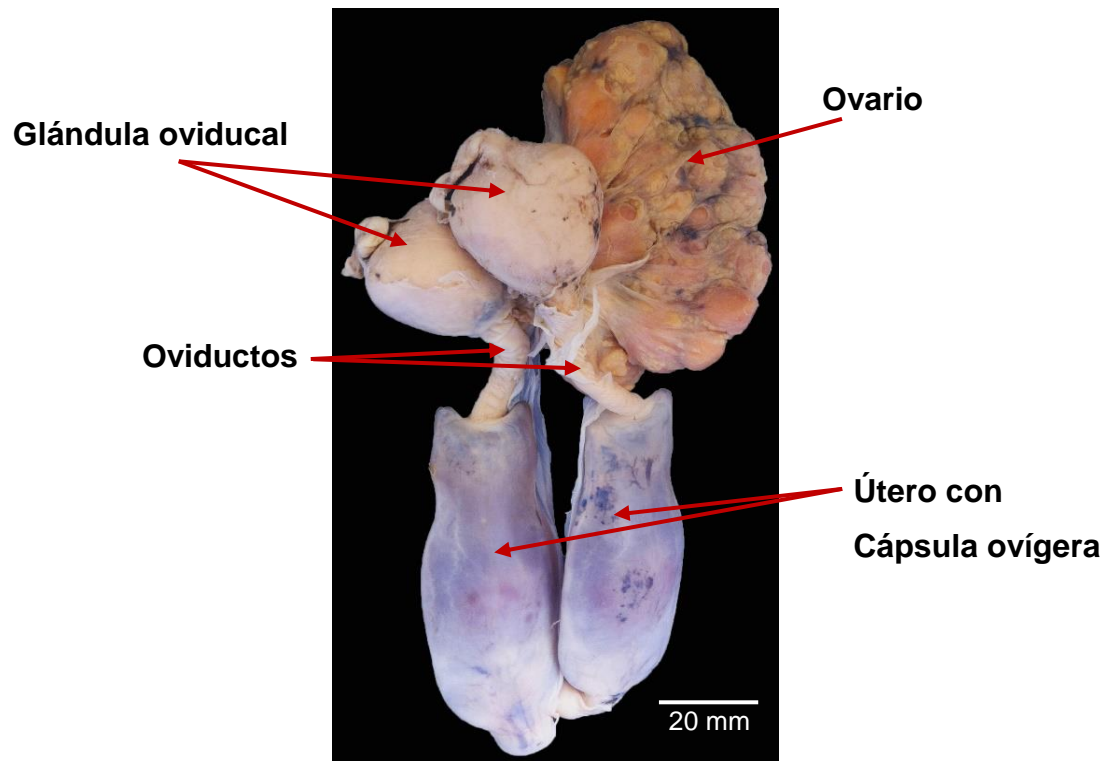


Figura 18. Aparato reproductor de *C. ventriosum*, hembra embarazada con una cápsula ovígera en cada cuerno del útero.

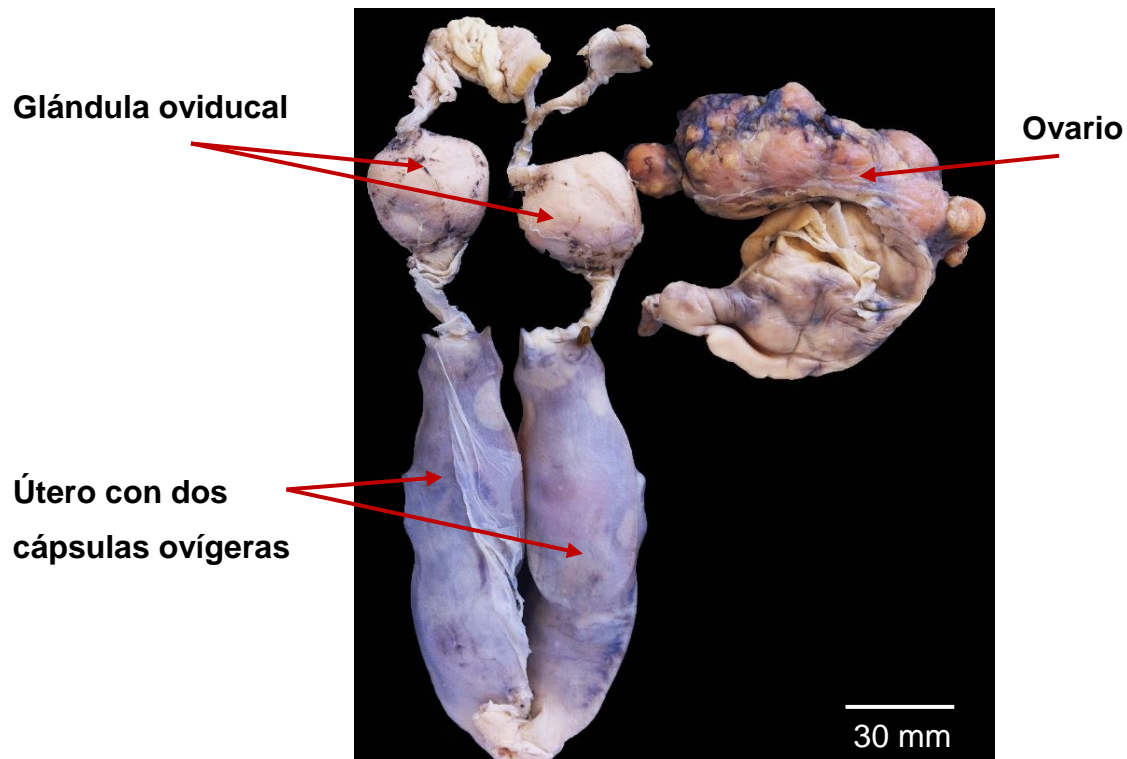


Figura 19. Aparato reproductor de una hembra preñada de *C. ventriosum* en presencia de dos cápsulas ovígeras en cada cuerno de útero.

### Glándula Oviducal

La glándula oviducal es una estructura pareada que en esta especie tiene como principal función la formación de las cápsulas ovígeras, además de almacenamiento de esperma.

La morfología macroscópica de la glándula oviducal del tiburón inflado consiste en una estructura fibrosa (de fibras musculares lisas) acompañada de tejido conjuntivo, es aplanada dorsoventralmente en forma de corazón y aumenta de tamaño conforme avanza el desarrollo de madurez (Figura 20), presenta una coloración rosada pálida. En hembras maduras miden en promedio a lo largo de 42.16 mm y de anchura media 39.54 mm. Ambas glándulas oviducal por su parte anterior se conectan con el ovario, contiguamente en su parte posterior se conectan con los oviductos y úteros.

En la parte posterior de la glándula oviducal se observó la presencia de tendrillos largos (estructuras filamentosas que permiten que la cápsula ovígera se

sujete del sustrato), anclados en las curvaturas de la cápsula ovígera que es donde nace su formación, encontrándose éstas cápsulas hasta el útero.

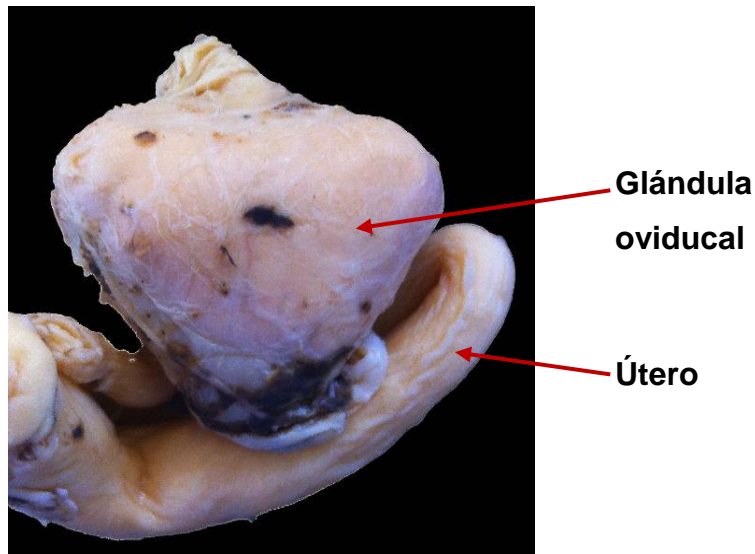


Figura 20. Morfología externa de la glándula oviducal de una hembra madura de tiburón inflado.

### **Cápsulas Ovígeras**

*C. ventriosum* presentó una cápsula ovígera en cada útero; se encuentran totalmente formados, cerrados en sus extremos y con el óvulo en su interior. Las cápsulas ovígeras son de color verde claro a oscuro, son translúcidas, permiten ver el contenido en su interior. Presentan curvaturas y ornamentaciones en los dos extremos, estas ornamentaciones son llamadas tendrillos, visibles como hilillos largos en espiral, ayudan a sujetar la cápsula ovígera al sustrato durante la ovoposición y el desarrollo embrionario. Estos tendrillos surgen de una invaginación en los extremos de la cápsula ovígera, dando forma a unas curvaturas en la cápsula ovígera anterior y posterior.

La cápsula ovígera mide en longitud de 77 a 95 mm, con una media general de 89.19 mm, sin incluir la ornamentación, y de ancho 42 a 50 mm, la zona de mayor grosor en promedio mide 44.33 mm (Figura 21).

Se observaron cinco hembras con dos cápsulas ovíferas por útero, encontrando diferencias solo de  $\pm 3$  mm de longitud y  $\pm 2$  mm de ancho. En general las hembras preñadas midieron de los 79.2 a los 88 cm de longitud total.

Se registraron cápsulas ovíferas en 21 hembras, durante todo el periodo de estudio, lo cual indica que *C. ventriosum* tiende a depositar cápsulas ovíferas durante todo el año, teniendo un pico de oviposición en el mes de marzo. Las hembras con capsulas ovíferas, coincidieron con un alto número oocitos en el ovario, entre 10 a 20 oocitos de mayor diámetro que el resto de oocitos.

Todas las cápsulas ovíferas mostraron en su interior el saco vitelino con el desarrollo embrionario, ninguna estuvo vacía. No se observaron inicios de desarrollo embrionario en las cápsulas (debido a que los primeros signos de vida visibles al ojo humano suceden días después de la oviposición), si se observó claramente el saco vitelino.



Figura 21. Cápsulas ovíferas del tiburón inflado *C. ventriosum*. En el interior del recuadro se muestra el saco vitelino.

## **DESCRIPCIÓN ANATÓMICA E HISTOLÓGICA DE LA OVOGÉNESIS**

En el ovario de cada hembra analizada, la ovogénesis se identificó por medio de las características particulares de los diferentes estadios durante el crecimiento de los oocitos. Se encontraron folículos primordiales, folículos pre-ovulatorios, a partir del desarrollo sexual pre-maduro (Figura 22), en hembras sexualmente inmaduras solo se observaron folículos primordiales, folículos primarios y folículos en desarrollo, además el órgano epigonal estuvo ampliamente desarrollado (Figura 23), cuando la ovogénesis avanzó, el tamaño y la representación del órgano epigonal disminuyó.



Figura 22. Ovario de *C. ventriosum* de una hembra pre-madura, midió 78.6 cm de longitud total. (Aumento: 2.0X, Tinción Tricrómica de Mallory; FPr= folículo primordial, FPM= folículo primario, FD= folículo en desarrollo, FPo= folículo pre-ovulatorio, OE= órgano epigonal, At= atresia).

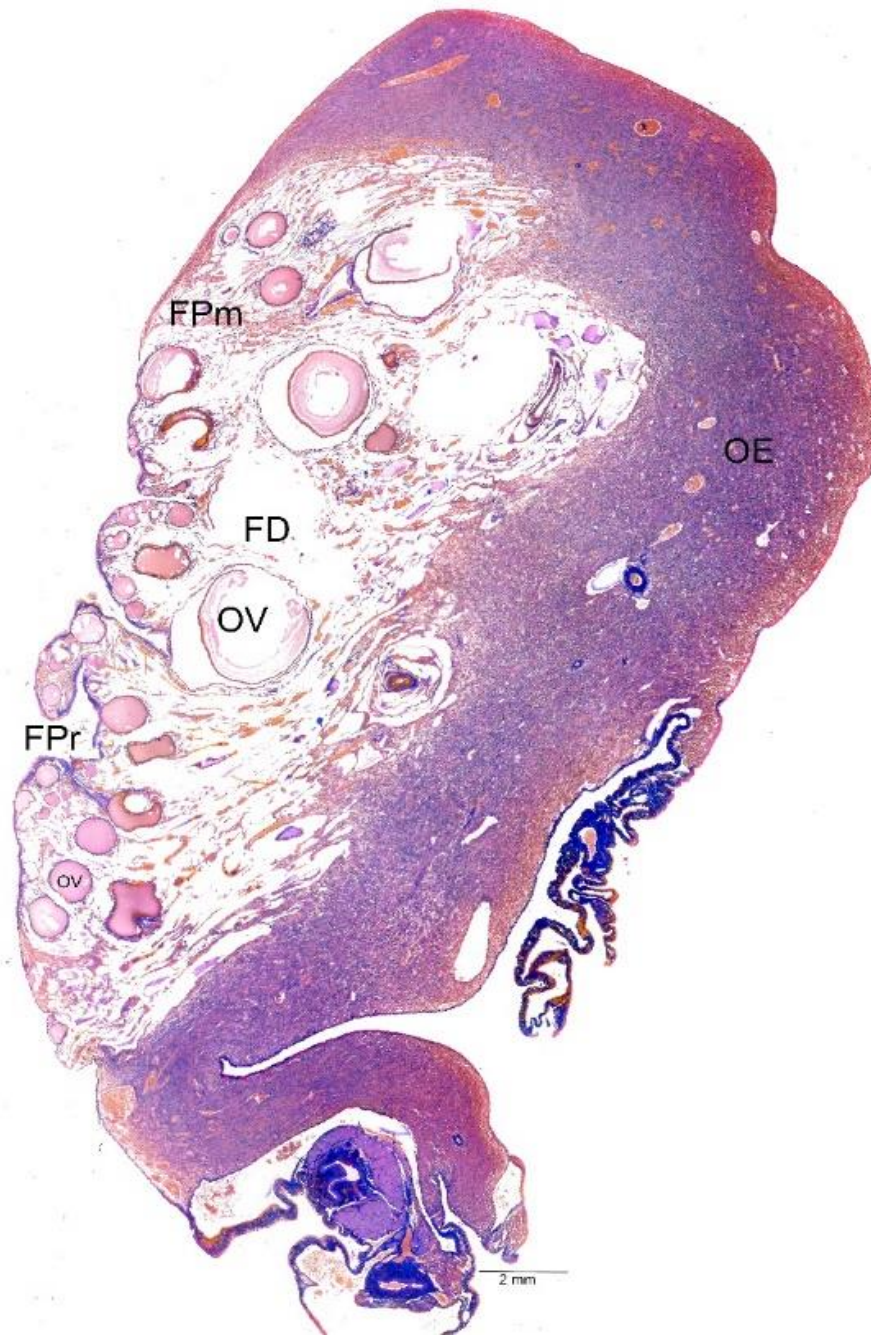


Figura 23. Ovario de una hembra inmadura de tiburón *C. ventriosum* de 71.6 cm de longitud total. (Aumento: 2.0X, Tinción Tricrómica de Mallory; FPr= folículo primordial, FPm= folículo primario, FD= folículo en desarrollo, OV= oocito, OE= órgano epigonal).



La ovogénesis se analizó por medio de cortes histológicos, en este caso a 3  $\mu\text{m}$ . En total se identificaron cuatro fases de la ovogénesis, las cuales a continuación se enlistan:

### Folículos primordiales (fase 1)

La oogonias están rodeadas por el epitelio plano simple, de igual forma rodean al oocito, en el cual se distingue el inicio de la formación de la capa granulosa y están poco visibles algunas células de la teca interna. El folículo primordial muestra el inicio de la formación de la zona pelúcida. Esta zona no ha terminado de formarse en su totalidad, se observa como una estructura difusa y discontinua. Dependiendo el alcance del corte histológico se puede observar un núcleo grande (54.58  $\mu\text{m}$ ). Los folículos primordiales más avanzados presentan en su periferia entre las células foliculares simples planas células en forma de globo (Figura 24).

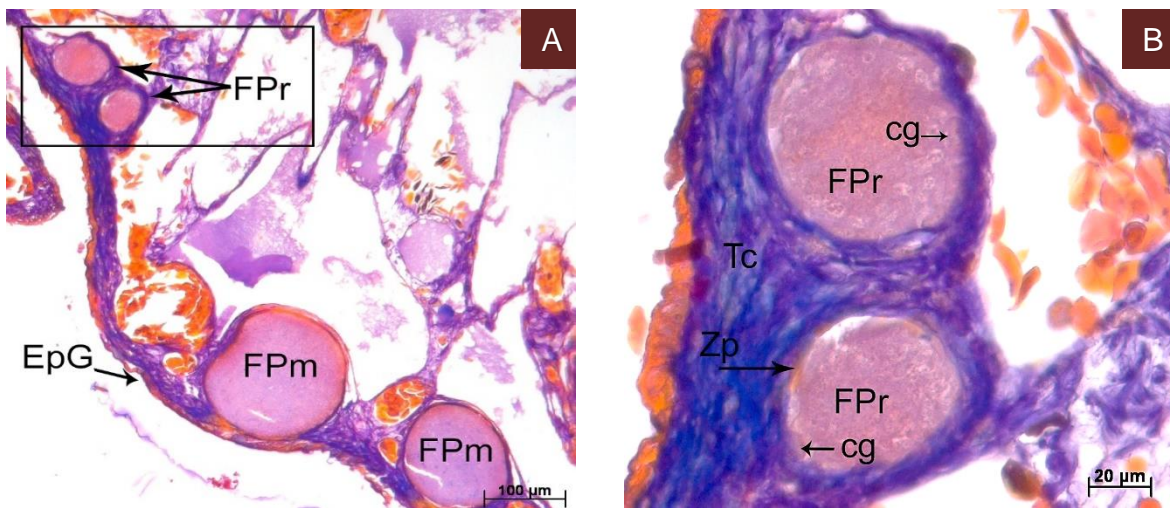


Figura 24. Folículos primordiales en hembra pre-madura de 75 cm de longitud total. **A)** Se observan dos folículos primordiales en la parte superior izquierda y dos folículos en la parte inferior, **B)** folículos primordiales con zona pelúcida difusa y células globosas entre el folículo; (Aumento: **A)** 10X, **B)** 40X, Tinción Tricrómica de Mallory; FPr= folículo

primordial, FPm= folículo primario, cg= células globosas, EpG= epitelio germinal, Zp= zona pelúcida.

### Folículos primarios (fase 2)

En esta fase las células de la capa granulosa se han transformado en células epiteliales cúbicas simples. La zona pelúcida se hace homogénea presentándose con un espesor desde 3.02  $\mu\text{m}$  hasta 11.42  $\mu\text{m}$ , con una media de 5.43  $\mu\text{m}$ , rodea por completo el oocito. A partir de que la zona pelúcida envuelve al oocito, el crecimiento en número y tamaño de la capa granulosa es evidente, el epitelio plano simple pasa a ser epitelio simple cúbico. El folículo aumenta de diámetro hasta  $>812.92 \mu\text{m}$ , el citoplasma del oocito muestra pequeñas granulaciones iniciales, como inclusiones lipídicas y gránulos de vitelos (Figura 25).

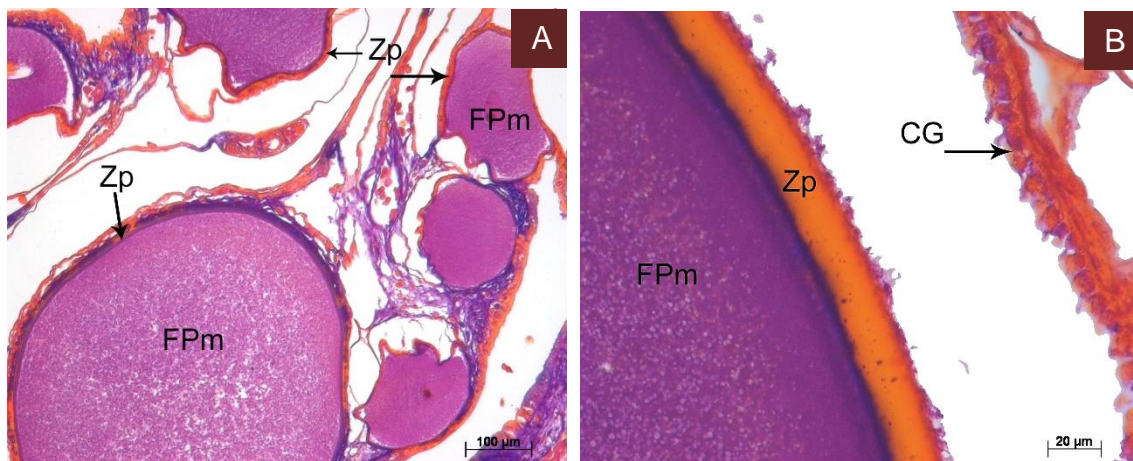


Figura 25. Folículo primario en hembra en desarrollo de 73.3 cm de longitud total. (Aumento: **A**) 10X, **B**) 40X, la zona pelúcida es homogénea y su grosor aumenta al igual que la capa granulosa conforme avanza el desarrollo; Tinción Tricrómica de Mallory; FPm= folículo primario, CG= Capa granulosa, Zp= zona pelúcida)

### Folículos en desarrollo (fase 3)

Esta fase caracteriza el inicio de la vitelogénesis. Esta incorporación requiere espacios amplios por lo que el epitelio pasa de epitelio simple cúbico a epitelio cilíndrico pseudoestratificado, además la zona pelúcida alcanza un máximo grosor, hasta  $>34.34 \mu\text{m}$ , con media de 22.34  $\mu\text{m}$ , muestra aspecto heterogéneo por los puentes intercelulares que la atraviesan. En el citoplasma se observa la acumulación

de gránulos de lípidos y vitelo. Estos gránulos seguirán en aumento de tamaño durante el desarrollo folicular (Figura 26).

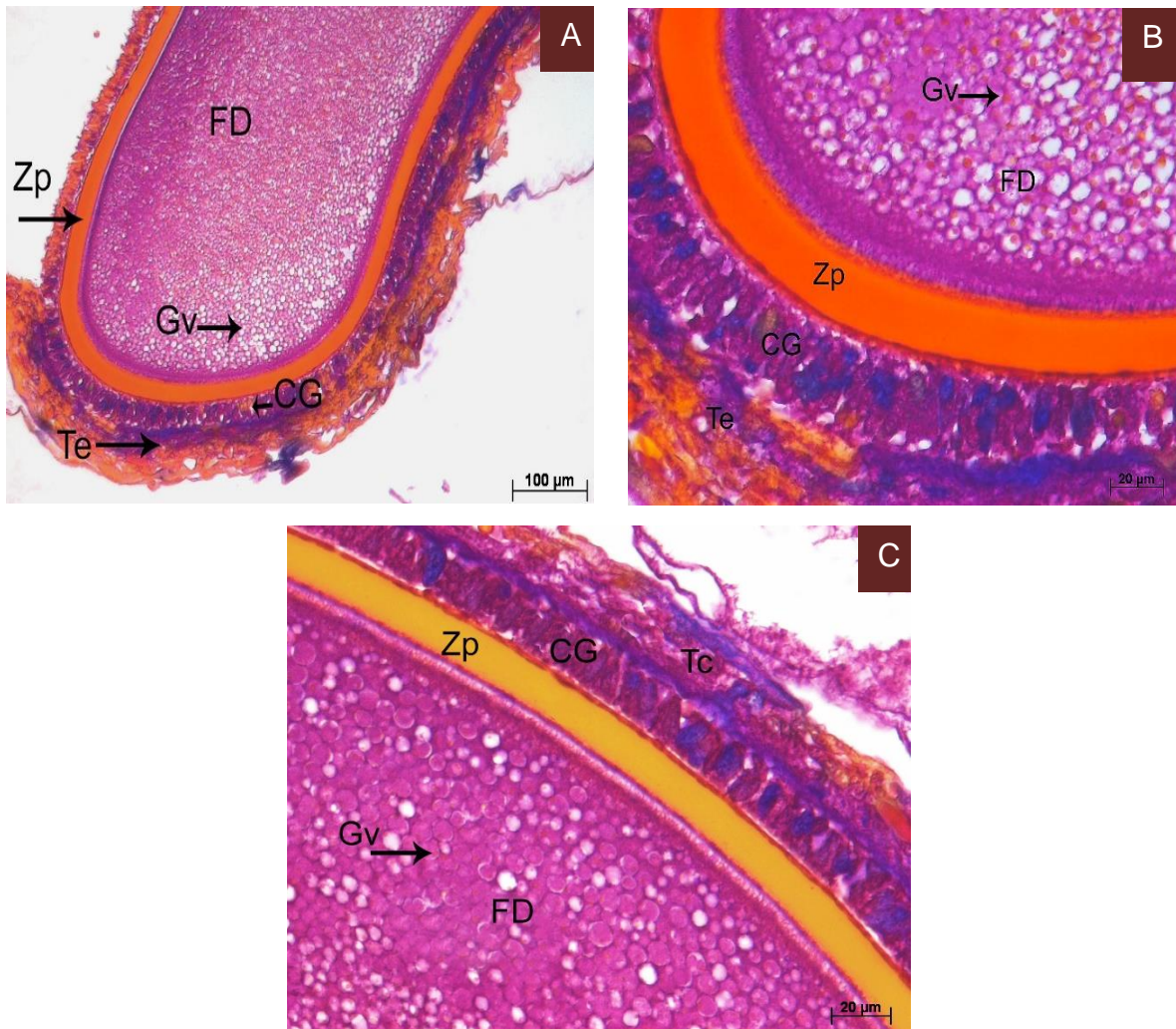


Figura 26. Folículo en desarrollo de hembra pre-madura de 77 cm de longitud total. (Aumento: **A**) 10X, **B**) 40X, la zona pelúcida en su máximo grosor, se observan las gotas lipídicas y algunos inicios de los gránulos de vitelo, la capa granulosa comienza a estratificarse, **C**) 40X, la capa granulosa aún permanece simple cúbico; Tinción Tricrómica de Mallory; FD= folículo en desarrollo, Zp= zona pelúcida, Gv= gránulos de vitelo, CG= capa granulosa, Te= células de la teca).

