

**Centro de Investigación Científica y de Educación  
Superior de Ensenada, Baja California**



---

**Maestría en Ciencias en Ecología Marina**

---

**Biología reproductiva de tiburón perro *Heterodontus francisci*  
en la laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur, México**

Tesis  
para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de  
Maestro en Ciencias

Presenta:

**Cynthia María Castellanos Vidal**

Ensenada, Baja California, México  
2017

Tesis defendida por  
**Cynthia María Castellanos Vidal**

y aprobada por el siguiente Comité

---

**Dr. Oscar Sosa Nishizaki**  
Director de tesis

**Dr. Axayácatl Rocha Olivares**

**M. en C. María del Carmen Rodríguez Medrano**

**Dr. Benjamín Barón Sevilla**



---

**Dra. María Lucila del Carmen Lares Reyes**  
Coordinador del Posgrado en Ecología Marina

---

**Dra. Rufina Hernández Martínez**  
Directora de Estudios de Posgrado

*Cynthia María Castellanos Vidal © 2017*

*Queda prohibida la reproducción parcial o total de esta obra sin el permiso formal y explícito del autor y director de la tesis.*

Resumen de la tesis que presenta **Cynthia María Castellanos Vidal** como requisito parcial para la obtención del grado de Maestro en Ciencias en Ecología Marina.

**Biología reproductiva de tiburón perro *Heterodontus francisci* en la laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur, México**

Resumen aprobado por:

---

Dr. Oscar Sosa Nishizaki  
**Director de tesis**

Los elasmobranquios son particularmente vulnerables a la sobreexplotación debido a que presentan una estrategia de vida tipo K. En la laguna Ojo de Liebre (LOL), *Heterodontus francisci* es la segunda especie más importante en las capturas de elasmobranquios y su pesca se encuentra regulada por un periodo de veda de mayo a julio. El objetivo de este trabajo fue caracterizar el ciclo reproductivo de *H. francisci* para evaluar si el periodo de veda coincide con el periodo de desove, así como también relacionar el ciclo reproductivo con la temperatura del agua y el periodo de surgencias. Se realizaron muestreos mensuales desde agosto de 2016 hasta julio de 2017 en la pesca artesanal de tiburones en el campo pesquero ubicado en LOL. Se registró la captura de 425 machos y 428 hembras. Las hembras alcanzaron una longitud máxima, peso y longitud de primera madurez sexual ( $L_{50}$ ) mayor que los machos. La fecundidad ovárica se determinó por el conteo del número de ovocitos preovulatorios ( $\varnothing > 25$  mm). Las hembras presentaron entre 3 y 22 ovocitos preovulatorios (promedio= 14.4) y se encontró una relación significativa entre la fecundidad ovárica y el tamaño de las hembras. Se observaron cápsulas de huevos en formación en las glándulas oviducales aún sin el óvulo, sugiriendo que la formación de la cápsula del huevo ocurre antes de la ovulación. Las marcas de apareamiento y el índice gonadosomático de los machos sugieren que el periodo de apareamiento abarca aproximadamente nueve meses, de septiembre a mayo. Por lo que el apareamiento puede ocurrir antes de la ovulación, lo que sugiere un periodo de almacenamiento de esperma. Sin embargo, con base de cortes histológicos de las glándulas oviducales de las hembras, no se encontró evidencia de almacenamiento de esperma a largo plazo como ocurre en especies pelágicas. Los resultados sugieren que el periodo de desove abarca al menos cinco meses iniciando en febrero, a finales de invierno y concluyendo en junio, a principios de verano, abarcando los meses en donde la temperatura en LOL se está incrementando. El periodo de desove también concuerda parcialmente con el periodo de surgencias más intensas en Bahía Sebastián Vizcaíno y con el periodo de veda, por lo que las hembras que se encuentran desovando están protegidas.

**Palabras clave:** Elasmobranquios, ciclo reproductivo, veda, temperatura, surgencias.

Abstract of the thesis presented by **Cynthia María Castellanos Vidal** as a partial requirement to obtain the Master of Science degree in Marine Ecology

**Reproductive biology of horn shark *Heterodontus francisci* in the Ojo de Liebre lagoon, Baja California Sur, México**

Abstract approved by:

---

Dr. Oscar Sosa Nishizaki  
**Thesis Director**

Elasmobranchs are particularly vulnerable to over-exploitation due to their K life-history strategy. In the Ojo de Liebre lagoon, *Heterodontus francisci* is the second most important species in the elasmobranch catches. Its fishing is regulated by a fishery close season during the May to July period. The objective of this work was to describe the reproductive cycle of *H. francisci* and to evaluate the relationship between the fishery close season with the spawning period, as well as also to relate the reproductive cycle to the variation of sea temperature and upwelling period. Monthly samplings were carried out from August, 2016 to July, 2017 at the artisanal sharks fishing camp located in the lagoon. A total of 425 males and 428 females were analyzed. Females had a maximum length, maximum weight and length at first sexual maturity ( $L_{50}$ ) larger than males. Ovarian fecundity was determined by counting the number of preovulatory oocytes ( $\emptyset > 25$  mm). Females presented between 3 and 22 preovulatory oocytes (average = 14.4) and a significant relationship was between the ovarian fecundity and the size of the females. Forming eggs capsules were observed in the oviducal glands without the ovum, suggesting that the formation of egg capsules of the egg happens before the ovulation. Reproduction biting marks on females and males gonadosomatic index values suggest that the mating period occurs during approximately nine months, from September to May. These results suggest that mating happens before the ovulation period, suggesting storage of sperm. However, no evidence of sperm storage in the oviducal glands were found by a histological analysis, as has been shown for pelagic shark species. The spawning period proposes here happens during at least five months, beginning at the end of winter in February, concluding in June at the beginning of summer. This period includes the months when the temperature in the Ojo de Liebre lagoon increases. Also the spawning period occurs during the more intense upwelling period in Bahía Sebastián Vizcaíno, and when the fishery is close in May and June. Therefore, spawning females are able to avoid to be caught during these months.

**Keywords:** Elasmobranchs, reproductive cycle, fishery close season, temperature, upwellings.

## Dedicatoria

A mi familia

## Agradecimientos

Al CONACyT por el apoyo económico otorgado con la beca de maestría No. 587234.

Al CICESE por darme la oportunidad de realizar una parte de mi formación profesional en esta institución. Gracias a todos los profesores e investigadores del Posgrado en Ecología Marina por sus enseñanzas.

A quienes otorgaron el financiamiento para la realización de este investigación: CICESE con el proyecto “Análisis de las pesquerías de elasmobranchios de la costa oeste de Baja California”, Monterey Bay Aquarium, Fundación Carlos Slim, Alianza WWF-Fundación Carlos Slim y Pelagios Kakunjá, A.C. por la coordinación general del proyecto.

A la Exportadora de Sal S.A. de C.V., en Guerrero Negro, por el otorgamiento de los permisos que hicieron posible el acceso al área de estudio durante la realización de este trabajo, así como también por permitirnos consultar la base de datos con los parámetros fisicoquímicos de la laguna Ojo de Liebre.

A CONAPESCA por la emisión del permiso de pesca de fomento No. PPF/DGOPA-254/16 que nos permitió realizar muestreos científicos durante la temporada de veda.

A mi director de tesis, el Dr. Oscar Sosa Nishizaki, por todo el apoyo brindado desde mi ingreso al posgrado, por sus consejos y conocimientos transmitidos tanto en el ámbito profesional como en el personal.

Al comité revisor, la M.C. María del Carmen Rodríguez Medrano, el Dr. Axayácatl Rocha Olivares y el Dr. Benjamín Barón Sevilla, agradezco los comentarios y sugerencias que ayudaron a enriquecer este trabajo. En particular, reconozco al apoyo brindado para el análisis de muestras por parte de la M.C. Rodríguez Medrano, quien compartió conmigo sus experiencias y conocimientos sobre este tema.

Al Laboratorio de Patología y Análisis Clínicos (LAPAC) por la atención y dedicación en el procesamiento de las muestras histológicas.

A toda mi familia por su apoyo y cariño incondicionales. A mis mamás, Ofelia, Clelia y Socorro, a mi hermana Lupita y a Bofó por estar siempre para mí durante mi estadía en Ensenada.

A todas las personas que nos apoyaron durante las salidas de campo: Dr. Sosa, Ricardo, Elea, Emiliano, Masao, Gina, Bofo, Abraham, Zury, Miguel “Bro”, Felipe “Papu”, Rafa, Alonso, Jordi “Master”, Miranda, Luis, Nayel, Brandon y Laura “Chester”.

A los pescadores del campo pesquero “Las Casitas” que nos brindaron su apoyo, confianza y amistad para realizar los muestreos mensualmente: Pitufu, Yeto, Rodrigo, Negro, Chema, Lupillo, Lobo, Davicho, Gera, Chuta, Ojón, Dientón, Los Sosa, María, Tone, Jiri, Ramón, Marcelino, Pedro y todos los demás que en algún momento colaboraron desinteresadamente con nosotros.

A todos mis compañeros del Laboratorio de Ecología Pesquera, así como aquellos que estuvieron por cortas temporadas y tuve el agrado de conocer: Carmen, Luz, Emi, Elea, Masao, Zury, Rafa, Oscar, Ricardo, Gina, Tere, Felipe, Alesa, Mili, Frida, Aurora, Miguel, Abraham y demás. De todos me llevo gratos recuerdos y valoró todo lo que pude aprender de cada uno.

A mis compañeros de generación: Bofo, Panchito, Gina, Gabriel, Ricardo, Chelo, Leni, Selene, Viri, Gonzalo, Ainoa, Pablo, Adán, Mariana, Aldo, José Luis, Blanca y Rafa. Fueron mi familia en Ensenada y fue un gusto haber compartido esta experiencia con ustedes.

A la Dra. Elena Solana, Panchito, Juan y Zury por su tiempo en las asesorías sobre estadística y programación.

A mis compañeros de Tabasco y Chiapas quienes siempre me recibieron con los brazos abiertos y por los buenos momentos de desestrés en vacaciones.

## Tabla de contenido

	Página
Resumen en español.....	ii
Resumen en inglés.....	iii
Dedicatorias.....	iv
Agradecimientos.....	v
Lista de figuras.....	ix
Lista de tablas.....	xi
<b>Capítulo 1. Introducción</b>	
1.1 Hipótesis.....	5
1.2 Objetivos.....	6
1.2.1 Objetivo general .....	6
1.2.2 Objetivos específico.....	6
<b>Capítulo 2. Metodología</b>	
2.1 Área de estudio.....	7
2.2 Muestreo de campo.....	9
2.3 Composición de longitud, peso y proporción sexual.....	9
2.4 Clasificación del estado de desarrollo sexual.....	10
2.5 Fecundidad ovárica.....	14
2.6 Ciclo reproductivo.....	14
2.7 Promedio mensual de la temperatura superficial del mar (TSM).....	15
<b>Capítulo 3. Resultados</b>	
3.1 Composición de longitud, proporción sexual y peso de la captura.....	16
3.2 Distribución de longitud para organismos de los que se obtuvieron muestras reproductivas.....	18
3.3 Madurez sexual.....	19
3.4 Fecundidad ovárica.....	23
3.5 Glándulas oviducuales.....	24
3.6 Ciclo reproductivo.....	27



3.7 Temperatura superficial del mar (TSM) y periodo de veda.....	30
<b>Capítulo 4. Discusión</b>	
4.1 Composición de longitud, peso y proporción sexual.....	32
4.2 Madurez sexual.....	33
4.2.1 Implicaciones de la diferencia en la longitud de primera madurez sexual.....	34
4.3 Fecundidad ovárica.....	35
4.3.1 Relación de la fecundidad con el tamaño de la hembra.....	35
4.4 Glándula oviducal.....	36
4.4.1 Formación de la cápsula.....	38
4.5 Ciclo reproductivo.....	38
4.5.1 Relación con factores ambientales.....	40
4.6 Efectividad de la veda y otras medidas de manejo.....	41
<b>Capítulo 5. Conclusiones</b>	
5.1 Longitud, peso y proporción sexual.....	42
5.2 Madurez sexual.....	42
5.3 Fecundidad ovárica.....	42
5.4 Glándula oviducal.....	43
5.5 Ciclo reproductivo.....	43
<b>Literatura citada.....</b>	<b>44</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>50</b>

## Lista de figuras

Figura		Página
1	Distribución de <i>Heterodontus francisci</i> (Fuente: iucnredlist.org).....	3
2	Localización de la laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur, México.....	7
3	Composición de longitud de los machos y hembras de <i>Heterodontus francisci</i> capturados en la laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur, México, durante el periodo agosto 2016 – julio 2017.....	16
4	Relación entre la longitud total y el peso total para machos (a) y hembras (b) de <i>Heterodontus francisci</i> .....	18
5	Composición de longitud de los machos y hembras de <i>Heterodontus francisci</i> de los organismos con muestras reproductivas en la laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur, México, durante el periodo agosto 2016 – julio 2017.....	19
6	Relación del ancho de los testículos y la longitud del cláspen con la longitud total (izquierda), y ojivas de madurez para cada índice (derecha) en machos de <i>Heterodontus francisci</i> .....	21
7	Relación del diámetro de los ovocitos, ancho de la glándula oviducal y ancho del útero con la longitud total (izquierda), y ojivas de madurez para cada índice (derecha) en hembras de <i>Heterodontus francisci</i> .....	22
8	Promedio mensual del número de ovocitos preovulatorios (>25 mm) en hembras de <i>Heterodontus francisci</i> .....	23
9	Relación entre el número de ovocitos preovulatorios y la longitud total de las hembras de <i>Heterodontus francisci</i> .....	24
10	Sección longitudinal de la glándula oviducal de <i>Heterodontus francisci</i> (a) y tinción histológica con Hematoxilina-Eosina (b) donde se observa la zonación anteroposterior.....	25
11	Zonas de la glándula oviducal de <i>Heterodontus francisci</i> utilizando la tinción Hematoxilina-Eosina. (a) Lamelas de la zona club, 400x. (b) Túbulos de la zona papilar, 1000x. (c) Lamelas de la zona papilar, 400x. (d) Túbulos de la zona papilar caudal, 400x. (e) Lamelas de la zona bafle, 400x. (f) Túbulo de la zona bafle, 1000x. (g) Estructura de la zona terminal con la abertura de ductos secretores hacia el lumen, 400x. (h) Túbulos secretores serosos y mucosos de la zona terminal, 400x.....	26
12	(a) Túbulo de la zona bafle (1000x) y (b) epitelio de la zona terminal (400x) de glándulas oviducal de <i>Heterodontus francisci</i> , utilizando la tinción Hematoxilina-Eosina.....	27

13	Cambios mensuales en los índices oviducalsomático (IOS), gonadosomático (IGS) y hepatosomático (IHS) para hembras (a, b, c), y en el IGS para machos (d) de <i>Heterodontus francisci</i> .....	28
14	Distribución del diámetro de ovocitos en el mes de marzo, durante el periodo de desove (a) y en julio, posterior al desove (b).....	30
15	Cambios mensuales en el promedio de la temperatura superficial del mar (TSM) de la laguna Ojo de Liebre y periodos del ciclo reproductivo de <i>Heterodontus francisci</i> .....	31
16	Cápsula de huevo de <i>Heterodontus francisci</i> en formación (izquierda) y tracto reproductivo de hembra madura con cápsulas de huevos en los úteros y las glándulas oviducalés (derecha).....	50

## Lista de tablas

Tabla		Página
1	Índices de madurez para machos utilizando el estado de los órganos reproductivos (Tovar <i>et al.</i> , 2007).....	12
2	Índices de madurez para hembras utilizando el estado de los órganos reproductivos (Tovar <i>et al.</i> , 2007).....	12
3	Proceso de deshidratación de tejidos.....	13
4	Proceso de desparafinización de tejidos.....	13
5	Técnica de tinción Hematoxilina-Eosina.....	13
6	Proporción sexual y valores de $X^2$ para <i>Heterodontus francisci</i> en la laguna Ojo de Liebre.....	17
7	Estadísticas descriptivas de las variables morfométricas utilizadas para los índices de madurez de machos y hembras de <i>Heterodontus francisci</i> .....	20
8	Longitud promedio de primera madurez sexual ( $L_{50}$ ) y parámetros de la regresión logística para los índices de madurez sexual de machos y hembras de <i>Heterodontus francisci</i> .....	20

## Capítulo 1. Introducción

---

Para entender la vulnerabilidad de una especie ante la explotación pesquera, es muy importante conocer su ciclo de reproducción, ya que permite entender la periodicidad y la cantidad de nuevos organismos que se incorporan a la población estudiada, es decir, el reclutamiento a su población. Esta información es indispensable para poder evaluar los stocks pesqueros, o para realizar un análisis de riesgo ecológico (Tovar *et al.*, 2007). Los tiburones son particularmente vulnerables a la sobreexplotación debido a que presentan una estrategia de vida tipo K, ya que tienen un crecimiento corporal lento, madurez sexual tardía, gran longevidad, reducida fecundidad, largos periodos de gestación, y una estrecha relación entre el número de juveniles producidos y el tamaño de la biomasa reproductora (Stevens *et al.*, 2000).

México es uno de los principales países que pescan elasmobranquios en el mundo. En 2013, la pesca de tiburón se posicionó en el noveno lugar de la producción pesquera nacional, con aproximadamente 27,430 toneladas (SAGARPA, 2013). La pesca artesanal en México aporta el 40% de la captura total nacional, y comprende hasta el 80% del esfuerzo de pesca de elasmobranquios (Arreguín *et al.*, 2004). En los campos pesqueros de la costa oeste de la Península de Baja California el arte de pesca más utilizado para la pesca multiespecífica de tiburones son las redes agalleras, seguido por palangres (Ramírez *et al.*, 2013).

Sosa *et al.* (2015) caracterizaron la actividad pesquera artesanal en Bahía Sebastián Vizcaíno, incluyendo la laguna Ojo de Liebre y reportaron que la composición específica de las capturas artesanales de elasmobranquios fue de 15 especies, donde *Heterodontus francisci* fue la segunda especie más importante, con el 32% de las capturas entre agosto y noviembre de 2015; únicamente fue superado por la guitarra blanca *Pseudobatos productus* con el 52% de las capturas.

La pesca de *H. francisci* se encuentra regulada por el periodo de veda general de tiburones y rayas en el litoral del océano Pacífico que está establecido de mayo a julio (DOF, 2013). El periodo de veda se estableció a partir de la información acerca de la temporada reproductiva de algunas especies de importancia comercial. La temporada reproductiva tiene lugar principalmente durante primavera y verano (Salomón *et al.*, 2009). Sin embargo, se desconoce si este periodo coincide con el periodo de desove de *H. francisci*, ya que la información sobre su biología reproductiva es escasa y se encuentra publicada principalmente en la literatura gris (Strong, 1989).

La mayoría de las especies de elasmobranquios son vivíparas (~57%), el resto son ovíparas (~43%). En las especies vivíparas el desarrollo embrionario transcurre en el tracto genital de la hembra e incluye una

variedad de formas de alimentación del embrión, que se pueden clasificar en dos grandes categorías, lecitotrofia y matrotrofia. La oviparidad es un modo de reproducción lecitotrófico, es decir el embrión se alimenta solo de los nutrientes del saco vitelino que fueron producidos por el hígado materno. En contraste con la matrotrofia, al menos durante una parte del desarrollo, el organismo materno complementa los nutrientes que recibe el embrión del saco vitelino, con otras fuentes como secreciones uterinas (histotrofia), transferencia placentaria (placentotrofia), ovocitos u otros embriones (ovofagia).

