

**CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA Y DE
EDUCACIÓN SUPERIOR DE ENSENADA**



**PROGRAMA DE POSGRADO EN CIENCIAS
EN ECOLOGÍA MARINA**

**CARACTERIZACIÓN DEL MODO DE REPRODUCCIÓN DEL PEZ
GUITARRA *Rhinobatos productus* AYRES, 1856 CON BASE EN EL
DESARROLLO Y ALIMENTACIÓN EMBRIONARIA**

TESIS

que para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de
MAESTRO EN CIENCIAS

Presenta:

ALFONSINA EUGENIA ROMO CURIEL

Ensenada, Baja California, México, 04 de Octubre de 2007.

TESIS DEFENDIDA POR
Alfonsina Eugenia Romo Curiel
Y APROBADA POR EL SIGUIENTE COMITÉ



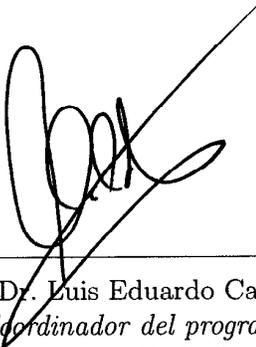
Dr. Oscar Sosa Nishizaki
Director del Comité



Dr. Horacio Jesús De la Cueva Salcedo
Miembro del Comité



Dr. Jorge Abelardo Cáceres Martínez
Miembro del Comité



Dr. Luis Eduardo Calderón Aguilera
*Coordinador del programa de posgrado
en Ecología marina*



Dr. Edgar Gerardo Pavía López
Director de Estudios de Posgrado

04 de Octubre de 2007

RESUMEN de la tesis de **ALFONSINA EUGENIA ROMO CURIEL**, presentada como requisito parcial para la obtención del grado de MAESTRO EN CIENCIAS en ECOLOGÍA MARINA. Ensenada, Baja California, México. Octubre de 2007.

CARACTERIZACIÓN DEL MODO DE REPRODUCCIÓN DEL PEZ GUITARRA *RHINOBATOS PRODUCTUS* AYRES, 1856 CON BASE EN EL DESARROLLO Y ALIMENTACIÓN EMBRIONARIA

Resumen aprobado por:



Dr. Oscar Sosa Nishizaki
Director de Tesis

Los elasmobranquios son un grupo de peces primitivos mandibulados que han evolucionado de manera interesante en sus modos de reproducción. La diversidad resulta de la complejidad estructural de los úteros y de la regulación funcional interna de las diferentes especies. El objetivo de este trabajo es determinar el tipo de alimentación de los embriones de *Rhinobatos productus* y por ende el modo de reproducción. Se realizaron muestreos en diferentes períodos de mayo de 2004 a junio de 2007 en la pesca comercial de San Felipe, B.C. y Bahía de Kino, Son. Se examinaron 650 hembras, 2,047 embriones y 484 huevos uterinos. La gestación dura 12 meses: inicia en julio y termina en un alumbramiento a finales de junio del siguiente año. Se observó una diapausa en el desarrollo de 8 a 9 meses y en los tres meses restantes se determinó un crecimiento isométrico en los embriones, y conforme éstos aumentaron en longitud, el saco vitelino externo (SVE) fue consumido. La talla de nacimiento se observó desde los 16 cm LT hasta 19.2 cm LT, dependiendo de la talla materna y el tamaño de los ovocitos fertilizados. El análisis histológico de las paredes uterinas sugiere que no existieron secreciones que aportaran nutrimentos a los embriones antes de su nacimiento, aunque sí hay una regulación osmótica en el contenido de líquidos y sales dentro del útero. El porcentaje estándar del contenido de agua en los huevos fecundados fue de 48.6% mientras que en los embriones fue de 80.75%; por lo que durante el desarrollo embrionario existe una pérdida en el peso seco de 16.3%. Estos resultados indican que *R. productus* es una especie lecitotrófica por lo que durante todo el desarrollo los embriones se alimentan únicamente del saco vitelino.

Palabras clave: Modo de reproducción, biología reproductiva, crecimiento embrionario, condriactios, elasmobranquios, *Rhinobatos productus*.