#### Folículo pre-ovulatorio (fase 4)

El crecimiento del folículo incrementa por la continua acumulación de vitelo hasta alcanzar el diámetro máximo de 26 mm en el oocito más grande. El citoplasma presenta los gránulos de vitelo con formas esféricas ovaladas. La zona pelúcida se adelgaza, debido a la acumulación de vitelo en abundancia. La capa granulosa tiende a ensancharse, continua con epitelio pseudoestratificado. Las células de la teca interna se estratifican. Se observa la gran diferencia en tamaño entre folículo pre-ovulatorio y folículos primarios y folículos en desarrollo, cada uno presentando sus características particulares (Figura 27).

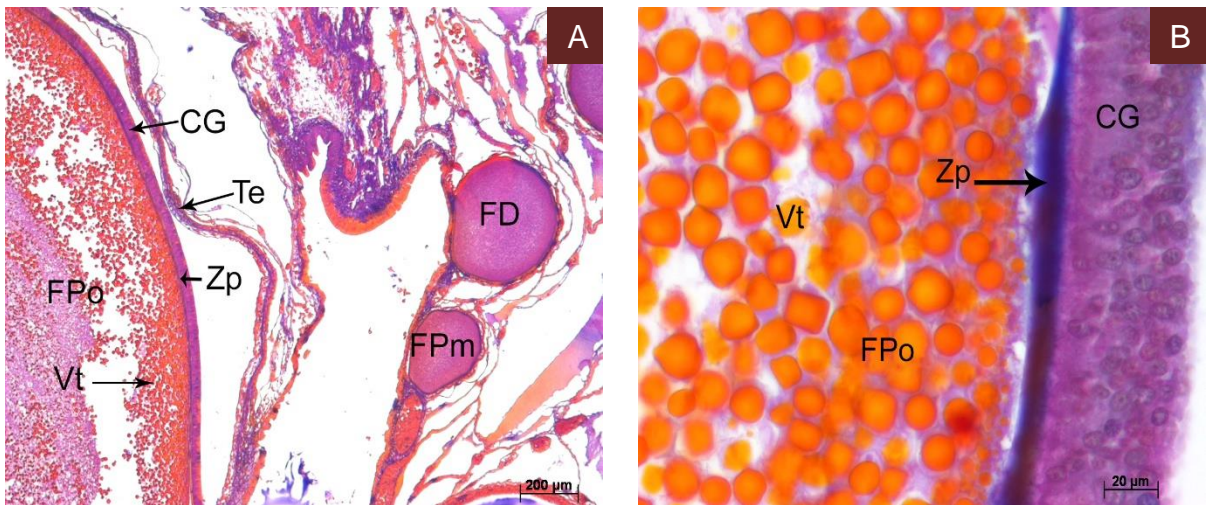


Figura 27. Folículo pre-ovulatorio de hembra pre-madura de 78.6 cm de longitud total. (Aumento: **A**) 2.5X, **B**) 40X; **A**) se observa la diferencia de tamaño entre un folículo pre-ovulatorio y folículos primarios y en desarrollo, **B**) acumulación de vitelo, la zona pelúcida es delgada y la capa granulosa pseudoestratificada. Tinción Tricrómica de Mallory; FPo= Folículo pre-ovulatorio, FD= folículo en desarrollo, FPm= Folículo primario, Zp= zona pelúcida, Vt= gránulos de vitelo, CG= capa granulosa, Te= células de la teca).

#### DESCRIPCION MICROSCÓPICA DE LA GLÁNDULA OVIDUCAL

Histológicamente la glándula oviducal de *C. ventriosum* presenta cuatro zonas distintas morfofuncionales, tanto en glándulas maduras (Figura 28) como glándulas inmaduras (Figura 29), en sentido antero posterior se identificaron: la zona “club”, la

zona “papillary”, la zona “baffle” y la zona “terminal”. Todas las zonas están formadas por un parénquima glandular constituido por tejido epitelial, estructurando un sistema de conductos excretores con acinos o adenómeros de forma tubular.

Presentan adenómeros exocrinos (acinos), encargados de producir las secreciones características de la glándula. Estos acinos se observan de forma redondeada o alargada dependiendo el plano de corte en el órgano, presentan células ciliadas. El área cercana al lumen de la glándula oviducal, mostró laminillas particulares para cada zona, con diferencia en forma y tamaño, todas muestran epitelios cilíndricos ciliados y los acinos acompañantes se encuentran esparcidos, dejan al descubierto tejido conjuntivo pegado a las laminillas y lumen.

En la parte central de la glándula se observó el lumen, a través del cual se transporta el oocito, donde es encapsulado formándosele la cubierta dura hasta obtenerse la cápsula ovígera completa.

La zona club y la zona papillary ocupan la región anterior contigua a la desembocadura del oviducto. Esta región glandular, presentó mayor afinidad tintorial por la hematoxilina en comparación con las otras dos zonas, coloreándose de tonos magenta con tinción de PAS.

La zona baffle presentó el mayor número de laminillas de la glándula, forma la cascara dura que envuelve al oocito, reaccionó a la tinción de PAS+ y Mallory. En este estudio *C. ventriosum* se evidenció la presencia de esperma almacenado a partir de la zona baffle. La zona terminal también mostró almacenamiento de esperma, demostró reacción positiva a la tinción de PAS+, además se observó disminución en la cantidad de acinos al acercarse al lumen, destacándose una mayor ocupación por tejido conjuntivo (Figura 28).

En la glándula oviducal de las hembras inmaduras se presentaron las cuatro zonas, la diferencia fue la proporción menor de los acinos, que ocuparon la estructura de la glándula oviducal, observándose solo tejido conjuntivo en los alrededores de las laminillas hasta la periferia en la zona terminal con crecimiento de algunos acinos de

la parte interior hacia el exterior (Figura 29). Esta zona fue la mas extensa tanto en hembras maduras como inmaduras.

En la Tabla 4 se muestran las medidas aproximadas en milímetros, que comprende cada una de las zonas de manera vertical de anterior a posterior, así como las medidas de las laminillas de cada zona, cuando se observaron completas. Se detectó que la zona club y la zona papillary aumentaron de tamaño a medida que crece y madura la glándula oviducal, por otro lado, la zona baffle conservó dimensiones similares si se trata de una glándula madura o inmadura, la zona terminal mostró una mayor dimensión al ser una glándula inmadura o en desarrollo, ocupando hasta >15 mm, acompañado de tejido conjuntivo, mientras en glándulas que comienzan a madurar o entrar en actividad reproductiva, esta zona se reduce a <14.26 mm, mostrando mayor presencia de acinos que de tejido conjuntivo. La glándula oviducal al comenzar la madurez sexual se vuelve más ancha que larga, reduciendo así la última zona, la cual se continua con el oviducto.

Tabla 4. Medidas de cada zona de la glándula oviducal en vista vertical. Medidas en milímetros. (Lm= laminillas).

Estadio	Zona club		Zona papillary		Zona baffle		Zona terminal	
	Dimensión de área	Lm	Dimensión de área	Lm	Dimensión de área	Lm	Dimensión de área	Lm
Preñez	3.58	0.311	4.44	-	6.73	0.477	11.78	0.713
Preñez	-	-	2.860	0.238	6.79	1.578	13.78	1.714
Preñez	3.14	-	3.82	-	8.66	1.420	14.10	-
Preñez	2.95	-	4.31	-	5.98	1.03	12.21	-
Madura	4.61	-	5.16	-	7.69	0.880	16.09	-
Madura	3.74	-	4.35	-	7	1.43	14.26	-
Pre-madurez	-	-	1.482	1.166	5.84	1.276	11.62	-
Pre-madurez	1.676	0.280	1.498	0.180	4.340	1.033	8.56	-
Pre-madurez	3.02	-	3.56	-	6.58	1.05	9.42	-
En desarrollo	1.324	0.158	1.511	0.245	5.52	0.646	18.57	-
En desarrollo	2.279	0.238	2.484	0.246	5.88	0.775	17	-
Inmadurez	1.778	0.146	1.576	0.139	6.19	0.364	15.39	-

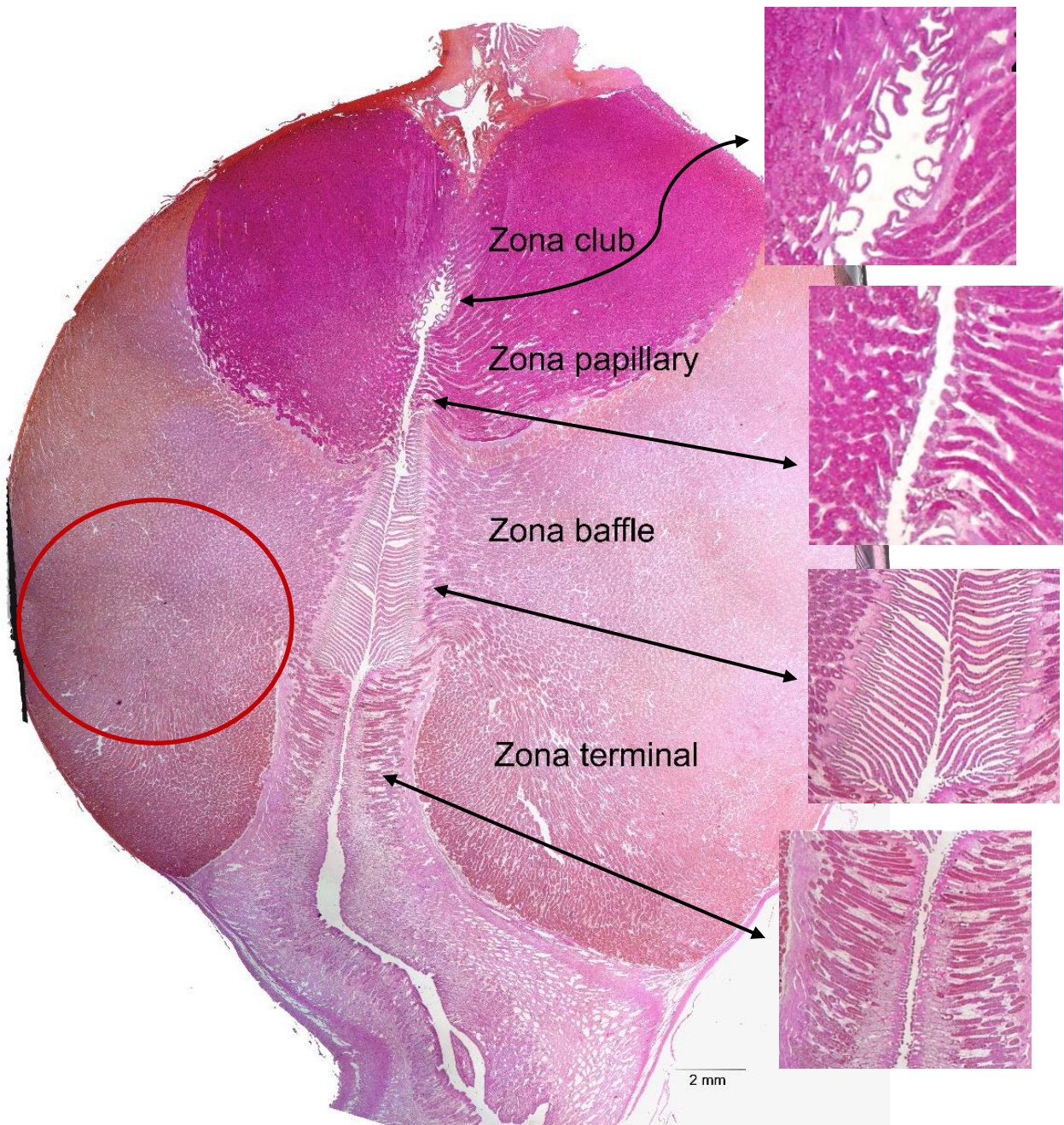


Figura 28. Glándula oviducal de hembra madura de *Cephaloscyllium ventriosum*. Cuatro zonas morfofuncionales con reacción positiva a PAS. Zona club y papillary con mayor afinidad al reactivo de Schiff. Zona terminal con acinos tubulares cercanos al lumen y tejido conjuntivo visible. El círculo rojo marca el área donde se observó principalmente esperma almacenado; (Aumento: 2.0X; Reacción de PAS).

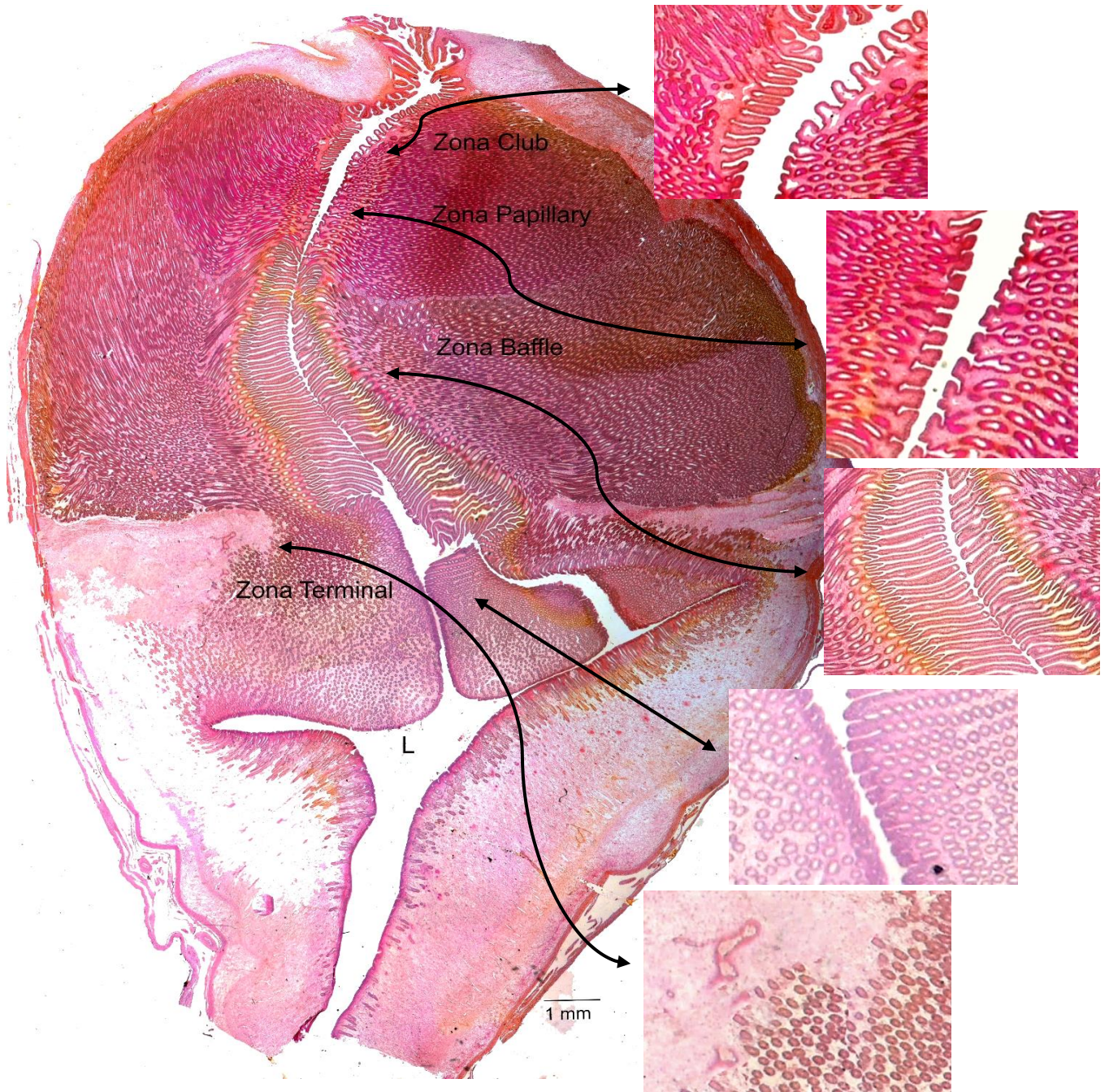


Figura 29. Glándula oviducal de hembra inmadura de *C. ventriosum*. Cuatro zonas morfofuncionales con reacción positiva a PAS. Zona club y papillary muestran coloración más intensa. Zona terminal presenta mayor ocupación de tejido conjuntivo observando el desarrollo de los acinos, los cuales están en proliferación; (Aumento: 2.0X; Reacción de PAS).



Descripción de las cuatro zonas de la glándula oviducal.

### **Zona club**

De la parte anterior a posterior en un corte longitudinal se ubica primero la zona club. Esta zona es corta y cuenta con laminillas (6 a 9) que son delgadas en su base y se expanden en el ápice mostrando una ligera curvatura. El epitelio de revestimiento de las laminillas es simple o pseudoestratificado cilíndrico ciliado acompañado de células caliciformes, teniendo variaciones a lo largo de la zona, solo en el núcleo de las células, observándose pequeños o grandes, redondeados u ovalados.

Esta zona presenta mayor coloración positiva en todas las tinciones utilizadas (H-E, Mallory o PAS), la glándula acinosa compuesta, contiene acinos secretores con células de núcleos basales y otro tipo de células ciliadas piriformes (de apoyo) con núcleo cercano al lumen. Los acinos son redondeados en la periferia y se alargan al acercarse al lumen de la glándula, el lumen es pequeño ciliado. Existe fuerte secreción de mucosas (PAS+), debido a que en esta zona se forma una protección que rodea y está en contacto con el oocito (Figura 30).

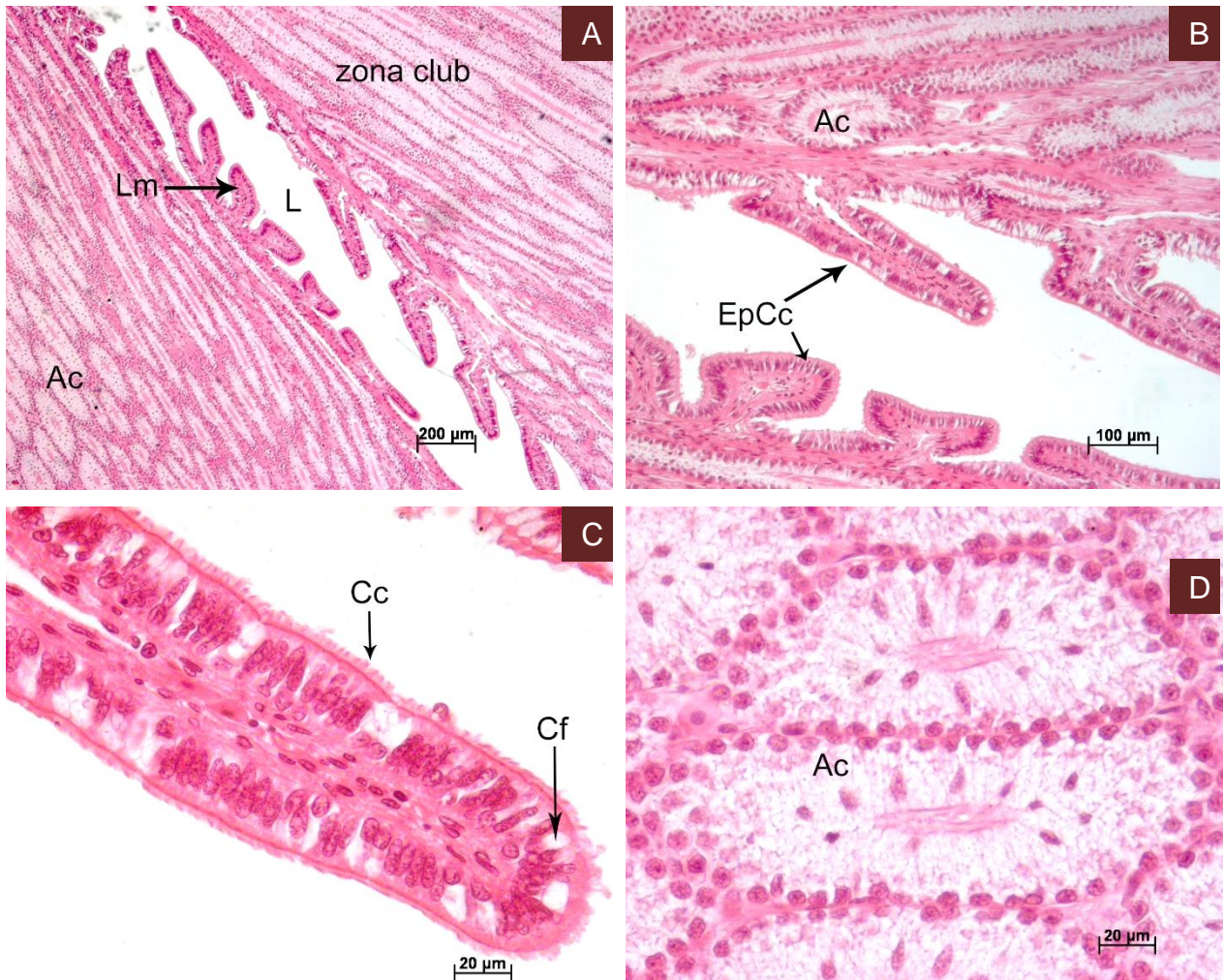


Figura 30. Zona club de la glándula oviducal de hembra madura de *C. ventriosum*. **A)** aumento 2.5X, laminillas determinadas de la zona club, rodeadas por acinos alargados; **B)** aumento: 10X, se localizan las células caliciformes; **C)** aumento: 40X, laminilla de la zona club, epitelio simple cilíndrico ciliado; **D)** aumento: 40X, Acinos con núcleo basales y lumen ciliado; tinción H-E. (Ac= acino, Cc= célula ciliada, Cf= célula caliciforme, EpCc= epitelio cilíndrico ciliado, L= lumen, Lm= laminillas).

### Zona papillary

Esta zona se distingue por laminillas en forma de conos pequeños en corte longitudinal. El epitelio de revestimiento continúa simple cilíndrico ciliado. Presenta acinos secretores con coloración positiva a PAS. Se observan acinos con células ciliadas con núcleos basales y células piriformes con núcleos cercanos al lumen. Al

terminar la zona papillary se tiene una franja de transición entre esta zona y la zona baffle, tiñéndose de un tono diferente entre las dos. La apariencia morfológica de los acinos es comparable a los de zona club (acinos ciliados secretores de mucosa y células piriformes cercanas al lumen), la diferencia entre estas zonas está dada por las laminillas y la franja mucosa de transición al terminar esta zona (Figura 31).

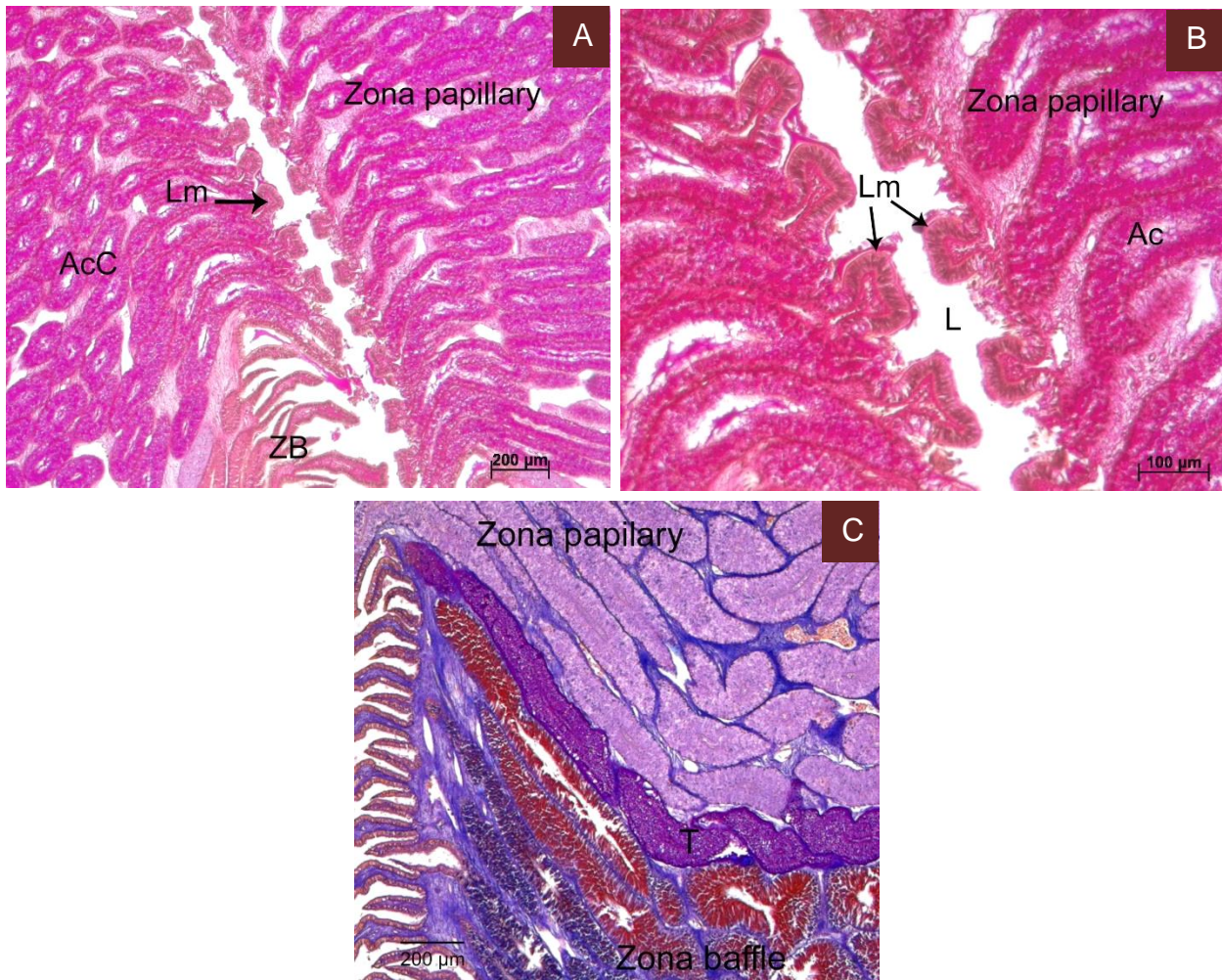


Figura 31. Zona papillary de la glándula oviducal de hembra madura de *C. ventriosum*. **A)** aumento 2.5X, laminillas en forma de conos pequeños determinados de la zona club, tinción PAS; **B)** aumento: 10X, acercamiento de las laminillas en forma de cono, cuentan con epitelio cilíndrico ciliado, reacción PAS; **C)** aumento: 40X, acinos de

transición entre la zona papillary y la zona baffle, tinción Mallory; (AcC= acino ciliado, L= lumen, Lm= laminillas, T= transición, Ac= acino, ZB=zona baffle).