El 98% de las especies ovíparas tienen una oviparidad simple o extendida, mientras que el 2% son especies con oviparidad múltiple o retenida. Todos los miembros del orden Heterodontiformes tienen oviparidad simple, la cual se caracteriza por la oviposición de huevos fertilizados, que se desarrollan y eclosionan externamente y permanecen expuestos a los depredadores y a las condiciones del medio. Mientras que la oviparidad múltiple implica la retención de huevos en el oviducto durante la mayor parte del desarrollo embrionario, antes de la oviposición y la incubación en el exterior (Musick y Ellis, 2005). El ciclo reproductivo de las especies ovíparas está constituido por las etapas de ovulación, encapsulación y oviposición (Lutton *et al.*, 2005; Musick y Ellis, 2005).

El orden Heterodontiformes está constituido únicamente por la familia Heterodontidae y un solo género *Heterodontus*. Agrupa a especies de hábitos bentónicos de tamaño pequeño, que se encuentran comúnmente en aguas costeras. El nombre deriva de la notable diferencia en la forma de los dientes delanteros y traseros; también se caracterizan por que tienen dos grandes espinas que anteceden a cada aleta dorsal. (Kato *et al.*, 1967).

En cuanto a su reproducción todas las especies del género *Heterodontus* tienen oviparidad simple (Kato *et al.*, 1967). El cortejo y la cópula se han observado en cautiverio, durante este proceso, el macho sujeta la aleta pectoral de la hembra con sus dientes e inserta un solo cláspen en la cloaca, la cópula dura de 30 a 40 minutos. Después de una a dos semanas, los huevos son desovados, normalmente bajo las rocas o en grietas (Dempster y Herald, 1961; Strong, 1989).

*H. francisci* se distribuye en la región subtropical del Pacífico Oriental, en aguas cálido-templadas desde la región central de California, E.U.A., hasta Mazatlán, Sinaloa, incluyendo el Golfo de California (Compagno, 2001; Espinosa *et al.*, 2004) (Figura 1). Aunque prefiere las aguas superficiales entre 2 a 11 m, se le puede encontrar en profundidades de hasta 150 m, en fondos rocosos, incluyendo los arrecifes, lechos de algas marinas y en bancos de arena (Kato *et al.*, 1967; Compagno, 2001). La longitud total (LT) al momento del nacimiento es de 15 a 16 cm, lo que corresponde al tamaño de la cápsula del huevo. Los machos alcanzan

una LT máxima de 83 cm y maduran por primera vez cuando tienen entre 56 y 61 cm de LT. Las hembras alcanzan una LT máxima de 96 cm, pero es posible que alcancen los 122 cm de LT y maduran cuando tienen una LT mayor que 58 cm (Ebert *et al.*, 2013). Esta especie es más activa después del anochecer y su actividad continúa hasta el amanecer, después de este periodo se observa poca actividad (Nelson y Johnson, 1970). Se alimentan de invertebrados bentónicos, incluyendo gasterópodos, crustáceos, pelecípodos, sipuncúlidos, cefalópodos y peces pequeños (Segura *et al.*, 1997).



**Figura 1.** Distribución de *Heterodontus francisci* (Fuente: iucnredlist.org).

Los estudios de la biología de *H. francisci* se han centrado en su alimentación (Huber *et al.*, 2005), inmunología (Litman *et al.*, 1980) y genética (Baron *et al.*, 2009). Dempster y Herald (1961) describieron el comportamiento reproductivo durante la cópula y el desove para organismos en cautiverio, durante este proceso de apareamiento, el macho sujeta firmemente a la hembra de la aleta pectoral y ésta no hace un gran esfuerzo por liberarse. Los machos únicamente introducen el cláster derecho en la cloaca de la hembra, por lo que al parecer no utilizan el cláster izquierdo en el apareamiento. El tiempo de cópula es

de aproximadamente 35 minutos y se ha reportado que el desove puede ocurrir dos semanas después. La eclosión en cautiverio se da entre 8 y 10 meses después del desove, durante la primavera.

Strong (1989) describió la utilización del hábitat de *H. francisci* en la isla Santa Catalina, California, e incluyó unas notas breves de los patrones de reproducción. No se observó cortejo o apareamiento; sin embargo, en ocasiones los machos exhibían erección de los cláspers, lo que sugirió un posible comportamiento reproductivo. La relación de la longitud del cláspers con la LT indicó que la primera madurez en machos ocurre cuando tienen entre 56 y 61 cm de LT. También se colectaron 21 huevos que se encontraron entre las rocas, de los que solamente cinco (24%) contenían embriones viables.

Entre las otras especies dentro del género *Heterodontus*, la biología de *H. portusjacksoni* se ha documentado ampliamente. Esta especie se distribuye principalmente en el sur de Australia (Ebert *et al.*, 2013). Powter y Gladstone (2009) estudiaron su biología reproductiva y ecología entre enero de 2002 y diciembre de 2005 y observaron que los adultos regresaban anualmente a los mismos arrecifes costeros para aparearse, mientras que los juveniles residían en un área de crianza durante al menos 2 años. Por su parte, Rodda y Seymour (2008) con base en la incubación de huevos recolectados por buceo, documentaron que el desarrollo embrionario para la especie tiene una duración de 10 a 11 meses.

El ciclo reproductivo de *H. portusjacksoni* ha sido descrito para diferentes localidades. Tovar *et al.* (2007) estudiaron dos poblaciones reproductoras separadas en el sureste de Victoria, Australia y a través del análisis de la proporción de ovocitos maduros en el ovario, estimaron la fecundidad y describieron el ciclo ovárico. Demostraron que hay una relación entre el ciclo reproductivo anual y la temperatura del agua, y observaron que el inicio de la ovulación ocurre desde finales del invierno hasta principios de la primavera (12-16°C), por lo que sugirieron un periodo de desove de aproximadamente 6 meses. Powter y Gladstone (2008) estudiaron los ovarios de hembras capturadas en la costa central y sur de New South Wales, Australia y estimaron una fecundidad media de 16 crías por hembra. También observaron que los índices gonadosomáticos (IGS) en machos y hembras disminuyeron de julio a noviembre (invierno-primavera), al igual que el diámetro de los folículos ováricos maduros. Por lo que concluyeron que *H. portusjacksoni* tiene una temporada de apareamiento y desove anual entre julio y noviembre, con una mayor frecuencia de oviposición de agosto a octubre. Asimismo, Jones *et al.*, (2008) reportaron que el periodo comprendido desde el inicio de la vitelogénesis hasta el momento de la ovulación dura aproximadamente 18 meses en el suroeste de Australia. Además, utilizaron el IGS de las hembras para estimar el periodo de ovulación y observaron que ocurre desde finales del invierno hasta principios del verano y que los huevos eclosionan un año más tarde. Para los machos, el análisis de la variación temporal del IGS sugiere que el periodo de



apareamiento ocurre antes del inicio de la ovulación. Los estudios de *H. portusjacksoni* sugieren que las hembras almacenan el esperma en las glándulas oviducal durante un periodo previo a la fertilización (Tovar *et al.*, 2007). En varias especies de condrictios se ha reportado el almacenamiento de esperma, principalmente en la zona terminal de la glándula oviducal (Elías, 2015; Hamlett *et al.*, 2005; Storrie *et al.*, 2008), a través del análisis histológico de cortes de la glándula oviducal, utilizando principalmente la tinción de hematoxilina-eosina, para diferenciar los núcleos celulares y el citoplasma.

En México, se han descrito algunos aspectos de la biología de *H. mexicanus*. Medellín (2006) estimó una longitud de primera madurez de 54 cm de LT para las hembras, utilizando por separado la relación entre el diámetro de la glándula oviducal, diámetro de ovocitos, y ancho del útero, con la longitud total de las hembras. En los machos observó una relación positiva del tamaño del cláster y el largo del testículo con respecto al aumento de LT y determinó una longitud de primera madurez de 49 cm de LT. Por otra parte, Domínguez (2015) estimó una fecundidad ovárica promedio de 6 ovocitos preovulatorios por hembra de *H. mexicanus*, a través de la cuantificación del número de ovocitos preovulatorios ( $\geq 15$  mm) en los ovarios.

En esta tesis se caracterizó el ciclo reproductivo de *H. francisci*, para evaluar si el periodo de veda de tiburones y rayas en el litoral del océano Pacífico (DOF, 2013) coincide con el periodo de desove de *H. francisci*. Asimismo, se analizó la relación entre el ciclo reproductivo, la temperatura del agua y el periodo de surgencias en la laguna Ojo de Liebre, ya que la reproducción suele ocurrir en el periodo que maximiza la supervivencia de la prole. Relacionado con los cambios en la temperatura, normalmente hay cambios en la abundancia y calidad del alimento. En la laguna Ojo de Liebre estos cambios están relacionados con el periodo de surgencias en Bahía Sebastián Vizcaíno, que tiene una interacción directa con la laguna (Hernández *et al.*, 2000). Así, la selección de la época de puesta puede coincidir con los picos de abundancia de alimento en la zona.

## 1.1 Hipótesis

- El periodo de desove de *H. francisci* coincide con las menores temperaturas de la laguna Ojo de Liebre.
- El periodo de desove de *H. francisci* coincide con el periodo de surgencias más intensas en la Bahía Sebastián Vizcaíno.
- El periodo de desove de *H. francisci* coincide con el periodo de veda (mayo a julio).

## 1.2 Objetivos

### 1.2.1 Objetivo general

Caracterizar la biología reproductiva del tiburón perro *H. francisci* en la laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur, México.

### 1.2.2. Objetivos específicos

- Conocer la distribución de longitudes y proporción de sexos de los organismos capturados por la pesca artesanal.
- Estimar la longitud de primera madurez sexual  $L_{50}$  de las hembras y machos de *H. francisci* en la laguna Ojo de Liebre.
- Observar la presencia de esperma en las glándulas oviducuales como un indicativo de la longitud mínima de primer apareamiento.
- Cuantificar la fecundidad ovárica y su relación con el tamaño de las hembras.
- Conocer el periodo de apareamiento, ovulación, encapsulación y desove.
- Buscar la presencia de espermatozoides a través de análisis microscópicos de las glándulas oviducuales en algún periodo del ciclo reproductivo, para inferir el periodo de apareamiento.
- Conocer la relación entre la temperatura del agua y el ciclo reproductivo anual del tiburón perro en la laguna Ojo de Liebre.
- Conocer si el periodo de surgencias en Bahía Sebastián Vizcaíno coincide con el periodo de desove del tiburón perro en la laguna Ojo de Liebre.
- Conocer si el periodo de veda de mayo a julio coincide con el periodo de desove del tiburón perro en la laguna Ojo de Liebre.

## Capítulo 2. Metodología

### 2.1 Área de estudio

La laguna Ojo de Liebre se ubica en el extremo noroeste del municipio de Mulegé, Baja California Sur y tiene un área de 366 km<sup>2</sup> (Bermúdez, 2003), forma parte de un complejo lagunar que incluye las lagunas de Guerrero Negro y Manuela en la costa del Océano Pacífico (Figura 2), las cuales están conectadas a Bahía Sebastián Vizcaíno (Gutiérrez de Velasco, 2000). Geográficamente se encuentra ubicada entre las coordenadas 27°52' y 27°37' de latitud norte, 114°17' y 113°55' de longitud oeste.

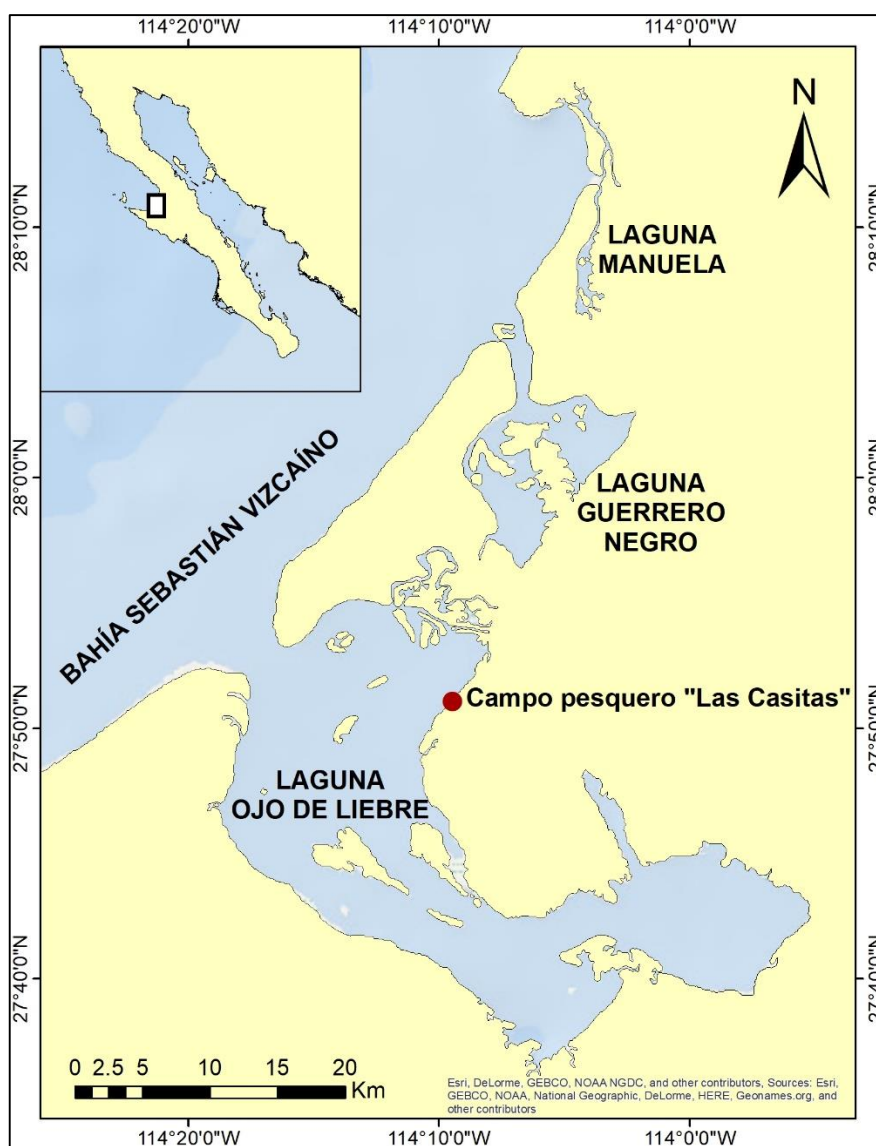


Figura 2. Localización de la laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur, México.

Es una laguna generalmente somera, aunque su batimetría es muy irregular y presenta canales de más de 20 m de profundidad cerca de la boca. En su interior se encuentran cinco islotes (Zacatoso, Concha, Alambre, Piedra y Cholla) y barras arenosas, algunas de estas quedan al descubierto durante la bajamar (Bermúdez, 2003). Por otra parte, los márgenes de la laguna están formados por dunas inestables, salitrales, matorral halófito y marismas (Acevedo, 1997). Gran parte de los canales y las zonas someras están cubiertos por densos lechos de pastos marinos que albergan poblaciones de invertebrados (Contreras, 1985).

El clima en el área de la laguna es árido, con una escasa precipitación promedio de 3 cm/año, por lo que los escurrimientos hacia la laguna pueden ser considerados de magnitud baja o nula (Marinone y Lizárraga, 1982). La laguna tiene una interacción directa con Bahía Sebastián Vizcaíno, y aunque se encuentra protegida por una barrera, llega a estar influenciada por la Corriente de California (Acevedo, 1997). Por esto, a pesar de ser considerada una laguna costera hipersalina, la temperatura y salinidad se incrementan de la boca al interior de la laguna, debido a la poca profundidad y la alta incidencia de la radiación solar, que provoca una alta evaporación y mayor concentración de salinidad. Así mismo, la variación de la temperatura y salinidad están influenciadas por efecto de la marea (Contreras, 1985). La temperatura media anual varía entre 18 y 22°C. La temperatura y salinidad máximas ocurren en verano (25.5°C y de 32 a 41 ppm) (Bermúdez, 2003).

En cuanto a las aguas de Bahía Sebastián Vizcaíno, en general, son relativamente frías de enero a junio (~16°C) y las menores temperaturas se presentan en los meses de marzo y abril (15-17°C). El régimen de temperaturas frías es debido a dos factores: el primero es el patrón de temperatura normal debido a la radiación incidente, el segundo es la presencia de surgencias costeras que mantienen el agua fría. Las surgencias ocurren en cualquier momento del año, pero son más persistentes durante este período. Los meses más cálidos son septiembre y octubre (20-22°C), el proceso de surgencias se debilita en este periodo, debido a los vientos menos intensos. Además, la radiación solar aumenta, permitiendo un más rápido calentamiento de la capa superficial. El ciclo comienza nuevamente con la aparición de vientos más intensos y las consecuentes surgencias a finales de diciembre o principios de enero, junto con un clima más frío (Wyllie, 1960).

Debido a que la ballena gris *Eschrichtius robustus* se reproduce anualmente durante el invierno en cuatro lagunas costeras mexicanas, incluyendo la laguna Ojo de Liebre, ésta se declaró en 1972 como "Zona de refugio para ballenas y ballenatos" (DOF, 1972). Esta declaratoria se modificó en 1980 para incluir a la laguna de Guerrero Negro y laguna Manuela (DOF, 1980). Así también, la laguna Ojo de Liebre forma parte

de la Reserva de la Biosfera El Vizcaíno, (2,546,790.25 ha), que fue decretada el 30 de noviembre de 1988 (DOF, 1988).

La región de Sebastián Vizcaíno es una de las zonas más productivas del Sistema de la Corriente de California (SCC), que reúne las condiciones para ser tipificada como un Centro de Actividad Biológica por cumplir con ser un lugar costero fijo en el espacio, con productividad constante a lo largo del año y contar con un gran número de especies de importancia comercial, básicamente pelágicos y bentónicos. Esta condición puede ser propiciada por la formación de giros oceánicos, ocasionados por el choque de corrientes, la presencia de islas, la topografía de la costa y el viento (Hernández *et al.*, 2000).

## 2.2 Muestreo de campo

Durante el periodo de agosto de 2016 hasta julio de 2017, se muestrearon mensualmente organismos de *H. francisci* provenientes de las capturas de la pesca artesanal de tiburones basada en el campo pesquero “Las Casitas”, dentro de la laguna Ojo de Liebre. Esta flota pesquera artesanal está compuesta por embarcaciones menores de 10 metros de eslora con motor fuera de borda de 60 a 115 caballos de fuerza. El arte de pesca utilizado es la red de enmalle de fondo, con una abertura de malla de 152 mm (6 pulgadas), ocasionalmente se utilizó una red con abertura de malla de 89 mm (3.5 pulgadas). La longitud total de las redes va desde los 100 hasta los 800 m de longitud y tienen una altura de hasta 4 m. Debido a los hábitos nocturnos de la especie, por lo general, los pescadores colocan el arte de pesca por la mañana, a dos metros de profundidad, lo dejan durante un día y regresan a recogerlo la mañana del día siguiente.

## 2.3 Composición de longitud, peso y proporción sexual

A los organismos capturados de *H. francisci* se les identificó el sexo, diferenciando a los machos por la presencia de cláspers (gonopterigios). Para cada organismo se registró su LT en centímetros ( $\pm 0.1$  mm), midiendo en línea recta desde la punta del hocico hasta la punta terminal del lóbulo superior de la aleta caudal, colocando la cola en posición natural. La longitud alterna (LA) fue tomada desde el inicio de la primera aleta dorsal hasta el inicio de la segunda, en centímetros ( $\pm 0.1$  mm). El peso total (PT) se registró en kilogramos ( $\pm 0.1$  kg).