ABSTRACT of the thesis presented by **ALFONSINA EUGENIA ROMO CURIEL** as a partial requirement to obtain the MASTER OF SCIENCE degree in MARINE ECOLOGY. Ensenada, Baja California, Mexico. September 2007.

CHARACTERIZATION IN THE MODE OF REPRODUCTION OF SHOVELNOSE GUITARFISH *Rhinobatos productus*, AYRES 1856 BASED ON THE DEVELOPMENT AND NOURISHMENT OF EMBRYOS

The elasmobranchs are the oldest group of jawed fishes which have evolved in many aspects, including the mode of reproduction. Their diversity depends completely on the structural complexity of the uteri and the internal functional regulation. The main objective of this work was to determine the type of feeding of the embryos of *Rhinobatos productus* and therefore the mode of reproduction, this is a contribution to the basic biology of the species. Samples were taken in different periods from May 2004 through June 2007 in the commercial fisheries of San Felipe, B.C. and Bahía de Kino, Son. A total of 650 females, 2,047 embryos and 484 uterine eggs were examined. The gestation period lasts 12 months, initiated in July of one year and ends with the birth of the young in late June of the next year. An embryonic diapause was observed from August to March, and in the three remaining months there was accelerated isometric growth in the embryos, as they increase in length the external yolk sac (EYS) was consumed in its totality. Embryo size at birth varied from 16 cm up to 19.2 cm, depending on the maternal size and on ova size ovulation. The histological analysis of the uterus structures of pregnant females suggested that no secretions was used for the embryo's nourishment before its birth; though they do have a regulation in the content of liquids and salts that is utilized in osmoregulation. The uterus had longitudinal folds with basal crypts throughout its length. The standard percentage of the water content in fertilized eggs was 48.6 %, and 80.75 % in fully developed fetus; and the dry weight lost was 16.3 % during development. This results indicate that *R. productus* is a strict yolk-sac viviparous species with no maternal contribution of matter nutrients during embryo development.

Keywords: Mode of reproduction, reproductive biology, embryonic development, chondrichthyes, elasmobranch, *Rhinobatos productus*.

Agradecimientos

Agradezco especialmente al Dr. Oscar Sosa Nishizaki por darme la oportunidad de formar parte de su equipo de trabajo, por su confianza, amistad y consejos que me hicieron crecer enormemente.

Al comité revisor Dr. Horacio Jesús De la Cueva Salcedo y Dr. Jorge Abelardo Cáceres Martínez quienes enriquecieron este trabajo con sus comentarios, gracias por su amabilidad y disposición.

A CICESE por darme la oportunidad, apoyo y todas las facilidades para realizar el posgrado. A la beca de maestría recibida de CONACyT y del Posgrado de Ecología Marina. A los proyectos: Elasmobranchs Fisheries Biology in the Upper Gulf of California de la convocatoria UCMEXUS-CONACYT-CICESE Colorado Delta River and Upper Gulf of California Grant y SEMARNAT-2002-C01-1129 del fondo SEMARNAT-CONACYT.

Al apoyo brindado por la Dra. Sharon Herzka y Dra. Elena Solana, así como de los técnicos M.C. María del Carmen Rodríguez Medrano, M.C. Yanet Guerrero Rentería, M.C. Miriam Pouián Tapia. A la M. C. María Isabel Montes Pérez y Biol. Deyanira Rodarte Venegas de la Facultad de Ciencias de la UABC, gracias por sus asesorías que me fueron de gran ayuda.

Al Laboratorio de Ecología Pesquera, en especial a mis chalanes Karis, Santa, Ely y Yuma que me apoyaron durante las salidas de campo y en ocasiones en el trabajo de laboratorio.

A los pescadores de San Felipe y Bahía de Kino por su amabilidad, disposición y buenos chistoretos que hicieron los muestreos muy amenos.

El principal agradecimiento es para mi familia, a mi mamá, a Jorge, a Said y a mi hermano Rafael que me ayudaron durante los muestreos; y en especial a Cesar que sin su apoyo incondicional no hubiese podido realizar esta y muchas de las metas que he alcanzado. Gracias a los pequeñitos Nicolás y Cristóbal que me hacen crecer todos los días y me impulsan a seguir adelante.