### **Zona baffle**

La zona baffle presenta el mayor número de laminillas; se caracteriza por sus laminillas largas intercaladas por laminillas más cortas en ambos lados, las cuales se conocen con nombre “spinnerets”. Las laminillas son angostas en la base, se ensanchan en todo el largo hasta llegar al ápice el cual tiene terminación aplanada. El epitelio de revestimiento en ambas laminillas es cilíndrico ciliado, se presenta en todo lo largo de la zona baffle. El número de laminillas largas varía de 38 a 46 según el tamaño de la glándula. Los acinos presentan de igual forma dos tipos de células: células de soporte ciliadas con núcleos hacia el lumen y células secretoras apicales con núcleos basales.

La reacción a las tinciones resultó positiva en menor medida que en las dos zonas anteriores, aunque si hay reacción. Esta zona es la encargada de producir la cápsula dura o tercer capa, por lo que cada laminilla que se le ha secretado el material va generando láminas de la cápsula dura, termina en una cápsula multilaminada. Los cilios facilitan el desplazamiento del oocito hacia dentro de la cápsula producida.

La tinción de Mallory puso en evidencia claramente gránulos de vitelo los cuales se ubican en el lumen de la zona baffle en glándula oviducal madura, este oocito será encapsulado posteriormente; se encuentran secreciones en los acinos y laminillas con reacción positivas a PAS y Mallory, los acinos más próximos al lumen mostraron un acomodo más separado entre ellos.

Se observaron espermatozoides en la zona baffle de la glándula oviducal, con énfasis y en mayor frecuencia casi al terminar la zona, se detectaron desde la periferia hasta el lumen, dentro de los acinos ciliados (Figura 32).

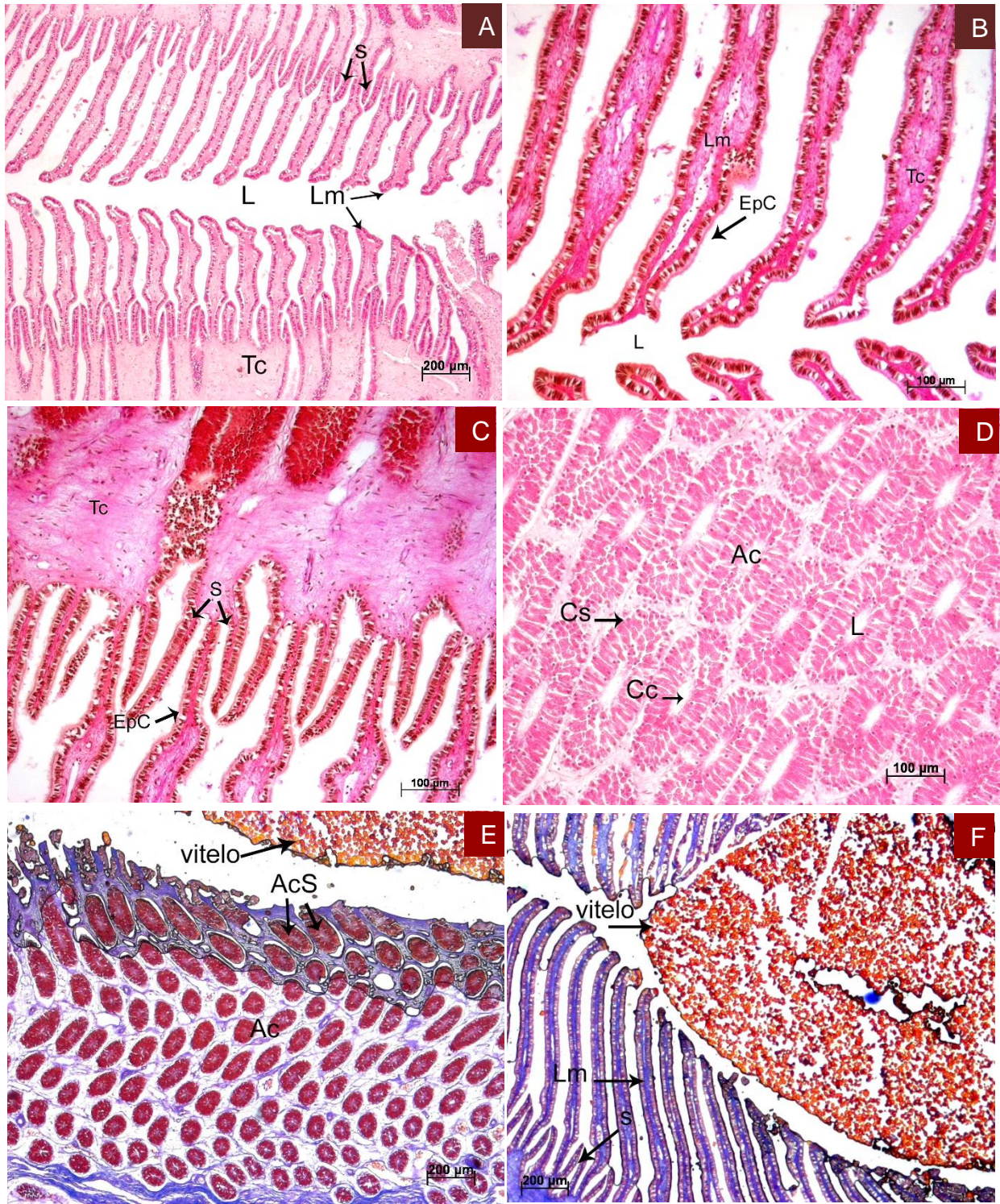


Figura 32. Zona baffle de la glándula oviducal de hembra madura de *C. ventriosum*. **A)** aumento 2.5X, laminillas largas y spinnerets con epitelio simple cilíndrico ciliado, tinción H-E; **B)** aumento: 10X, acercamiento de las laminillas largas con epitelio

cilíndrico ciliado, reacción PAS+; **C)** aumento: 10X, observación de los spinnerets (laminillas cortas) que acompañan la zona baffle, tinción Pas+; **D)** aumento: 10X, acinos con células ciliadas y células secretoras, tinción H-E; **E)** aumento: 2.5X, acinos cercanos al lumen con espacio de separación entre ellos, acompañados de tejido conjuntivo y secreciones formadoras de la tercer capa, tinción de Mallory; **F)** aumento: 2.5X, vitelo en el lumen de la zona baffle siendo encapsulado al dirigirse hacia la zona terminal, tinción de Mallory; (AcS= acino secretor, L= lumen, Lm= laminillas, Tc= tejido conjuntivo, S= spinnerets, Ac= acino ciliado, EpC= epitelio cilíndrico ciliado, Cs= células secretoras Cc= células ciliadas).

### **Zona terminal**

La zona terminal fue la más extensa de las cuatro zonas de la glándula oviducal en tiburón inflado, no cuenta con laminillas, en su lugar se observaron huecos o cortes cercanos al lumen, revestidas por epitelio cilíndrico ciliado. Se presentaron acinos tanto mucosos como serosos con reacción positiva a las tinciones, se observó una barrera de tejido conjuntivo entre estos acinos. En el centro de la zona terminal hacia el lumen de la glándula se observaron acinos largos dispersos, algunos con curvatura.

La zona se caracterizó por presentar almacenamiento de esperma. Los acinos de la periferia mostraron almacén de esperma, estos acinos se encontraron cerca de la zona baffle, la cual también tuvo almacén de esperma. En ambas zonas se presentó el almacenamiento de esperma por lo general en cúmulos situados en el lumen de los acinos, acompañados de las células ciliadas.

Además de almacenar esperma, está zona se encarga de elaborar los tendrillos y curvaturas de la cápsula ovígera, que se le conocen como ornamentaciones, por lo que se observan secreciones, que se acompañan en toda la zona con abundante tejido conjuntivo (fibras de colágeno). Al término de esta zona existe una dilatación notoria, debido a que esta especie al ser ovípara da paso a la cápsula ovígera hacia el útero, recordando que la cápsula ovígera tiene dimensiones de 12-14 cm de largo y 3-4 cm de ancho (Figura 33).

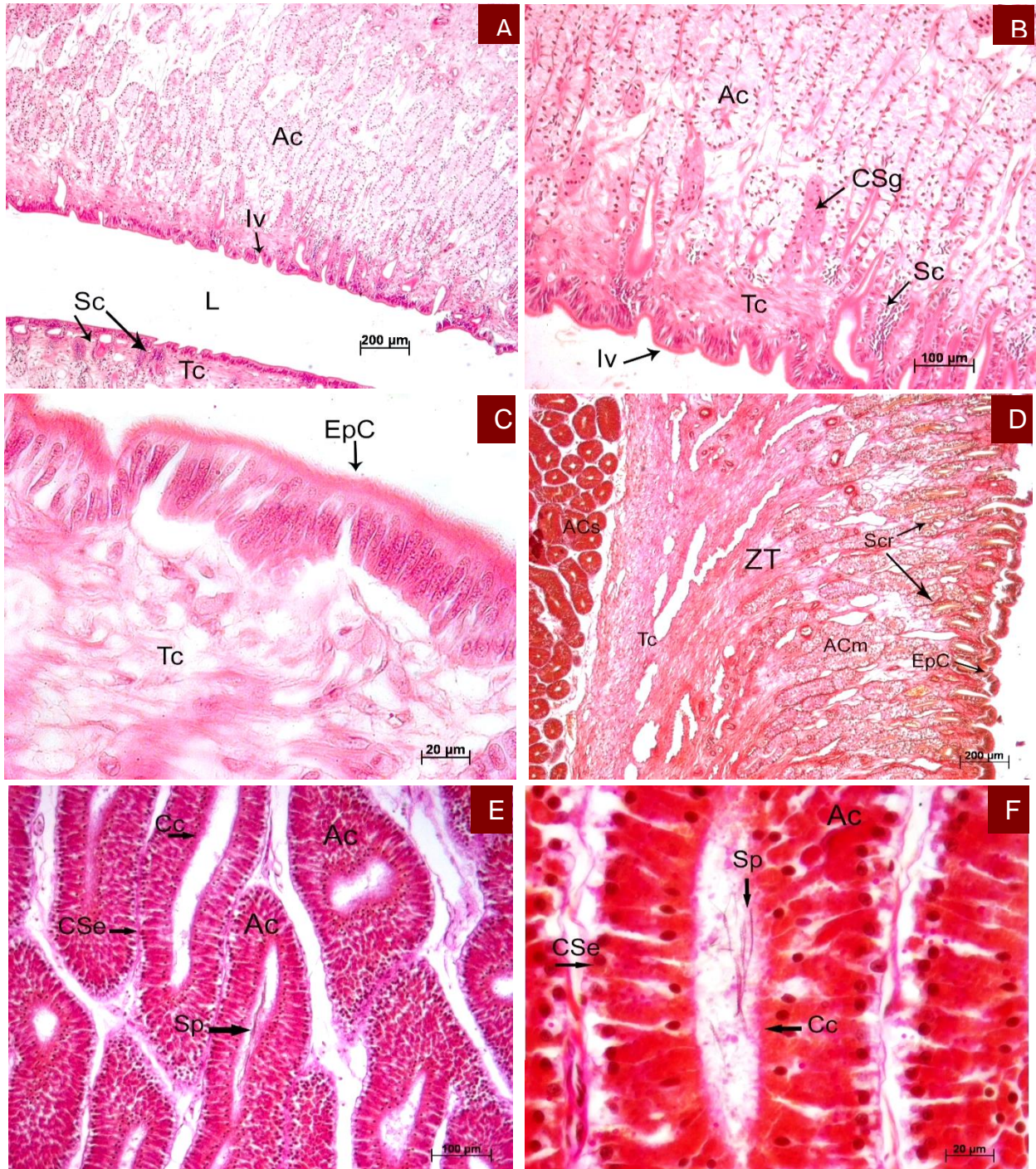


Figura 33. Zona terminal de la glándula oviducal de hembra madura de *C. ventriosum*.

**A)** aumento: 2.5X, Invaginación con epitelio cilíndrico ciliado y acinos dispersos rodeados por tejido conjuntivo, tinción H-E; **B)** aumento: 10X, acercamiento orientado hacia el lumen, obsérvese las invaginaciones y acinos, además de algunas células sanguíneas y secreciones; tinción H-E; **C)** aumento: 40X, epitelio de revestimiento de

la zona terminal con células cilíndricas ciliadas y tejido conjuntivo, tinción H-E; **D)** aumento: 2.5X, zona terminal mostrando una barrera de tejido conjuntivo con la notable diferencia de acinos serosos y mucosos, además de secreciones, reacción PAS; **E)** aumento: 10X, acinos con cúmulos de esperma en el lumen, se observa claramente las células con núcleos basales y apicales cercanos al lumen, tinción PAS; **F)** aumento: 40X, espermatozoides almacenados en el lumen de los acinos con células ciliadas en la zona terminal, tinción PAS; (Ac= acinos, L= lumen, Iv= invaginación, Tc= tejido conjuntivo, Sc= Secreciones= Scr, CSg= células sanguíneas, EpC= epitelio cilíndrico ciliado, ACs= células secretoras, ACm= células mucosas, Sp= espermatozoides, Cc= células ciliadas, CSe= células secretoras).

## **ALMACÉN DE ESPERMA EN GLÁNDULA OVIDUCAL DE TIBURÓN**

### ***Cephaloscyllium ventriosum***

La glándula oviducal es un órgano especializado multifuncional en el cual se localiza el almacén de esperma. Los cortes histológicos realizados longitudinal y transversalmente en dicha glándula permitieron observar esperma almacenado en las zonas baffle y terminal. Este almacenamiento de esperma se localiza desde la periferia de la glándula hasta el lumen de la misma, se encontró poco almacén cerca del lumen. Los espermatozoides se presentaron en pequeños grupos dentro de los acinos, localizados en el lumen, están acompañados por las células ciliadas y las células secretoras. Se realizó un primer análisis para localizar almacén de esperma con la reacción de PAS, para una mejor observación se realizó un segundo análisis con reacción de Feulgen.

Las hembras de tallas a partir de los 76 cm hasta los 94 cm de longitud total (Lt), y la mayor frecuencia de estas a partir de los 81 cm de Lt, presentaron el esperma en la glándula oviducal, se trató de cuatro hembras maduras y cuatro hembras preñadas (Figura 34).



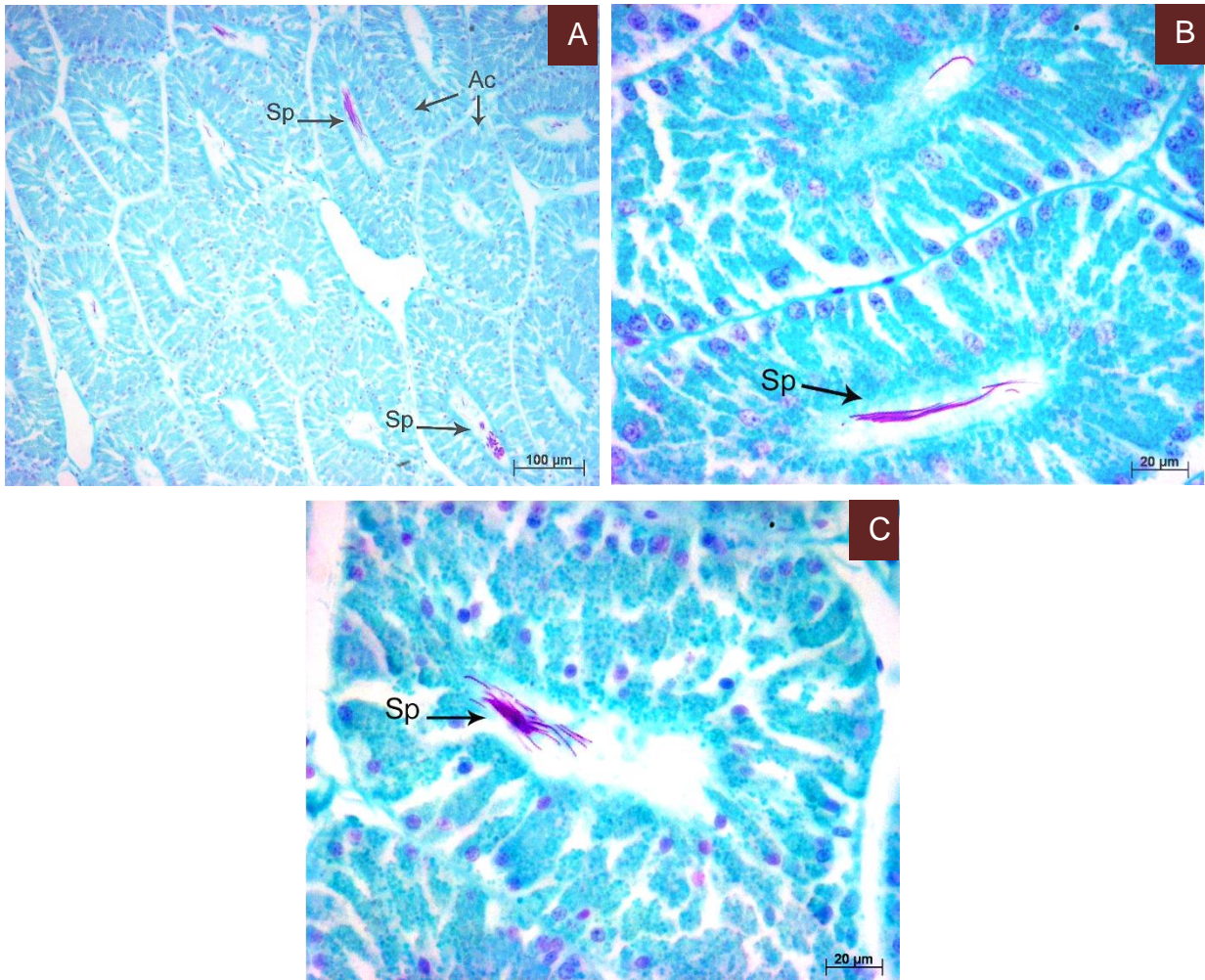


Figura 34. Esperma almacenado en glándula oviducal de *C. ventriosum*. **A)** aumento: 10X, acinos con presencia de esperma; **B)** y **C)** aumento 40X, cúmulos de esperma en el lumen de acinos, tinción Feulgen; Ac= acinos, Sp= espermatozoides).

## DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA DEL SISTEMA REPRODUCTOR DE LOS MACHOS

### Testículos

El aparato reproductor en machos, en su anatomía externa presentó los órganos de copulación llamados gonopterigios situados en la parte ventral posterior junto a las aletas pélvicas, clasificados en 0-1°, 2° y 3°, dependiendo el grado de calcificación, rotación y abertura del rifiodón. En la parte interna del cuerpo el aparato reproductor presenta testículos pareados acompañados por el órgano epigonal. Se encuentran

además los conductos eferentes, el epidídimo y conductos deferentes, al final está la vesícula seminal. Los testículos pareados se localizan en la parte anterior de la cavidad abdominal, son aproximadamente equivalentes en tamaño, sin diferencias significativas ( $t_{0.05}=0.99$ ,  $p>0.05$ ) entre el testículo derecho y el testículo izquierdo.

Cada uno de los testículos se continúa con el epidídimo y conductos deferentes, en paralelo con los riñones. Se observó en la parte apical de los epidídimos, un área más engrosada que sobresale por acumulación de túbulos (10 mm de largo) del resto del epidídimo. En este caso no se registró muestras de la vesícula seminal.

Por medio del análisis macroscópico del aparato reproductor en machos, se distinguieron tres estadios de desarrollo de madurez sexual: inmadurez, pre-madurez y madurez.

### **Estadio de inmadurez**

Los machos inmaduros presentaron como característica básica, los gonopterigios cortos (sin pasar las aletas pélvicas, longitud del gonopterigio de 20 a 40 mm), blandos sin calcificar ( $0-1^\circ$ ), sin la rotación de  $180^\circ$ . En la anatomía interna del aparato reproductor masculino se presentaron los testículos delgados sub cilíndricos e incoloros o un color crema pálido, sin vascularización, lisos, longitud de 50 mm a 65 mm con una media de 67.70 mm, un ancho que va de los 13 mm a los 22 mm, con media de 21.74 mm. El órgano epigonal tiene mayor representación, rodea todo el testículo. El epidídimo es delgado y está adherido a los riñones, se diferencia claramente, se observa en el epidídimo túbulos o conductos enrollados en espiral, fuertemente unidos y rodeados por una capa delgada en todo el trayecto (Figura 35).

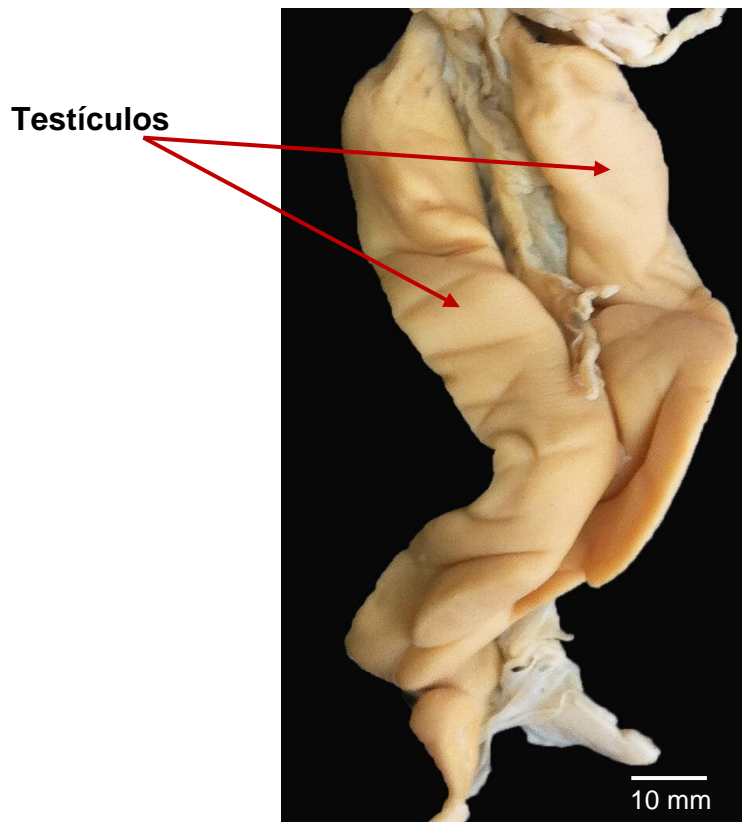


Figura 35. Aparato reproductor de macho de *C. ventriosum* en estadio inmaduro.

### Estadio de pre-madurez

Los machos pre-maduros presentaron gonopterigios alargados en etapa de calcificación notoria (grado 1°- 2°), con longitud de 60-80 mm. Grado de calcificación intermedia y rigidez media. Los testículos están desarrollados, tienen volumen mayor en contraste con la ocupación del órgano epigonal, que ha comenzado a disminuir, aun los recubre. Presentan una coloración rosa crema, es visible escasa vascularización. El largo de los testículos va de los 68 mm a los 85 mm y ancho de los 14 mm a los 27 mm. Los túbulos del epidídimo tienden a engrosar, llegando a lo que se espera sea conducto deferente, la forma sigue en espiral y adheridos a los riñones (Figura 36).

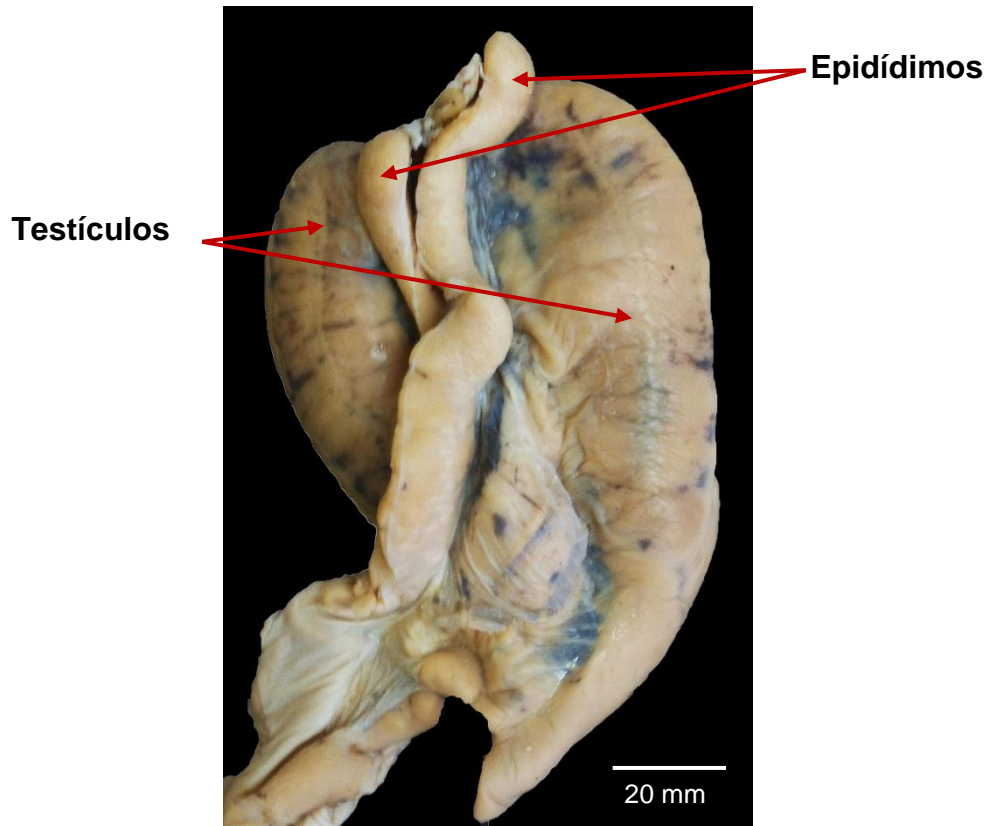


Figura 36. Aparato reproductor de machos de *C. ventriosum* en estadio pre-maduro.

### Estadio de madurez

El órgano copulador o gonopterigio se muestra calcificado (grado 3°) y rígido en su totalidad, tienen longitud de 60 a 92 mm, en algunos casos es posible encontrar semen. Los testículos están más engrosados, en color rosa crema con alta vascularización. De largo tienden de los 80 a 106 mm, con media de 85.56 mm y de ancho de los 25 mm a los 40 mm, con promedio de 26.44 mm. El epidídimo y conductos deferentes se observan indiferenciados (macroscópicamente solo se observa un engrosamiento). La longitud es mayor y los conductos terminales tienen grosor mayor en la parte terminal. Los túbulos del epidídimo siguen en forma espiral hasta la parte basal (Figura 37).