Debido a que en ocasiones los organismos desembarcados ya se encontraban eviscerados sólo se les pudo medir la LA. Para poder estimar la LT se realizó una regresión lineal con los datos de LT y LA de todos los organismos muestreados. La estructura de longitudes de la captura se analizó mediante histogramas de frecuencia para cada sexo, agrupando las LT en intervalos de 5 cm. Se aplicó la prueba estadística Kolmogórov-Smirnov para saber si existían diferencias significativas entre las distribuciones de longitud de ambos sexos, con una confianza de 95%. Para realizar las pruebas estadísticas se utilizó la plataforma RStudio (versión 1.0.143).

Se calculó la proporción de sexos (machos:hembras) total y mensual. Las proporciones machos:hembras fueron comparadas con una relación de sexos equilibrada (1:1) mediante una prueba de  $\chi^2$  con una confianza de 95%.

La relación alométrica entre el peso total y la longitud total (PT-LT) se evaluó utilizando la ecuación:

$$PT = a * LT^b \quad (1)$$

en donde a es el intercepto o coeficiente de crecimiento inicial y b es el coeficiente de crecimiento (Froese, 2006).

Las diferencias en la relación para cada sexo se probaron por medio de un análisis de covarianza (ANCOVA) después de linealizar la ecuación 1:

$$\ln(PT) = \ln(a) + b * \ln(LT) \quad (2)$$

La ANCOVA se realizó utilizando el software STATISTICA (versión 7.1).

## 2.4 Clasificación del estado de desarrollo sexual

Para conocer el estado de desarrollo sexual de los organismos, se extrajeron los órganos internos a través de una incisión desde la cloaca hasta el centro de las aletas pectorales. Para cada sexo se registraron indicadores morfométricos y morfológicos de los órganos reproductivos. En los machos se registró la longitud de ambos cláspers en centímetros ( $\pm 0.1$  mm) tomando para cada uno la medida en línea recta

desde la parte anterior de la cloaca hasta la parte distal del cláspers y se utilizó el promedio de ambos cláspers. También se tomó el ancho de ambos testículos en milímetros ( $\pm 0.01$  mm) y se utilizó el promedio. Para determinar el estado sexual de los machos, se registró el estado de calcificación y rotación de los cláspers, la apertura del rifiodón, la presencia de puntos hematosos (indicadores de cópula reciente) y la presencia de semen.

En las hembras se tomaron medidas del ancho de los úteros, ancho de las glándulas oviducales y diámetro de los ovocitos en milímetros ( $\pm 0.01$  mm) (Tovar *et al.*, 2007). Para los úteros se obtuvo un promedio de ambos úteros y de igual forma para ambas glándulas oviducales. Debido a que las hembras de *H. francisci* presenta un solo ovario funcional (derecho) (Smith, 1942), se tomaron los diámetros de 22 a 24 ovocitos más grandes en el ovario, los ovocitos atrésicos no fueron considerados. Se utilizó el promedio de todos los ovocitos medidos para cada hembra.

Los organismos se clasificaron dependiendo su estado de madurez en inmaduros, en maduración y maduros, siguiendo los índices de madurez propuestos por Tovar *et al.* (2007) para *H. portusjacksoni* y que se basan en la clasificación del estado de los órganos reproductivos (Tabla 1 y 2). Se consideraron como hembras maduras aquellas en que el diámetro del folículo ovárico más grande era  $>3$  mm, asumiendo que se encuentran en el proceso de vitelogénesis (Walker, 2005).

La longitud de primera madurez sexual de 50% ( $L_{50}$ ) se determinó mediante un análisis de regresión logística para cada sexo, con base en los índices de maduración por separado (ecuación 3).

$$Pm = 1/(1 + e^{-(a+b LT)}) \quad (3)$$

Los parámetros de la ecuación están dados por  $a$  y  $b$ , los cuales fueron obtenidos mediante el método de Gauss-Newton utilizando el software RStudio (versión 1.0.143). La  $L_{50}$  se calculó utilizando la ecuación 4:

$$L_{50} = -a/b \quad (4)$$

y sus intervalos de confianza al 95% fueron obtenidos con el método Jackknife (Abdi y Williams, 2010).

**Tabla 1.** Índices de madurez para machos utilizando el estado de los órganos reproductivos (Tovar *et al.*, 2007).

Estado de madurez	Testículo	Cláster
Inmaduros	Indiferenciados del órgano epigonal	Cortos y no calcificados
En maduración	Diferenciados del órgano epigonal, ni lobular ni vascularizado	Elongados y parcialmente calcificados
Maduros	Elongado, lobular y vascularizado	Elongados y completamente calcificados

**Tabla 2.** Índices de madurez para hembras utilizando el estado de los órganos reproductivos (Tovar *et al.*, 2007).

Estado de madurez	Ovocitos	Glándula oviducal	Útero
Inmaduras	Indiferenciado desde el órgano epigonal, sin ovocitos visibles.	Indistinta desde el oviducto anterior	Indistinto desde el oviducto anterior
En maduración	Ovocitos blancuzcos $\leq$ 3 mm de diámetro	Diferenciada del oviducto anterior, más larga que ancha	Úteros estrechos
Maduras	Ovocitos vitelogénicos $>$ 3 mm de diámetro	En forma de corazón, más ancha que larga	Úteros estrechos, con huevos o paredes distendidas

Se analizaron histológicamente las glándulas oviducal de una submuestra de las hembras maduras para observar la presencia de espermatozoides y conocer la longitud a partir de la cual las hembras maduras comienzan a aparearse. Se seleccionaron las hembras en un intervalo de longitudes que va desde la hembra de menor tamaño que se encontró madura, hasta la hembra de menor tamaño con huevos en el útero. Las glándulas oviducal fueron removidas y preservadas en formaldehído al 3.7% para su posterior análisis histológico. Se obtuvieron dos secciones de la glándula siguiendo el procedimiento propuesto por Storrie *et al.* (2008). Una sección longitudinal de la glándula y una transversal de la parte terminal de la glándula oviducal. Cada sección se colocó en un cassette de inclusión. El proceso histológico consistió en la deshidratación en una serie de alcoholes en concentraciones crecientes y aclaramiento con xileno (Tabla 3), estos pasos se realizaron en un procesador de tejidos Van-Wessel, modelo W-PR10. Las muestras se incluyeron en parafina utilizando un inclusor Tissue-Tek II. Se realizaron cortes de 4  $\mu$ m de grosor con un micrótopo de rotación American Optical, modelo 820. Estos cortes fueron extendidos en baño maría a 46-48°C y se colocaron en un portaobjetos. Se continuó con la desparafinación (Tabla 4) y la tinción con



Hematoxilina-Eosina (Tabla 5). Los cortes teñidos fueron montados a un portaobjetos con resina de montaje de viscosidad media Cytoseal™ 60 (Richard-Allan Scientific™).

**Tabla 3.** Proceso de deshidratación de tejidos.

Orden	Reactivo	Cambios	Tiempo (horas)
1	Etanol 80%	1	1
2	Etanol 95%	3	1
3	Etanol absoluto	3	1
4	Xileno	3	1
5	Parafina	3	1

**Tabla 4.** Proceso de desparafinización de tejidos.

Orden	Reactivo	Cambios	Tiempo
1	Xileno	2	3 min.
2	Etanol absoluto	2	20 seg.
3	Etanol 95%	2	20 seg.
4	Etanol 80%	1	20 seg.
5	Agua destilada	1	3 min.

**Tabla 5.** Técnica de tinción Hematoxilina-Eosina.

Orden	Reactivo	Cambios	Tiempo
1	Hematoxilina de Mayer	1	6 min.
2	Agua corriente	1	2 min.
3	Alcohol ácido	1	15 seg.
4	Agua corriente	1	10 seg.
5	Carbonato de litio	1	2 min.
6	Agua corriente	1	10 min.
7	Etanol 80%	1	1.5 min.
8	Eosina-Floxina	1	2 min.
9	Etanol 95%	2	2 min.
10	Etanol absoluto	2	2 min.
11	Xileno	2	2 min.

La observación de los cortes se realizó con un microscopio Leica DM LS realizando un barrido a lo largo y ancho del corte para observar toda el área. Se utilizaron aumentos de 100x y 400x para localizar las zonas de la glándula y los túbulos que contenían secreciones de los túbulos y esperma. Para confirmar el contenido de los túbulos se realizaron observaciones con un aumento de 1000X.

## 2.5 Fecundidad ovárica

Cuando identificó la presencia de huevos en el útero y en las glándulas oviducales, se tomó la medida del largo de la cápsula en centímetros ( $\pm 0.1$  mm) y el diámetro del óvulo dentro de la cápsula en milímetros ( $\pm 0.01$  mm), esto para obtener el tamaño promedio de los óvulos. Los ovocitos que han alcanzado el 75% del tamaño del óvulo antes del periodo de desove se consideran como ovocitos preovulatorios, que serán ovulados durante el siguiente periodo de desove (Tovar *et al.*, 2007).

Para inferir la fecundidad anual, se analizó la fecundidad ovárica mediante el conteo del número de ovocitos preovulatorios en las hembras capturadas en los meses que corresponden al inicio de la temporada de desove (Tovar *et al.*, 2007). Se determinó la relación entre la fecundidad ovárica (F) y la LT de las hembras, por medio de un análisis de regresión lineal.

## 2.6 Ciclo reproductivo

Para conocer la duración del periodo de desarrollo folicular se utilizó el índice hepatosomático (IHS), para el cual se registró el peso del hígado en gramos. El IHS se calculó como cociente del peso del hígado entre el PT y se multiplicó por 100. Para conocer la estacionalidad del crecimiento de los folículos ováricos, el IHS se graficó contra el tiempo. Asimismo, se calculó el IGS dividiendo el diámetro de los ovocitos maduros entre la longitud total del organismo multiplicado por 100. Para ambos cálculos se utilizaron solamente las hembras maduras.

Para identificar la época de apareamiento se observó la presencia de marcas de mordidas en las aletas pectorales de las hembras como un indicativo de apareamiento. En los machos se registró la presencia de hematomas en los cláspers y la presencia de esperma. Se calculó el índice gonadosomático (IGS) dividiendo

el ancho del testículo de los machos maduros entre su longitud total multiplicado por 100. Para conocer la estacionalidad del crecimiento de los testículos, el IGS se graficó contra el tiempo.

Una vez conociendo el periodo de apareamiento, se analizó la posibilidad de que durante los meses en que no ocurre apareamiento las hembras almacenaran esperma en las glándulas oviducuales. Para esto, se observó la presencia de espermatozoides en cortes histológicos de las glándulas oviducuales de las hembras maduras, siguiendo el procedimiento descrito anteriormente en el apartado 2.2.

Para identificar el periodo de ovulación se analizó la distribución del número promedio de ovocitos preovulatorios con respecto al tiempo. También se calculó el índice oviducal somático (IOS) dividiendo el ancho de la glándula oviducal de las hembras maduras entre la longitud total multiplicado por 100 y se graficó contra el tiempo. El periodo de encapsulación se cuantificó por la presencia de huevos en la glándula oviducal, mientras que el periodo de desove a través de la presencia de huevos en el útero.

Se realizó una comparación de las modas del diámetro de los ovocitos durante y después del periodo de desove para diferenciar el número de cohortes en el ovario. Se seleccionaron de 5 a 10 hembras maduras en el mes que presentó el mayor incremento en la frecuencia de desoves y un mes posterior al desove. Se tomaron las medidas del diámetro de todos los ovocitos  $\geq 3$  mm contenidos en el ovario, con una precisión de  $\pm 0.01$  mm. Las diferencias entre las modas del diámetro de los ovocitos y los valores mensuales de los índices se evaluaron con la prueba no paramétrica Kruskal-Wallis utilizando el software STATISTICA (versión 7.1).

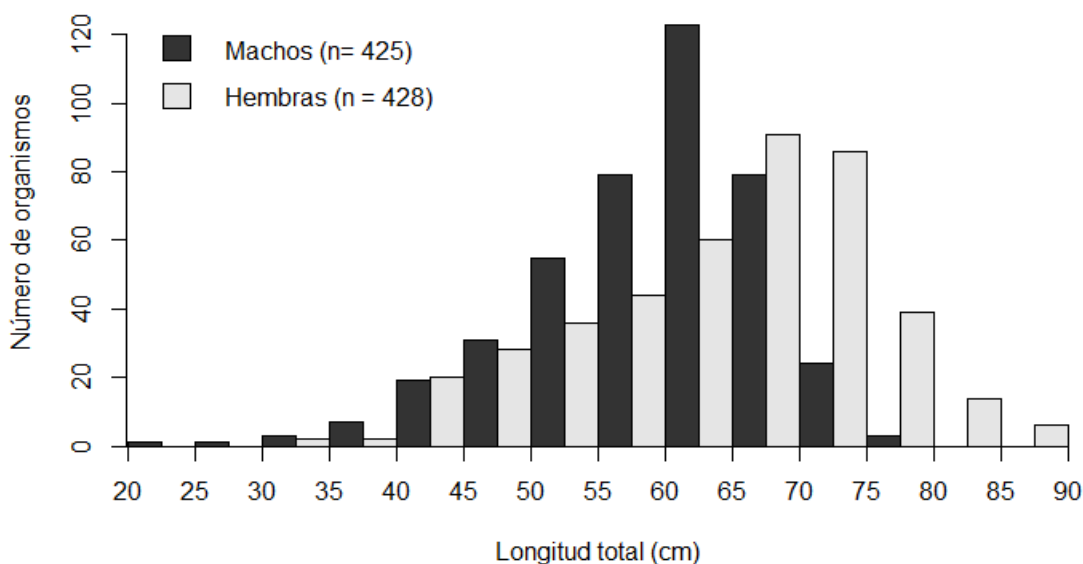
## **2.7 Promedio mensual de la temperatura superficial del mar (TSM)**

El promedio mensual de la temperatura superficial del mar (TSM) se obtuvo de la base de datos de la compañía Exportadora de Sal S.A. de C.V., localizada en Guerrero Negro, municipio de Mulegé, B.C.S. Las mediciones se realizaron cada 15 días con sensores de temperatura Ultrameter II™ (Myron L® Company). La TSM se utilizó como un proxy de la temperatura de la columna de agua. Se utilizaron los datos del periodo de agosto de 2016 a julio de 2017. Las etapas del ciclo reproductivo fueron comparadas con el promedio de la TSM y con el periodo de veda (mayo a julio).

## Capítulo 3. Resultados

### 3.1 Composición de longitud, proporción sexual y peso de la captura

Se registró un total de 853 individuos de *H. francisci* de los cuales 425 fueron machos (49.8%) y 428 fueron hembras (50.2%) (Figura 3). El intervalo de longitudes de los machos fue de 25.4 a 77 cm de LT, con un promedio de  $59.9 \pm 8.5$  cm de LT. Las hembras fueron de mayor tamaño con un intervalo entre 35 a 89 cm de LT y un promedio de  $65.2 \pm 10.7$  cm de LT (Figura 3). La distribución de frecuencias de longitud de los machos tuvo una moda a los 61 a 65 cm de LT, mientras que las hembras fueron más abundantes en el intervalo de 66 a 70 cm de LT (Figura 3). No se encontraron diferencias significativas en la distribución de longitudes entre sexos (Kolmogórov-Smirnov;  $p > 0.05$ ). No se hizo un análisis estacional de la distribución de longitudes, debido a que la longitud de los organismos capturados cada mes dependió de la apertura de malla del arte de pesca utilizado.



**Figura 3.** Composición de longitud de los machos y hembras de *Heterodontus francisci* capturados en la laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur, México, durante el periodo agosto 2016 – julio 2017.

Además de los 853 individuos capturados, para conocer la proporción sexual se incluyeron 136 organismos (57 machos, 79 hembras) capturados por una embarcación en una jornada de pesca del mes de noviembre, los cuales fueron sexados pero no se pudieron tomar sus medidas morfométricas por la maniobra de

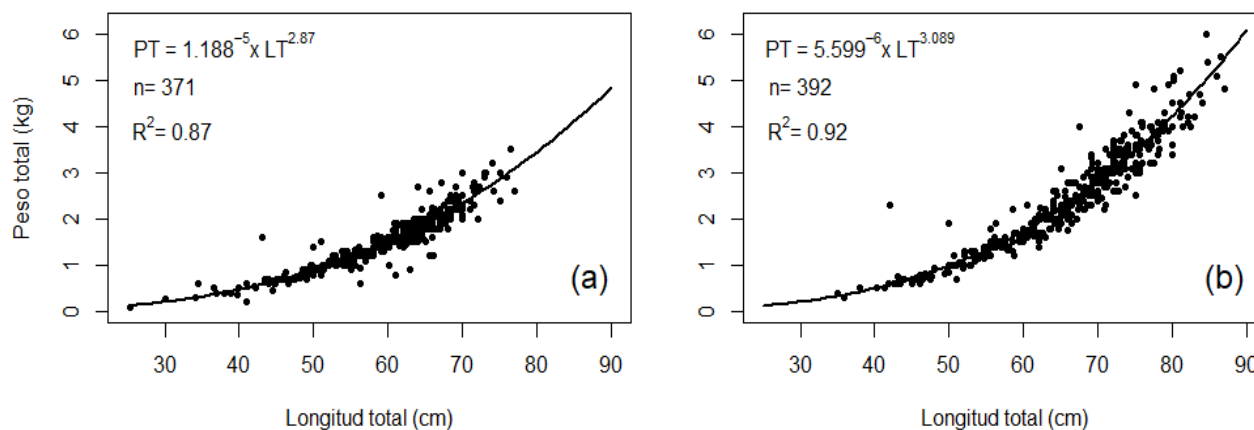
desembarco. Con esto, se contó con un total de 989 tiburones, de los cuales 482 fueron machos (48.7%) y 507 hembras (51.3%). La proporción sexual total fue de 1:1.05 (machos:hembras) y no se encontraron diferencias significativas con respecto a una proporción esperada de 1:1 ( $\chi^2$ ;  $p>0.05$ ). El análisis de la proporción de sexos por mes indicó que había diferencias significativas en abril ( $\chi^2$ ;  $p<0.05$ ), mayo, junio y agosto ( $\chi^2$ ;  $p<0.001$ ). Para abril y mayo se capturaron más machos que hembras, con proporciones de 1:0.65 y 1:0.44, respectivamente. Mientras que los meses con mayor proporción de hembras fueron junio y agosto, con 1:4.38 y 1:2.11, respectivamente. En los meses restantes no se presentaron diferencias significativas con respecto a la proporción esperada 1:1 ( $\chi^2$ ;  $p>0.05$ ) (Tabla 6). En el mes de octubre únicamente se obtuvieron 9 individuos (4 machos, 5 hembras) debido a que las condiciones climáticas solo permitieron salir a muestrear un día y no fue posible dejar las redes tendidas en la noche, cuando se presenta la mayor actividad en esta especie.

**Tabla 6.** Proporción sexual y valores de  $\chi^2$  para *Heterodontus francisci* en la laguna Ojo de Liebre. \*Diferencia significativa con respecto a la proporción esperada 1:1 ( $p<0.001$ ). \*\*Diferencia significativa con respecto a la proporción esperada 1:1 ( $p<0.05$ ).

Mes	Machos	Hembras	Total	Proporción sexual (M:H)	$\chi^2$
Enero	45	39	84	1:0.87	0.510
Febrero	61	54	115	1:0.89	0.371
Marzo	56	65	121	1:1.16	0.553
Abril	26	17	43	1:0.65	** 4.381
Mayo	27	12	39	1:0.44	* 14.793
Junio	13	57	70	1:4.38	* 39.510
Julio	15	22	37	1:1.47	3.579
Agosto	9	19	28	1:2.11	* 12.755
Septiembre	65	63	128	1:0.97	0.024
Octubre	4	5	9	1:1.25	1.235
Noviembre	118	125	243	1:1.06	0.083
Diciembre	43	29	72	1:0.67	3.781
<b>Total</b>	<b>482</b>	<b>507</b>	<b>989</b>	<b>1:1.05</b>	<b>0.087</b>

Las hembras fueron significativamente más grandes y pesadas que los machos. El PT promedio de los machos fue de  $1.56 \pm 0.59$  kg, con un mínimo de 0.1 kg y máximo de 3.5 kg. En las hembras el PT promedio fue de  $2.41 \pm 1.12$  kg, con un mínimo de 0.3 kg y máximo de 6 kg. Las relaciones PT y LT para los machos

( $PT = 1.188^{-5} * LT^{2.870}$ ,  $R^2=0.87$ ,  $n=371$ ,  $p<0.001$ ) y para las hembras ( $PT = 5.599^{-6} * LT^{3.089}$ ,  $R^2=0.92$ ,  $n=392$ ,  $p<0.001$ ) mostraron diferencias significativas en las pendientes (ANCOVA,  $F_{1,762} = 172.193$ ,  $p<0.001$ ), lo que indica un incremento de masa en diferentes proporciones con respecto a la longitud (Figura 4).