Y a todas esas personas que me apoyaron desinteresadamente durante la realización de este trabajo, que mencionarlas sería una lista muy grande.

Contenido

I. Introducción	1
I.1. Antecedentes	4
I.2. Hipótesis	7
I.3. Objetivos	7
II. Área de estudio	8
III. Metodología	11
III.1. Obtención de muestras	11
III.2. Procesamiento de muestras y análisis de datos	13
III.2.1. Periodo de gestación	13
III.2.2. Crecimiento embrionario	13
III.2.3. Úteros	15
III.2.4. Relación nutricional madre-embrión	17
IV. Resultados	19
IV.1. Frecuencia de tallas en embriones	19
IV.2. Periodo de gestación	20
IV.3. Crecimiento embrionario	23
IV.4. Úteros	28
IV.4.1. Observaciones microscópicas	33
IV.5. Relación nutricional madre-embrión	35
V. Discusión	37
VI. Conclusiones	48

Índice de figuras

1.	Localización del Golfo de California y zonas de muestreo (*) de <i>Rhinobatos productus</i> . Reserva de la Biósfera del Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado (RB).	9
2.	Frecuencia y porcentaje de tallas de todos los embriones recolectados durante los diferentes años de muestreo.	20
3.	Periodo de gestación	21
4.	Crecimiento quincenal durante todo el periodo de gestación.	22
5.	Porcentajes de frecuencia de los estadios por quincena durante todo el periodo de gestación.	23
6.	Relación peso-longitud en embriones de <i>Rhinobatos productus</i> del centro y alto Golfo de California.	24
7.	Peso del saco vitelino con respecto a la longitud total de los embriones.	25
8.	Peso total del saco vitelino externo mas el peso del embrión con respecto a la longitud total de los embriones.	25
9.	La proporción del saco vitelino disminuye con el incremento de la longitud total de los embriones.	27
10.	Comparación entre los cinco estadios del crecimiento embrionario	29
11.	Tracto urogenital en hembras de <i>Rhinobatos productus</i>	30
12.	Pliegues longitudinales en útero de hembra con uno o dos ciclos reproductivos.	32
13.	Esquema para explicar la distancia entre pliegues con respecto al ancho de los úteros durante el desarrollo embrionario en hembras que cuentan con más de un parto.	33
14.	Estructuras de las paredes uterinas al inicio del desarrollo embrionario en hembras maduras	34
15.	Cambios en las estructuras de las paredes uterinas en hembras que han tenido más de dos ciclos reproductivos.	35

Índice de tablas

I.	Modos de reproducción en elasmobranquios.	2
II.	Periodos anuales de muestreo para <i>Rhinobatos productus</i>	12
III.	Método de deshidratación de tejidos.	16
IV.	Proceso de desparafinación de tejidos.	16
V.	Técnica de tinción Hematoxina-Eosina Floxina.	17
VI.	Fecundidad, peso de huevos uterinos y talla de nacimiento de los embriones en función de la longitud total de las hembras.	26
VII.	Valores del contenido de agua en huevos fecundados	36
VIII.	Contenido de agua en embriones	36

I

Introducción

Los condriictios, peces cartilagosos, incluyen a los tiburones, las rayas y las quimeras. Son uno de los grupos de peces mandibulados más primitivos y han evolucionado en diversos aspectos, incluyendo el modo reproductivo de la oviparidad a la viviparidad (Wourms, 1977). Uno de los aspectos más importantes en la transición de la oviparidad a la viviparidad es la fertilización interna y la producción de un número pequeño de neonatos con tallas grandes, a través de las adaptaciones evolutivas que han adquirido las hembras para nutrir a los embriones durante periodos más largos (Castro, 1983).

La diversidad en los modos de reproducción en elasmobranquios depende completamente de la complejidad estructural de los úteros y la regulación funcional interna (Hamlett y Hisell, 1998). Con base en la alimentación embrionaria, dentro de la viviparidad se pueden distinguir dos modos de reproducción: lecitotrófico y matotrófico. En el primero los embriones se alimentan únicamente del saco vitelino, siendo el modo de reproducción dominante en los elasmobranquios. En las especies matotróficas una vez que el saco vitelino es consumido los embriones reciben alimentación de la madre, directa o indirectamente.