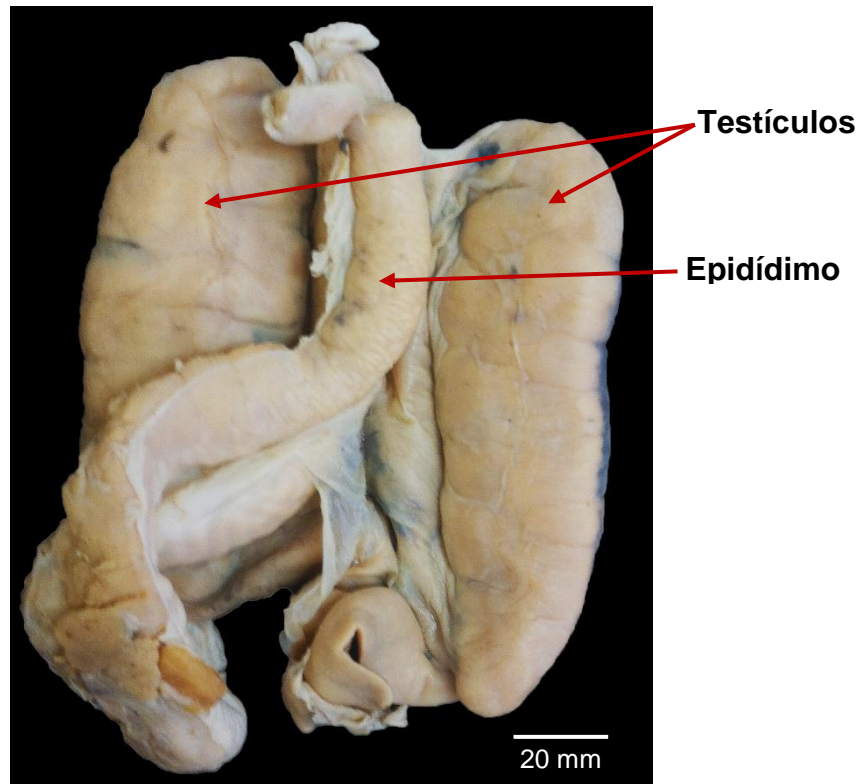


Figura 37. Aparato reproductor de un macho de *C. ventriosum* en estadio maduro.

En la tabla 5, se define el seguimiento de la maduración de las gónadas del tiburón inflado, tanto para machos como para hembras, de acuerdo a los criterios base, empleados por Mendizábal-Oriza (1995), establecidos mediante observaciones morfológicas macroscópicas.

Tabla 5. Estadios de madurez sexual de *C. ventriosum* por método morfométrico

	<b>Hembras</b>	<b>Machos</b>
<b>Inmaduro (I)</b>	-Ovario pequeño, liso e incoloro, con oviductos delgados y rectos. -Glándula oviducal flácidas, incoloras. Forma ovalada (periforme)	-Gonopterigios cortos y suaves -Testículos delgados sub cilíndricos e incoloros, sin vascularización
<b>En desarrollo (II)</b>	-Ovario con folículos sin desarrollar (granulado y de consistencia acuosa), color pálido. -Glándula oviducal aumenta en tamaño, con forma periforme -Útero no diferenciados al oviducto	
<b>Pre-madurez (III)</b>	-Ovario con folículos amarillentos (>5 mm). -Glándulas oviducal en forma de corazón, -Útero diferenciado por el diámetro mayor al oviducto.	-Gonopterigios alargados y rígidos por calcificación. -Testículos desarrollados, conductos deferentes en espiral color crema y vascularización visible.
<b>Madurez (IV)</b>	-Glándula oviducal grande en forma de corazón. -Útero largo y con mayor grosor al oviducto -Ovario con oocitos desarrollados color amarillento	-Gonopterigios alargados y rígidos por calcificación. -Testículos engrosados, conductos deferentes en espiral, color crema y vesícula seminal con esperma y alta vascularización
<b>Preñez (V)</b>	-Presencia de cápsula ovígera en el útero	

## DESCRIPCIÓN ANATÓMICA E HISTOLÓGICA DE LA ESPERMATOGÉNESIS

En elasmobranquios se conocen tres tipos de patrones de desarrollo testicular, por la madurez de espermatocistos en los testículos dependiendo el número y la ubicación de la zona germinal. El tiburón inflado, *C. ventriosum*, posee testículos con organización y desarrollo tipo diamétrico, la madurez se evidencia a través del diámetro. Posee zonas de maduración progresiva, los espermatocistos se originan en un extremo del testículo y se distribuyen en secuencia de maduración, al eje diametral del testículo, hasta el otro extremo de la pared del testículo, se inician en la zona germinal, avanza en línea y termina con la formación de los cúmulos de espermatozoides completamente formados dentro del espermatocisto (Figura 38); de la zona germinal hasta zona de espermátidas (1) mide 8.6 mm, la parte más delgada de la zona ocupada por espermatozoides (2) mide 1.8 mm, la parte media (3), 3.5 mm y la parte final de mayor ocupación por espermatozoides completamente formados (4) mide 5.6 mm. Esta última zona con espermatozoides se ubica contigua al órgano epigonal (5), mide aprox. 2.7 mm. Existen diferencias entre un testículo maduro y uno inmaduro y se evidencia por el porcentaje de ocupación del órgano epigonal, que es desplazado y disminuido al avanzar la maduración testicular.

Los testículos inmaduros se caracterizan por la presencia de espermatozoides completamente formados, sobresale el espacio ocupado por el órgano epigonal del 70% (Figura 39); zona germinal hasta zona de espermátidas (1) mide 2.3 mm, (2) parte más delgada de la zona ocupada por espermatozoides mide 0.4 mm, la parte final (3) con espermatozoides completamente formados mide 0.5 mm.

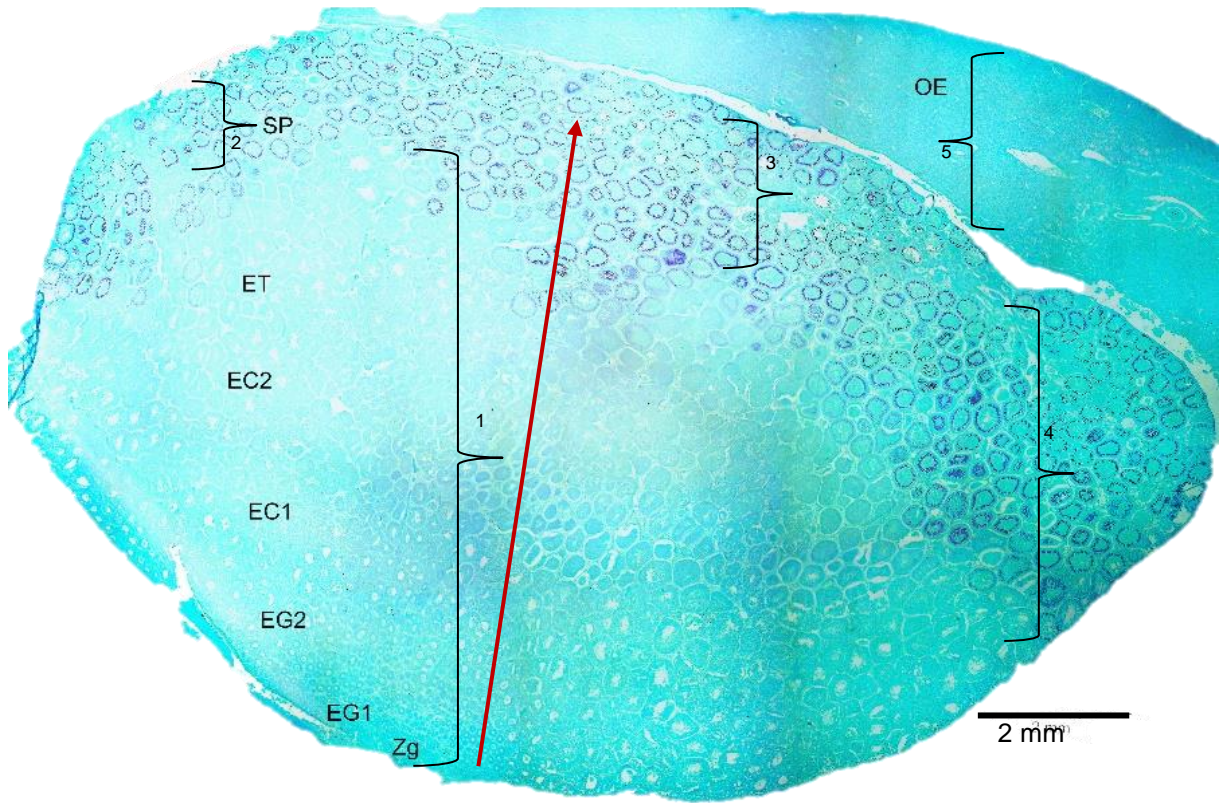


Figura 38. Corte transversal de testículo diamétrico de *C. ventriosum* pre-maduro de 76.6 cm de longitud total. (Aumento: 2.0X, Tinción de Feulgen; Zg= zona germinal, EG1= espermatogonia primaria, EG2= espermatogonia secundaria, EC1= espermatocito primario, EC2= espermatocito secundario, ET= espermátida, SP= espermatozoides, OE= órgano epigonal). La flecha roja indica la dirección en que avanza la maduración del testículo. Medidas aproximadas: 1) 10.2 mm, 2) 1.8 mm, 3) 3.5 mm, 4) 5.6 mm, 5) 2.7 mm.



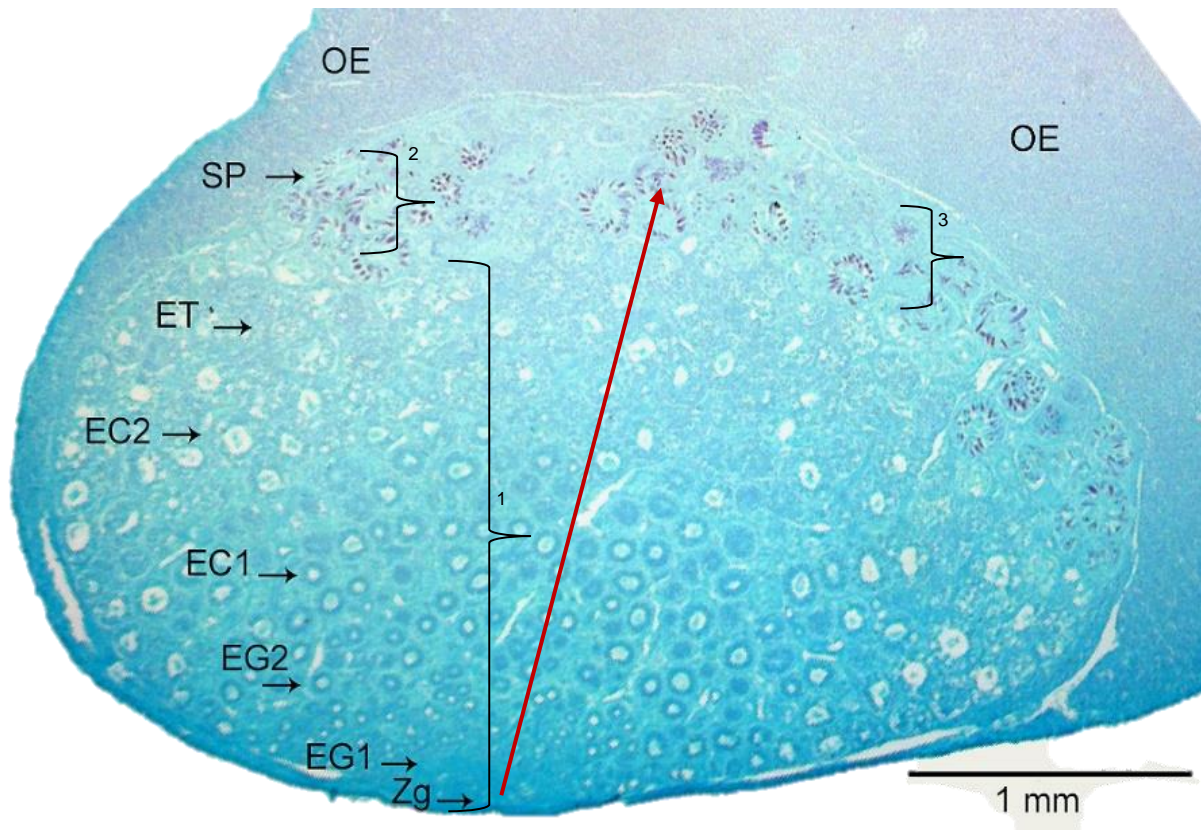


Figura 39. Corte transversal de testículo diamétrico de *C. ventriosum* inmaduro de 59 cm de longitud total. (Aumento: 2.0X, Tinción de Feulgen; Zg= zona germinal, EG1= espermatogonia primaria, EG2= espermatogonia secundaria, EC1= espermatocito primario, EC2= espermatocito secundario, ET= spermátida, SP= espermatozoides, OE= órgano epigonal). La flecha roja indica la dirección en que avanza la maduración del testículo. Medidas aproximadas: 1) 2.3 mm, 2) 0.4 mm, 3) 0.5 mm.

Todas las zonas en maduración (zona germinal, espermatogonia 1° y 2°, espermatocito 1° y 2°, spermátida, y espermatozoides) poseen espermatocistos en el mismo nivel de desarrollo, es decir, en las mismas etapas de espermatogénesis. El corte transversal pone de manifiesto la maduración de afuera hacia adentro, hasta conectarse con los epidídimos y conductos deferentes.

Los testículos poseen tejido conjuntivo y una irrigación notable por capilares con células sanguíneas, los espermatocistos a nivel microscópico se observan de forma

ovalada o circular, su forma en dimensión 3D es un tubo cortado de manera transversal.

La madurez de los espermatocistos se ha dividido por etapas de acuerdo con características morfológicas particulares. Se identificaron siete etapas progresivas de la espermatogénesis.

### **Espermatogonia primaria (etapa 1)**

En la primer etapa de espermatogénesis para *C. ventriosum* se observó una zona germinal con espermatogonias primarias acompañadas de células de Sertoli sin orden definido. Posteriormente las células son rodeadas por una membrana basal, resultan en espermatogonias secundarias ubicadas en la periferia y células de Sertoli localizadas en el lumen (Figura 40). Queda definido el túbulo seminífero al ser rodeados por esta membrana. En elasmobranquios a los túbulos seminíferos se le nombra espermatocisto, donde se llevará a cabo el desarrollo y maduración de los espermatozoides.

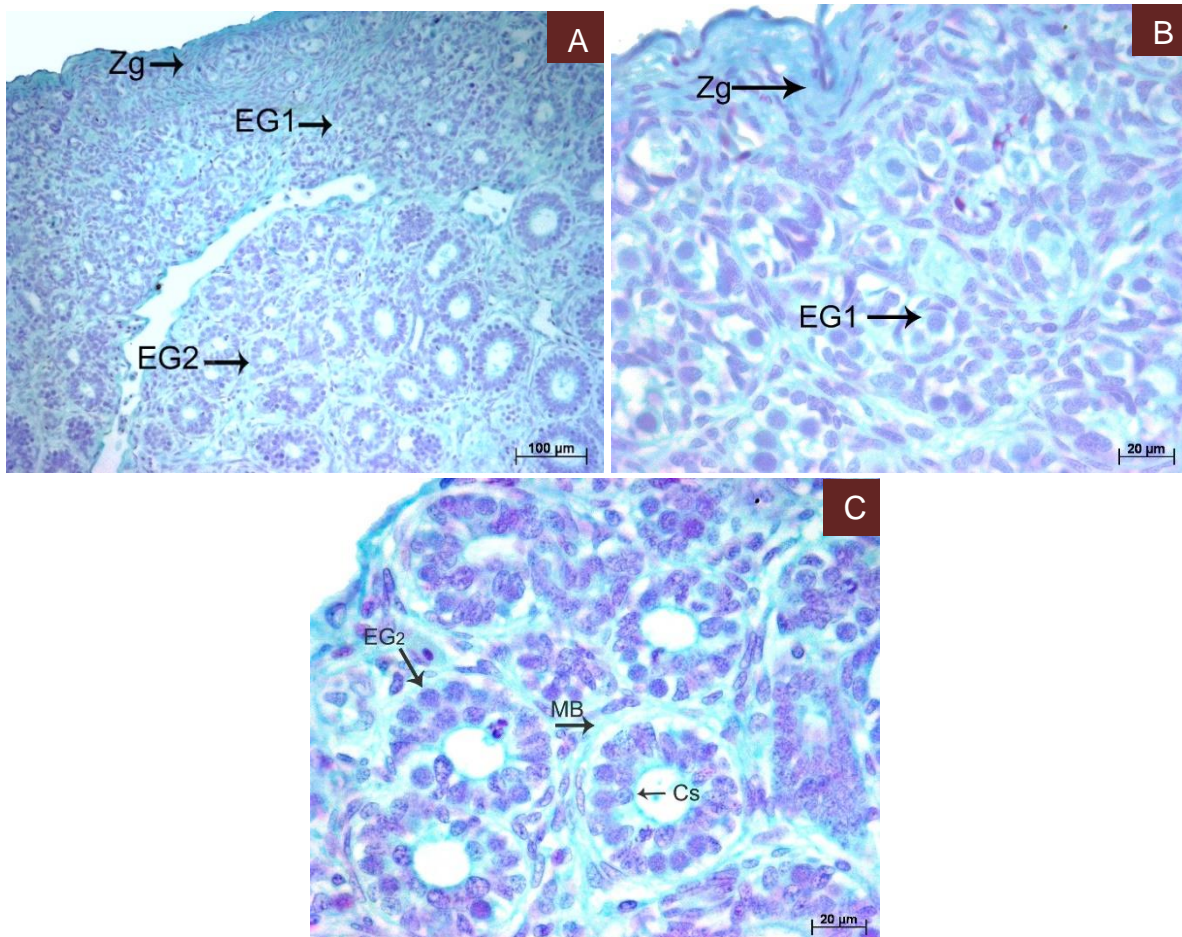


Figura 40. Etapa 1; **A)** zona germinal sin acomodo de *C. ventriosum* acompañado de espermatogonias primarias, **B)** Aumento en zona germinal acompañada por espermatogonias primarias sin orden, **C)** Espermatocisto formado por espermatogonias secundarias en la periferia y células de Sertoli orientadas al lumen, envueltas por una membrana basal. (Aumento: **A)** 10X, **B)** 40X, **C)** 40X; Tinción de Feulgen; Zg= zona germinal, EG1= espermatogonia primaria, EG2= espermatogonia secundaria, MB= membrana basal, Cs= Células de Sertoli).

### Espermatogonia secundaria (etapa 2)

Comienza una migración de la célula de Sertoli del lumen del espermatocisto a la periferia de este, ubicándose junto a la membrana basal. Se observa en transición sin llegar a la periferia. Las espermatogonias secundarias diploides incrementan en número y tamaño existiendo una proliferación por mitosis, el diámetro de la espermatogonia tiene una media de 263.43  $\mu\text{m}$  (Figura 41).

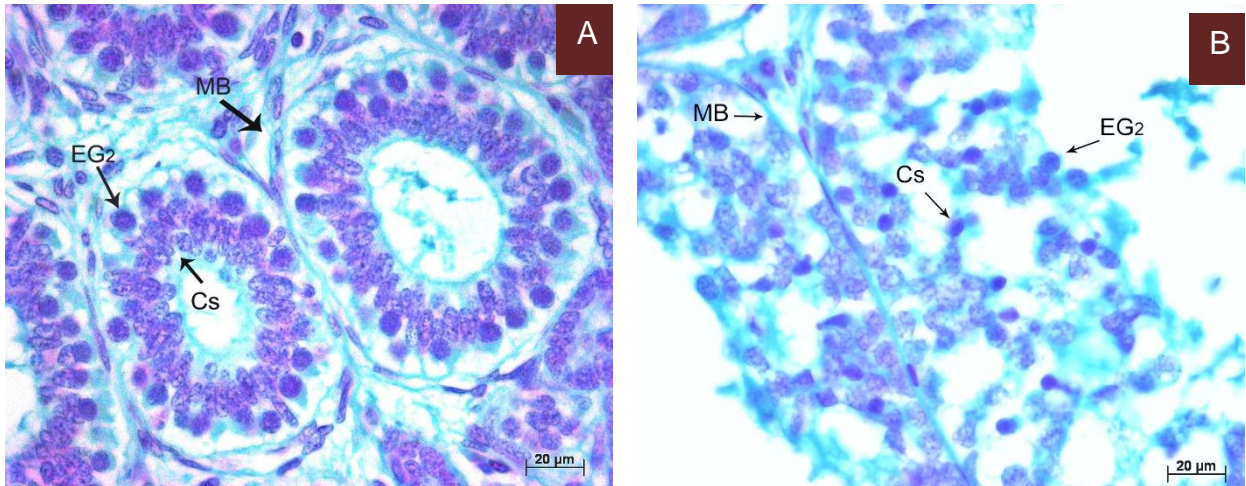


Figura 41. Etapa 2; **A)** Espermatogonia secundaria de *C. ventriosum* envuelta por la membrana basal, **B)** Espermatocisto formado por espermatogonias secundarias, iniciando la migración de células de Sertoli, aumento de tamaño del espermatocisto. (Aumento: **A)** 40X, **B)** 40X; Tinción de Feulgen; EG2= espermatogonia secundaria, MB= membrana basal, Cs= célula de Sertoli).

### Espermatocito primario (etapa 3)

La migración de la célula de Sertoli finalizo, ahora se ubica en la periferia del espermatocisto. La primera división meiótica ha iniciado, pasan de espermatogonias secundarias a espermatocitos primarios los cuales contienen mayor número de células con núcleo grande y granular. El espermatocisto ha aumentado de tamaño y se observan los espermatocitos en la periferia dejando el espacio del lumen sin ocupar (Figura 42).

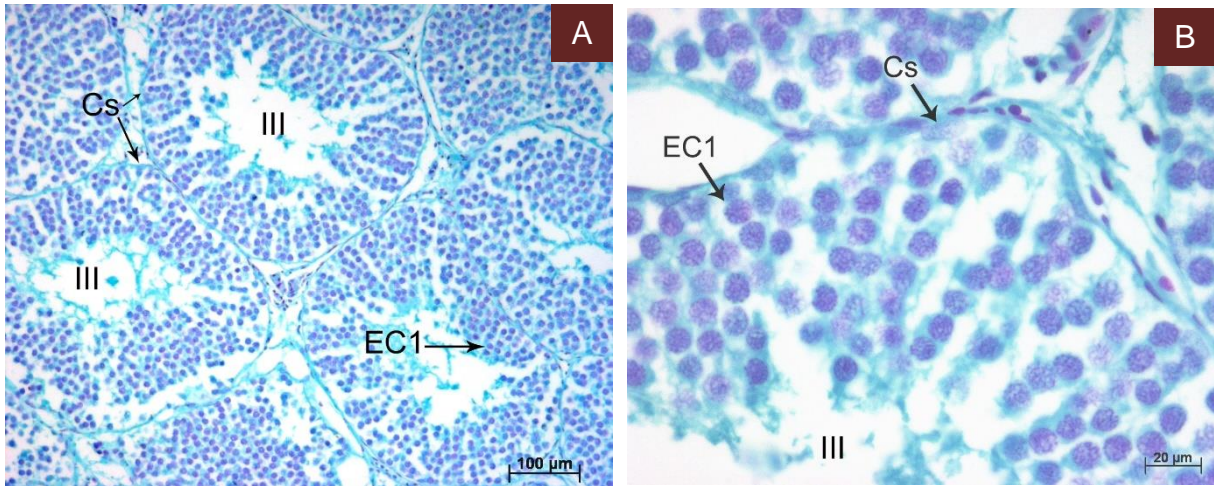


Figura 42. Etapa 3; **A)** Espermatoцитos primarios de *C. ventriosum* iniciando la primera división meiótica, **B)** Espermatoцитo primario granuloso, se observa la célula de Sertoli en la periferia. (Aumento: **A)** 10X, **B)** 40X; Tinción de Feulgen; EC1= espermatoцитo primario, Cs= célula de Sertoli, III= etapa tres).

#### Espermatoцитo secundario (etapa 4)

Esta etapa está definida por la terminación de la primera división celular, observándose claramente la disminución del tamaño del núcleo del espermatoцитo primario, formándose los espermatoцитos secundarios los cuales presentan núcleos granulados redondeados de tamaño pequeño, afines a la tinción de Feulgen. La membrana basal continúa envolviendo todo el espermatoцитista y adjunto se observan las células de Sertoli con mayor tamaño (Figura 43).

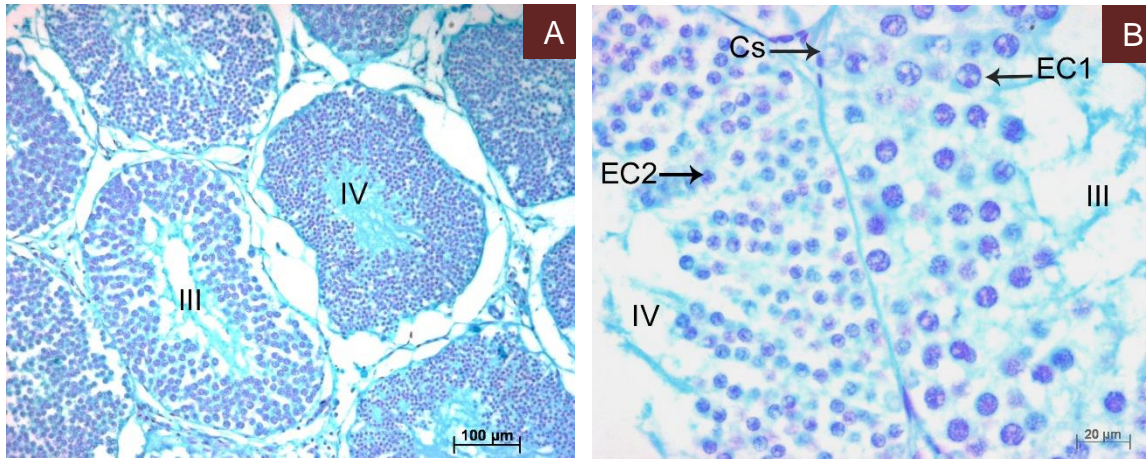


Figura 43. Etapa 4; **A)** Espermatoцитos primarios (III) de *C. ventriosum* terminan la primera división meiótica dando lugar a los espermatoцитos secundarios (IV), **B)** Se observa la disminución del tamaño celular al concluir la primera división meiótica. (Aumento: **A)** 10X, **B)** 40X; Tinción de Feulgen; EC1= espermatoцитo primario, EC2= espermatoцитo secundario, MB= membrana basal, Cs= célula de Sertoli, III= etapa tres, IV= etapa cuatro).