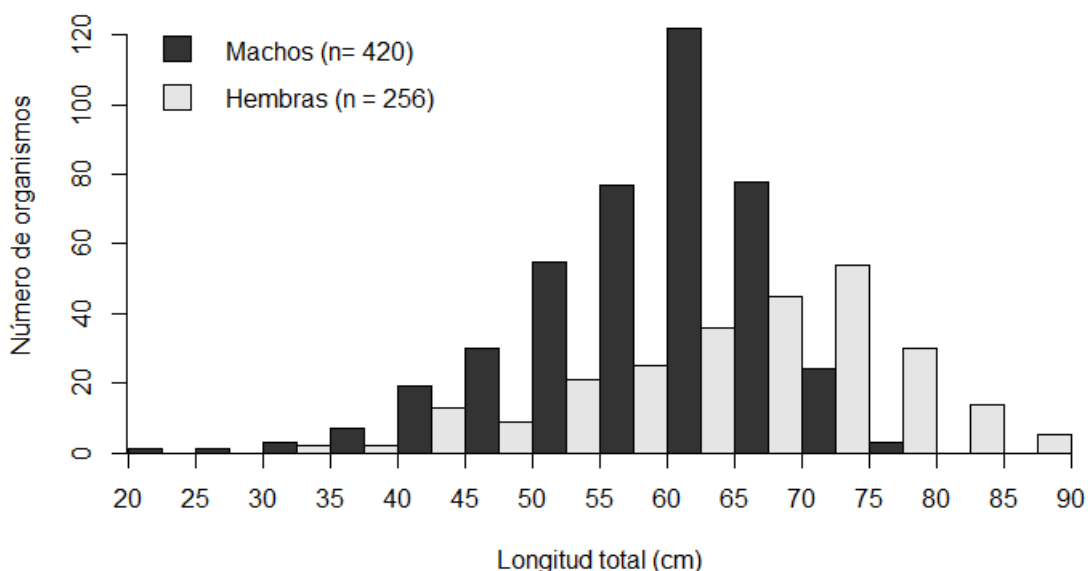


**Figura 4.** Relación entre la longitud total y el peso total para machos (a) y hembras (b) de *Heterodontus francisci*.

### 3.2 Distribución de longitud para organismos de los que se obtuvieron muestras reproductivas

Entre las actividades que los pescadores desarrollan después de recoger las redes y regresar al campo pesquero, está la descarga apresurada de la captura, ya que procuran no demorar mucho tiempo en este proceso, para entregar el producto lo más fresco posible. Por esta razón, no fue posible eviscerar a todos los individuos capturados, para muestrear sus tractos reproductivos. Se muestrearon un total de 676 individuos, de los cuales 420 fueron machos (62.1%) y 256 fueron hembras (37.9%). La mayor proporción de machos en la muestra fue el resultado de la facilidad con que se observan y miden los cláspers, en cambio, para identificar a las hembras es necesario eviscerarlas para tomar las medidas de sus órganos reproductivos. El intervalo de longitudes de los machos fue de 25.4 a 77 cm de LT, con un promedio de  $59.9 \pm 8.5$  cm de LT. Las hembras fueron de mayor tamaño con un intervalo entre 35 a 89 cm de LT y un promedio de  $66.4 \pm 11.1$  cm de LT (Figura 5). La distribución de frecuencias de longitud de los machos tuvo una moda a los 61 a 65 cm de LT, mientras que las hembras fueron más abundantes en el intervalo de 71

a 75 cm de LT (Figura 5). No se encontraron diferencias significativas en la distribución de longitudes entre sexos (Kolmogórov-Smirnov;  $p > 0.05$ ).



**Figura 5.** Composición de longitud de los machos y hembras de *Heterodontus francisci* de los organismos con muestras reproductivas en la laguna Ojo de Liebre, Baja California Sur, México, durante el periodo agosto 2016 – julio 2017.

### 3.3 Madurez sexual

Para analizar la madurez sexual de los machos se utilizaron las medidas del ancho de los testículos y la longitud de los cláspers. El promedio del ancho de los testículos fue de  $16.96 \pm 9.34$  mm, con un mínimo de 0.29 mm y máximo de 37.71 mm (Tabla 7). Considerando únicamente los organismos inmaduros el promedio del ancho de los testículos fue de  $3.19 \pm 3.18$  mm, mientras que para los organismos maduros el promedio fue de  $19.53 \pm 7.38$  mm. Para la longitud del cláspers se obtuvo un promedio de  $92.77 \pm 26.58$  mm, con un mínimo de 17 mm y máximo de 130 mm. Para los organismos inmaduros, el promedio fue de  $38.27 \pm 16.69$  mm, y para los organismos maduros el promedio fue de  $103.24 \pm 10.40$  mm (Tabla 7).

El macho más pequeño que se catalogó como maduro sexualmente tuvo una LT de 49.5 cm y el más grande, catalogado como inmaduro, tuvo una LT de 56.2 cm. Con el índice de madurez gonadal de los machos se obtuvo una  $L_{50}$  de 51.27 cm, que es una longitud ligeramente mayor que la  $L_{50}$  obtenida con el

índice del cláspere, que fue de 51.23 cm (Figura 6). Los valores obtenidos para las regresiones logísticas se muestran en la tabla 8.

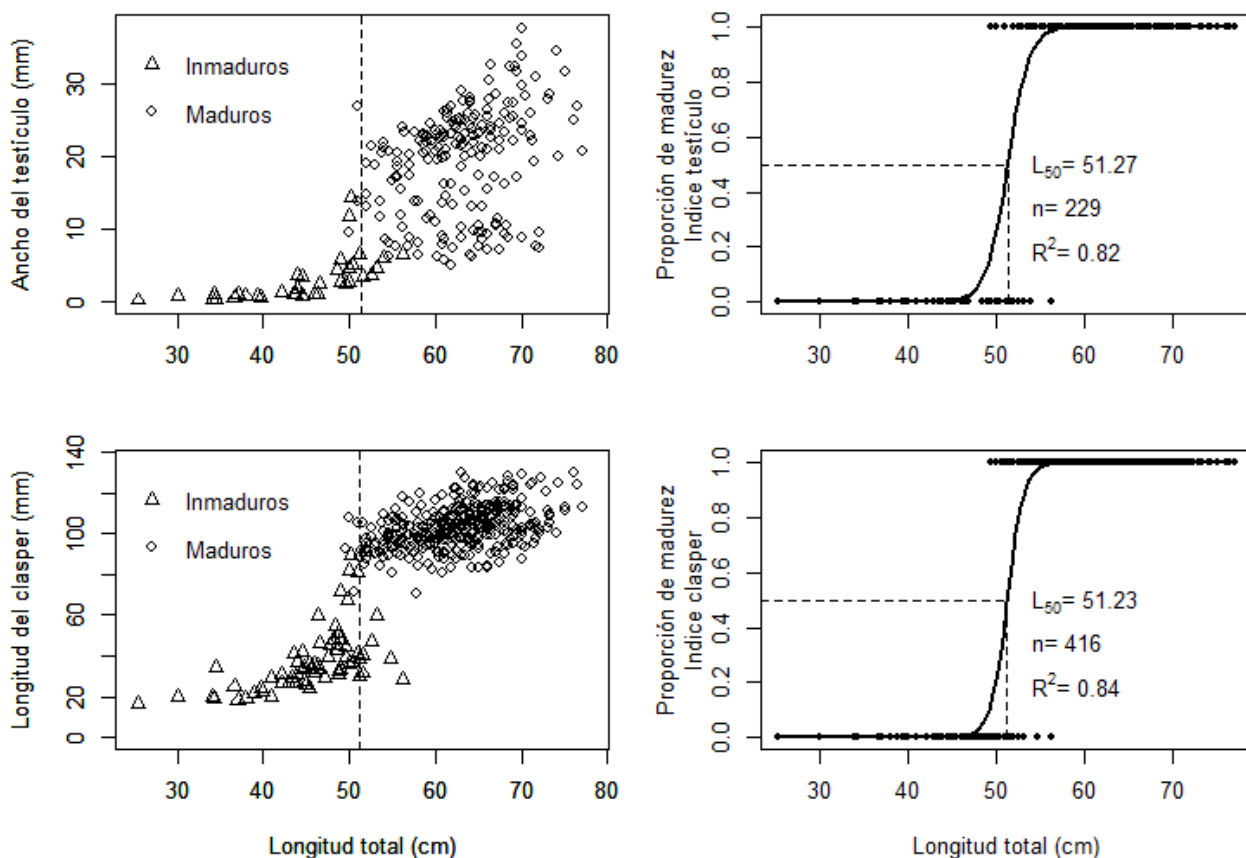
**Tabla 7.** Estadísticas descriptivas de las variables morfométricas utilizadas para los índices de madurez de machos y hembras de *Heterodontus francisci*.

Sexo	Variable morfométrica	Organismos	Promedio $\pm$ D.E. (mm)	Mínimo (mm)	Máximo (mm)	n
Machos	Ancho del testículo	Inmaduros	3.19 $\pm$ 3.18	0.29	14.57	35
		Maduros	19.53 $\pm$ 7.38	5.07	37.71	194
		Todos	16.96 $\pm$ 9.34	0.29	37.71	229
	Longitud del cláspere	Inmaduros	38.27 $\pm$ 16.69	17	91.5	67
		Maduros	103.24 $\pm$ 10.40	70.5	130	349
		Todos	92.77 $\pm$ 26.58	17	130	416
Hembras	Diámetro de los ovocitos	Inmaduros	1.52 $\pm$ 0.38	0.72	2.50	40
		Maduros	15.87 $\pm$ 7.08	4.15	32.06	215
		Todos	13.62 $\pm$ 8.34	0.72	32.06	255
	Ancho de la glándula oviducal	Inmaduros	3.97 $\pm$ 0.99	2.01	6.49	33
		Maduros	45.20 $\pm$ 12.58	18.61	76.31	216
		Todos	39.74 $\pm$ 18.27	2.01	76.31	249
	Ancho del útero	Inmaduros	3.92 $\pm$ 0.90	2.01	5.35	33
		Maduros	23.02 $\pm$ 8.54	10.87	58.18	214
		Todos	20.47 $\pm$ 10.28	2.01	58.18	247

**Tabla 8.** Longitud promedio de primera madurez sexual ( $L_{50}$ ) y parámetros de la regresión logística para los índices de madurez sexual de machos y hembras de *Heterodontus francisci*.

Sexo	Índice de madurez	$L_{50}$ (cm)	a	b	$R^2$	IC (cm)	n	p
Machos	Testículo	51.275	-42.256	0.824	0.82	51.270 - 51.281	229	<0.001
	Cláspere	51.235	-54.527	1.064	0.84	51.229 - 51.241	416	<0.001
Hembras	Ovocitos	53.736	-28.408	0.529	0.77	53.723 - 53.749	255	<0.001
	Glándula oviducal	53.502	-30.332	0.567	0.78	53.485 - 53.520	249	<0.001
	Útero	53.502	-30.332	0.567	0.78	53.485 - 53.520	247	<0.001



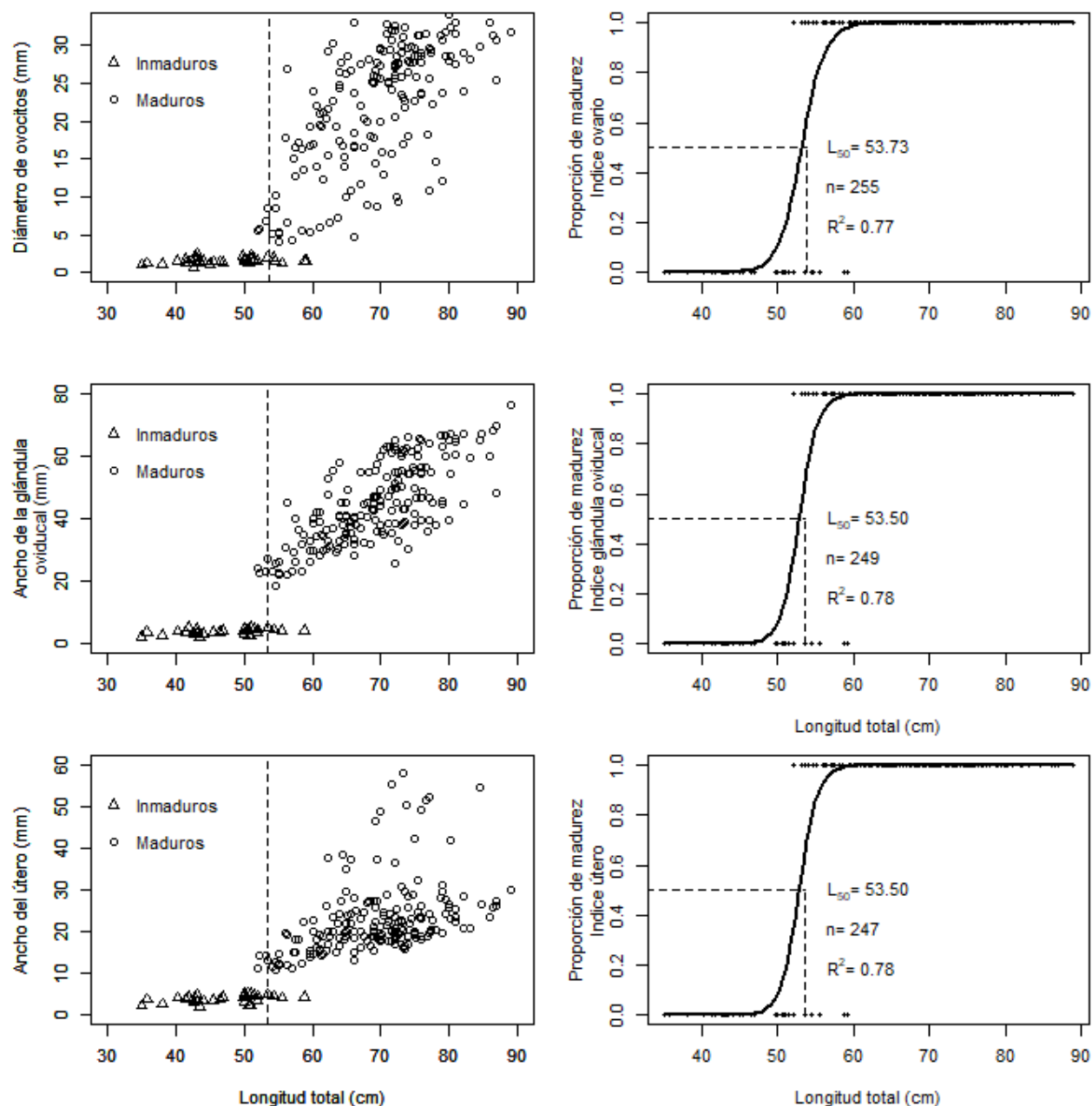


**Figura 6.** Relación del ancho de los testículos y la longitud del cláspes con la longitud total (izquierda), y ojivas de madurez para cada índice (derecha) en machos de *Heterodontus francisci*. La línea discontinua indica la  $L_{50}$ .

Las variables morfométricas registradas para determinar la madurez sexual de las hembras fueron el diámetro de los ovocitos, el ancho de la glándula oviducal y el ancho del útero. El promedio del diámetro de los ovocitos fue de  $13.62 \pm 8.34$  mm, con un mínimo de 0.72 mm y máximo de 32.06 mm. Considerando únicamente las hembras inmaduras, el promedio fue de  $1.52 \pm 0.38$  mm, mientras que para las hembras maduras el promedio fue de  $15.87 \pm 7.08$  mm. Para el ancho de la glándula oviducal se obtuvo un promedio de  $39.74 \pm 18.27$  mm, con un mínimo de 2.01 mm y máximo de 76.31 mm. Para las hembras inmaduras, el promedio fue de  $3.97 \pm 0.99$  mm, y para las hembras maduras el promedio fue de  $45.20 \pm 12.58$  mm. Por último, para el ancho del útero se obtuvo un promedio de  $20.47 \pm 10.28$  mm, con un mínimo de 2.01 mm y máximo de 58.18 mm. El promedio para las hembras inmaduras fue de  $3.92 \pm 0.90$  mm y para las hembras maduras fue de  $23.02 \pm 8.54$  mm (Tabla 7).

La hembra más pequeña, sexualmente madura, tuvo una LT de 52 cm y la más grande, catalogada como inmadura, tuvo 59.1 cm de LT. En las hembras, la  $L_{50}$  calculada con el índice de madurez gonadal, fue de

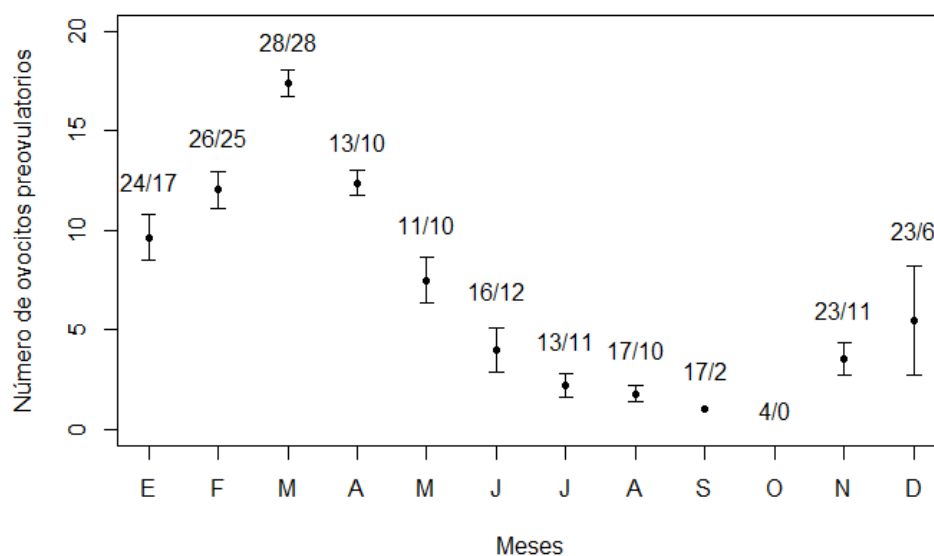
53.73 cm de LT. Para los índices de madurez del útero y la glándula oviducal se obtuvo una  $L_{50}$  de 53.50 cm de LT (Figura 7).



**Figura 7.** Relación del diámetro de los ovocitos, ancho de la glándula oviducal y ancho del útero con la longitud total (izquierda), y ojivas de madurez para cada índice (derecha) en hembras de *Heterodontus francisci*. La línea discontinua indica la  $L_{50}$ .