La alimentación matotrófica se subdivide en cinco categorías: a) histotrofia mínima, en donde las paredes del útero secretan una mucosidad que es absorbida por el embrión; b) histotrofia lipídica, comúnmente conocida como leche uterina, rica en lípidos y proteínas, la cual es secretada por medio del trofonemata (vellosidades en la pared de los úteros); c) ovofagia, en la que los embriones se alimentan de otras cápsulas de huevos ovulados sin fecundar, por lo que los embriones forman un estómago abultado; d) adelfofagia, donde el embrión más grande de cada útero se alimenta de otros embriones pequeños y continúa alimentándose de los huevos sin fertilizar que la madre ovula hasta el final de su desarrollo y e) especies placentadas, en las que cuando el embrión consume el saco vitelino en su totalidad, los restos del saco se adhieren a la pared del útero formando una placenta con cordón umbilical, el cual le provee nutrientes directamente de la madre (tabla I) (Wourms, 1977; Musick y Ellis, 2005). Dependiendo del modo de reproducción de cada especie es el tiempo que dura el periodo de gestación, el cual es de 2 a 4 meses en algunas rayas, y puede durar hasta 24 meses en *S. acanthias* (Hamlett y Hisell, 1998).

Tabla I: Modos de reproducción en elasmobranquios.

		Lecitotrófico	Matotrófico	Suplemento
Oviparidad		*		
Viviparidad	Saco vitelino	*		
	Histotrofia mínima		*	mucosidad
	Histotrofia lipídica		*	leche uterina
	Ovofagia		*	ovocitos
	Adelfofagia		*	embriones
	Placentada		*	

Los peces batoideos constituyen una variedad de grupos taxonómicos conocidos como peces sierra, rayas, peces guitarra, torpedos y rayas eléctricas. Dentro de este grupo la viviparidad se encuentra representada en todas las familias excepto en la Rajidae, que son ovíparos (Musick y Ellis, 2005). La familia Rhinobatidae, conocida comúnmente como

peces guitarra, son habitantes bentónicos poco activos de los mares tropicales y templados; viven sobre fondos arenosos o fangosos en costas marinas, estuarinas y ocasionalmente dulces con profundidades de 1 a 13 m, aunque en algunas ocasiones pueden ser localizados a profundidades de 80 m. De los siete géneros que conforman esta familia, en el Pacífico mexicano se encuentra una especie del género *Zapterix*, una de *Platyrrhinoidea* y tres de *Rhinobatos* (McEachran y Notarbartolo di Sciara, 1995; Ebert, 2003).

El pez guitarra *Rhinobatos productus* es una raya que se distribuye desde San Francisco, California EUA, hasta Mazatlán, Sinaloa, México, incluyendo el Golfo de California (Timmons y Bray, 1997). Estos organismos pueden alcanzar tallas que sobrepasan los 159 cm de longitud total y un peso de 18 kg (Villavicencio Garayzar, 1993). Su alimentación se basa principalmente en cangrejos y en menor proporción de peces bentónicos, moluscos bivalvos y calamares pequeños (McEachran y Notarbartolo di Sciara, 1995). En la región norte del Golfo de California la talla máxima registrada es de 120 cm; la talla de primera madurez es de 60 cm de longitud total (LT) en hembras y de 66.8 cm en machos (Romero Curiel, 2004). En diversas regiones de la península de Baja California y a lo largo de todo el Golfo de California, esta especie es considerada como un recurso pesquero importante ya que su población es abundante y puede ser explotada durante todo el año por medio de embarcaciones ribereñas (pangas) y de mediana altura (McEachran y Notarbartolo di Sciara, 1995). En algunas épocas del año *R. productus* no es considerada como especie objetivo dentro de las pesquerías, aunque es una componente regular de la fauna acompañante en la captura de otras especies. Además, se considera potencialmente vulnerable a la sobreexplotación ya que presenta una tasa reproductiva baja y a que cuenta con una distribución muy localizada durante su época de reproducción, por lo que es capturada con mayor facilidad durante este periodo (Villavicencio Garayzar, 1993). El

objetivo de este trabajo es determinar el tipo de alimentación que presentan los embriones de *Rhinobatos productus* durante su desarrollo y por ende, el modo de reproducción.