### Espermátida (etapa 5)

Los espermatoцитos secundarios en la segunda división meiótica dan lugar a las espermátidas, las cuales pasaran por el proceso de espermiogénesis hasta formarse los espermatozoides. Las espermátidas presentan núcleos elípticos, lo que resulta la formación del flagelo en un extremo. El espermatoцisto comprendido por las espermátidas están en desorden, es decir sin acomodo (Figura 44).

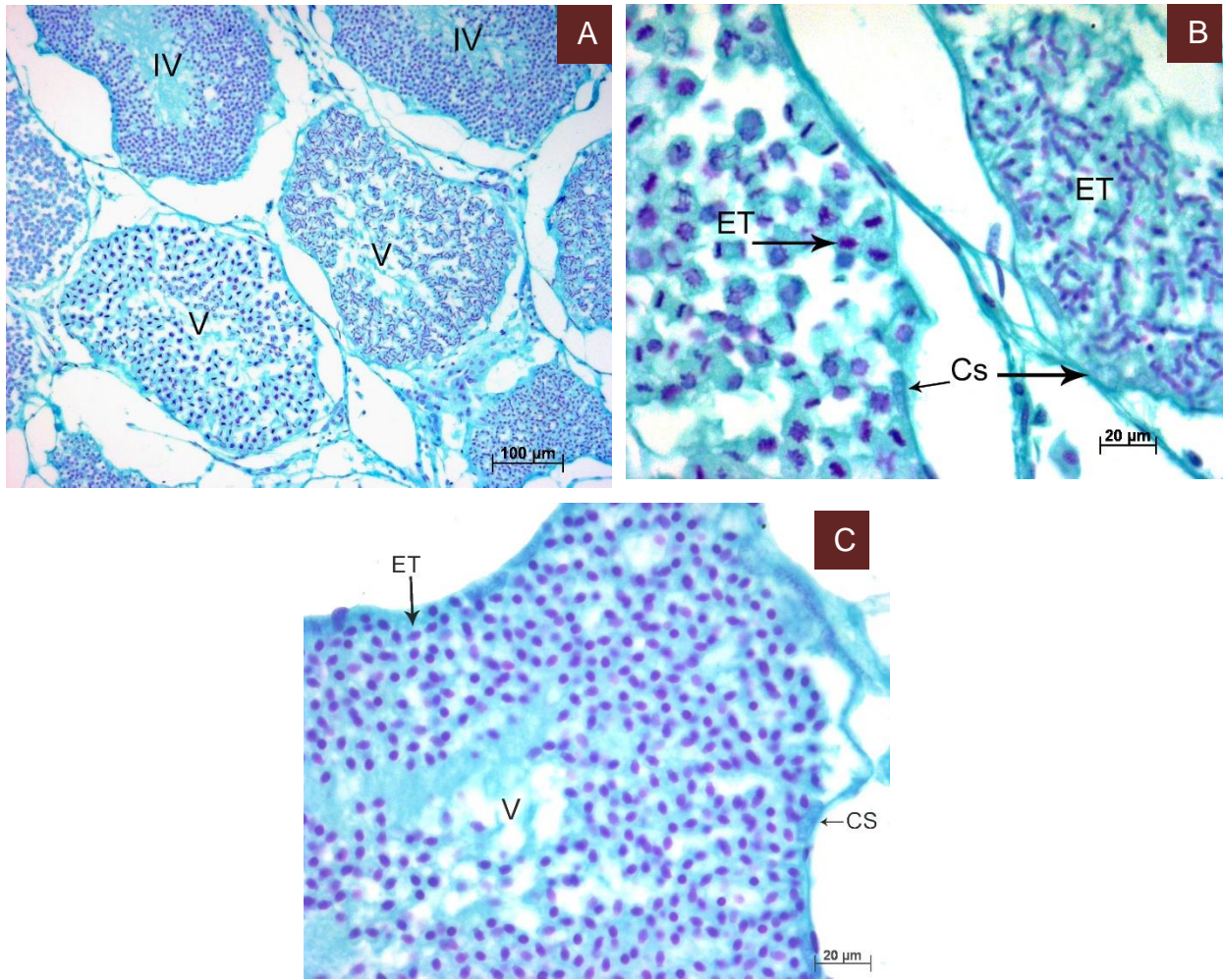


Figura 44. Etapa 5; **A)** Espermátocitos secundarios (IV) de *C. ventriosum*, pasan por la segunda división meiótica dando lugar a las espermátidas (V), **B)** Espermátidas cambia su forma circular al pasar por la división celular para formar el flagelo, **C)** Espermátidas con formas elípticas antes de formar los flagelos del espermatozoide. (Aumento: **A)** 10X, **B)** 40X, **C)** 40X; Tinción de Feulgen; IV= etapa cuatro, V= etapa cinco, ET= espermátida, Cs= célula de Sertoli).

### Espermatozoide inmaduro (etapa 6)

Al término de la espermiogénesis se observaron espermatozoides inmaduros, los cuales ya cuentan con flagelo. La cabeza del espermatozoide se dirige hacia la membrana basal y su cola hacia el lumen del espermatocisto, estas cabezas presentan forma espiral. Existen espermatocistos que comienzan a agrupar espermatozoides en manojo sobre la periferia (Figura 45).

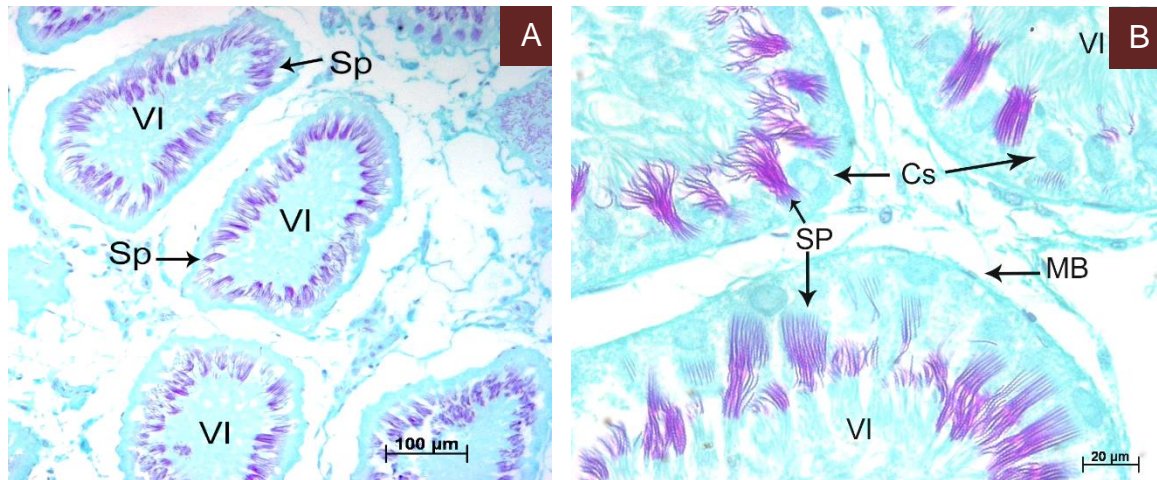


Figura 45. Etapa 6; **A)** Espermatozoides inmaduros (VI) de *C. ventriosum* con la cabeza dirigida hacia la periferia, **B)** Los espermatozoides se comienzan a agrupar en manojos. (Aumento: **A)** 10X, **B)** 40X; Tinción de Feulgen; VI= etapa seis, Sp= espermatozoides, Cs= célula de Sertoli, MB= membrana basal).

### **Espermatozoides maduros (etapa 7)**

En la etapa siete se observaron espermatozoides maduros agrupados en manojos compactos, forman paquetes espermáticos dentro del espermatocisto, ubicados en la periferia acompañados siempre de las células de Sertoli. Estos espermatocistos en su última etapa se localizan pegados al órgano epigonal. Los espermatocistos con espermatozoides maduros liberan los espermatozoides hacia el epidídimo y los conductos deferentes (Figura 46).



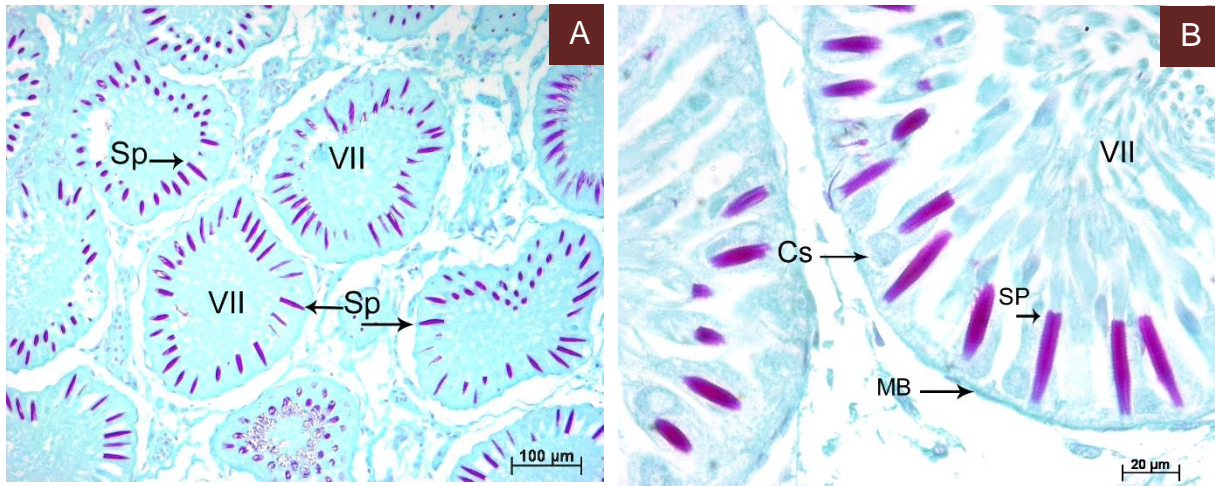


Figura 46. Etapa 7; **A)** Manojos de espermatozoides maduros (VII) de *C. ventriosum* con la cabeza dirigida hacia la periferia, **B)** Espermatozoides agrupados en manojos, acompañados por las células de Sertoli. (Aumento: **A)** 10X, **B)** 40X; Tinción de Feulgen; VII= etapa siete, Sp= paquetes de espermatozoides, Cs= célula de Sertoli, MB= membrana basal).

### **ESPERMA EN EPIDÍDIMOS Y CONDUCTOS DEFERENTES EN MACHOS DE *Cephaloscyllium ventriosum***

En los epidídimos, glándula de Leydig y conductos deferentes se tiene presencia de esperma. Los conductos tienen forma encorvada debido a su forma enrollada en toda su extensión (epidídimos y conductos deferentes).

El epidídimo en la parte anterior se cortó en plano transversal, consiste en un conducto estrecho revestido en su interior por un epitelio pseudoestratificado, se observaron células secretoras de forma ovalada, células ciliadas, espermatozoides dispersos en su lumen, a todo lo largo del conducto del epidídimo, hasta llegar al conducto deferente. El lumen contiene un líquido viscoso, producto de las células secretoras y algunos residuos (de vesículas secretoras e inclusiones lipídicas o citoplasmáticas). La matriz del lumen se observa granular, debido a que el citoplasma cuenta con abundantes ribosomas y otros orgánulos.

El epidídimo se observó acompañado con la glándula de Leydig, de menor tamaño; los dos órganos contiguos muestran espermatozoides dispersos, la diferencia

entre ellos se observa en el epitelio pseudoestratificado cilíndrico de grosor mayor en la glándula de Leydig (64  $\mu\text{m}$  aproximadamente). Presenta células secretoras, células ciliadas y tejido conjuntivo (Figura 47).

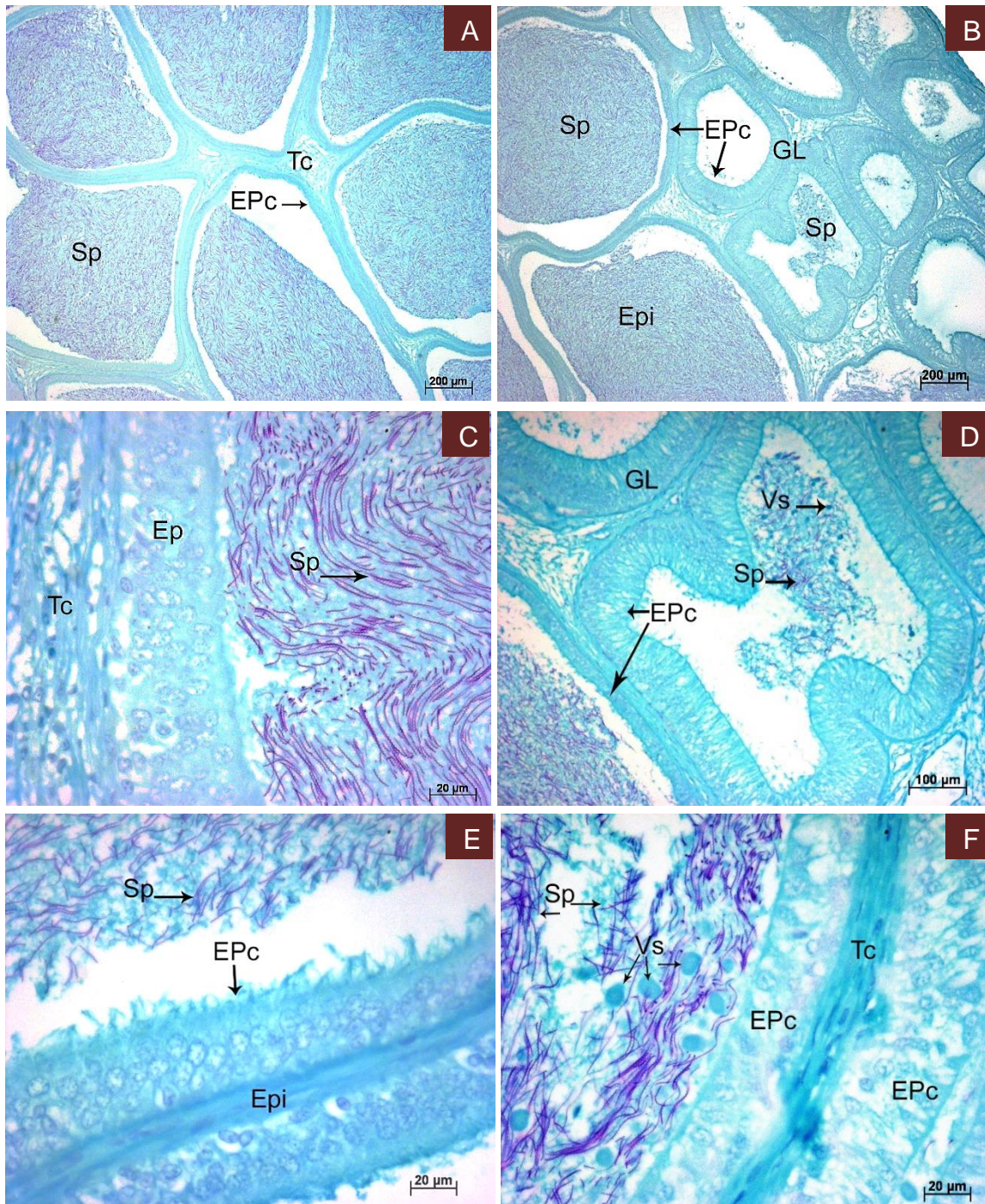


Figura 47. Corte trasversal del epidídimo y glándula de Leydig de *C. ventriosum*. **A)** aumento: 2.5X, epidídimo con epitelio pseudoestratificado ciliado y espermatozoides

libres en su lumen, tinción Feulgen; **B)** aumento: 2.5X, epidídimo y la glándula de Leydig, epitelio pseudoestratificado cilíndrico y cúbico, ambos con espermatozoides libres, tinción Feulgen; **C)** aumento: 40X, epidídimo con epitelio pseudoestratificado y tejido conjuntivo, espermatozoides libres, tinción Feulgen; **D)** aumento: 10X, glándula de Leydig, obsérvese la diferencia en grosor entre el epitelio del epidídimo y la glándula de Leydig, ambos pseudoestratificado, tinción Feulgen; **E)** aumento: 40X, epidídimo con espermatozoides libres, epitelio pseudoestratificado ciliado, tinción Feulgen; **F)** aumento: 40X, glándula de Leydig, muestra espermatozoides libres acompañados de vesículas secretoras, con epitelio pseudoestratificado ciliado y tejido conjuntivo, tinción Feulgen; (EPc= epitelio pseudoestratificado ciliado, Epi= epidídimo, GL= glándula de Leydig, Sp= esperma, Tc= tejido conjuntivo, Vs= vesículas secretoras).

Cortes transversales realizados en la parte media y posterior del conducto del epidídimo muestran el conducto deferente, el cual se ensancha posteriormente al epidídimo. Aparece un túbulo en zigzag, los espermatozoides libres se observan agrupados lateralmente para formar espermátóforos (agregados de esperma en una sustancia envolvente, incrustado en un material mucoso de apoyo) o espermatozeugmata (masas de espermatozoides no encapsulados), los cuales mantienen sus cabezas orientadas en una misma dirección con sus colas fuera de la matriz cohesiva, sin embargo, este acomodo en masas no se define claramente hasta llegar a la vesícula seminal. En ausencia de este órgano, no queda definido el modo de agrupación final que toman los espermatozoides antes de ser liberados en la cópula.

El epitelio se modifica a lo largo del conducto espermático, observando epitelio cúbico pseudoestratificado, y cilíndrico pseudoestratificado, con células ciliadas y secretoras. El lumen del conducto deferente posee una matriz granular con inclusiones lipídicas y vesículas secretoras, las cuales contribuyen al fluido seminal, muestra tejido conjuntivo y tejido muscular liso. El producto secretor llena el lumen de la glándula de Leydig, del epidídimo y del conducto deferente por fluido seminal y matriz, mostrando una fuerte coloración de la matriz (Figura 48).

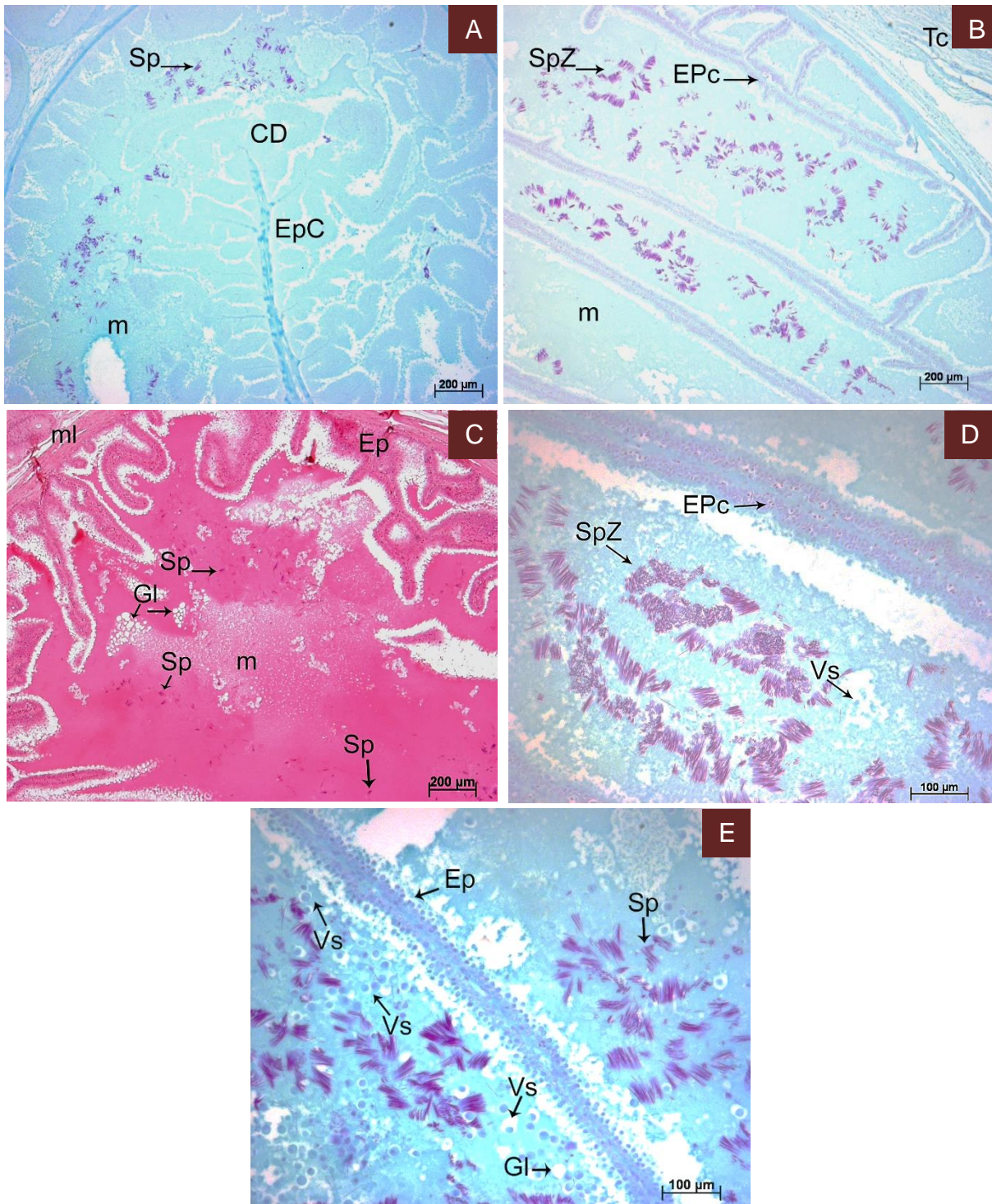


Figura 48. Corte trasversal del conducto deferente de *C. ventriosum*. **A)** aumento: 2.5X, conducto deferente, con espermatozoides unidos en lumen, matriz granular y epitelio pseudoestratificado, tinción Feulgen; **B)** aumento: 2.5X, conducto deferente con

apariencia de zigzag, inicios de un previo acomodo de espermas en espermatozeugmata, epitelio pseudoestratificado ciliado, tinción Feulgen; **C)** aumento: 2.5X, conducto deferente con esperma , obsérvese las gotas lipídicas y matriz granular, epitelio pseudoestratificado cúbico y tejido muscular liso, tinción H-E; **D)** aumento: 10X, inicios de espermatozeugmata acompañados de vesículas secretoras, epitelio pseudoestratificado, tinción Feulgen; **E)** aumento: 10X, numerosas vesículas secretoras dispersas entre los agregados de esperma, se observa epitelio pseudoestratificado, tinción Feulgen; (CD= conducto deferente, EPc= epitelio pseudoestratificado ciliado, Ep= epitelio variado, Gl= gotas lipídicas, Sp= esperma, SpZ= espermatozeugmata, Tc= tejido conjuntivo, m= matriz, Vs= vesículas secretoras).

## DISCUSIÓN

### Composición de tallas

De acuerdo con los resultados encontrados en *C. ventriosum*, se observó que las hembras alcanzan tamaños mayores a 90 cm de Lt, a diferencia de los machos con Lt <90 cm. Grover (1970) registró una longitud máxima en California de 110 cm para hembras, y solo mencionó que los machos alcanzaron tallas ligeramente menores. Esta diferencia en longitudes máximas entre los organismos de California y los de Bahía Tortugas, podría deberse a la variación latitudinal, como lo mencionó Parsons (1993) y Lombardi-Carlson *et al.* (2003) con *Sphyrna tiburo*, donde se registró que las hembras tienden a aumentar de tamaño y edad a la que maduran con la latitud, esto como una respuesta adaptativa a la idoneidad del entorno para el crecimiento, dado que los cambios ambientales que ocurren con el aumento de la latitud hacen que la duración de la temporada de crecimiento sea más corta.

En este sentido, la diferencia de tallas entre *C. ventriosum* muestreado en California y *C. ventriosum* de Bahía Tortugas, podrían atribuirse a variaciones ambientales que se generan con el cambio de latitud, presentando estaciones frías o cálidas más cortas o más largas, las cuales se consideran importantes por alterar rasgos en la vida de las especies (Stergiou,1999). Parsons (1993) menciona que lo más común es encontrar aumentos en el tamaño corporal, tasa de crecimiento, tamaño en la maduración, inversión energética en la producción de la descendencia y mayores tamaños al nacer.

Walmsley-Hart *et al.* (1999) atribuyeron estos cambios en tallas a las diferentes estrategias reproductivas, donde las especies ovíparas aumentan su tamaño por el hecho de generar una cápsula ovígera dentro de su cuerpo, como es el caso para *C. ventriosum* que forma cápsulas ovígeras de tamaños >8 cm Lt o las especies vivíparas, en las cuales la hembra gestante lleva dentro de su útero crías mayores a los 40 cm de longitud total. Conover (1990) concluyó que peces de latitudes altas deben crecer más rápido dentro de la temporada de crecimiento (estaciones cortas) que los peces de latitudes bajas; por lo que algunas especies como *S. tiburo* (Parsons, 1993) y *S. lewini* (Klimley, 1987), se enfocan en crecer más y de manera más rápida para dar

descendencias con tamaños adecuados para sobrevivir a estaciones de invierno próximas, mientras que otras especies aumentan el número de crías. Parsons (1993) concluyó que la población del norte de Florida de *S. tiburo* son más grandes, además de registrar un crecimiento más rápido (intra y extrauterino), por lo que su progenie es más grande y maduran a una talla mayor.

Dentro del género *Cephaloscyllium*, pocas especies alcanzan tallas mayores a los 100 cm de longitud total, como es el caso de *C. umbratile* con longitudes máximas para hembras de 114.5 cm y machos con 114 cm de Lt cerca de Tokio, Japón (Taniuchi, 1988), a diferencia de *C. stevensi* con longitudes máximas de 44.5-66 cm Lt en el Indo-Pacífico (Clark & Randall, 2011).

Por otro lado, se registraron diferencias significativas de talla entre ambos sexos, las hembras con mayores longitudes, debido a que los machos se enfocan en crecer para alcanzar la madurez sexual, mientras que las hembras enfocan su energía en lograr mayores longitudes (Parsons, 1993; Walmsley-Hart *et al.*, 1999). Taniuchi (1988) reportó esta diferencia para *Cephaloscyllium umbratile*, donde los machos maduran antes que las hembras, pero tanto los machos como las hembras alcanzan aproximadamente el mismo tamaño máximo. Los resultados en el presente trabajo sugieren que las hembras son las que alcanzan tallas mayores esto en respuesta a la condición ovípara, la cual les permite llevar cápsulas ovígeras dentro del útero, además, como lo sugerido por Francis & Mace (1980) la fecundidad aumenta con la longitud de la hembra.