### 3.4 Fecundidad ovárica

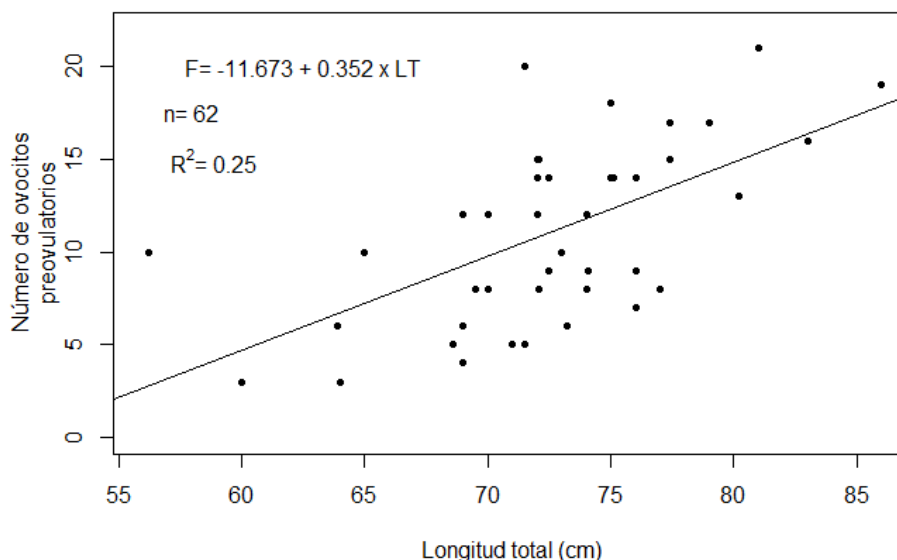
El tracto reproductivo de las hembras de *H. francisci* tiene dos úteros y dos glándulas oviducales funcionales, pero únicamente tiene un ovario funcional (derecho). El ovario contiene ovocitos en distintos estadios de desarrollo, lo que indica que tiene un desarrollo gonadal asincrónico (Nagahama *et al.*, 1995). El diámetro promedio de los ovocitos ovulatorios fue de  $33.61 \pm 1.78$   $\mu$ m, por lo que a los ovocitos preovulatorios se les estimó un diámetro de  $25.21$   $\mu$ m (75% del diámetro de los ovocitos ovulatorios, de acuerdo con Tovar *et al.*, 2007). Se encontraron ovocitos preovulatorios en todos los meses excepto octubre, cuando el número de hembras muestreadas fue muy reducido (4 hembras maduras sexualmente). El número promedio de ovocitos preovulatorios aumenta a partir del mes de noviembre alcanzando su máximo en marzo, para comenzar a decrecer en abril (Figura 8).



**Figura 8.** Promedio mensual del número de ovocitos preovulatorios (>25  $\mu$ m) en hembras de *Heterodontus francisci*. Barras de error estándar (ES) con  $\pm 1$  ES de la media. Sobre las barras aparece el número de hembras maduras / número de hembras con ovocitos preovulatorios.

Para cuantificar la fecundidad ovárica se utilizaron las hembras colectadas en los meses de febrero a abril, debido a que en este periodo se observaron los valores más altos en el conteo de los ovocitos preovulatorios y coincide con el inicio del periodo de desove, como se verá más adelante. Las hembras presentaron entre 3 y 22 ovocitos preovulatorios (promedio=  $14.4 \pm 4.5$ ). Se encontró una relación

significativa entre la fecundidad ovárica y el tamaño de las hembras ( $F = -11.673 + 0.352 * LT$ ,  $R^2=0.25$ ,  $n=62$ ,  $p<0.001$ ) (Figura 9).



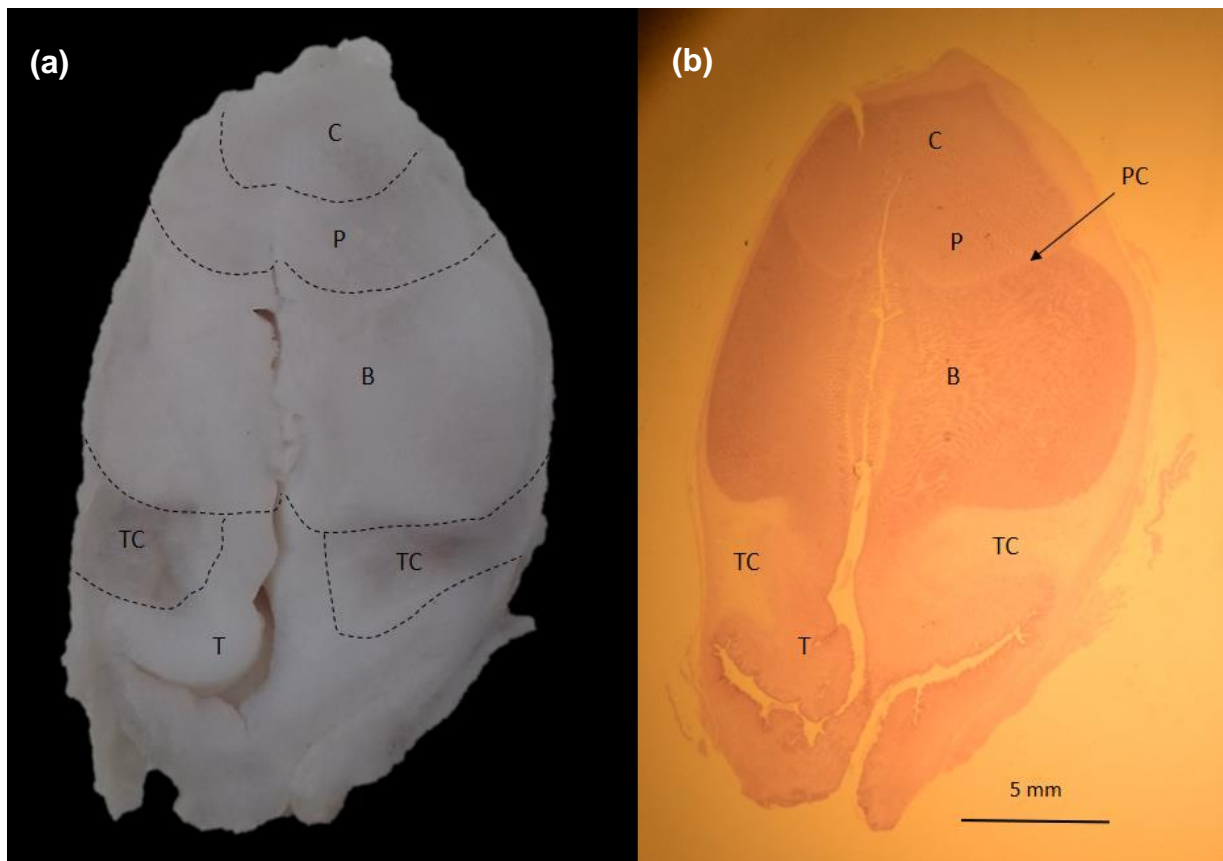
**Figura 9.** Relación entre el número de ovocitos preovulatorios y la longitud total de las hembras de *Heterodontus francisci*.

### 3.5 Glándulas oviduales

Se observaron al microscopio los cortes histológicos de un total de 80 glándulas oviduales, de las cuales 39 se utilizaron para observar la presencia de esperma como un indicativo de la longitud mínima de primer apareamiento (utilizando un intervalo de longitudes de 52 a 62.2 cm de LT) y 41 para observar si hay almacenamiento de esperma durante los meses donde se sugiere que no hay apareamiento (junio a agosto, como se menciona más adelante). Sin embargo, no se observó presencia de espermatozoides en ninguna de estas muestras.

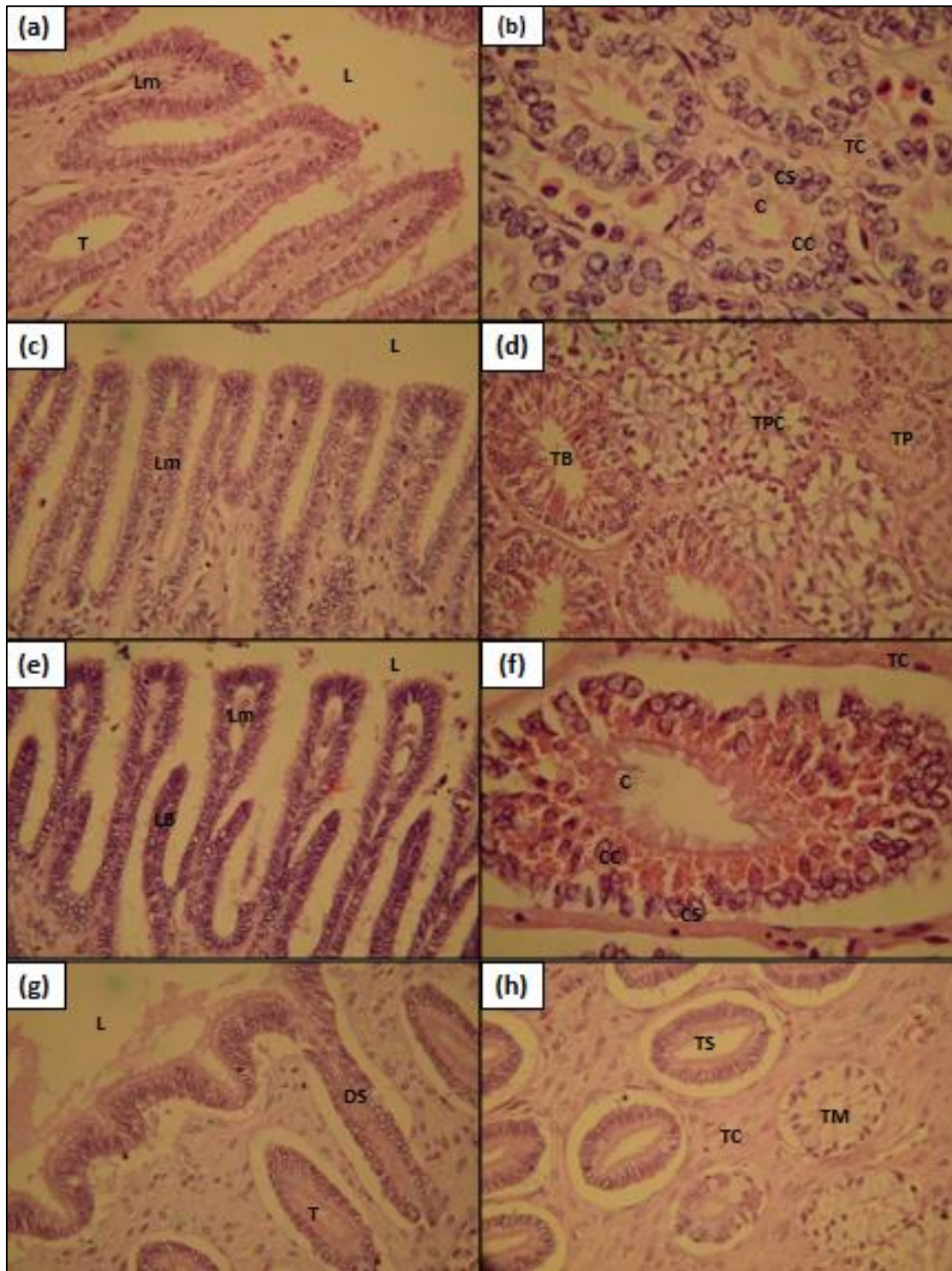
Con base en la descripción de las glándulas oviduales realizada por Hamlett *et al.* (1998, 2002) y Serra *et al.* (2011), se distinguieron cuatro zonas en las glándulas oviduales de *H. francisci* y se clasificaron siguiendo una dirección anteroposterior en: club, papilar, baffle y terminal (Figura 10). Las zonas se identificaron según la forma de las lamelas que recubren el lumen de la glándula y por los distintos túbulos que la conforman (Figura 11). Se observó que el epitelio de las lamelas y los túbulos fue similar en las cuatro zonas, compuesto por células ciliadas con núcleos apicales alargados y células secretoras con

núcleos basales redondos. Las lamelas de la zona club tienen forma irregular y algunas con forma de L (Figura 11a), mientras que las lamelas en la zona papilar son alargadas y digitiformes (Figura 11c). Los túbulos tanto de la zona club como de la papilar son similares (Figura 11b), a excepción de los túbulos de la zona papilar caudal, adyacentes a la zona bafle, que tienen más vacuolas (Figura 11d). Las lamelas de la zona bafle tienen dos tipos de proyecciones, las lamelas más grandes tienen forma de meseta y están rodeadas por un par de lamelas basales, denominadas placas deflectoras, que presentan una orientación oblicua (Figura 11e). Los túbulos de la zona bafle presentaban células secretoras con numerosos gránulos secretores en el citoplasma (Figura 11f). La zona terminal no presenta lamelas (Figura 11g) y se presentaron dos tipos de túbulos; Hamlett *et al.* (1998) distinguieron estos túbulos por el tipo de célula secretora que presentan, teniendo túbulos compuestos de células secretoras serosas y túbulos compuestos de células secretoras mucosas (células más vacuoladas) (Figura 11h). Los túbulos en esta zona se encuentran principalmente rodeados de tejido conectivo.



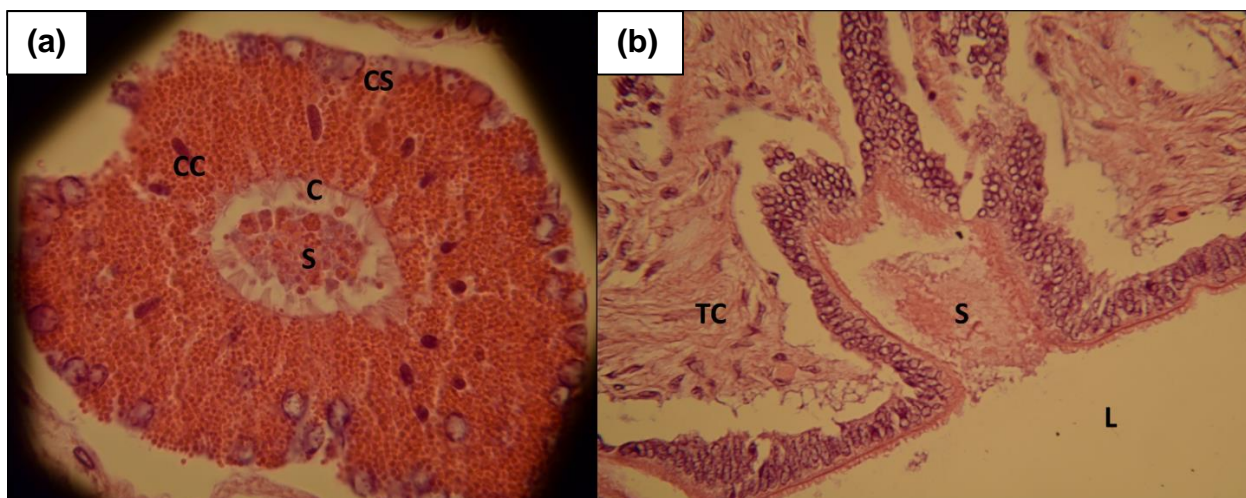
**Figura 10.** Sección longitudinal de la glándula oviducal de *Heterodontus francisci* (a) y tinción histológica con Hematoxilina-Eosina (b) donde se observa la zonación anteroposterior. C, zona club; P, zona papilar; PC, túbulos de la zona papilar caudal; B, zona bafle; T, zona terminal; TC, tejido conectivo.





**Figura 11.** Zonas de la glándula oviducal de *Heterodontus francisci* utilizando la tinción Hematoxilina-Eosina. (a) Lamelas de la zona club, 400x. (b) Túbulos de la zona papilar, 1000x. (c) Lamelas de la zona papilar, 400x. (d) Túbulos de la zona papilar caudal, 400x. (e) Lamelas de la zona baffle, 400x. (f) Túbulo de la zona baffle, 1000x. (g) Estructura de la zona terminal con la abertura de ductos secretores hacia el lumen, 400x. (h) Túbulos secretores serosos y mucosos de la zona terminal, 400x. L, lumen; Lm, lamela; T, túbulo, C, cilios; CC, células ciliadas; CS, células secretoras; TC, tejido conectivo; TPC, túbulo de la zona papilar caudal; TP, túbulo de la zona papilar; TB, túbulo de la zona baffle; LB, lamela basal; DS, ducto secretor.

De las 80 glándulas oviducal observadas, 34 tuvieron secreciones en los túbulos de la zona terminal, 44 en los túbulos de la zona bafle y 4 en los túbulos de la zona club-papilar (Figura 12). Así también, algunas de estas glándulas presentaron las mismas secreciones entre las lamelas y el lumen. Las secreciones fueron más abundantes en los túbulos de la zona bafle y en las glándulas de las hembras capturadas en el periodo de junio a agosto.



**Figura 12.** (a) Túbulo de la zona bafle (1000x) y (b) epitelio de la zona terminal (400x) de glándulas oviducal de *Heterodontus francisci*, utilizando la tinción Hematoxilina-Eosina. S, secreción; CC, células ciliadas; CS, células secretoras; C, cilios; TC, tejido conectivo; L, lumen.

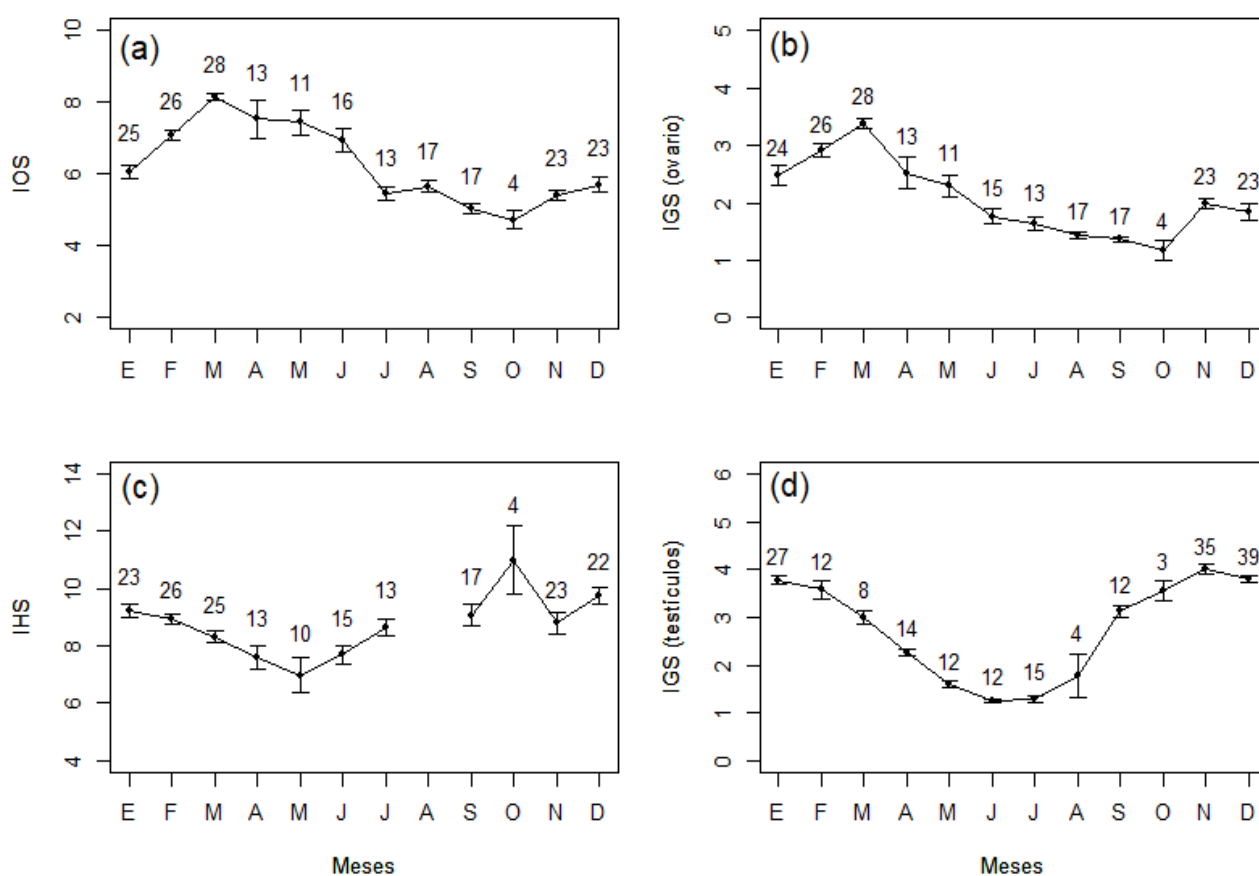
### 3.6 Ciclo reproductivo

Los resultados del análisis de los órganos reproductores de las hembras sugieren que el periodo de desove inicia en febrero y concluye en junio, ya que en esta temporada se encontraron 14 hembras con cápsulas de huevos en los úteros. En febrero solamente se encontró una hembra con cápsulas de huevos. La longitud total de esta hembra (79 cm de LT) se ubicó en el cuartil superior (75%) de la distribución de longitudes de las hembras con huevos de todo el periodo de desove (62.2 – 84.5 cm de LT), colocándola como la cuarta hembra más grande con cápsulas de huevos.