I.1. Antecedentes

En los últimos años se han realizado estudios específicos sobre la alimentación intrauterina de algunas especies de elasmobranquios. Amoroso (1960) y Wourms (1977, 1981) realizaron una revisión general de la viviparidad en varios grupos de peces. Jollie y Jollie (1967) hicieron una descripción de las características del saco vitelino y úteros en *Squalus acanthias*, especie lecitotrófica. Hamlett y Hisell (1998) realizaron un estudio comparativo entre cinco especies de elasmobranquios en donde determinaron que existen diferencias estructurales muy características entre las especies lecitotróficas y matotróficas. Hamlett *et al.* (1996) y Koob y Hamlett (1998) describieron respectivamente las estructuras del trofonemata en hembras con huevos uterinos en *Dasyatis americana* y *Raja erinacea*.

En estudios realizados en el género *Rhinobatos*, Wenbin y Shuyuan (1993) observaron que en hembras inmaduras de *R. hynnicephalus* los úteros presentan pliegues longitudinales con mayor abundancia en la pared dorsal. En cambio, las hembras maduras en estadíos avanzados del periodo de gestación tienen la pared de los úteros muy delgada y con vascularizaciones. Encontraron que los pliegues están cubiertos por células tubulares glandulares; señalan que posiblemente los embriones no sólo se alimentan de los nutrientes del saco vitelino, sino que estas células tienen una secreción de material nutritivo que sirve de alimento durante el último estadio de su desarrollo embrionario.

Para establecer la existencia de una relación alimentaria entre la madre y los embriones, en la cual ésta les provee de nutrientes durante el periodo de gestación, diferentes autores determinaron la diferencia en peso seco de los huevos fecundados depositados en

el útero y el peso seco de los embriones que se encuentran en la fase terminal del desarrollo embrionario (Wourms *et al.*, 1988). Wourms (1993) aplicó este método en *Scoliodon laticuadus* considerando que es una especie vivípara placentada; encontró cambios en el peso de 14,219 % en embriones de la fase terminal y 58,338 % en neonatos, por lo que considera a esta especie como matotrófica altamente avanzada. Guallart y Vincent (2001) utilizaron este análisis en una especie vivípara aplacentada, *Centrophorus granulosus*, encontrando una tasa de decremento de 20 % de materia orgánica similar a la descrita en especies ovíparas, por lo que concluyen que esta especie es estrictamente lecitotrófica, sin contribución de alimento complementario durante el desarrollo. Seck *et al.* (2004) llegaron a la misma conclusión en *R. cemmicus*, ya que observaron que estos organismos producen ovocitos grandes por lo que la madre tiene una inferencia reducida, limitándose a proporcionar sólo protección y de proveer a las crías sólo materia inorgánica durante en el desarrollo embrionario.

Para *Rhinobatos productus* a lo largo de su distribución en la costa occidental de Estados Unidos y Baja California, se han realizado diversos estudios referentes a su biología reproductiva (Talent, 1985; Villavicencio Garayzar, 1993; Downton Hoffman, 1996; Timmons y Bray, 1997; Romo Curiel, 2004; Márquez Farías, 2007). Sin embargo, estos estudios se enfocan principalmente en aspectos poblacionales de los adultos sin enfatizar el modo reproductivo de la especie. Con referencia al desarrollo embrionario, González García (1998) señaló que en Bahía Almejas, Baja California Sur, el periodo de gestación de esta especie dura 12 meses, en tres de los cuales se realiza el desarrollo embrionario; describe los cambios morfométricos externos y aspectos osteológicos que se presentan durante el crecimiento; determinó que durante el desarrollo embrionario hay dos fases principales: en la primera el crecimiento es rápido y antes de alcanzar los 10 mm de longitud total se

forman todos los elementos cefálicos; en la segunda fase se forma el conjunto de aletas y la calcificación de los elementos esqueléticos.