### **Distribución temporal en la maduración reproductiva**

En relación a la distribución temporal de los diferentes estadios de madurez sexual en *C. ventriosum*, se presentó una temporada máxima en el mes de marzo y otra en agosto con organismos maduros y hembras preñadas, lo que sugirió que la especie pudiera tener copulaciones estacionales, lo cual es común para elasmobranquios (Hamlett, 2005); no obstante, no se descarta la posibilidad de que la especie pudiera ser reproductivamente activa durante todo el año, tal es el caso de los tiburones *Apristurus brunneus* y *Parmaturus xaniurus*, de la familia Scyliorhinidae los cuales se reproducen todo el año (Flammang *et al.*, 2008).

Todos los estadios sexuales establecidos para *C. ventriosum* estuvieron presentes durante toda la temporada de estudio, Engel & Callard (2005) mencionaron que es frecuente en diversas especies de tiburones el presentar todos los estadios durante todo el año, siendo así un desarrollo asincrónico.

Algunas hembras de elasmobranquios pueden almacenar esperma en la glándula oviducal durante algunos meses (Pratt, 1993; Moura *et al.*, 2011) como es el caso para *Centroscymnus coelolepis* (Moura *et al.*, 2011), *Sphyrna lewini* y *S. zygaena* (Bejarano-Álvarez, 2011) y *C. ventriosum* (Grover, 1970); si el esperma no se almacena, la cópula se llevaría en repetidas ocasiones a través del año. Se ha observado en *Dasyatis americana*, la capacidad de realizar copulación en cuestión de minutos a horas después del parto (Pratt & Carrier, 2005; Powter & Gladstone, 2008). En *Heterodontus portusjacksoni* se registró un comportamiento de “seguimiento” dada por los machos, situándose cerca de las hembras por ovipositar, se infiere que esto es debido posiblemente a las feromonas (Powter & Gladstone, 2008). Francis & Mace (1980), ya habían reportado en *Mustelus lenticulatus* esta capacidad de copulación y ovulación de un nuevo conjunto de oocitos, seguida rápidamente después del parto.

El encontrar cápsulas ovígeras en todos los meses de muestreo nos sugiere que *C. ventriosum* no tiene una estacionalidad de puesta de huevos, pudiendo desovar todo el tiempo, como las especies de tiburón *Scyliorhinus canicula* y *C. umbratile* que son ovíparas, y pueden desovar en todo el año (Sumpter & Dodd, 1979; Taniuchi, 1988).

En este sentido, *C. ventriosum* no parece tener una temporada reproductiva o de desove bien definida, lo cual también fue observado en otras especies del mismo género. Por ejemplo, *C. umbratile*, mostró desoves prolongados mayores a 7 meses (Taniuchi, 1988), a diferencia de *Chiloscyllium punctatum* que presenta un solo periodo de apareamiento por año y siete meses de puesta (Harahush *et al.*, 2007). Por lo tanto, se sugiere que los tiburones de la familia Scyliorhinidae, donde las hembras desovan durante todo el año, tienden a exhibir uno o dos picos de actividad reproductiva. La ventaja de esto pudiese radicar en producir la mayor cantidad de cápsulas ovígeras, esperando tener un alto porcentaje de cápsulas ovígeras viables, debido a que están expuestas a depredación, por otro lado Wourms (1977) menciona que la fecundidad es especies



ovíparas es baja, y lo atribuye en producción baja de cápsulas ovígeras, pero de mayor tamaño, lo cual aumenta las probabilidades de sobrevivencia, al dar organismos más grandes, sin embargo, Hamlett (2005), contradice este supuesto, debido a que las especies ovíparas dan crías de tamaños pequeños, y los individuos pequeños están sujetos a una depredación proporcionalmente mayor que los individuos más grandes. Por lo tanto, la oviparidad en especies pequeñas busca aumentar la fecundidad.

### **Proporción de sexos**

La proporción sexual obtenida para *C. ventriosum*, indicó la existencia de una segregación por sexos. Para el género *Cephaloscyllium* es escasa la información con respecto a la proporción y segregación sexual, por lo que, de acuerdo con los resultados del presente estudio, se infiere la existencia de una segregación por sexos en la zona de Bahía Tortugas, lo cual podría ser debido a dos razones principales; a) las hembras pudiesen acercarse a la zona de estudio solo para el desove, debido a que en zonas próximas a la costa existe mayor probabilidad de supervivencia para los huevos y neonatos. Argumento que tiene relación con lo propuesto por Muñoz-Chápuli (1984), donde mostró la distribución vertical de tiburones, los adultos ocupan principalmente aguas oceánicas y hembras preñadas y juveniles se encuentran cerca a la costa, para evitar exponerse a la depredación intraespecífica, b) las hembras al ser de mayor tamaño que los machos, son más vulnerables a la pesca con redes agalleras de deriva por la luz de malla empleada en esta zona (Torres-Huerta *et al.*, 2008).

Los resultados en relación a la proporción de sexos pudieran responder a una fase del ciclo de vida en que se encuentre la especie, se ha mencionado que algunos elasmobranquios realizan desplazamientos, ya sea por la limitación de alimentos, los movimientos de la presa, cambios estacionales en la temperatura del agua o eventos reproductivos, por lo que, se dividen eventualmente en unidades sociales de acuerdo con el tamaño o desarrollo sexual y sexo, además de las diferentes capacidades de natación y dieta (Springer, 1967; Muñoz-Chápuli, 1984; Casey & Kohler, 1992; Parsons, 1993; Soto-López, 2014).

Según Klimley (1987) numerosas especies de elasmobranquios ocupan un hábitat diferente entre sexos y por estadio sexual, las hembras de *S. lewini* en el Golfo de California mantienen una segregación con los machos, se desplazan a zonas más profundas antes que ellos, y se alimentan de especies pelágicas.

Existe la posibilidad de que el área de pesca de Bahía Tortugas sea una zona de desove y reproducción para *C. ventriosum*. Bass (1978) mencionó que se consideran áreas de crianza aquellas en donde ocurre el desove o parto, y las crías viven por algún tiempo antes de desplazarse a otros sitios más profundos. Bejarano-Álvarez (2007) definió un área de crianza, como el lugar en donde se tiene la presencia simultánea de hembras grávidas, neonatos y juveniles pequeños.

En este sentido y debido al alto número de hembras maduras y grávidas encontradas en el estudio, las cuales probablemente ovipositan en la zona, se podría considerar la zona de estudio como posible área de crianza; sin embargo, deben realizarse más estudios para conocer las características geográficas del área y la presencia de neonatos y juveniles, si bien, en este estudio no se tiene registro de neonatos debido a que no se capturan por el tamaño de luz de malla utilizado en la pesca, no se descarta su presencia.

### **Talla media de madurez sexual (L<sub>50</sub>)**

La estimación de la talla media de madurez sexual (L<sub>50</sub>) para *C. ventriosum*, fue evaluada con diferentes indicadores morfológicos, como se aplica en la mayoría de los elasmobranquios (Capapé *et al.*, 2001; Powter & Gladstone, 2008). La madurez sexual en machos fue a partir de los 74 cm de Lt y las hembras a partir de los 78 cm de Lt. En el caso de *C. laticeps*, en machos se presenta la madurez sexual a partir de 82 cm de Lt, sin dar estimación para hembras (Awruch *et al.*, 2008).

Las hembras de *C. ventriosum* maduraron al 83% de su longitud total y los machos al 76%, similar a lo registrado para *C. umbratile* en Papua Nueva Guinea, donde las hembras presentaron una talla media de madurez al 80% (92 y 94 cm Lt) de su longitud máxima, mientras que los machos al 75% (>86 cm de Lt). En especies de

la familia como *Scyliorhinus canicula* y la especie *Squalus acanthias*, ambas maduraron al 67% de su longitud máxima (Taniuchi, 1988).

La talla media de madurez sexual para *C. ventriosum* ha sido documentada por primera ocasión en el presente estudio para ambos sexos. Fue validada con precisión por medio del análisis histológico del sistema reproductor. Aporta información fundamental para el manejo de la pesquería. Pratt (1979) y Maruska *et al.*, (1996) propusieron que no se considerara solo las características macroscópicas externas o internas, así como solo el uso del índice gonadosomático como únicas, para establecer la madurez sexual, por lo que en este trabajo la talla media de madurez sexual (L<sub>50</sub>) para ambos sexos amplía de manera significativa el conocimiento biológico de la especie.

## **DESCRIPCIÓN MACROSCÓPICA DEL SISTEMA REPRODUCTOR DEL TIBURÓN *Cephaloscyllium ventriosum***

### **Hembras**

El sistema reproductor de *C. ventriosum* presentó un solo ovario (derecho) funcional de tipo externo con los oocitos visibles, cubierto por el epitelio germinal, característicos de la familia Scyliorhinidae (Francis & Mace, 1980; Taniuchi, 1988; Carrera-Fernández, 2004; Awruch *et al.*, 2008), conectado por un único ostium, un par de oviductos, glándulas oviducales y úteros, validando la descripción realizada por Grover (1970) y Bejarano-Álvarez (2011). Otros estudios de especies en la misma zona reportan que las rayas poseen ambos ovarios funcionales (Juaristi-Videgaray, 2016). *C. ventriosum* al igual que otros elasmobranquios como *C. umbratile* y *C. laticeps*, el ovario funcional es el derecho (Wourms, 1977; Taniuchi, 1988; Awruch *et al.*, 2008).

Las hembras de *C. ventriosum* presentaron en su ovario derecho el órgano epigonal de estructura linfomieloide que los sostiene. En machos, el órgano se limita al mesorquio (mesenterio), se separa de los testículos por una capa delgada de células glandulares vascularizadas. A diferencia de las especies de la familia Lamnidae, el órgano epigonal se encuentra rodeando al ovario por completo (clasificado como de

tipo interno), el cual no se puede observar a simple vista (Pratt, 1988; Galíndez & Aggio, 2002; Carrera-Fernández, 2004; Galíndez, 2016).

Este órgano epigonal es exclusivo de condrictios, presentándose en ambos sexos. Antes de la madurez sexual, se observó en *C. ventriosum* que este órgano ocupa todo el espacio que posteriormente serán las gónadas, a medida que la gónada se diferencia y crece, el órgano epigonal se reduce, ubicándose solo a un extremo, similar a lo reportado por Galíndez (2016) en otros elasmobranquios. Honma *et al.* (1984) y Galíndez & Aggio (2002), recomendaron cambiar el nombre de “epigonal” por “subgonal”, debido que en *Mustelus schmitti*, se ha ubicado más caudal que en otras especies de condrictios.

La madurez sexual en hembras de *C. ventriosum*, ha sido evaluada siguiendo el criterio utilizado en otros elasmobranquios: por el tamaño del folículo ovárico, condición del oviducto y glándula oviducal (Capapé *et al.*, 2001; Powter & Gladstone, 2008).

El ovario de *C. ventriosum* presentó cohortes de folículos en diferente estado de maduración. En organismos inmaduros, los ovarios presentan oocitos <5 mm, siendo folículos no vitelogénicos presentes en estadios de pre-madurez o en desarrollo, la vitelogénesis comenzó con oocitos >5 mm, a diferencia de la especie *C. lapticeps* que presenta oocitos vitelogénicos a partir de los 10 mm (Awruch *et al.*, 2008). Según Galíndez (2016), el inicio de la actividad reproductiva está marcado por la incorporación de vitelo en el ooplasma.

La fecundidad y la frecuencia de la reproducción son factores demográficos fundamentales. En los elasmobranquios ovíparos, la fecundidad ovárica, definida por Powter & Gladstone (2008) como el número de folículos ováricos maduros en el ovario, es la medida más común.

Como fecundidad ovárica para *C. ventriosum*, se sugiere alrededor de  $13 \pm 3$  oocitos vitelogénicos con diámetros máximos de los 22-26 mm, junto con numerosos oocitos que gradualmente disminuyen en tamaño hasta ser menores de 5 mm. Taniuchi (1988) reportó en *C. umbratile* 10 oocitos entre 35 y 40 mm de diámetro

máximo. Awruch *et al.*, (2008) en *C. lapticeps* reportaron entre 4 a 6 oocitos que aumentaron de tamaño hasta los 30 mm máximos, considerados listos para la ovulación.

Se sabe que no todos estos oocitos serán ovulados, la hembra produce y madura oocitos vitelogénicos en mayor número de los que van a ovularse, por lo que hay un elevado porcentaje de atresia folicular (Capapé *et al.*, 2001; Galíndez, 2016).

Si bien, estos eventos no fueron observados en este estudio, es permisible explicar para *C. ventriosum* que el ostium recibe al oocito después de la ovulación, este es una estructura infundibular (forma de embudo), simple o bilateral. Después bifurca en oviductos funcionales, izquierdo y derecho. Es en el oviducto anterior, donde podría darse la fecundación o bien hasta la glándula oviducal (Musick & Ellis, 2005; Galíndez, *et al.*, 2010), encargada de la encapsulación del óvulo.

La glándula oviducal es pareada y se encuentra por debajo del oviducto anterior y por encima del útero, está presente en casi todos los elasmobranchios (Hamlett *et al.*, 1998; Smith *et al.*, 2004), a excepción de la familia Narcinidae, que no la presentan (Smith *et al.*, 2004; Hamlett, 2005; Moura *et al.*, 2011; Galíndez, 2016).

Entre los diferentes modos reproductivos, la estructura y forma general de la glándula oviducal varía, el tamaño es considerablemente mayor en las especies ovíparas, según lo reportado por Hamlett (2005), observándose glándulas pequeñas funcionales en especies vivíparas. Las especies ovíparas como *S. canicula*, *R. erinacea* y *R. eglanteria* (Hamlett *et al.*, 1999), comparten los mismos principios de diseño, difieren en su morfología externa y la cápsula ovígera, como en *H. francisci* la cual forma cápsulas ovígeras con forma de tornillo.

La forma acorazonada de la glándula oviducal se encontró en *C. ventriosum*. Hamlett *et al.* (1998) han caracterizado la glándula oviducal de las especies ovíparas como "especializadas", debido a su función en la formación de cápsulas ovígeras, además del almacén de esperma.

Esta glándula mostró una reacción positiva en *C. ventriosum* con la tinción de PAS (+) lo que evidenció la secreción de glicoproteínas. Otros autores como Smith *et al.* (2004) y Soto-López (2014) también reportaron la reacción a PAS+ en organismos maduros, debido a que estas secreciones componen las capas duras de la cápsula ovígera, así como un recubrimiento protector al oocito ovulado. El ensanchamiento de esta glándula durante el periodo de maduración sexual se emplea como un carácter morfológico adicional en la determinación del estado de madurez de hembras (Smith *et al.*, 2004; Galíndez, 2016).

En *C. ventriosum* se observó la presencia de tendrillos (filamentos de soporte para la sujeción de la cápsula en el medio marino) formados en la parte posterior de la glándula oviducal, los cuales estaban conectados a la cápsula ovígera cuando se encontraba en el útero. Bejarano-Álvarez (2011) reportó la presencia de estos tendrillos en hembras, las cuales contenían cápsulas ovígeras completamente formadas y lista para su liberación, lo que indicó que una vez que la cápsula ovígera está completamente cerrada, la glándula se centra en formar estas estructuras filamentosas que sirven de soporte a las cápsulas ovígeras cuando son expulsadas al exterior.

La glándula oviducal de *C. ventriosum* está en relación directa con el estado de madurez sexual, así como con la longitud total del organismo, observando glándulas pequeñas <20 mm en organismos inmaduros de <75 cm de Lt y glándulas oviducal más grandes >35mm en organismos maduros de >78 cm Lt. Esta relación que se observó entre el tamaño de la glándula oviducal y el tamaño del organismo también fue observado por Soto-López (2014) en la raya *Raja velezi*.

Debido a que el sistema reproductor en los elasmobranquios como *C. ventriosum* está adaptado a la fecundación interna y a la producción de cápsulas ovígeras, el útero que presentan muestra una estructura con diversas funciones: protección, alojamiento y diversos tipos de nutrición recibidas por el embrión en especies vivíparas y, transporte y alojamiento de cápsulas ovígeras en especies ovíparas (Hamlett, 2005; Galíndez, 2016).

Hamlett *et al.* (1998), reportaron en las especies ovíparas que los úteros son simples y sofisticados, los cuales albergan la cápsula ovígera durante la esclerotización hasta la oviposición; además proveen oxígeno y permiten la absorción de agua. En la familia Scyliorhinidae la mucosa intrauterina se pliega y está altamente vascularizada, además es una estructura altamente secretora (Hamlett, 2005).

### **Cápsula ovígera de *Cephaloscyllium ventriosum***

Todas las especies conocidas de tiburones tienen dos oviductos funcionales, lo cual fue observado en el presente estudio, con la posibilidad de una sola, o rara vez, dos cápsulas ovígeras por conducto (Grover, 1970), a diferencia de algunas especies que solo presentan un oviducto funcional a la vez, donde las hembras grávidas muestran desarrollo embrionario en un oviducto y óvulos infértiles en el otro. Se ha atribuido que el apareamiento al realizarse de un lado en específico, sólo se llena un oviducto (fecundación unilateral), por lo que la elección de aleta pectoral por el macho a la hora del apareamiento dicta el gonopterigio que utiliza e influye en cual oviducto se recibe el esperma (Pratt & Carrier, 2005).

En las especies ovíparas, a lo largo de este conducto, los óvulos son fertilizados, encapsulados y retenidos (en algunas especies) hasta la oviposición, la encapsulación es el proceso dominante (Callard *et al.*, 2005).

Los óvulos fertilizados son envueltos en una cápsula multilaminada proteica (principalmente de colágeno), dura, flexible y permeable como la observada en *C. ventriosum*, formada por la glándula oviducal (Grover, 1970; Smith *et al.*, 2004; Callard *et al.*, 2005, Harahush *et al.*, 2007; Powter & Gladstone, 2008). Según Koob & Strauss (1998), esta cápsula ovígera comienza a producirse después de la ovulación. Hobson (1930) reportó que la formación de la cápsula ovígera puede ocurrir sin el paso del óvulo a través de la glándula.

Según Koob & Callard (1999) y Lutton *et al.* (2005) la ovulación en la raya *Leucoraja erinacea*, se presenta cuando las cápsulas ovígeras están formadas entre un cuarto y un tercio, y posteriormente el ovulo entra en la cápsula. Similar en el tiburón

*H. ocellatum*, donde ocurre la ovulación después de estar formada por lo menos hasta la mitad la cápsula ovígera (Lutton *et al.*, 2005).

En *C. ventriosum* todas las capsulas examinadas, se encontraron completamente formadas y con el óvulo dentro, por lo que se podría decir que la hembra estaba a punto de la oviposición; sin embargo, esto es difícil de concluir, debido a que los organismos no fueron examinados en vida silvestre, para estimar el intervalo de tiempo entre una puesta y otra. Se infiere que la especie es de oviposición constante debido al avanzado y elevado número de oocitos vitelogénicos además de presentarse completas las cápsulas ovígeras.

La fecundidad anual promedio para la familia Scyliorhinidae es de 60 cápsulas ovígeras por año, en rayas se estima un promedio de 59 cápsulas ovígeras por año (Musick & Ellis, 2005; Powter & Gladstone, 2008). Sin embargo, se considera que algunas rayas poseen fecundidad anual mayor, depositando cápsulas ovígeras de 100 hasta >500, por año. Especies estudiadas en cautiverio como *Raja binoculata* se registró más de 350 cápsulas ovígeras producidas anualmente (Soto-López, 2014). Por lo anterior se especula que los ovíparos tienen mayor fecundidad anual que un vivíparo, pero el número de organismos que logran tallas adultas son menores. La fecundidad anual para *Chiloscyllium punctatum* en cautiverio se estimó en  $115 \pm 3$ , durante dos estaciones, siendo viables solo 38 cápsulas ovígeras (Harahush *et al.*, 2007. En un grupo más lejano como la quimera (tiburón elefante o tiburón fantasma) *Callorhinchus milii* deposita aproximadamente 20 cápsulas ovígeras por hembra.

En este estudio la medición de los tendrillos no se realizó, debido a que venían destrozados en algunas cápsulas ovígeras, sin embargo, fue evidente observar tendrillos >2cm, mismo observado por Grover en una población (1970; 1972) de California, los cuales se encontraron cerca a la costa, a diferencia de otra población presente en la Isla Sta. Catalina, la cual no presentaba tendrillos largos (<2cm). Las dimensiones de la cápsula ovígera del presente estudio difieren a las descritas por Grover (1972),

Normalmente el tamaño de las cápsulas ovígeras se encuentra relacionado con el tamaño de la hembra (Soto-López, 2014), debido a las diferentes latitudes, como se



discutió con anterioridad, pudiera ser que esta diferencia se deba a que los organismos nacen también a longitudes mayores, por lo que las cápsulas ovígeras necesitan mayores dimensiones para otorgar espacio adecuado al embrión, siendo en este caso más largas que anchas.

Ubicar las zonas de oviposición para *C. ventriosum*, es de suma importancia, debido a que contribuyen a conocer el estatus de la población y observar si las hembras regresan a ovipositar cada temporada (Harahush *et al.*, 2007; Soto-López, 2014).

### **Machos**

La madurez sexual con frecuencia es evaluada por la longitud y calcificación de los gonopterigios por diversos autores (Francis & Mace, 1980; Capapé *et al.* 2001; Powter & Gladstone, 2008). En el estudio realizado con *C. ventriosum*, se concluyó que es necesario complementar este análisis con histología de los gonopterigios para obtener un indicador más preciso de la estructura interna del órgano copulador, y definir el traslape entre los conductos llenos de espermatozoides y el gonopterigio calcificado, que ayude a determinar la talla en la cual el tiburón ingresa a la población sexualmente activa, así como las temporadas reproductivas. Los elasmobranquios presentan específicas características en la madurez sexual de sus gónadas, a veces se muestran rasgos similares entre especies, aunque su modo reproductivo sea diferente (Tabla. 6).

Tabla 6. Características generales del aparato reproductor de machos de diversos elasmobranquios con distinto modo reproductivo.

<b>Autor</b>	<b>Año</b>	<b>Localidad</b>	<b>Especie</b>	<b>Características</b>
<b>Hoyos-Padilla</b>	2003	Punta Lobos y Punta Belcher, B.C.S., México	<i>Carcharhinus falciformis*</i> (tiburón piloto)	Vivíparo matrotrofico Testículo** tipo diamétrico Cúmulos de esperma tipo espermatozeugmata

<b>Carrera-Fernández</b>	2004	Costa Occidental de B.C.S., México.	<i>Prionace glauca</i> * (Tiburón azul)	Vivíparo matrotrofico Testículos** tipo diamétrico forma alargada tubular con lóbulos visibles Epidídimo*** sin diferencias claras con el conducto deferente
<b>Gatica &amp; Acuña</b>	2011	Zona centro norte de Chile	<i>Aculeola nigra</i> * y <i>Centroscyllum nigrum</i> *	Vivíparo lecitotrofico. Testículo** diamétrico forma alargada tubular con lóbulos visibles Epidídimo*** sin diferencias claras con el conducto deferente
<b>Stephanie Bernal (presente estudio)</b>	2017	Bahía Tortugas, B.C.S., México	<i>C. ventriosum</i>	Ovíparo lecitotrofico Testículos**diamétrico forma alargada tubular lóbulos NO visibles Epidídimo*** sin diferencias claras con el conducto deferente

## DESCRIPCIÓN ANATÓMICA E HISTOLÓGICA EN EL PROCESO DE OVOGÉNESIS Y ESPERMATOGÉNESIS

### Ovogénesis

La ovogénesis es similar en todos los vertebrados, aunque los condriictios exhiben algunas particularidades (Galíndez, 2016). Diversos autores sugieren que, en el caso de este grupo en particular, para determinar la madurez sexual, debe existir una combinación de la morfología externa del sistema reproductor y el análisis interno de las gónadas. Los resultados de algunos estudios basados sólo en la morfología externa no coincidieron con los resultados donde se realizó el trabajo histológico, debido a que se pueden encontrar organismos de tallas grandes, sin actividad reproductiva, sobreestimándose la madurez sexual (Parsons & Grier, 1992; Maruska *et al.*, 1996; Carrera-Fernández, 2004).

En el presente estudio para *C. ventriosum* se logró identificar cuatro fases de la ovogénesis, a diferencia del estudio de Díaz-Andrade *et al.* (2011) donde se describieron la foliculogénesis completa clasificada en siete fases, reportándose desde oogonias, folículos atrésicos hasta cuerpos lúteos para la raya *Sympterygia bonapartii*.

El ovario maduro en hembras de *C. ventriosum* caracterizado por oocitos de diferentes tamaños indicó que el crecimiento folicular continua durante la ovulación, la formación de cápsulas ovígeras y la oviposición. Esto es comparable a lo reportado por otros autores y otras especies (Wourms & Demski, 1993; Awruch *et al.*, 2008; Díaz-Andrade *et al.*, 2011; Gatica & Acuña, 2011).

El epitelio folicular en rayas pasa de epitelio simple a estratificado; mientras que, en tiburones, las células incrementan su altura, pero no se estratifican, contrario a lo observando en este estudio para *C. ventriosum* y a lo reportado por Awruch *et al.* (2008) en *C. laticeps*, donde la estructura comenzó como un epitelio simple y a medida que la ovogénesis avanzaba, el epitelio folicular se volvía pseudoestratificado, lo que indicó que existe variabilidad celular pero a la vez similitud entre algunos elasmobranquios, por lo que no se debería generalizar. En este estudio la identificación del epitelio germinal y las oogonias no se localizaron debido a la dificultad histológica de ser reconocidas por su tamaño diminuto.

En otras especies el inicio del desarrollo ovárico se evidencia por la presencia de numerosas oogonias y folículos primordiales y escasos folículos primarios (Galíndez *et al.*, 2010). Díaz-Andrade *et al.*, (2011) reportaron oogonias presentes desde organismos inmaduros hasta maduros.

Existe una gran variación del número de tipos y capas de células foliculares a lo largo del desarrollo folicular, en este estudio se presentaron epitelios simples de una línea continua de células hasta epitelios pseudoestratificados con más de tres capas de células sin orden aparente, con formas redondas u ovaladas (Prisco *et al.*, 2002; Hoyos-Padilla, 2003; Díaz-Andrade *et al.*, 2011). Andreuccetti *et al.* (1999), Díaz-

Andrade *et al.* (2011) y Galíndez (2016) reportaron que la capa granulosa muestra en todos los elasmobranquios, distintos tipos celulares.