El IOS fue mayor en marzo ya que las glándulas oviducal son más anchas en este mes para recibir a los óvulos (Figura 13a). Los valores del IOS son mayores hasta el mes de junio, cuando termina el periodo de desove, para el mes de octubre alcanzan su valor mínimo. Se encontraron diferencias significativas en los valores de IOS durante el periodo de desove, de febrero a junio, comparado con el periodo de julio a enero

(Kruskal-Wallis;  $p < 0.05$ ). Esto sugiere que el inicio de la ovulación se da en el mes de febrero, concordando con el inicio del periodo de desove.

Asimismo, el IGS en las hembras alcanza su valor máximo en marzo y su mínimo en octubre (Figura 13b). Se encontraron diferencias significativas en el IGS en el periodo de febrero a mayo, cuando alcanza los mayores valores, comparado con los meses de junio a enero (Kruskal-Wallis;  $p < 0.001$ ). Se puede considerar que en marzo hay un incremento en la frecuencia de desoves, ya que la cantidad de ovocitos preovulatorios y los valores de IOS e IGS fueron mayores en este mes para posteriormente decrecer (Figura 8, 13a y b).



**Figura 13.** Cambios mensuales en los índices oviducalsomático (IOS), gonadosomático (IGS) y hepatosomático (IHS) para hembras (a, b, c), y en el IGS para machos (d) de *Heterodontus francisci*. Barras de error estándar (ES) con  $\pm 1$  ES de la media. La cantidad de organismos maduros aparece sobre las barras.



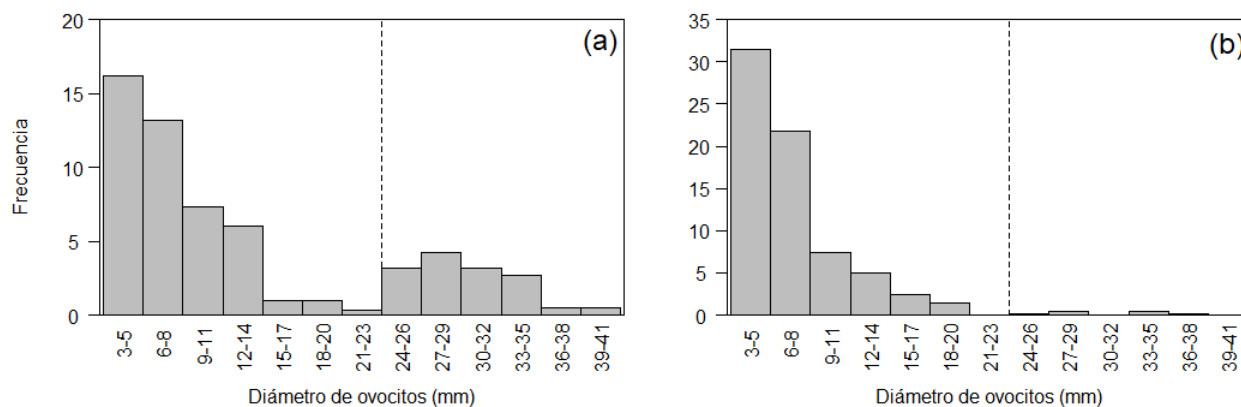
El IHS tiene una relación inversa con el IGS en las hembras ( $IHS = 0.123 - 1.121 * IGS$ ,  $R^2=0.61$ ,  $n=11$ ,  $p<0.05$ ). El IHS tiene sus valores mínimos en mayo y máximos en octubre para comenzar a disminuir a partir de noviembre (Figura 13c). Considerando tanto el IGS como el IHS, se propone que el periodo de desarrollo folicular es de noviembre a junio, debido a que en junio aún hay desoves y los ovocitos que serán ovulados en este mes aún pueden continuar en desarrollo. Al inicio de este periodo en noviembre se observa que los valores de IGS comienzan a aumentar y el IHS a disminuir. Se propone que el periodo de menor actividad gonadal es de julio a octubre, en donde la mayor parte de la energía obtenida del alimento puede ser destinada a la acumulación de sustancias de reserva. Al inicio de este periodo, en julio, los valores de IHS se encuentran en aumento, hasta llegar a su máximo en octubre y el IGS alcanza su valor mínimo en el mismo mes. No se tuvieron datos del peso del hígado en el mes de agosto.

El periodo de encapsulamiento ocurre simultáneamente con el periodo de desove. En el mes de marzo se encontró una hembra de 80.1 cm de LT con cápsulas de huevos en los úteros y cápsulas formándose en las glándulas oviducuales, aún sin el óvulo dentro de la cápsula o en el oviducto (ver Anexos). Esto sugiere que la formación de la cápsula del huevo inicia antes de la ovulación. Las cápsulas en formación tenían una longitud promedio de 4.25 cm, representando un 41.5% de la longitud de las cápsulas en el útero (10.25 cm).

Al comparar las modas de las frecuencias de los ovocitos en el ovario, durante y después del periodo de desove (Figura 14), se encontró una marcada separación entre los ovocitos preovulatorios ( $\geq 25$  mm) y aquellos de menor diámetro durante el periodo de desove. Así también, al término del periodo de desove ya no se observa una moda para los ovocitos preovulatorios, debido a que ya fueron ovulados y solo se conservan en el ovario los ovocitos con diámetros menores. Se encontraron diferencias significativas entre las frecuencias con diámetros  $\leq 8$  mm y aquellas con diámetros  $> 8$  mm, durante y después del periodo de desove (Kruskal-Wallis;  $p<0.01$ ). Así también, hay un aumento en el número de ovocitos con diámetros  $\leq 8$  mm al concluir el periodo de desove. De modo que, esto podría estar relacionado con una separación de las cohortes en el ovario, proponiendo la existencia de al menos dos cohortes, en donde los ovocitos  $\geq 25$  mm (preovulatorios) están separados de los diámetros menores, tal como se observa la separación con una línea punteada en la Figura 14.

Durante los meses de septiembre a noviembre y de febrero a mayo, se registraron marcas de apareamiento, tales como mordidas en las aletas pectorales de las hembras y hematomas en los cláspers de los machos. A pesar de que en diciembre y enero no fue posible registrar marcas de apareamiento, se considera que también pudo haber cópula, debido a los altos valores de IGS en los machos durante estos

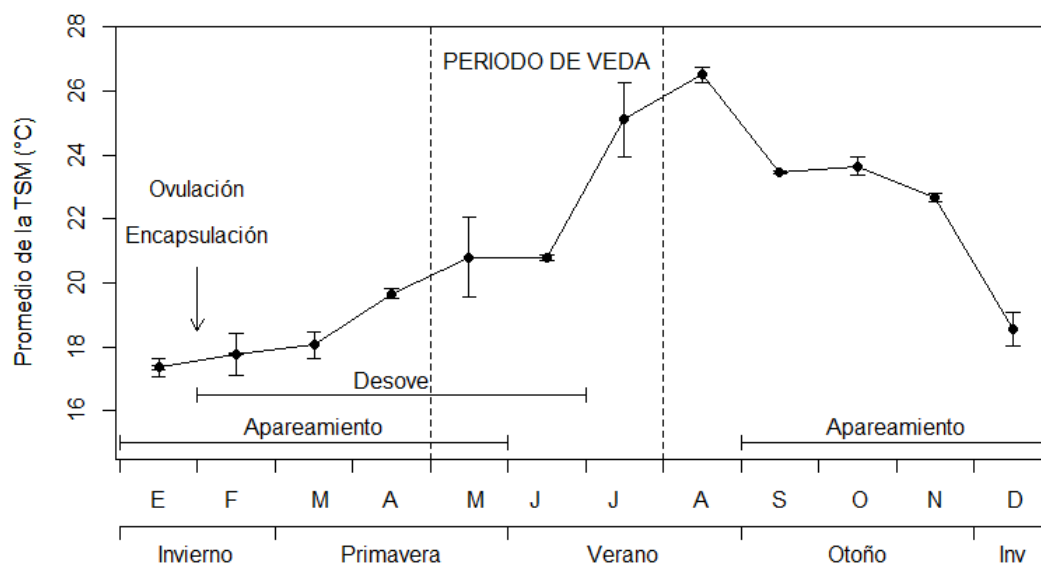
meses (Figura 13d). El IGS en machos tuvo su valor máximo en noviembre y el mínimo en junio. Se observó una tendencia al incremento en el IGS a partir de septiembre y a partir de abril se redujo en forma gradual. Se encontraron diferencias significativas en el IGS en el periodo de abril a agosto, en comparación con el periodo de noviembre a febrero, que tiene los mayores valores del IGS (Kruskal-Wallis;  $p < 0.001$ ). Estos resultados indican que el periodo de apareamiento en *H. francisci* puede abarcar nueve meses, con un periodo sin apareamiento de junio a agosto que coincide con el periodo de menor actividad gonadal en las hembras (julio-octubre).



**Figura 14.** Distribución del diámetro de ovocitos en el mes de marzo, durante el periodo de desove (a) y en julio, posterior al desove (b). Línea punteada indica la separación de las modas de los diámetros de los ovocitos.

### 3.7 Temperatura superficial del mar (TSM) y periodo de veda

El promedio de la TSM en la laguna Ojo de Liebre alcanzó su valor mínimo en enero, con 17.4 °C. A partir de este mes, la temperatura comienza a incrementarse alcanzando su valor máximo en agosto, con 26.5 °C. Comparando el promedio de la TSM de la laguna con los periodos del ciclo reproductivo de *H. francisci*, se observa que la ovulación inicia a finales de invierno (febrero), con una temperatura de 17.8 °C (Figura 15). En este mes la temperatura del agua se está incrementando, después de alcanzar el mínimo durante el mes de enero (17.4 °C). Asimismo, inicia el periodo de desove, que se prolonga hasta principios de verano (junio), mientras la temperatura continúa incrementándose hasta alcanzar los 20.8 °C. Este periodo coincide con los meses en donde se han reportado surgencias más intensas para la Bahía Sebastián Vizcaíno (enero-junio), la cual tiene una interacción directa con la laguna Ojo de Liebre (Wyllie, 1960).



**Figura 15.** Cambios mensuales en el promedio de la temperatura superficial del mar (TSM) de la laguna Ojo de Liebre y periodos del ciclo reproductivo de *Heterodontus francisci*. Las líneas discontinuas marcan el inicio y final del periodo de veda (mayo-julio). Barras de error estándar (ES) con  $\pm 1$  ES de la media.

El periodo de desove se traslapa parcialmente con el periodo de veda en los meses de mayo y junio, por lo que las hembras que se encuentran desovando podrán evitar ser capturadas por los pescadores en este periodo.

El periodo de apareamiento inicia a principios de otoño (septiembre) con una temperatura de 23.4 °C. Durante este mes la temperatura va en descenso, después de haber tenido las temperaturas más altas en agosto (26.5 °C). Los valores del IGS más altos en machos se registraron en los meses de noviembre a febrero, cuando las temperaturas son menores. El periodo de apareamiento, que inició en septiembre, se prolonga hasta finales de primavera (mayo) y culmina cuando la temperatura se incrementa hasta alcanzar los 20.8 °C en este mes.

## Capítulo 4. Discusión

---

### 4.1 Composición de longitud, peso y proporción sexual

Los estudios relacionados con la reproducción de *H. francisci* son limitados (Dempster y Herald, 1961; Strong, 1989), este estudio es el primero que abarca con más detalle la biología reproductiva para esta especie durante un ciclo anual.

El intervalo de longitudes de los organismos muestreados en este estudio permitió realizar una estimación robusta de la reproducción de *H. francisci* robusta, ya que el intervalo de LT representativo de la población para machos (25.4 a 77 cm de LT) y hembras (35 a 89 cm de LT) se acerca a las LT máximas reportadas, que para los machos es de 83 cm y para las hembras de 96 cm (Ebert *et al.*, 2013).

*H. francisci* tiene dimorfismo sexual, ya que las hembras tienen una mayor longitud en comparación con los machos. Esta condición es común en varias especies de elasmobranquios, incluyendo el género *Heterodontus*, en donde las hembras alcanzan mayores longitudes (Jones *et al.*, 2008; Medellín, 2006; Tovar *et al.*, 2007). De manera general, Cortés (2000), analizó 230 poblaciones de tiburones de 164 especies y encontró que la longitud total máxima en los machos fue 10% más pequeña que la de las hembras. Este porcentaje es similar al observado en este estudio para *H. francisci*, ya que considerando la LT máxima, los machos son 13.5% más pequeños que las hembras.

En el mismo sentido, el peso de las hembras también es mayor que el de los machos y se ve afectado por la condición reproductiva, ya que la diferencia se acentúa cuando los organismos alcanzan la longitud de primera madurez sexual. Este proceso también fue observado en *Galeus melastomus* por Bello *et al.* (2015), las hembras incrementan su peso más rápidamente a partir de una longitud que coincide con el inicio de la vitelogénesis. Estos autores proponen que este incremento está relacionado con la acumulación de los productos sexuales en órganos como el ovario y el útero, por lo que estos órganos acumulan más masa, algo similar ocurre con otros órganos, como el hígado. El mayor aumento de volumen en el hígado en las hembras, producto de la acumulación de reservas, sugiere que tienen una mayor demanda energética en la reproducción. El hígado es el órgano encargado de la síntesis de vitelogenina, la cual es la proteína precursora del vitelo almacenado en los ovocitos durante la vitelogénesis (Lutton *et al.*, 2005).

La proporción sexual 1:1 (machos:hembras) es la que se espera encontrar comúnmente en las poblaciones naturales (Piferrer, 2009). Para *H. francisci* esta proporción se presentó la mayor parte del año, no se encontraron diferencias significativas de septiembre a marzo y en junio. Sin embargo, en abril y mayo se encontraron más machos y de junio a agosto más hembras. A pesar de no haber diferencias significativas en julio, la proporción de hembras es considerablemente más alta (1:1.47) que en otros meses en donde tampoco hubo diferencias. A partir de esto se puede considerar que en el periodo de abril a agosto no estuvieron presentes ambos sexos en el área de muestreo. Esto concuerda con el periodo que presentó valores más bajos del IGS en los machos, por lo que la actividad reproductiva disminuye y se considera que hay escaso o nulo apareamiento. Aunque se encontraron marcas de apareamiento como hematomas en los cláspers en los meses de abril y mayo, en este último mes los hematomas fueron menos frecuentes (2 machos). Lo que sugiere que en esta especie ambos sexos podrían reunirse en las mismas áreas en el periodo de apareamiento y al término de dicho periodo separarse para reducir la competencia por alimentación. Ya que como menciona Acevedo (1997), *H. francisci* es una especie de amplia distribución dentro de la laguna que se desplaza principalmente en busca de alimento.

Para tener un mejor entendimiento del uso del hábitat en la laguna Ojo de Liebre para cada sexo, se propone realizar estudios de ecología espacial, tal como se han realizado en la costa sureste de Australia para *H. portusjacksoni*. Esta especie tiene una conducta filopátrica para ambos sexos, no obstante, se registran migraciones totales y parciales al término de la temporada reproductiva. Los machos comienzan la migración antes que las hembras (Bass *et al.*, 2017; Powter y Gladstone, 2009). Por lo anterior, es posible que los residentes de *H. francisci* de la laguna Ojo de Liebre presenten algún tipo de migración y que cada sexo inicie la migración en meses distintos, lo que resulta en una diferencia en las proporciones sexuales dentro la laguna para ciertos meses.

## 4.2 Madurez sexual

Ebert *et al.* (2013) argumentan que los machos de *H. francisci* maduran por primera vez cuando tienen una LT de 56 a 61 cm, esto concuerda con Strong (1989) quien reportó una LT de primera madurez igual para los machos en la Isla Santa Catalina, California, utilizando el índice del cláspers. Estas longitudes son mayores a la encontrada en este estudio (51.23 cm de LT). De igual forma, Ebert *et al.* (2013) argumentan que las hembras maduran por primera vez cuando tienen una LT mayor que 58 cm, que es mayor a la

calculada con los diferentes índices utilizados este estudio (53.73 cm de LT para el índice del ovario y 53.502 cm de LT para el índice de la glándula oviducal y el útero).

Las diferencias en las longitudes de primera madurez reportadas para esta especie (Ebert *et al.*, 2013; Strong, 1989) pueden deberse a la localización del área de cada estudio. Se ha reportado que la  $L_{50}$  para una misma especie, puede ser diferente debido a la variación latitudinal (Parsons, 1993; Yamaguchi *et al.*, 2000). Si bien el efecto de la latitud en la morfología de los elasmobranquios no se ha estudiado exhaustivamente, algunas poblaciones de tiburones muestran cambios en el crecimiento, que producen diferencias fenotípicas en el tamaño y edad de madurez sexual y que están asociadas a las diferencias latitudinales de temperatura y fotoperiodo (Parsons *et al.*, 2008).

Además, la diferencia en la longitud de primera madurez sexual puede ser resultado de una mayor presión pesquera (Saborido, 2008). Se ha propuesto que la pesca puede actuar como una fuerza de selección, tomando en cuenta que si la longitud de primera madurez sexual es un rasgo heredable, se seleccionaría el genotipo que madure sexualmente con una longitud menor, dando como resultado un aumento en el número de individuos reproductores de menor tamaño, que compensa la pérdida de biomasa reproductora (Saborido y Kjesbu, 2005).

#### **4.2.1 Implicaciones de la diferencia en la longitud de primera madurez sexual**

En este estudio se encontró que los machos de *H. francisci* maduran cuando tienen una longitud menor, comparado con las hembras. Cortés (2000) encontró que, de manera general, las hembras de tiburón maduran a una longitud mayor que la de los machos y que la  $L_{50}$  es mayor en el sexo que tiene una longitud máxima más grande. De acuerdo con este autor, la diferencia se puede deber a la necesidad de que las hembras alcancen un tamaño mayor para mantener una mayor fecundidad, por lo que invierten energía en el crecimiento antes que en la reproducción, lo que origina un retraso en el inicio de la madurez sexual en las hembras.

### 4.3 Fecundidad ovárica

La fecundidad ovárica anual en este estudio se estima entre 3 y 22 ovocitos preovulatorios, con un promedio de 14. Para *H. portusjacksoni*, Tovar *et al.* (2007) estimaron que la fecundidad ovárica se encuentra entre 6 y 20 ovocitos preovulatorios (promedio= 14). Mientras que, Powter y Gladstone (2008) reportaron entre 12 y 20 ovocitos preovulatorios (promedio= 16). Para *H. mexicanus* la fecundidad ovárica es de 6 ovocitos preovulatorios en promedio (Domínguez, 2015). Por lo tanto, la fecundidad de *H. francisci* se asemeja más a la de *H. portusjacksoni*. Esto puede deberse a que en la estimación de fecundidad realizada por Domínguez (2015) para *H. mexicanus*, se aclara que puede existir incertidumbre en este parámetro ya que el número de muestra es pequeño ( $n= 14$ ).