En el Golfo de California Márquez Farías (2007) reportó que el periodo de gestación de esta especie va de 11 a 12 meses y una talla de nacimiento de 17.5 cm de longitud total, sin describir el tipo de alimentación. Romo Curiel (2004) señaló que en el alto Golfo de California *R. productus* presenta un periodo de gestación aproximadamente de 12 meses y una talla de nacimiento alrededor de los 19 cm; encontró que las hembras maduras con estadios avanzados de gestación presentan las paredes de los úteros delgadas y sin presencia de pliegues, por lo cual sugiere que no existen estructuras que secreten leche uterina durante el último estadio del desarrollo embrionario, definiendo a la especie como lecitotrófica. No obstante, el resto de los autores relacionan la formación de pliegues y vascularizaciones en la pared de los úteros con la secreción de leche uterina. Sin embargo no se han realizado estudios que describan las estructuras de la pared de los úteros en esta especie durante el desarrollo embrionario, para así poder determinar la presencia de nutrientes durante la última fase del desarrollo embrionario. Estos estudios serían de gran utilidad para determinar el tipo de alimentación embrionaria y el modo de reproducción.

I.2. Hipótesis

En *Rhinobatos productus* la incidencia de la madre en la alimentación de los embriones durante su desarrollo es nula, por ende, la especie es lecitotrófica.

I.3. Objetivos

General

- Determinar si el tipo de alimentación en los embriones de *Rhinobatos productus* es lecitotrófico.

Particulares

- Determinar el periodo de gestación.
- Describir el crecimiento embrionario.
- Analizar las estructuras de la pared de los úteros.
- Determinar la relación nutricional madre-embrión.

II

Área de estudio

El Golfo de California se encuentra ubicado en la parte noroccidental de México, entre los 22° 50' y 31° 58' de latitud Norte y de los 107° 20' hasta los 114° 45' de longitud Oeste, limitado en la parte Oeste por la península de Baja California y al Este por los estados de Sonora y Sinaloa, con una orientación noroeste-sureste (figura 1). Es una cuenca semicerrada, comunicada en su parte sur con el Océano Pacífico; al Norte desemboca el río Colorado. Tiene una longitud de 1,100 km medido desde la boca del río Colorado hasta donde termina la península de Baja California. Cuenta con una superficie de 257, 158 km², en la boca tiene un ancho de 200 km y 135 km de ancho promedio en todo el golfo (Hernández Méndez, 1998).

En todo el Golfo la amplitud de las variables físicas tienden a aumentar de sur a norte. El área norte cuenta con cambios muy pronunciados en las temperaturas superficiales así como en la estructura poblacional de flora y fauna de invierno a verano. Ésto se debe a que es un cuerpo de agua somero con profundidades menores a los 200 m, con cuencas y pendientes muy suaves; por lo que las condiciones de verano-invierno son muy diferentes. En verano-otoño la evaporación es muy alta, ya que se forma una masa de agua cálida