Los folículos primordiales, por depósitos de glucoproteínas y proteoglucanos muestran el inicio de la formación de la zona pelúcida. Al comenzar el crecimiento en número y tamaño de las células foliculares, con la tinción de Mallory, se lograron observar células en forma de globo entre las células foliculares, similar a lo reportado por Díaz-Andrade *et al.* (2011), siendo rodeado por epitelio simple plano.

A medida que la ovogénesis avanza y el oocito crece, el epitelio folicular de *C. ventriosum* cambia su estructura, adquiere varias capas con la distinta organización, simple a pseudoestratificado, igual a lo reportado por otros autores (Prisco *et al.*, 2002; Díaz-Andrade *et al.*, 2011). Para la fase de folículos primarios, el oocito de *C. ventriosum* ya está rodeado por células simples cuboides con forma oval, a diferencia de otras especies donde estas células se observan más rectangulares y el oocito ha aumentado su tamaño gradualmente, además incrementando el número de organelos (Andreuccetti *et al.*, 1999; Díaz-Andrade *et al.*, 2011; Galíndez, 2016).

En *C. ventriosum* y otros elasmobranquios, el epitelio folicular cambia drásticamente al dar inicio la vitelogénesis, volviéndose polimórfico y con multicapas (Andreuccetti *et al.*, 1999). En la raya *Sympterygia bonapartii* Díaz-Andrade *et al.* (2011), observaron que el epitelio folicular se vuelve estratificado cilíndrico cuando el folículo alcanza diámetros >450  $\mu\text{m}$ , en *C. ventriosum* esta pseudoestratificación se observó con folículos >900  $\mu\text{m}$ . Este aumento de las superficies de contacto con el oocito se debe a los precursores vitelinos (vitelogeninas). Las vitelogeninas son producidas en el hígado transportadas por la sangre, llegan al folículo, y a través de las células foliculares ingresan hacia el citoplasma del oocito (Galíndez, 2016).

La relación de intercambio entre el oocito y las células de la granulosa se lleva a cabo atravesando la zona pelúcida, formando proyecciones citoplasmáticas denominadas “puentes intercelulares”, no observados en *C. ventriosum* por el poder de resolución del microscopio óptico. En este punto, al inicio de la acumulación vitelina, la zona pelúcida alcanzó su máximo grosor, en el presente estudio fue >34  $\mu\text{m}$ .

Galíndez (2016) lo reportó en condriictios, como el mayor espesor de todos los vertebrados, sin embargo, no especificó medidas, al igual que Díaz-Andrade *et al.* (2011), quienes describieron esta característica evidente.

Los folículos que superaron 1-2 mm de diámetro en *C. ventriosum* mostraron el comienzo de la acumulación de vitelo, a diferencia de lo reportado por Awruch *et al.* (2008) con ovarios pequeños que contenían folículos de menos de 7 mm de diámetro con vitelo no visible, logrando distinguir el inicio de la vitelogénesis hasta los folículos con aproximadamente 10 mm de diámetro. En todos los elasmobranquios se acumulan gránulos de vitelo que aumentaran de tamaño hasta obtener placas elípticas conforme avance el desarrollo folicular.

En la fase pre-ovulatoria la zona pelúcida de *C. ventriosum* se vuelve más delgada, debido a que deja de presentar proyecciones. Entre cada especie, el diámetro máximo que alcanza el oocito para ser ovulado puede variar (Andreuccetti *et al.*, 1999; Galíndez, 2016).

El espacio que deja el folículo ovulado forma el “cuerpo lúteo”, Galíndez (2016) mencionó que esta fase es poco representada por su poca duración en las especies que depositan cápsulas ovíferas, en este sentido, en este estudio no fue posible observar la formación de cuerpos lúteos para su descripción. Por otro lado, en elasmobranquios vivíparos esta fase se mantiene por más tiempo (Soto-López, 2014; Galíndez, 2016). Esto pudiera deberse al hecho de que las especies ovíparas al ser de oviposición constante reabsorben con mayor rapidez las estructuras, por lo que en este estudio no fue posible observar la representación de esta fase.

Aunque la ovogénesis es similar en todos los vertebrados, existe una gran diversidad en los epitelios foliculares entre cada especie de elasmobranquio, sin existir un patrón consistente, localizando diferentes tipos y tamaños celulares. Al observar oocitos en diferente grado de desarrollo se puede concluir que *C. ventriosum* es un desovador parcial asincrónico, donde la hembra libera los folículos de a uno por vez, hacia el ostium. Presentándose el aumento característico de la zona pelúcida y una pseudoestratificación folicular antes de la ovulación.

## Espermatogénesis

La espermatogénesis en *C. ventriosum*, presentó un tipo de organización testicular tipo diamétrico (el desarrollo de espermatocistos procede de la zona germinal a través del diámetro del testículo), similar a lo reportado para especies del mismo género como *Cephaloscyllium laticeps* (Awruch *et al.*, 2008) y para otras especies como el tiburón *Sphyrna tiburo* (Parsons & Grier, 1992), tiburón piloto *Carcharhinus falciformis* (Hoyos-Padilla, 2003), tiburón azul *Prionace glauca* (Carrera-Fernández, 2004). Las fases de la espermatogénesis dentro del espermatocisto, ocurre de manera similar en los elasmobranquios, solo cambia el número y la manera de proliferación de estos espermatocistos.

El tipo de organización diamétrico presentado en *C. ventriosum*, ha sido un patrón similar en los elasmobranquios del orden Carcharhiniformes, sin descartar su aparición en otros elasmobranquios, algunos del orden Squaliformes, como *Centroscymnus coelolepis* y *Centrophorus squamosus* (Girard *et al.*, 2000). Existen al menos tres tipos distintos de testículos: radial, diamétrico y compuesto, esto por el origen y propagación de los espermatocistos (Pratt, 1988; Parsons & Grier, 1992; Hamlett, 2005).

Se describieron siete etapas de la espermatogénesis en *C. ventriosum* y cubren los diversos cambios celulares que se llevan a cabo durante todo el proceso. Se observaron distintas zonas de espermatocistos, que contienen espermatogonias primarios y secundarios, espermatocitos primarios y secundarios, espermatidas y espermatozoides, similar a lo descrito para *Sphyrna tiburo* (Parsons & Grier, 1992) y observado también por Girard *et al.* (2000). Wourms (1977) clasificó y describió solo seis etapas para *Scyliorhinus canicula*.

En el desarrollo testicular de tipo diamétrico, cada zona se encuentra ocupada por espermatocistos con células espermatogénicas en desarrollo similar. Estos van migrando hacia el otro extremo del testículo (Parsons & Grier, 1992; Girard *et al.*, 2000) los cuales se conectan a los conductos del epidídimo y conductos deferentes.

El tipo de organización testicular, el tejido con conductos intratesticulares, se observan con epitelio cilíndrico simple o pseudoestratificado, presentando cilios o estereocilios. Similar a lo observado en los epidídimos, glándulas de Leydig y conductos deferentes de *C. ventriosum*, que presentaron epitelios pseudoestratificados con estereocilios.

Los organismos inmaduros presentaron todas las etapas de la espermatogénesis, sin embargo, presentaron mayor cantidad de espermatocistos en sus primeras etapas de desarrollo espermático (80%) y poca cantidad de espermatocistos con espermatozoides maduros, similar a lo reportado por Galván-Tirado (2007) para *Carcharhinus falciformis* y Girard *et al.* (2000) para *Centroscymnus coelolepis* y *Centrophorus squamosus*.

Para los organismos maduros de *C. ventriosum* todas las etapas espermatogénicas fueron descritas. El 40% de los espermatocistos contenían espermátidas o espermatozoides, además de la disminución del órgano epigonal como reporta Galíndez (2016). Girard *et al.*, (2000) documentaron que tanto *C. coelolepis* como *C. squamosus*, no presentan ningún órgano epigonal, un patrón característico que se ha reportado para varias especies de aguas profundas.

El análisis histológico mostró formación de espermatozoides maduros en testículos desde organismos inmaduros, los cuales aún presentaban gonopterigios sin calcificar. Por lo que se concluye que para *C. ventriosum* el órgano que determinará su estado de madurez y su actividad de apareamiento será el gonopterigio, independientemente si se encuentran espermatozoides listos en los testículos.

## **GLÁNDULA OVIDUCAL**

La importancia de conocer a detalle la estructura microscópica de la glándula oviducal de *C. ventriosum*, radica en que, en las especies ovíparas se encarga de la producción de la cápsula ovígera, que será depositada en el medio marino al inicio de la embriogénesis y en algunas especies es responsable del almacenamiento de esperma (Smith *et al.*, 2004; Hamlett, 2005; Awruch *et al.*, 2008; Bejarano-Álvarez, 2011; Moura *et al.*, 2011; Galíndez, 2016). Dicha glándula es un órgano especializado

y exclusivo en la mayoría de los condriictios. Su importancia está relacionada con las estrategias reproductivas de cada grupo (Hamlett *et al.*, 1998; Smith *et al.*, 2004; Galíndez *et al.*, 2010). Se encarga de transferir los huevos al útero, secretar una gelatina que rodea y protege al óvulo fecundado y embriones en desarrollo, funciona como un dispositivo estructural hidrodinámico (Koob & Straus, 1998).

Al igual que en otras especies, la glándula oviducal de *C. ventriosum* a nivel microscópico mostró cuatro zonas morfofuncionales, similares a las descritas para otros condriictios, Smith *et al.* (2004) lo reportaron en la quimera *Callorhynchus mili*, Moura *et al.*, (2011) para el tiburón *Centroscymnus coelolepis* y Galíndez *et al.*, (2010) para la raya *Sympterygia bonapartii*. Hamlett (2005) mencionó que estas zonas se distinguen inclusive en especies con diferente modo reproductivo. Cada una de las zonas es responsable de una única función, se caracterizan por su diferente organización histológica y por afinidad de tinción, en *C. ventriosum* y otros elasmobranquios se presentan reacción positiva a la tinción de PAS+ y H-E (Pratt, 1993, Smith *et al.*, 2004; Moura *et al.*, 2011).

Con base a su perfil histológico en un corte longitudinal, siendo de anterior-posterior, se reconocen: zona club, zona papillary, zona baffle y zona terminal (Hamlett *et al.*, 1999; Hamlett, 2005; Moura *et al.*, 2011). Secretan mucosas y/o proteínas con función definida, estas mostradas a través de tinciones específicas (histoquímicas), exponiendo fuerte coloración positiva en ciertas zonas (Pratt, 1993, Smith *et al.*, 2004).

Con los resultados obtenidos en el análisis histológico de la glándula oviducal de *C. ventriosum*, se evidenció que las cuatro regiones están revestidas por epitelio cilíndrico ciliado, variando a lo largo de la glándula entre simple y pseudoestratificado, con células redondas u ovaladas, varios autores lo generalizan como epitelio cilíndrico “simple” ciliado (Smith *et al.*, 2004; Soto-López, 2014; Galíndez, 2016). Este tipo de epitelio ayuda al movimiento de embrión o cápsula ovígera, dentro de la propia glándula oviducal. Cada zona se acompaña por acinos mixtos, con una porción secretora y una conductora (ciliada); las secretoras muestran núcleo basal y las células ciliadas núcleo cerca del lumen (Smith *et al.*, 2004).



Para *C. ventriosum* no se observó transición entre la zona club y zona papillary, en cambio fue muy evidente la transición de coloración (PAS+ y Mallory) entre la zona papillary y la zona baffle, a lo que Hamlett (2005) reportó en otros elasmobranquios como “Bonding papillary lamella”, traducido como unión con la lámina papilar. Esta transición se logró observar en *C. ventriosum*, tanto en hembras con glándulas maduras como en hembras con glándulas en maduración, esto debido a que la glándula oviducal secreta con anticipación las sustancias que darán la formación a la cápsula ovígera, antes de que el óvulo fertilizado llegue al lumen de la glándula. Por lo que la zona de transición se relaciona con el estado activo reproductivo en que se encuentre el organismo.

Las secreciones producidas por la zona club y la zona papillary fueron reportadas por Smith *et al.*, (2004) como PAS+, debido a que el conjunto de estas regiones son las encargadas de producir una sustancia gelatinosa que rodea al oocito en sus primeras etapas. Produciendo así una mezcla de mucopolisacáridos y algunas proteínas. El resultado final es una capa gelatinosa muy espesa hidrodinámica en la que se mueve el óvulo (Koob & Straus 1998; Serra-Pereira *et al.*, 2011; Galíndez, 2016).

Esas secreciones son evidentes tanto hembras inmaduras como maduras, la coloración se intensifica en las hembras en ovulación o con desarrollo de cápsula ovígera. En batoideos como *Raja velezi*, se identificó una barrera celular de transición entre la zona club y la zona papillary con mayor intensidad en la primera zona, siendo PAS+, no identificada en otros batoideos (Soto-López; 2014).

Smith *et al.* (2004) reportó la presencia de ácidos sulfatados y no sulfatados en la zona baffle. Asimismo, mencionó que el material secretado tiene como función formar la capa de unión que adhiere el componente más periférico de la capa gelatinosa al interior de la cápsula ovígera, lo que ayuda a evitar movimientos bruscos del óvulo dentro de la cápsula ovígera. Serra-Pereira *et al.* (2011) y Galíndez (2016), reportan que las secreciones sirven como una envoltura ligera y lubricante que delimita entre la cápsula ovígera y el embrión. En este sentido, se asume que estas secreciones funcionan de manera similar en *C. ventriosum* debido a la reacción PAS+.

En *C. ventriosum* la zona baffle fue la que presentó mayor número de laminillas aplanadas apicalmente, alternadas con laminillas más cortas “Spinnerets”, al ser la encargada de secretar y formar la cápsula dura que encierra el huevo, similar a lo reportado para la raya *Sympterygia bonapartii* (Galíndez *et al.*, 2010), debido a que se trata de especies ovíparas y su especialización se enfoca en esta zona, a diferencia de los reportado por Musick & Ellis, (2005) en las especies vivíparas, donde pueden carecer de esta zona o estar reducida por baja función, al formar solo una ligera membrana, como en *Urobatis halleri* y *U. jamaicensis* las cuales no producen una cápsula dura.

Smith *et al.* (2004) y Galíndez (2016) mencionaron que el sistema de pliegues largos y cortos alternados sirven de guía para la extrusión y polimerización de las láminas que formaran la cápsula ovígera multilaminada. Se fusionan los productos secretores de las laminillas adyacentes y cada ranura transversal posterior añade una y otra lámina a la cápsula.

Las células de la glándula oviducal de *C. ventriosum* reflejan una variación en su composición histoquímica durante la gestación, mostrando síntesis y actividad secretora, donde se observan gránulos de vitelo en el lumen de la zona baffle, por lo que Callard *et al.* (2005) consideraron que no es fiable solo la descripción a este nivel, si no se debe, siempre acompañar de información morfológica.

La zona terminal, nombrada así por su posición, en especies ovíparas es más amplia y extensa que las otras. Se le atribuye el generar las ornamentaciones, como filamentos (tendrillos) y curvaturas (cuernos) que acompañan a la cápsula ovígera, que les sirven para facilitar que se adhieran al sustrato, ya sea arena, rocas o vegetación, además de tener la función asociada con el almacenamiento de esperma, si es que la especie cuenta con esta característica (Pratt, 1993; Hamlett *et al.*, 1998; Smith *et al.*, 2004; Hamlett, 2005; Galíndez, 2016).

Moura *et al.* (2011) describieron en todas las regiones excepto la zona terminal, un epitelio simple cilíndrico ciliado, seguido por una membrana basal y tejido conectivo.

A diferencia de las otras zonas, la zona terminal no está organizada en laminillas, sino que está revestida de pequeñas a grandes muescas (Smith *et al.*, 2004; Moura *et al.*, 2011). En esta organización se observó de manera similar, sin embargo, se logró detectar un epitelio cilíndrico ciliado, con células muy grandes ovaladas; se evidenció también, el aumento en número de túbulos secretores en hembras maduras o preñadas a diferencia de la glándula de hembras inmaduras, donde a partir de esta zona está ocupado sólo por tejido conjuntivo.

La zona terminal está compuesta de acinos mixtos dispersos con diferente tipo de secreciones (mucosos o serosos) como en *R. eglanteria* y *Callorhynchus milii* (Smith *et al.*, 2004). Galíndez *et al.* (2010), sugirieron que los acinos secretores, producen las ornamentaciones mientras que los acinos mucosos las recubren de moco.

Después de la liberación de los embriones o cápsulas ovíferas, los acinos están vacíos, aunque algunos aún demuestran la producción de secreciones con PAS+ en el epitelio. La porción inmediata adyacente del útero se dilata dramáticamente, esto, es más evidente en las especies que producen cápsulas ovíferas. Al final la zona terminal se continua con el útero (Smith *et al.*, 2004; Moura *et al.*, 2011).

### **Almacén de espermatozoides en hembras: Glándula oviducal**

Siempre que se habla del éxito reproductivo de los elasmobranquios, se pasa por alto una de las mayores razones para ser considerados exitosos, la cual es la posibilidad de almacenar espermatozoides por tiburones machos y hembras (Pratt & Tanaka, 1994).

Esta estrategia de almacenamiento, incluye algunos condriictios de varias familias: Alopiidae, Lamnidae, Carcharhinidae, Triakidae, Sphyrnidae y Callorhynchidae (Pratt, 1993; Hamlett *et al.*, 1998; Smith *et al.*, 2004). En algunas especies el espermatozoide se almacena en las glándulas oviducal (Wourms, 1977; Pratt, 1993; Pratt & Tanaka, 1994; Smith *et al.*, 2004; Hamlett, 2005; Galíndez *et al.*, 2010; Moura *et al.*, 2011). Grover (1970) observó espermatozoides almacenados en la glándula oviducal de *C. ventriosum* en poblaciones de California. Bejarano-Álvarez

(2011), reportó también este almacenamiento para la especie; sin embargo, el nivel de análisis no les permitió realizar una descripción a detalle de los tipos celulares presentes en la glándula oviducal y la forma en espiral que se evidencio en este estudio. Por lo que, este trabajo actualizó, reafirmó y amplió la estrategia reproductiva de almacenar esperma para la especie.

De acuerdo con Pratt (1993) se han descrito tres patrones de inseminación y almacenamiento de esperma en once especies de tiburones: 1) sin almacenamiento o la inseminación se da de manera inmediata (en días), como en tiburones *Lamna nasus* y *Alopias vulpinus*, 2) el almacenamiento es corto (semanas a meses), con inseminación pausada encontrada en tiburón cazón *R. terraenovae* y 3) almacenamiento a largo plazo con inseminación repetida, los cuales pueden almacenar espermatozoides durante meses o años (*P. glauca*).

El almacenamiento a largo plazo es reportado más en tiburones migratorios (Wourms, 1977; Pratt & Tanaka, 1994) como *Prionace glauca*, *Carcharhinus obscurus* y diferentes especies de tiburones de la familia Sphyrnidae como *S. lewini* (Pratt, 1993) y *S. zygaena*, este último registrado por Bejarano-Álvarez (2011). Por lo que, la estrategia de almacenar esperma asegura la fertilización de manera eficiente.

Las hembras que ovulan asincrónicamente fertilizan con éxito con esperma que se ha almacenado durante varios meses (Wourms, 1977), en este sentido, se sugiere que *C. ventriosum* presenta almacenamiento a corto plazo, de semanas a meses, debido a que la especie oviposita de manera continua a través del año, pero no se descarta un almacenamiento a largo plazo. Aunque también se debe señalar que se cuenta con el reporte para una hembra adulta de *C. ventriosum*, que fue separada de machos tres años antes, dar descendencia por partenogénesis, descartándose el almacenamiento de esperma mediante estudios genómicos (Feldheim *et al.*, 2016).

*C. ventriosum* es una especie con diversas estrategias de adaptación reproductiva, con almacenamiento de esperma, donde aprovecha cualquier oportunidad de aparearse y asegurar su descendencia y el probable uso de la partenogénesis en ausencia de machos. La presencia de la glándula oviducal provee

ventajas, a manera de estrategia reproductiva para especies tanto migratorias o con desplazamientos cortos (ejemplo: especies de aguas profundas) que presentan segregación sexual, como esta especie, aumentando así la eficiencia en la reproducción (Moura *et al.*, 2011).

En el presente estudio para *C. ventriosum* se reafirmó la posibilidad de localizar esperma tanto en zona baffle como zona terminal de la glándula oviducal, lo que sugiere que las dos zonas secretan sustancias que conservan a los espermatozoides viables.

Hamlett *et al.* (1998) reportaron que el almacenamiento de esperma en distintos elasmobranquios se presenta exclusivamente en la zona terminal, a diferencia de este estudio y otros trabajos con diversos autores que sugieren la zona terminal y la zona baffle, con capacidad de almacenar esperma (Smith *et al.*, 2004; Hamlett, 2005; Bejarano-Álvarez, 2011; Moura *et al.* 2011; Soto-López, 2014).

En este estudio el esperma se concentró en la parte central del lumen del acino, presentándose espermatozoides solitarios o en cúmulos, además se logran observar en diferentes acinos separados entre sí, similar a lo reportado por Bejarano-Álvarez (2011), en *S. lewini*, *S. zygaena* y *C. ventriosum*.

Pratt (1993) describió el almacén de espermatozoides en paquetes densos o de forma libre dentro de lo glándula oviducal. El análisis microscópico de *C. ventriosum*, indicó que la cantidad de esperma almacenado fue escaso dentro de los acinos, de 1 a 5 espermatozoides o ligeros cúmulos que impidieron contarlos, a diferencia de lo reportado para especies vivíparas, las cuales presentan densas masas que saturan el acino (Bejarano-Álvarez, 2011). Los acinos llenos de espermatozoides puede ser el resultado de inseminaciones repetidas, algo que es esencial para esta especie de tiburón, por su oviposición constante (Smith *et al.*, 2004).

En *C. ventriosum* la presencia de esperma variaba, encontrándose en acinos mucosos pequeños o largos de forma oval ubicados desde la periferia de la glándula hasta cercanos al lumen, pero siempre con presencia de abundantes células ciliadas,

se mantienen dispuestos alrededor del lumen del acino, similar a lo observado en una raya (Soto-López, 2014), con la misma ubicación de almacén de esperma, desde la periferia, hasta el centro (lumen) de la glándula oviducal, a partir de la zona terminal, a diferencia de lo observado por Bejarano-Álvarez (2011), donde encontró los espermatozoides sólo en la parte inferior de la glándula oviducal, en una glándula que microscópicamente forma una “S” en su interior.

Para este estudio, en *C. ventriosum*, independientemente si se trata de la zona baffle o la zona terminal, los acinos con abundantes cilios elaboran una matriz en el lumen que ayuda con el almacenamiento, el transporte, conservación y nutrición de los espermatozoides dentro de la glándula oviducal hasta el momento de ser utilizados para la fertilización (Hamlett *et al.*, 2002; Soto-López, 2014).

### **Almacén de esperma en machos**

Después de la espermiación (proceso fisiológico de liberación de los espermatozoides a la luz tubular) los espermatozoides se observan libres en el epidídimo (Girard *et al.*, 2000), y conductos deferentes. En *C. ventriosum* y otros elasmobranquios la presencia de esperma a nivel de esta zona fue viable (Galíndez, 2016). El almacenamiento de espermatozoides se observa hasta la vesícula seminal, donde puede permanecer varias semanas o más, antes de que exista cópula (Pratt & Tanaka, 1994). Los espermatozoides se pueden observar en dos diferentes agregados en la vesícula seminal: espermatozeugmata o espermatóforos (Pratt & Tanaka, 1994; Moura *et al.*, 2011).

López (1944) reportó que, en los elasmobranquios machos, el riñón anterior (mesonefros) en el estado adulto es una glándula anexa al aparato genital (glándula de Leydig). La función renal en el estado adulto la cumple solamente el riñón posterior.

En el epidídimo y glándula de Leydig de *C. ventriosum* los espermatozoides se observan de manera libre. Se comienzan a observar indicios de agrupamiento posterior al epidídimo, en el conducto deferente, similar a lo observado para *Centroscymnus coelolepis* (Moura *et al.*, 2011) y *Raja velezi* (Soto-López, 2014).

La glándula de Leydig es una región modificada del riñón, que desemboca al conducto deferente (Wourms,1977). La función de esta glándula consiste en secretar la mayor parte del líquido seminal; una matriz que ayuda en agrupar a los espermatozoides (espermatózeugmata o espermátóforos) y colabora con el desarrollo de la motilidad espermática (Wourms, 1977; Hamlett, 2005; Galíndez, 2016).

En *C. ventriosum* el epidídimo y la glándula de Leydig están delimitados por un epitelio pseudoestratificado ciliado, difiere a lo reportado para otros elasmobranquios como el tiburón *Centroscymnus coelolepis* (Moura *et al.*, 2011) y la raya *Raja velezi* (Soto-López, 2014) los cuales presentan epitelio cilíndrico ciliado.

En el lumen, junto a la matriz seminal de los conductos de *C. ventriosum*, se observan vesículas secretoras, las cuales según Hamlett (1999) y Engel & Callard (2005), se tratan de residuos de las células de Sertoli (residuos citoplasmáticos); sugieren tienen una implicación en la maduración final de los espermatozoides. Presentan una reacción a PAS+ y Eosina. Hamlett (2005) reportó para el género *Squalus* que estos residuos son ricos en lisina, cisteína y triptófano. Se reportó otras estructuras ligadas a la membrana de Sertoli que contenían mitocondrias, ribosomas, lípidos y retículo endoplásmico (Hamlett, 1999). Se recomienda ampliar los estudios para *C. ventriosum* para examinar si estas vesículas secretoras son similares a las descritas para los otros elasmobranquios y mantiene la misma función.

El conducto de *C. ventriosum* se engrosa posterior al epidídimo, continúa el conducto deferente. Mostró un epitelio pseudoestratificado ciliado con espermatozoides en el lumen mayormente acomodados en pequeños grupos alineados. El epidídimo de *Centroscymnus coelolepis* lo reportan como epitelio simple cilíndrico ciliado, con esperma individual, en ocasiones se observan pequeñas agrupaciones alineadas de manera simple (Moura *et al.*, 2011).