Este conjunto de especies tiene una fecundidad reducida, comparada con otras especies de tiburones ovíparos, como *Scyliorhinus canicula*, que tiene una fecundidad ovárica de hasta 46 ovocitos (Ellis y Shackley, 1997) o *Chiloscyllium punctatum*, ya que cada hembra pone un promedio de 115 huevos por temporada (Harahush *et al.*, 2007).

#### 4.3.1 Relación de la fecundidad con el tamaño de la hembra

La fecundidad ovárica aumenta conforme aumenta la LT. Esto es algo que se ha comprobado en algunas especies de tiburones, donde las hembras más grandes tienden a producir más descendencia, el mismo número de descendientes (posiblemente más grandes), o descendencia tanto mayor como más grande (Cortés, 2000). Las hembras deben acumular una suficiente cantidad y calidad de reservas alimenticias para garantizar el éxito reproductivo. Si las reservas son escasas el proceso de acumulación de vitelo en los ovocitos puede fallar o producirse atresia en los ovocitos ya vitelados. También, al aumentar la longitud, mejora la cantidad y calidad de los nutrientes del vitelo y con esto, la viabilidad de los huevos (Saborido y Kjesbu, 2005). La diferencia en las reservas acumuladas para las hembras de este estudio, podría explicar la alta variabilidad en la fecundidad para una misma longitud, que se reflejó en un valor del coeficiente de determinación  $R^2=0.25$ .

Por otra parte, al término del periodo de desove (junio), una hembra tenía cápsulas de huevos visiblemente más angostas que las cápsulas observadas anteriormente. Sin embargo, no es posible contrastar formalmente este dato, debido a que la única medida tomada a las cápsulas de los huevos fue

la longitud. Por lo tanto, para futuras investigaciones se recomienda pesar los huevos obtenidos durante el periodo reproductivo, ya que en especies con múltiples puestas como *H. francisci*, el tamaño del huevo disminuye a lo largo de la estación reproductiva, es decir en cada puesta, esto se debe a que la cantidad de reservas puede disminuir conforme avanza la temporada de desove, lo que puede afectar la viabilidad de los huevos (Saborido, 2008).

En este sentido, es importante realizar nuevas investigaciones para conocer la cantidad de huevos viables de *H. francisci* en la laguna Ojo de Liebre, ya que este es un valor que influye directamente en el reclutamiento. Se ha reportado que en esta especie, únicamente el 24% de los huevos fueron viables en la Isla Santa Catalina, California (Strong, 1989) y para *H. portusjacksoni* también se ha registrado una mortalidad embrionaria del 89.1%, aunque la mayor parte de este porcentaje es por cápsulas afectadas por depredación o daño mecánico, y únicamente el 0.5% carecían de vitelo o éste se encontraba en descomposición (Powter y Gladstone, 2008b). Esta condición, sumada a la reducida fecundidad, podría ser perjudicial para el reclutamiento en la especie.

#### **4.4 Glándula oviducal**

La estructura de la glándula oviducal de *H. francisci* es similar a la que se ha observado en otros condrictios (Hamlett *et al.*, 1998; Hamlett *et al.*, 2002; Serra *et al.*, 2011) y son las especies ovíparas como *H. francisci*, las que presentan las glándulas oviducal más grandes (Hamlett *et al.*, 2005).

La mayor acumulación de secreciones en los túbulos de las glándulas se observó en la zona bafle, seguida de la zona terminal. Este patrón puede estar relacionado con la producción de las cápsulas de los huevos, que se da en la zona bafle (Hamlett *et al.*, 2005) y se ha sugerido que, el almacenamiento de espermatozoides ocurre en la zona terminal, para lo cual, se elabora una matriz luminal que sostiene, nutre y mantiene a los espermatozoides hasta que se liberan para la fertilización (Hamlett *et al.*; 2002). Sin embargo, en este estudio no se observó la presencia de espermatozoides en la zona terminal y la mayoría de las secreciones de los túbulos se presentaron en el periodo de junio a agosto, periodo que corresponde al término del desove o a una etapa posterior. Hamlett *et al.* (2002) también encontraron secreciones en la zona bafle cuando no se estaban produciendo cápsulas de huevos, y proponen que las secreciones en las glándulas oviducal puede ser un proceso continuo, conocido como secreción constitutiva, que se da en todos sus



tipos celulares. En este sentido, esto podría explicar la presencia de secreciones en los túbulos de la zona terminal, aun cuando no se observó la presencia de espermatozoides.

La ausencia de espermatozoides en las glándulas oviducuales durante el periodo de junio a agosto sugiere que no hubo apareamiento durante estos meses y los espermatozoides fueron utilizados durante el periodo de desove previo. Los espermatozoides que no fueron utilizados para la fertilización pudieron ser expulsados de la glándula oviducal junto con la secreción de la cápsula del huevo (Metten, 1939), ya que se ha propuesto que el esperma almacenado en la zona terminal puede movilizarse hacia el oviducto anterior bajo la estimulación de hormonas asociadas a la ovulación, en esta región del oviducto probablemente ocurre la fertilización antes de que el huevo sea envuelto en la albumina (Hamlett *et al.*, 2002).

Los resultados de este estudio sugieren que el periodo de apareamiento inicia en septiembre, antes del desove, por lo que puede ocurrir el almacenamiento de esperma en las glándulas oviducuales a partir de este mes y hasta el desove. De acuerdo con los patrones de inseminación propuestos por Pratt (1993), el almacenamiento de esperma, que puede abarcar desde semanas hasta meses, se considera como almacenamiento a corto plazo y puede presentarse en especies como *S. canicula*, *Prionace glauca* y *Rhizoprionodon terraenovae* (Pratt, 1993). Para *H. francisci*, un almacenamiento de esperma por un tiempo más prologado puede ser innecesario, ya que ambos sexos se encuentran en la laguna durante todo el año, por lo que no hay una separación temporal o geográfica (Storrie *et al.*, 2008). Esto contrasta con especies de tiburones pelágicos como *Sphyrna lewini* o *P. glauca*, con un estilo de vida nómada, en donde la glándula oviducal actúa como un verdadero depósito seminal que permite la fertilización tardía (Pratt, 1993). Sin embargo, para conocer si efectivamente existe un periodo de almacenamiento de esperma, es necesario realizar estudios de las glándulas oviducuales a lo largo de todo el ciclo reproductivo. En este estudio, por razones presupuestales, no fue posible procesar con técnicas histológicas todas las glándulas oviducuales de un año de muestreo, por lo que fue necesario escoger solo un periodo del ciclo reproductivo, así como también un intervalo de longitudes limitado, para inferir la longitud mínima de primer apareamiento a través de la presencia de esperma.

Se propone que la longitud mínima de primer apareamiento es de 62.2 cm de LT, que corresponde a la hembra más pequeña encontrada con cápsulas de huevos en el útero. Esto indica que probablemente las hembras de longitudes menores, aun siendo maduras sexualmente, no se habrían reproducido durante el periodo que abarcó este estudio. Sin embargo, se recomienda tomar este resultado con discreción, ya que es necesario incrementar el número de muestras en el análisis histológico, para no sobreestimar este valor,

ya que el tamaño de muestra mensual utilizado fue insuficiente, principalmente durante el periodo de desove (7 hembras). Es en este periodo en el que probablemente se hubiera encontrado la presencia de esperma, ya que en otros estudios se ha observado esperma en las glándulas, principalmente durante el periodo de mayor actividad reproductiva, tal como el desove o la gestación (Hamlett *et al.*, 2002; Serra *et al.*, 2011; Storrie, 2004). Cabe señalar que el conocimiento preciso de la longitud mínima de primer apareamiento puede ayudar a no sobreestimar el reclutamiento en los modelos de dinámica poblacional, tal como se ha propuesto para *Galeorhinus galeus* (Walker, 2005).

#### **4.4.1 Formación de la cápsula**

La formación de la cápsula del huevo se registró en una hembra que aún no desovaba y que tenía en formación nuevas cápsulas en las glándulas oviducuales (ver Anexos). La cápsula en formación tenía aproximadamente un 40% de la longitud promedio de una cápsula terminada y aún no se observó la presencia del óvulo en la glándula oviducal o en el oviducto. Esto indica que la formación de la cápsula del huevo inicia antes de la ovulación. Se ha reportado que cuando los óvulos se encuentran en el celoma o en el oviducto superior de *S. canicula*, la secreción de la cápsula se encontraba a la mitad o menos (Metten, 1939). Considerando esta información, es posible que faltará poco tiempo para que ocurriera la ovulación en la hembra de *H. francisci*. Por otra parte, en las rayas, el óvulo se ha encontrado en el oviducto superior, entre el ostium y la glándula oviducal, en el momento en que la formación de la cápsula del huevo estaba completada en tres cuartas partes (Hobson, 1930).

#### **4.5 Ciclo reproductivo**

*H. francisci* tiene un desarrollo ovárico de tipo asincrónico, ya que se encontró un desarrollo heterogéneo de los ovocitos. Este patrón concuerda con el ritmo de los desoves, que ocurren en tandas sucesivas durante un periodo relativamente prolongado (Nagahama *et al.*, 1995), el cual es de al menos cinco meses para esta especie. Este puede ser favorable para la especie, ya que un periodo de desove prolongado aumenta la posibilidad de que algunos individuos eclosionen en las condiciones óptimas para su supervivencia (Saborido y Kjesbu, 2005).

Se encontró que el periodo de desove anual para *H. francisci* es de al menos cinco meses, con el inicio de la ovulación, encapsulación y desove a finales de invierno (febrero). El hallazgo de sólo una hembra de gran tamaño con cápsulas de huevos en el mes de febrero, sugiere que su periodo de desove pudo comenzar antes que el de la mayoría de la población. Es común que, en varias especies de peces, las hembras de mayor tamaño empiecen a desovar anticipadamente y su reproducción se prolongue durante más tiempo que en las más jóvenes (Hutchings y Myers, 1993). Esta condición puede estar relacionada con el aumento de la fecundidad conforme aumenta la LT, ya que las hembras más grandes necesitarían más tiempo para desovar todos los huevos durante un periodo óptimo para su supervivencia.

Se ha propuesto que la desaparición de los miembros más grandes de la población produce un acortamiento del periodo reproductivo (Hutchings y Myers, 1993). Aunque no es el caso de *H. francisci*, si se presentara una situación similar, sería necesario tomar medidas de manejo, tal como el establecimiento de límites de captura total permisible (CTP), que ayuden a que un mayor porcentaje de las hembras alcancen sus longitudes máximas, para alargar la duración del periodo de desove y aumentar el reclutamiento (Pope, 2005).

El periodo de apareamiento puede abarcar de septiembre a mayo, como lo indican el incremento en los valores de IGS en los machos y las marcas de apareamiento encontradas mensualmente. Por lo tanto, el apareamiento puede ocurrir antes y durante el periodo de desove. Esto sugiere que puede existir almacenamiento de esperma en las glándulas oviducuales antes del inicio de la ovulación para asegurar la fertilización de los huevos. Otros autores han propuesto lo mismo para *H. portusjacksoni*, ya que se han observado apareamientos antes de la ovulación (Jones *et al.*, 2008; Tovar *et al.*, 2007).

Un periodo de apareamiento prolongado antes del periodo de desove, también puede ser indicativo de que los machos se aparean con varias hembras para maximizar el éxito reproductivo. Esto se ha comprobado en organismos de *H. francisci* que se mantienen en cautiverio, donde se observó que un mismo macho busca copular con varias hembras (Dempster y Herald, 1961). Así también, usando análisis genéticos se ha demostrado que al menos tres machos engendran una misma camada en *Negaprion brevirostris* (Feldheim *et al.*, 2001), y que al menos cuatro machos contribuyen a una progenie de 32 crías en *Ginglymostoma cirratum* (Saville *et al.*, 2002).

#### 4.5.1 Relación con factores ambientales

En este estudio el periodo de desove inició a finales de invierno y abarcó los meses en donde la temperatura en la laguna Ojo de Liebre se está incrementando, concluyendo dicho periodo en junio, a principios de verano. Para *H. portusjacksoni* en el sureste de Australia se ha reportado la misma estacionalidad en el periodo de desove, iniciando la ovulación y el desove a finales de invierno y concluyendo en verano (Jones *et al.*, 2008; Tovar *et al.*, 2007). De manera general, Salomón *et al.* (2009) reportan que el 71% de las especies de tiburones de importancia comercial en el Golfo de California completan su ciclo reproductivo durante las estaciones de primavera y verano.

El periodo de desove para *H. francisci* concuerda con el periodo de enero a junio cuando las surgencias son más intensas en Bahía Sebastián Vizcaíno (Wyllie, 1960). Debido a la interacción directa con la laguna Ojo de Liebre, las surgencias en la bahía pueden proveer de nutrientes a la laguna, propiciando el aumento de la productividad primaria y la posterior respuesta en los distintos niveles de la cadena trófica, que incluyen las fuentes de alimento para los tiburones neonatos (Acevedo, 1997; Hernández *et al.*, 2000). Se ha reportado que en cautiverio, los huevos de *H. francisci* eclosionan de 8 a 10 meses después del desove, durante la primavera (Dempster y Herald, 1961). Por lo tanto, es probable que el tiempo de eclosión coincida con el inicio del periodo de surgencias, favoreciendo la supervivencia de los neonatos, al aprovechar el alimento disponible durante los picos de producción. De manera similar, para *H. portusjacksoni* el tiempo de desarrollo embrionario fue de 10 a 11 meses dependiendo de la temperatura y la eclosión ocurrió en un periodo previo a la temporada en que se registra la mayor temperatura (Rodda y Seymour, 2008).

En este estudio se considera que para *H. francisci*, puede haber un periodo sin apareamiento de junio a agosto. Este periodo coincide en parte, con las temperaturas más altas en la laguna Ojo de Liebre (julio-agosto). Mientras que, los meses con los mayores valores del IGS (noviembre-febrero), que es indicativo de apareamiento, coinciden parcialmente con las menores temperaturas en la laguna (enero-febrero). Tal como reportan Crawshaw y Hammel (1973), *H. francisci* se mueve más lentamente y con poca frecuencia en temperaturas más bajas; por lo tanto, los machos de esta especie podrían preferir aparearse cuando las hembras tienen menor movilidad. Ya que se ha observado que en organismos en cautiverio, durante la cópula la hembra parece paralizada y no hace un gran esfuerzo por alejarse del macho, además de que el apareamiento dura aproximadamente 35 min (Dempster y Herald, 1961). Debido al tiempo prolongado de apareamiento, la menor movilidad de la hembra podría facilitar la cópula.

## 4.6 Efectividad de la veda y otras medidas de manejo

El periodo de veda beneficia a las hembras que se encuentran desovando al evitar ser capturadas por los pescadores durante los meses de mayo y junio. Aunque antes de la aplicación del periodo de veda, las hembras que eran capturadas por los pescadores expulsaban los huevos en la embarcación y eran regresados al agua por los pescadores. De igual forma, la evisceración de los organismos se realiza antes de regresar al campo pesquero, por lo que el tracto reproductivo completo es tirado a la laguna. Este proceso podría dar una oportunidad para que los huevos ya formados pudieran culminar el desarrollo embrionario.

La abertura de malla utilizada para esta especie (152 mm o 6 pulgadas) cumple con las disposiciones aplicables para la pesquería ribereña artesanal de tiburones y rayas establecidas en la NOM-029-PESC-2006 (DOF, 2007). La utilización de esta abertura de malla da como resultado que el intervalo de longitudes con mayores capturas en ambos sexos (61 a 70 cm de LT) sea superior a la longitud de primera madurez sexual, siendo las hembras quienes presentaron una mayor frecuencia de capturas en un intervalo de longitudes mayor que los machos (66 a 70 cm de LT).

La composición de las longitudes de captura y la  $L_{50}$  son usadas para averiguar si los individuos tienen la oportunidad de reproducirse antes de ser capturados (Froese *et al.*, 2008). La  $L_{50}$  de ambos sexos de *H. francisci* se estimó en una LT mayor a los 51 cm. Se encontró que el 14% de la captura total durante el año de estudio ( $n= 120$ ) tenía una longitud menor a la  $L_{50}$ . Por lo tanto, el 86% de los organismos capturados tenían longitudes iguales o mayores a la  $L_{50}$  y se pueden considerar como organismos maduros sexualmente en su mayoría, que pudieron tener la oportunidad de reproducirse antes de ser capturados.

Es necesario considerar que los estudios realizados en *H. francisci* son escasos y es necesario ampliar la información en esta especie para tener un mayor entendimiento de su biología. Algunos temas relacionados con la biología reproductiva que permitirán aplicar un adecuado manejo pesquero para la población, pueden ser los relacionados con el uso del hábitat, desarrollo embrionario y viabilidad de las cápsulas de huevo, entre otros. Sin embargo, el presente estudio sienta las bases para el desarrollo de nuevas medidas de manejo para esta especie.

## Capítulo 5. Conclusiones

---

### 5.1 Longitud, peso y proporción sexual

- Se observó que hay dimorfismo sexual en la especie, al ser las hembras las que tienen una mayor longitud en comparación con los machos.
- El incremento del peso en las hembras es mayor que en los machos. Es posible que el peso sea afectado por la condición reproductiva, ya que dicho incremento se observa alrededor de la longitud de la primera madurez sexual.
- La proporción sexual anual fue de 1:1. En las proporciones sexuales registradas en forma mensual, se encontraron diferencias significativas en el periodo de abril a agosto. Se considera que en este periodo hay escaso o nulo apareamiento, por lo que esta diferencia se puede atribuir a que ambos sexos no estuvieron presentes en el área de muestreo en estos meses.

### 5.2 Madurez sexual

- La longitud de primera madurez sexual ( $L_{50}$ ) fue mayor para las hembras en comparación con los machos. Esto sugiere que las hembras tienen un tamaño para incrementar su fecundidad.

### 5.3 Fecundidad ovárica

- La fecundidad ovárica de *H. francisci* tiene un intervalo entre 3 y 22 ovocitos preovulatorios (promedio= 14) y aumenta conforme aumenta el tamaño de la hembra. Se considera que esta especie tiene una menor fecundidad comparada con otros tiburones ovíparos.

## 5.4 Glándula oviducal

- La glándula oviducal de *H. francisci* tiene una zonación similar a la de otros elasmobranquios. No tiene una función de almacenamiento de esperma a largo plazo como ocurre en las especies de tiburones pelágicos.
- Se observaron cápsulas de huevos en formación en las glándulas oviducal aún sin el óvulo. Por lo tanto, la formación de la cápsula del huevo inicia antes de la ovulación.

## 5.5 Ciclo reproductivo

- El periodo de apareamiento en *H. francisci* puede abarcar nueve meses (septiembre a mayo). Los apareamientos antes del periodo de desove, sugieren que puede existir almacenamiento de esperma en las glándulas oviducal a corto plazo.
- El periodo de desove abarca al menos cinco meses (febrero a junio) y concuerda con los meses en donde la temperatura en la laguna Ojo de Liebre comienza a incrementarse.
- El periodo de desove coincide con los meses en que se han reportado las surgencias más intensas para Bahía Sebastián Vizcaíno (enero-junio). Considerando el tiempo de eclosión de 8 a 10 meses, es probable que los neonatos nazcan durante los picos de abundancia de alimento en la zona.
- El periodo de desove se traslapa con el periodo de veda en un 40%, que corresponde a los meses de mayo y junio, por lo que las hembras que se encuentran desovando podrán evitar ser capturadas por los pescadores en estos meses.