En el lumen de *C. ventriosum* las inclusiones de lípidos, además de las vesículas secretoras, contribuyen a la matriz seminal, nutren los agrupamientos de espermatozoides que darán origen al particular almacenamiento de cada especie, ya sea espermatózeugmata o espermátóforos. La fuente principal de esta ayuda

secretora proviene de la glándula de Leydig y del epidídimo (Pratt & Tanaka, 1994; Hamlett, 2005; Soto-López, 2014).

En el presente estudio no se obtuvieron muestras de vesícula seminal, por lo que no se puede establecer el tipo de agrupamiento final que presentan los espermatozoides almacenados, sin embargo, se sugiere el tipo espermatozeugmata, debido a que se observa en la parte posterior del conducto deferente espermias no encapsulados por matriz mucosa, es decir con espermatozoides desnudos unidos solo por las cabezas, similar para *S. acanthias*, con esperma empaquetado (Moura *et al.*, 2011) y observado en otras elasmobranchios ovíparos (Hamlett, 2005).

Asimismo, se observaron testículos y conductos con presencia de espermatozoides en todos los ejemplares analizados, por lo que el gonopterigio fue el indicador principal para considerar un organismo maduro o inmaduro, seguido por la cantidad de espermatozoides almacenados. Se sugiere que para determinar la madurez sexual en machos de *C. ventriosum* deben ser consideradas, tanto las características macroscópicas del gonopterigio como la presencia de agregados espermáticos en los testículos y conductos, así como la relación que guarda el tamaño del organismo y el tamaño del órgano copulador (Pratt & Tanaka, 1994).



## CONCLUSIÓN

La investigación realizada en *C. ventriosum* aporta información precisa de la actividad reproductiva de la especie en la zona de estudio. Debido a que las hembras presentaron tallas mayores y una dominancia en proporción con respecto de los machos, se sugiere un dimorfismo sexual por tamaño y una posible segregación sexual en el área. Se confirma que esta especie es ovípara, con un ovario funcional y en el caso de los machos el sistema reproductor es pareado con ambos testículos funcionales. Se obtuvo por vez primera la  $L_{50}$  para ambos sexos, para lo cual fue necesario integrar los estudios macroscópicos e histológicos, con el fin de observar indicadores más precisos. El desarrollo folicular es asincrónico y se distinguen cuatro fases de la ovogénesis. Las hembras de esta especie almacenan esperma en la glándula oviducal, únicamente en dos de las cuatro zonas secretoras que presenta (zona baffle y zona terminal). Los testículos se caracterizan por su desarrollo diamétrico y dado que, tanto en los organismos inmaduros como los maduros están presentes todas las etapas de la espermatogénesis, se concluyó que es necesario llevar a cabo análisis histológicos más detallados de la dinámica de la espermatogénesis en conjunto con el proceso de maduración y rotación del gonopterigio, indicador macroscópico de la madurez sexual.

Al haber realizado un análisis macroscópico e histológico del sistema reproductor de machos y hembras de *C. ventriosum* se obtuvo información precisa de las estructuras que lo componen, generando un conocimiento certero del proceso de maduración. Con lo que se demuestra la importancia de implementar el análisis microscópico a manera de avalar los resultados morfocromáticos, empleados generalmente en el manejo de las pesquerías.

## RECOMENDACIONES

- ◆ Realizar muestreos de esta especie hacia zonas más oceánicas, con la finalidad de corroborar la segregación sexual y buscar a los machos.
- ◆ Realizar estudios de captura y liberación de neonatos de *C. ventriosum* en el área de pesca, acompañados de estudios sobre las características geográficas y ambientales, con el fin de confirmar la posible zona de área de crianza y reproducción.
- ◆ Realizar estudios de genética de poblaciones, con el fin de determinar si es una o dos poblaciones las que se encuentran en la zona del Pacífico.
- ◆ Implementar un muestreo donde se obtenga todo el intervalo de tallas que presenta la especie, con el fin de observar el proceso de maduración en etapas tempranas de la ontogenia.
- ◆ Se sugiere integrar un estudio microscopio del proceso de maduración del testículo y gonopterigio en conjunto con los cambios morfocromáticos de ambas estructuras.

## LITERATURA CITADA

- ◆ Álvarez del Villar, J. 1978. Los Cordados. Origen, evolución y hábitos de los vertebrados. México. CECSA., 372 pp.
- ◆ Andreuccetti, P., M. Iodice, M. Prisco & R. Gualtieri. 1999. Intercellular bridges between granulosa cells and the oocyte in the elasmobranch *Raya asterias*. *Anat. Rec.*, 255:180–187.
- ◆ Awruch, C. A., N. W. Pankhurst, S. D. Frusher & J. D. Stevens. 2008. Endocrine and Morphological Correlates of Reproduction in the Draughtboard Shark *Cephaloscyllium laticeps* (Elasmobranchii: Scyliorhinidae). *J. Exp. Zool.*, 309A: 184-197.
- ◆ Babin, J. P., J. Cerda & E. Lubzens. 2007. The Fish Oocyte from Basic Studies to Biotechnological Applications. *Springer*.
- ◆ Bass, A. J. 1978. Problems in studies of sharks in the southwest Indian Ocean. *En: Hodgson, E. S. & R. F. Mathewson (Ed). Sensory Biology of Sharks, Skates and Rays, ONR, Department of the Navy. 545-594.*
- ◆ Bejarano-Álvarez M. 2007. Biología reproductiva del tiburón martillo *Sphyrna lewini* (Griffith y Smith, 1834) en Salina Cruz, Oaxaca, México. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S. México. 74 pp.
- ◆ Bejarano-Álvarez O. M. 2011. Morfología funcional de los modos reproductivos en Elasmobranquios del Pacífico mexicano. Tesis Doctoral. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S. México. 160 pp.
- ◆ Callard, I. P., J. St. George & T. J. Koob. 2005. Endocrine control of the female reproductive tract. *En: Hamlett, W. C. (Ed). Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, Batoids, and Chimaeras. Science Publishers, Inc. 3: 283-300 pp.*
- ◆ Capapé, C., A. A. Seck, Y. Diatta & M. Diop. 2001. Observations on the reproductive biology of *Torpedo (Tetronarce) mackayana* (Torpedinidae), from the coast of Senegal (Eastern Tropical Atlantic). *Cybium.*, 25: 95-99.
- ◆ Capapé, C., M. N. Bradaï, A. A. Seck, Y. Diata, J. A. Tomasini & J. P. Quignard. 2001. Aspects of the reproductive biology of the velvet belly, *Etmopterus spinax*

(Elasmobranchii: Squalidae). *Bull. Inst. Natn. Scien. Tech. Mer. De Salammbô*, 28: 55-63.

- ◆ 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.
- ◆ Carrera-Fernández, M., F. Galván-Magaña & B. P. Ceballos-Vázquez. 2010. Reproductive biology of the blue shark *Prionace glauca* (Chondrichthyes: Carcharhinidae) off Baja California Sur, México. *Aqua Int. J. of Ichthyol.* 16(3):101-110.
- ◆ Casey, J. G. & N. E. Kohler. 1992. Tagging studies on the shortfin mako shark (*Isurus oxyrinchus*) in the western North Atlantic. *Aust J Marine Freshwater Res.*, 43(1): 45-60.
- ◆ Castro, J. I. 2011. *Cephaloscyllium ventriosum*. The Sharks of North America. United States of America. *OUP*, 318-320 pp.
- ◆ Clark, E. & J. E. Randall. 2011. *Cephaloscyllium stevensi*: a new species of swellshark (Carcharhiniformes: Scyliorhinidae) from Papua New Guinea. *Aqua.*, 17(1): 23-34.
- ◆ Clark, E. & K. Von Schmidt. 1965. Sharks of the Central Gulf Coast of Florida. *Bull. Mar. Sci.*, 15: 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(4/2): 251-655.
- ◆ Compagno, L. J. V. 1999. Systematics and Body form. *En: Hamlett, W. C. (Ed). Sharks, skates and rays the biology of elasmobranch fishes. JHU Press.*, 1-42.
- ◆ Conover, D. O. 1990. The relations between capacity for growth and length of growing season: Evidence for and implications of countergradient variation. *Tans. Am. Fish. Soc.*, 119: 416-430.
- ◆ Curtis, H., N. Barnes, A. Schnek & A. Massarini. 2008. Curtis Biología. (7a Ed). Buenos Aires: Editorial Médica Panamericana.

- ◆ Díaz-Andrade, M. C., E. J. Galíndez, A. López-Cazorla & S. Estecondo. 2011. Ovarian Folliculogenesis in the Smallnose Fanskate *Sympterygia bonapartii* (Müller & Henle, 1841) (Chondrichthyes, Rajidae). *Int. J. Morphol.*, 29: 174-181.
- ◆ Dood, J. M. 1983. Reproduction in cartilaginous fishes (Chondrichthyes). *En: Fish Physiology*. Hoar, W.S., D. J. Randall & E. M. Donaldson (Ed). *Acad Press, Inc.*, 9A: 31- 95.
- ◆ Ebert, D. A. & K. E. Van Hees. 2015. Beyond Jaws: rediscovering the 'lost sharks' of southern Africa. *Afr. J. Mar. Sci.*, 37: 141–156.
- ◆ Engel, K. B. & G. V. Callard. 2005. The Testis and Spermatogenesis. *En: Hamlett, W. C. (Ed). Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, Batoids, and Chimaeras. Science Publishers, Inc.*, 3: 171- 200 pp.
- ◆ Feldheim, K. A., A. Clews, A. Henningsen, L. Todorov, C. Mcdermott, M. Meyers, J. Bradley, A. Pulver, E. Anderson & A. Marshall. 2016. Multiple births by a captive swellshark *Cephaloscyllium ventriosum* via facultative parthenogenesis. *J. Fish Biol.*, 90: 1047-1053 pp. DOI: 10.1111/jfb.13202
- ◆ Fields, A. T., K. A. Feldheim, G. R. Poulakis & D. D. Chapman. 2015. Facultative parthenogenesis in a critically endangered wild vertebrate. *Curr. Biol.*, 25: 439-447.
- ◆ Flammang, B. E., D. A. Ebert & G. M. Cailliet. 2008. Reproductive biology of deep-sea catsharks (Chondrichthyes: Scyliorhinidae) in the eastern North Pacific. *Environ. Biol. Fish.*, 81: 35-49.
- ◆ Francis, M. P. & J. T. Mace. 1980. Reproductive biology of *Mustelus lenticulatus* from Kaikoura and Nelson. *N. Z. J. Mar. Freshwater Res.*, 14(3): 303-311.
- ◆ Galíndez, E. J. 2016. Reproducción de peces cartilagosos. Una revisión de algunas adaptaciones reproductivas. *Cs. Morfol.*, 18(1): 20-33.
- ◆ Galíndez, E. J., M. C. Díaz-Andrade, M. S. Avaca & S. Estecondo. 2010. Morphological study of the oviducal gland in the smallnose fanskate *Sympterygia bonapartii* (Müller and Henle, 1841) (Chondrichthyes, Rajidae). *Braz. J. Biol.*, 70(2): 325-333.

- ◆ 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): 49-5.
- ◆ Galván-Tirado, C. 2007. Biología reproductiva del tiburón Aleta de cartón *Carcharhinus falciformis*, capturado en el Golfo de Tehuantepec. Tesis de Maestría. UNAM. 57 pp.
- ◆ Garman, S. 1880. New species of selachians in the museum collection. *Bull. Mus. Comp. Zool.*, 6(11): 167-172.
- ◆ Gatica, C. & E. Acuña. 2011. Biología reproductiva de los tiburones de profundidad *Aculeola nigra* De Buen, 1959, y *Centroscyllium nigrum* Garman, 1899 (Chondrichthyes: Etmopteridae), centro-norte de Chile. *Gayana.*, 75: 1-16.
- ◆ Girard, M., P. Rivalan & G. Siquin. 2000. Testis and sperm morphology in two Deep-water squaloid sharks, *Centroscymnus coelolepis* y *Centrophorus squamosus*. *J. Fish. Biol.*, 57: 1575-1589.
- ◆ Grover, C. A. 1970. The egg-cases of the swell shark, *Cephaloscyllium ventriosum*: Formation, Function, and Population Differences. Thesis of Master of Science. UBC. Canada. 68 pp.
- ◆ Grover, C. A. 1972. Population differences in the swell shark *Cephaloscyllium ventriosum*. *CDFG.*, 58(3): 191–197.
- ◆ Grover, C. A. 1974. Juvenile denticles of the swell shark *Cephaloscyllium ventriosum*: function in hatching. *Can. J. Zool.*, 52(3): 359-363.
- ◆ Guzmán-Del Prío, 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 (*Haliothis spp.* mollusca: gastropoda) en Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. *An. Esc. nac. Cienc. biol.*, 36: 27-59.
- ◆ Hamlett, W. C. 1999. Male reproductive system. *En*: Hamlett, W.C. (Ed). Sharks, skates and rays the biology of elasmobranch fishes. *JHU Press.*, 444-469 pp.
- ◆ Hamlett, W. C. 2005. Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, Batoids and Chimaeras. 3ª Ed. Plymouth, UK. *Science Publishers, Inc.*, 575 pp.

- ◆ Hamlett, W. C., D. P. Knight, T. 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: 399-420.
- ◆ Hamlett, W. C., L. Fishelson, A. Baranes, C. K. Hysell & D. M. Sever. 2002. Ultrastructural analysis of sperm storage and morphology of the oviducal gland in the Oman shark, *Iago omanensis* (Triakidae). *Mar. Freshwater Res.*, 53: 601-613.
- ◆ Hamlett, W. C., M. K. Hysell, M. Jezior, T. Rozycki, N. Brunette & K. Tumilty. 1999. Fundamental zonation in elasmobranchs oviducal glands. *Soc. Fr. Ichtyol.*, 271-280.
- ◆ Hamlett, W. C. & T. Koob. 1999. Female reproductive system. *En: Hamlett, W. C. (Ed). Sharks, skates and rays the biology of elasmobranch fishes. JHU Press.* 398-443 pp.
- ◆ Harahush, B. K., A. B. P. Fischer & S. P. Collin. 2007. Captive breeding and embryonic development of *Chiloscyllium punctatum* Muller & Henle, 1838 (Elasmobranchii: Hemiscyllidae). *J. Fish. Biol.*, 71: 1007-1022.
- ◆ 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. *En: 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.*, 65- 85 pp.
- ◆ Hobson, A. D. 1930. A note on the Formation of the Egg Case of the Skate. *JMBA.*, 16: 577-581.
- ◆ Honma, Y., K. Okabe & A. Chiba. 1984. Comparative histology of the Leydig and epigonal organs in some elasmobranchs. *Japan. J. Ichthyol.*, 31: 47-54.
- ◆ Houillon, C. 1978. Sexualidad. Tercera Edición. Ediciones Omega S.A.
- ◆ Hoyos-Padilla, E. M. 2003. Biología reproductiva del tiburón piloto *Carcharhinus falciformis* (Bibron, 1839) de Baja California Sur. Tesis de Maestría. CICIMAR-IPN. La Paz, B.C.S. México. 58 pp.
- ◆ Human, B. A., E. P. Owen, L. J. V. Compagno & E. H. Harley. 2006. Testing morphologically based phylogenetic theories within the castilaginous fishes with

molecular data, with special reference to the catshark family (Chondrichthyes; Scyliorhinidae) and the interrelationships within them. *Mol. Phylogenet Evol.*, 39: 384-391.

- ◆ Humason, I. G. 1979. *Animal Tissue Technique*. 4<sup>a</sup>. Ed. San Francisco: H. W. Freeman and Company. U.S.A. 661 p.
- ◆ Inoue, S. & K. Nakaya. 2006. *Cephaloscyllium parvum* (Chondrichthyes: Carcharhiniformes: Scyliorhinidae), a new swell shark from the South China Sea. *Species Diversity.*, 11: 77-92.
- ◆ Juaristi-Videgaray, D. 2016. Biología reproductiva del pez guitarra *Pseudobatos productus* (Ayres, 1856), en Bahía Tortugas, Baja California Sur, México. Tesis de Maestría. CICIMAR- IPN. La Paz, B.C.S. México. 54 pp.
- ◆ Klimley, A. P. 1987. The determinants of sexual segregation in the Scalloped Hammerhead shark, *Sphyrna lewini*. *Environ. Biol. Fish.*, 18(1): 27-40.
- ◆ Koob, T. J. & I. P. Callard 1999. Reproductive Endocrinology of Female Elasmobranchs: Lessons from the Little Skate (*Raja erinacea*) and Spiny Dogfish (*Squalus acanthias*). *J. Exp. Zool.*, 284: 557-574.
- ◆ Koob T. J. & J. W. Strauss. 1998. On the role of egg jelly in *Leucoraja erinacea*. *Bull Moun Desr Isd Biol Lab.*, 37:117-119.
- ◆ 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.
- ◆ Lombardi-Carlson, L. A., E. Cortés, G. R. Parsons & C. A. Manire. 2003. Latitudinal variation in life-history traits of bonnethead sharks, *Sphyrna tiburo*, (Carcharhiniformes: Sphyrnidae) from the eastern Gulf of Mexico. *Mar. Freshwater. Res.*, 54: 875-883.
- ◆ López, R. B. 1944. Anatomía e histología comparadas de riñón en los elasmobranquios argentinos. Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 73 pp.
- ◆ Lutton, B. V., J. St. George, C. R. Murrin, L. A. Fileti & I. P. Callard. 2005. The Elasmobranch Ovary. *En: Hamlett, W. C. (Ed). Reproductive Biology and*



Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, Batoids, and Chimaeras. *Science Publishers Inc.*, 3: 237-281.

- ◆ 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.
- ◆ Mendizábal-Oriza, D. 1995. Biología Reproductiva, Crecimiento, Mortalidad y Diagnostico de *Alopias vulpinus* (Tiburón zorro) y *Carcharhinus limbatus* (Tiburón volador); de la Boca del Golfo de California de Tehuantepec, Periodo 1986-1987. Tesis de Maestría. UNAM. Distrito Federal. México. 125 pp.
- ◆ Mollet, H., J. Cliff, Jr. H. Pratt & 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.
- ◆ Moura, T., B. Serra-Pereira, L. S. Gordo & I. Figueiredo. 2011. Sperm storage in male and females of the deepwater shark Portuguese dogfish with notes on oviducal gland microscopic organization. *J. Zool.* 283(3): 210-219.
- ◆ Muñoz-Chápuli, R. 1984. Ethologie de la reproduction chez quelques requins de L'Atlantique Nord-Est. *Cybiurn.*, 8(3): 1-14.
- ◆ Musick, J. A. & J. K. Ellis. 2005. Reproductive evolution of chondrichthyans. *En: Hamlett, W. C. (Ed). Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, Batoids, and Chimaeras. Science Publishers, Inc. 3: 45-79.*
- ◆ Nakaya, K. 1975. Taxonomy, comparative anatomy and phylogeny of Japanese catsharks, Scyliorhinidae. *Mem. Fac. Fish.*, Hokkaido Univ., 23: 1-94.
- ◆ Nakaya, K., S. Inoue & H. Ho. 2013. A review of the genus *Cephaloscyllium* (Chondrichthyes: Carcharhiniformes: Scyliorhinidae) from Taiwanese waters. *Zootaxa.*, 3752 (1): 101-129.
- ◆ Nelson, D. R. & R. H. Johnson. 1970. Diel activity rhythms in the Nocturnal, bottom-dwelling sharks, *Heterodontus francisci* and *Cephaloscyllium ventriosum*. *Copeia.*, 4: 732-739.
- ◆ Parsons, G. R. 1993. Geographic variation in reproduction between two populations of the bonnethead shark, *Sphyrna tiburo*. *Environ. Biol. Fishes.*, 38: 25-35.

- ◆ Parsons, G. R. & H. J. Grier. 1992. Seasonal Changes in Shark Testicular Structure and Spermatogenesis. *J. Exp. Zool.*, 261: 173-184.
- ◆ Powter, D. M. & W. Gladstone. 2008. The reproductive biology and ecology of the Port Jackson shark *Heterodontus portusjacksoni* in the coastal waters of eastern Australia. *J. Fish Biol.*, 72: 2615-2633.
- ◆ Pratt, L. H. 1979. Reproduction in the blue shark, *Prionace glauca*. *Fish.Bull.*, 77(2): 445-470.
- ◆ Pratt, Jr. H. L. 1988. Elasmobranch gonad structure: a descriptive survey. *Copeia.*, 3: 719-729.
- ◆ Pratt, Jr. H. L. 1993. The storage of spermatozoa in the oviducal glands of western North Atlantic sharks. *Environ. Biol. Fishes.*, 38: 139-149.
- ◆ Pratt, H. L. & T. Otake. 1990. Recommendations for work needed to increase our knowledge of reproduction relative to Fishery management. *En: Elasmobranchs as Living Resources: Advances in the biology, ecology, systematics, and the status of the fisheries*. NOAA Tech. Rep. NMFS 90. 509-510.
- ◆ Pratt, H. L. & S. Tanaka. 1994. Sperm Storage in Male Elasmobranch: A Description and Survey. *J. Morphol.*, 219: 297-308.
- ◆ Pratt, H. L. Jr. & J. C. Carrier. 2005. Elasmobranch Courtship and Mating Behavior. *En: Hamlett, W. C. (Ed). Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, Batoids and Chimaeras*. Science Publishers, Inc. 3: 129-169.
- ◆ Prisco, M., A. L. Ricchiari & P. Andreuccetti. 2002. Ultrastructural studies on developing follicles of the spotted ray *Torpedo marmorata*. *Mol. Reprod. Dev.*, 61: 78-86.
- ◆ Reardon, M. B., T. L. Walker & W. C. Hamlett. 2002. Microanatomy of spermatophore formation and male genital ducts in the holocephalan, *Callorhynchus milii*. *Mar. Fresh. Res.*, 53: 591-600.
- ◆ Salomón-Aguilar, C. A., C. J. Villavicencio-Garayzar & H. Reyes-Bonilla. 2009. Zonas y temporadas de reproducción y crianza de tiburones en el Golfo de

California: Estrategia para su conservación y manejo pesquero. *Cienc. Mar.*, 35(4): 369-388.

- ◆ Schaaf-Da Silva, J. A. & D. A. Ebert. 2008a. A revision of the western North Pacific swellsharks, genus *Cephaloscyllium* Gill 1862 (Chondrichthyes: Carcharhiniformes: Scyliorhinidae), including descriptions of two new species. *Zootaxa.*, 1872: 1-28.
- ◆ Schaaf-Da Silva, J. A. & D. A. Ebert. 2008b. A redescription of the eastern Pacific swellshark, *Cephaloscyllium ventriosum* (Garman 1880) (Chondrichthyes: Carcharhiniformes: Scyliorhinidae), with comments on the status of *C. uter* (Jordan y Gilbert 1896). *Zootaxa.*, 1872: 59-68.
- ◆ Serra-Pereira, B., I. Figueiredo & L. S. Gordo. 2011. Maturation of the Gonads and Reproductive Tracts of the Thornback Ray *Raja clavata*, with Comments on the Development of a Standardized Reproductive Terminology for Oviparous Elasmobranchs. *Mar. Coast. Fish.*, 3(1):160-175.
- ◆ Smith, R. M., T. I. Walker & W. C. Hamlett. 2004. Microscopic organisation of the oviducal gland of the holocephalan elephant fish, *Callorhynchus mili*. *Mar. Freshwater Res.*, 55: 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. Distrito Federal. México. 100 pp.
- ◆ Springer, S. 1967. Social organization of shark populations. *En*: Gilbert, P. W., R. F. Mathewson & D. P. Rall (Ed). *Sharks, Skates and Rays. JHU Press.*, 149-174.
- ◆ Stergiou, K. I. 1999. Intraspecific variations in size- and age-at-maturity for red bandfish, *Cepola macrophthalma*. *Environ. Biol. Fishes.*, 54: 151-160.
- ◆ Sumpter, J. P. & J. M. Dodd. 1979. The annual reproductive cycle of the female lesser spotted dogfish, *Scyliorhinus canicular* L., and its endocrine control. *J Fish Biol.*, 15: 687-695.
- ◆ Taniuchi, T. 1988. Aspects of Reproduction and Food Habits of the Japanese Swellshark *Cephaloscyllium umbratile* from Choshi, Japan. *NIPPON SUISAN GAKK.*, 54(4): 627-633.

- ◆ Teshima, K., H. Yoshimura & K. Mizue. 1971. Studies on the Sharks—II on the Reproduction of Japanese Dogfish *Mustelus manazo* Bleeker. *Bull. Fac. Fish.*, Nagasaki Univ. 32: 41-50.
- ◆ 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. Manuscrito sin publicar. CICIMAR-IPN. 56 pp.
- ◆ 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. *S. Afr. J. mar.*, 21: 165-179.
- ◆ Weigmann, S. 2016. Annotated checklist of the living sharks, batoids and chimaeras (Chondrichthyes) of the world, with a focus on biogeographical diversity. *J. Fish. Biol.*, 88: 837-1037.
- ◆ Wourms, J. P. 1977. Reproduction and development in chondrichthyan fishes. *Amer. Zool.*, 17: 379-410.
- ◆ Wourms, J. P. 1981. Viviparity: The Maternal-Fetal Relationship in Fishes. *Amer. Zool.*, 21: 473-515.
- ◆ Wourms, J. P. & L. S. Demski. 1993. The reproduction and development of sharks, skates, rays and ratfishes: introduction, history, overview, and futures prospects. *Environ. Biol. Fishes.*, 38: 7-21.

**Anexo 1. Adaptación de los tiempos para la deshidratación de las sub-muestras de *C. ventriosum*. Técnica Histológica:**

<b>Sustancia</b>	<b>Tamaño de muestra ½ a 1 cm</b>	<b>Tamaño de muestra 2 cm</b>	<b>Tamaño de muestra 3 a 5 cm</b>
Alcohol 70°	60 minutos	90 minutos	180 minutos
Alcohol 80°	60 minutos	90 minutos	180 minutos
Alcohol 96°	60 minutos	90 minutos	180 minutos
Alcohol 96	60 minutos	90 minutos	180 minutos
Alcohol 96	60 minutos	90 minutos	180 minutos
Alcohol 100°	60 minutos	90 minutos	180 minutos
Alcohol 100°	60 minutos	90 minutos	180 minutos
Alcohol 100°	60 minutos	90 minutos	180 minutos
Alcohol- Cloroformo 1:1	15 minutos	15 minutos	30 minutos
Cloroformo	7 minutos	7 minutos	20 minutos
Cloroformo- Parafina 1:1	30 minutos	30 minutos	50 minutos
Parafina 1	120 minutos	120 minutos	150 minutos
Parafina 2	120 minutos	120 minutos	180 minutos
Inclusión en parafina	indefinido	indefinido	indefinido