## Literatura citada

---

- Abdi, H., Williams, L. J. 2010. Jackknife. En: Salkind, N. (Ed.), *Encyclopedia of Research Design*. Thousand Oaks, CA: Sage. pp. 10.
- Acevedo, A. 1997. Caracterización ecológica de la comunidad íctica de la Laguna Ojo de Liebre, B.C.S., México. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. pp. 108.
- Arreguín, F., Hernández, A., Ramírez, M., Pérez, H. 2004. Optimal management scenarios for the artisanal fisheries in the ecosystem of La Paz Bay, Baja California Sur, Mexico. *Ecological Modelling*, 172, 373–382.
- Baron, A., Veo, K., Angleson, J., Dores, R. M. 2009. Modeling the evolution of the MC2R and MC5R genes: Studies on the cartilaginous fish, *Heterodontus francisci*. *General and Comparative Endocrinology*, 161(1), 13-19.
- Bass, N. C., Mourier, J., Knott, N. A., Day, J., Guttridge, T., Brown, C. 2017. Long-term migration patterns and bisexual philopatry in a benthic shark species. *Marine and Freshwater Research*, 68, 1414–1421.
- Bello, G., Zupa, R., Corriero, A. 2015. Ontogenetic change in the body length–mass relationship concomitant to the onset of vitellogenesis in female blackmouth catshark *Galeus melastomus* (Chondrichthyes: Scyliorhinidae). *Italian Journal of Zoology*, 82(3), 358-365, DOI: 10.1080/11250003.2015.1027308.
- Bermúdez, B. 2003. Ficha Informativa de los Humedales Ramsar (FIR): Laguna Ojo de Liebre. pp. 9.
- Compagno, L. J. V. 2001. *Sharks of the World. An annotated and illustrated catalogue of shark species known to date. Volume 2. Bullhead, mackerel and carpet sharks (Heterodontiformes, Lamniformes and Orectolobiformes)*. FAO Species Catalogue for Fishery Purposes No. 1, Roma. pp. 269.
- Contreras, F. 1985. *Las lagunas costeras mexicanas*. Centro de Ecodesarrollo. Secretaria de Pesca. México. pp. 263.
- Cortés, E. 2000. Life history patterns and correlations in sharks. *Reviews in Fisheries Science*, 8(4), 299-344.
- Crawshaw, L. I., Hammel, H. T. 1973. Behavioral temperatura regulation in the California Horn Shark, *Heterodontus francisci*. *Brain, Behavior and Evolution*, 7, 447-452.
- Dempster, R. P., Herald, E. S. 1961. Notes on the hornshark, *Heterodontus francisci*, with observations on mating activities. *Occasional Papers of the California Academy of Sciences*, 33, 1-7.
- DOF, 1972. Decreto que declara zona de refugio para ballenas y ballenatos, las aguas del área de la Laguna Ojo de Liebre, al sur de la Bahía de Sebastián Vizcaíno, en el Litoral del Océano Pacífico, Territorio de Baja California. *Diario Oficial de la Federación*. México. 14 de enero de 1972.
- DOF, 1980. Decreto por el que se modifica el diverso de 6 de diciembre de 1971, declarándose como zona de refugio para ballenas y ballenatos las aguas del complejo Laguna Ojo de Liebre, ubicados en Baja California Sur. *Diario Oficial de la Federación*. México. 28 de marzo de 1980.



- DOF, 1988. Decreto por el que se declara la reserva de la biósfera "El Vizcaíno", ubicado en el Municipio de Mulegé, BCS. Diario Oficial de la Federación. México. 30 de noviembre de 1988.
- DOF, 2007. Norma Oficial Mexicana NOM-029-PESC-2006, pesca responsable de tiburones y rayas. Especificaciones para su aprovechamiento. Diario Oficial de la Federación. México. 14 de febrero de 2007.
- DOF. 2013. Acuerdo por el que se modifica el Aviso por el que se da a conocer el establecimiento de épocas y zonas de veda para la pesca de diferentes especies de la fauna acuática en aguas de jurisdicción federal de los Estados Unidos Mexicanos, publicado el 16 de marzo de 1994, con el objetivo de concluir el periodo de veda de tiburones y rayas en el litoral del Océano Pacífico durante el 2013. Diario Oficial de la Federación. México. 23 de julio de 2013.
- Domínguez, R. H. 2015. Análisis demográfico de *Heterodontus mexicanus* en el alto Golfo de California. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California. pp. 36.
- Ebert, D.A., Fowler, S., Compagno, L. 2013. Sharks of the world. A fully illustrated guide. Wild Nature Press, Plymouth. pp.202-204.
- Elías, F. G. 2015. Interaction between spermatozoa and the different epithelia along the female reproductive tract of *Mustelus schmitti*. Journal of Life Sciences, 9, 111-119.
- Ellis, J. R., Shackley, S. E. 1997. The reproductive biology of *Scyliorhinus canicula* in the Bristol Channel, U.K. Journal of Fish Biology, 51, 361–372.
- Espinosa, H., Castro, J. L., Huidobro, L. 2004. Listados faunísticos de México. IX. Catálogo sistemático de tiburones (Elasmobranchii: Selachimorpha). Universidad Nacional Autónoma de México, México. pp. 134.
- Feldheim, K. A., Gruber, S. H., Ashley, M. V. 2001. Multiple paternity of a lemon shark litter (Chondrichthyes: Carcharhinidae). Copeia, 3, 781-786.
- Froese, R. 2006. Cube law, condition factor and weight–length relationships: history, meta-analysis and recommendations. Journal of Applied Ichthyology, 22, 241–253.
- Froese, R., Stern, P. A., Winker, H., Gascuel, D. 2008. Size matters: How single-species management can contribute to ecosystem-based fisheries management Fisheries Research. 92, 231–241.
- Gutiérrez de Velasco, G. 2000. Análisis de la circulación y condiciones físicas de la Laguna Ojo de Liebre, B.C.S., con relación a la mortandad de tortugas marinas durante diciembre de 1997. Reporte Técnico. CICESE, Unidad La Paz, Baja California Sur. México. pp. 45.
- Hamlett, W. C., Knight, D. P., Koob, T. J., Jezior, M., Luong, T., Rozycki, T., Brunette, N., Hysell, M. K. 1998. Survey of oviducal gland structure and function in elasmobranchs. The Journal of Experimental Zoology, 282, 399–420.
- Hamlett, W. C., Fishelson, L., Baranes, A., Hysell, C. K., Sever, D. M. 2002. Ultrastructural analysis of sperm storage and morphology of the oviducal gland in the Oman shark, *Iago omanensis* (Triakidae). Marine Freshwater Research. 53, 601–613.

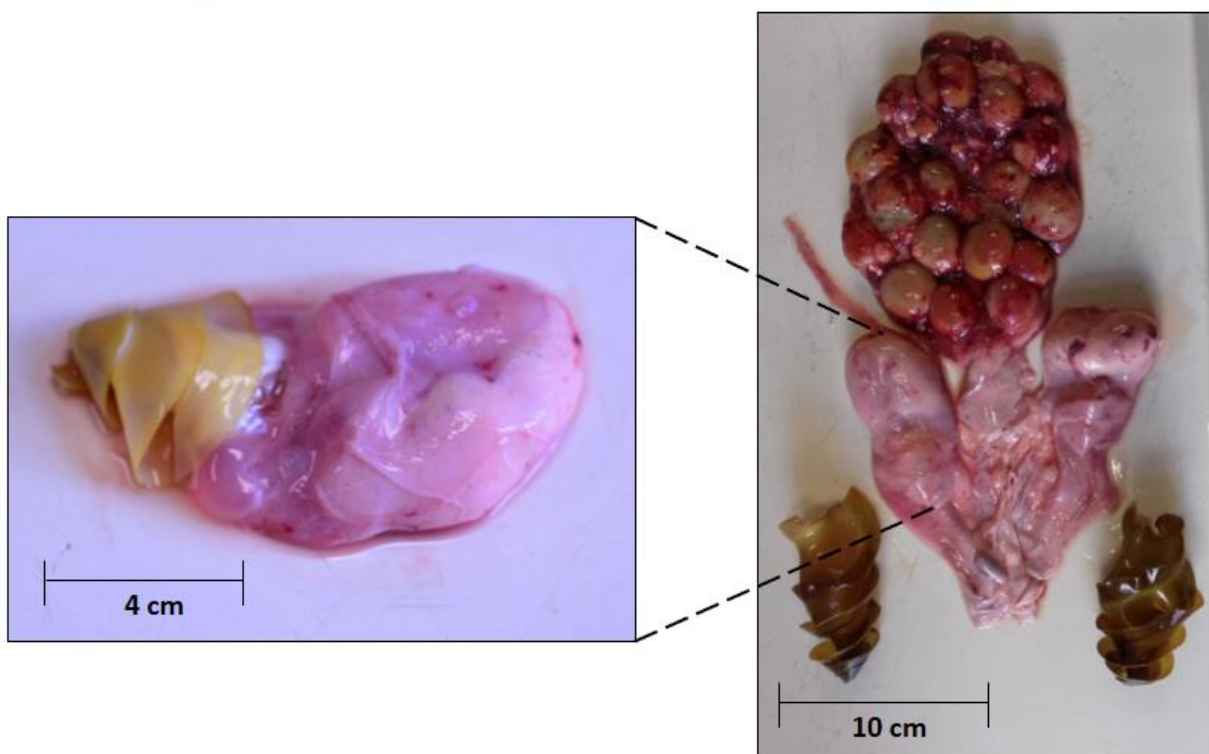
- Hamlett, W. C., Knight, D. P., Pereira, F. T. V., Steele, J., Sever, D. M. 2005. Oviducal glands in Chondrichthyans. En: Hamlett, W. C. (Ed.), Reproductive biology and phylogeny of chondrichthyans. Vol. 3. Endfield, USA. pp. 301-305.
- Harahush, B. K., Fischer, A. B. P., Collin, S. P. Captive breeding and embryonic development of *Chiloscyllium punctatum* Muller & Henle, 1838 (Elasmobranchii: Hemiscyllidae). Journal of Fish Biology, 71, 1007-1022.
- Hernández, M. E., Jiménez, S. P., Funes, R., Saldierna, R. 2000. El centro de actividad biológica de la Bahía de Sebastián Vizcaíno, una primera aproximación. En: Lluch, D., Elorduy, J., Lluch, S. E., Ponce, G. (Eds.), BAC Centros de Actividad Biológica del Pacífico mexicano. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste, México. pp. 65-85.
- Hobson, A. D. 1930. A note on the formation of the egg-case of the skate. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 16, 577-581.
- Huber, D. R., Eason, T. G., Hueter, R. E., Motta, P. J. 2005. Analysis of the bite force and mechanical design of the feeding mechanism of the durophagous horn shark *Heterodontus francisci*. The Journal of Experimental Biology, 208, 3553-3571.
- Hutchings, J. A., Myers, R. A. 1993. Effect of age of seasonality of maturation and spawning of Atlantic cod, *Gadus morhua*, in the Northwest Atlantic. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences, 50, 2468-2474.
- Jones, A. A., Hall, N. G., Potter, I. C. 2008. Size compositions and reproductive biology of an important bycatch shark species (*Heterodontus portusjacksoni*) in south-western Australian waters. Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom, 88, 189-197.
- Kato, S., Springer, S., Wagner, M. H. 1967. Field guide to eastern Pacific and Hawaiian sharks. United States Department of the Interior. Fish and Wildlife Service. Circular 271, Washington, D. C. pp. 47.
- Litman, G. W., Scheffel, C., Mäkelä, O. 1980. Immunoglobulin diversity in the phylogenetically primitive shark *Heterodontus francisci*: Comparison of fine specificity in hapten binding by antibody to p-azobenzeneuronate. Immunology Letters, 1(4), 213-215.
- Lutton, B. V., George, J. S., Murrin, C. R., Fileti, L. A., Callard, I. P. 2005. The elasmobranch ovary. En: Hamlett, W. C. (Ed.), Reproductive biology and phylogeny of chondrichthyans. Vol. 3. Endfield, USA. pp. 237-282.
- Marinone, S.G.L., Lizárraga, R. 1982. Transporte litoral sobre las barras de Guerrero Negro y Ojo de Liebre. Ciencias Marinas, 8(1), 20-29.
- Medellín, A. 2006. Determinación de edad del tiburón dormilón búfalo (*Heterodontus mexicanus*), en la parte norte del Golfo de California por medio de vértebras y espinas dorsales. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California. pp. 49.
- Metten, H. 1939. Studies on the reproduction of the dogfish. Philosophical Transactions of the Royal Society London B, 230, 217-238.

- Musick, J. A., Ellis, J. K. 2005. Reproductive evolution of chondrichthyans. En: Hamlett, W. C. (Ed.), Reproductive biology and phylogeny of chondrichthyans. Vol. 3. Endfield, USA. pp. 45–79.
- Nagahama, Y., Yoshikuni, M., Yamashita, M., Tokumoto, T., Katsu, Y. 1995. Regulation of oocyte growth and maturation in fish. *Current Topics in Developmental Biology*, 30, 103-145.
- Nelson, D. R., Johnson, R. H. 1970. Diel activity rhythms in the nocturnal, bottom-dwelling sharks, *Heterodontus francisci* and *Cephaloscyllium ventriosum*. *Copeia*, 1970(4), 732-739.
- Parsons, G. R. 1993. Geographic variation in reproduction between two populations of the bonnethead shark, *Sphyrna tiburo*. *Environmental Biology of Fishes*, 38, 25-35
- Parsons, G. R., Hoffmayer, E. R., Hendon, J. M., Bet-Sayad, W. V. 2008. A review of shark reproductive ecology: life history and evolutionary implications. En: João, R. M., Arukwe, A., Kapoor, B. G. (Ed.), Fish reproduction. Science Publishers. Enfield, USA. pp. 435-469.
- Piferrer, F. 2009. Determinación y diferenciación sexual en los peces. En: Espinosa, J. (Ed.), La reproducción de los peces: aspectos básicos y sus aplicaciones en acuicultura. Fundación Observatorio Español de Acuicultura. Consejo Superior de Investigaciones Científicas. Ministerio de Medio Ambiente y Medio Rural y Marino. Madrid. pp. 249-336.
- Pope, J. 2005. Controles a insumos y productos: la práctica de la ordenación de esfuerzo de pesca y captura en la pesca responsable. En: Cochrane, K. L. (Ed.), Guía del administrador pesquero. Medidas de ordenación y su aplicación. FAO Documento Técnico de Pesca. No. 424. Roma. pp. 69-89.
- Powter, D. M., Gladstone, W. 2008. The reproductive biology and ecology of the Port Jackson shark *Heterodontus portusjacksoni* in the coastal waters of eastern Australia. *Journal of Fish Biology*, 72, 2615–2633.
- Powter, D. M., Gladstone, W. 2008b. Embryonic mortality and predation on egg capsules of the Port Jackson shark *Heterodontus portusjacksoni* (Meyer). *Journal of Fish Biology*, 72, 573-584.
- Powter, D. M., Gladstone, W. 2009. Habitat-mediated use of space by juvenile and mating adult Port Jackson sharks, *Heterodontus portusjacksoni*, in eastern Australia. *Pacific Science*, 63(1), 1–14.
- Pratt, H. L. 1993. The storage of spermatozoa in the oviducal glands of western North Atlantic sharks. *Environmental Biology of Fishes*. 38, 139-149.
- Ramírez, S. R., Cartamil, D., Galván, F., González, G., Graham, J. B., Carrera, M., Escobar, O., Sosa, O., Rochin, A. 2013. The artisanal elasmobranch fishery of the Pacific coast of Baja California Sur, Mexico, management implications. *Scientia Marina*, 77(3), 473-487.
- Rodda, K. R., Seymour, R. S. 2008. Functional morphology of embryonic development in the Port Jackson shark *Heterodontus portusjacksoni* (Meyer). *Journal of Fish Biology*, 72, 961–984.
- Saborido, R. F., Kjesbu, O. S. 2005. Growth and maturation dynamics. pp. 26. <http://hdl.handle.net/10261/47150>

- Saborido, F. 2008. Ecología de la reproducción y potencial reproductivo en las poblaciones de peces marinos. Curso de doctorado. Instituto de Investigaciones Marinas (CSIC). Universidad de Vigo, España. pp. 71.
- Salomón, C. A., Villavicencio, C. J., Reyes, H. 2009. Shark breeding grounds and seasons in the Gulf of California: Fishery management and conservation strategy. *Ciencias Marinas*, 35(4), 369–388.
- SAGARPA. 2013. Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2013. Comisión Nacional de Acuicultura y Pesca. México, pp. 295.
- Saville, K. J., Lindley, A. M., Maries, E. G., Carrier, J. C., Pratt, H. L., Jr. 2002. Multiple paternity in the nurse shark, *Ginglymostoma cirratum*. *Environmental Biology of Fishes*, 63(3), 347-351.
- Segura, J. C., Abitia, L. A., Galván, F. 1997. Observaciones sobre la alimentación del tiburón *Heterodontus francisci* Girard 1854 (Chondrichthyes: Heterodontidae), en Laguna San Ignacio, Baja California Sur, México. *Ciencias marinas*, 23(1), 111-128.
- Serra, P. B., Afonso, F., Farias, I., Joyce, P., Ellis, M., Figueiredo, I., Serrano, G. L. 2011. The development of the oviducal gland in the Rajid thornback ray, *Raja clavata*. *Helgoland Marine Research*. 65, 399–411.
- Smith, B. G. 1942. The heterodontid sharks: Their natural history, and the external development of *Heterodontus japonicus* based on notes and drawings by Bashford Dean. En: Gudger, E. G. (Ed.), The Bashford Bean memorial volumen archaic fishes, Article VIII. The American Museum of Natural History. New York. pp. 648-781.
- Sosa, O., García, E., Saldaña, L. E., Fajardo, A. 2015. Conservación del tiburón blanco en la Bahía Sebastián Vizcaíno y Laguna Ojo de Liebre. Reporte Técnico. CICESE, Ensenada, Baja California, México. pp. 49.
- Stevens, J. D., Bonfil, R., Dulvy, N. K., Walker, P. A. 2000. The effects of fishing on sharks, rays, and chimaeras (chondrichthyans), and the implications for marine ecosystems. *ICES Journal of Marine Science*, 57, 476-494.
- Storrie, M. T., Walker, T. I., Laurenson, L. J., Hamlett, W. C. 2008. Microscopic organization of the sperm storage tubules in the oviducal gland of the female gummy shark (*Mustelus antarcticus*), with observations on sperm distribution and storage. *Journal of Morphology*, 269, 1308-1324.
- Strong, W. L. 1989. Behavioral ecology of horn sharks, *Heterodontus francisci*, at Santa Catalina Island, California, with emphasis on patterns of space utilization. Tesis de Maestría en Ciencias. University of North Carolina Wilmington. pp. 252.
- Tovar, J., Walker, T. I., Day, R. W. 2007. Reproduction of *Heterodontus portusjacksoni* in Victoria, Australia: evidence of two populations and reproductive parameters for the eastern population. *Marine and Freshwater Research*, 58, 956-965.
- Walker, T. I. 2005. Reproduction in fisheries science. En: Hamlett, W. C. (Ed.), Reproductive biology and phylogeny of chondrichthyans. Vol. 3. Endfield, USA. pp. 81-127.
- Wyllie, J. G. 1960. The water masses of Sebastian Vizcaino Bay. *CalCOFI Reports*, 8, 83-93.

Yamaguchi, A., Taniuchi T., Shimizu, M. 2000. GEographic variation in reproductive parameters of the starspotted dogfish, *Mustelus manazo*, from five localities in Japan and in Taiwan. Environmental Biology of Fishes, 57: 221-233.

## Anexos



**Figura 16.** Cápsula de huevo de *Heterodontus francisci* en formación (izquierda) y tracto reproductivo de hembra madura con cápsulas de huevos en los úteros y las glándulas oviducal (derecha).