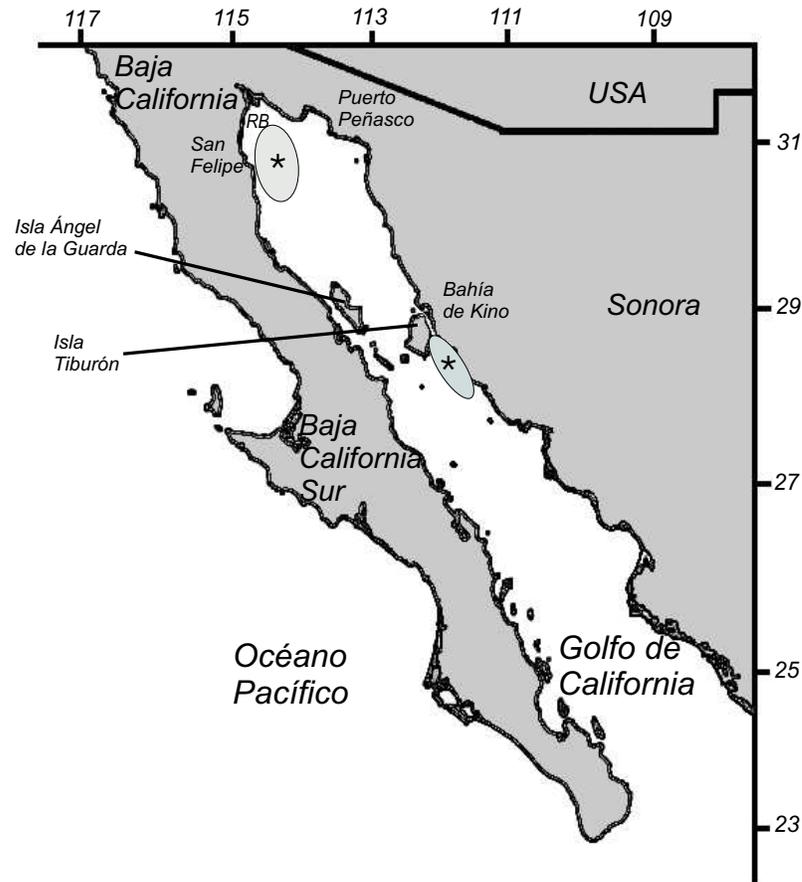


Figura 1: Localización del Golfo de California y zonas de muestreo (*) de *Rhinobatos productus*. Reserva de la Biósfera del Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado (RB).

con una temperatura mayor a los 30 °C y una salinidad de 41.0 como máximo. En cambio en invierno, las temperaturas tienen una variación de 8 a 12 °C a menos, y la salinidad disminuye a 32.0 aproximadamente (Álvarez Borrego, 1983; Lluch-Cota *et al.*, 2007).

En la región central del golfo hay un Cinturón Insular, que corre de la Isla Tiburón hasta la Isla Ángel de la Guarda, por lo que tiene gran influencia en toda el área. Esta zona cuenta con umbrales someros y canales angostos que comunican la región norte con la parte sur del golfo. Las corrientes de marea son fuertes y hay una mezcla intensa de sus

aguas, creando una situación similar a una surgencia constante, por lo que la productividad primaria es alta. Las temperaturas mínimas se registran en enero con un promedio de 16 °C y los máximos alcanzan los 32 °C durante el mes de julio (Lavín *et al.*, 1997; Moreno *et al.*, 2005).

III

Metodología

III.1. Obtención de muestras

Se realizaron muestreos de marzo a junio de 2005 al 2007 en San Felipe, Baja California y Bahía de Kino, Sonora; procurando caracterizar el ciclo reproductivo anual (tabla II). Las muestras se obtuvieron de las capturas de pesca artesanal, las cuales hacen uso de redes agalleras de fondo, con una luz de malla de 4, 8 y 9 pulgadas. La información obtenida se complementó con los registros de los muestreos realizados mensualmente de marzo de 2003 a mayo de 2004 en San Felipe, B.C. y Puerto Peñasco, Son. En este último las muestras se obtuvieron del barco comercial pesquero *Escama BM-VI*, el cual opera desde éste puerto hasta las grandes islas Tiburón y Ángel de la Guarda que se ubican entre los 28.5° y 30° de latitud.

Durante los muestreos en el campo los organismos de *R. productus* fueron identificados según McEachran y Notarbartolo di Sciara (1995), haciendo un diagnóstico de las características internas y externas. De cada hembra se obtuvo la longitud total (LT en cm), el peso (g) y se extrajo el aparato reproductor para su análisis posterior en laboratorio.

Tabla II: Periodos anuales en que se recolectó *Rhinobatos productus* en las diferentes áreas de muestreo, Puerto Peñasco (PP), San Felipe (SF) y Bahía de Kino (BK). Durante varios meses sólo hay registro de presencia de huevos (PH) ya que no se pudo realizar un conteo. Longitud total (LT) en cm.

Fecha	Lugar	No. de hembras	LT promedio en hembras	No. de embriones	LT promedio en embriones	No. de huevos
Marzo 2003	PP	22	85.5	0	0	PH
Junio 2003	SF	6	88.9	20	14.5	0
Julio 2003	PP	58	76.2	0	0	PH
Agosto 2003	PP	22	81.5	0	0	PH
Sept 2003	PP	26	85.5	0	0	PH
Nov 2003	PP	28	88.5	0	0	PH
Enero 2004	PP	8	80.7	0	0	PH
Mayo 2004	SF	31	93.0	244	9.5	0
Mayo 2005	SF	25	91.0	88	4.16	0
Junio 2005	SF	27	96.8	301	15.7	0
Marzo 2006	BK	3	73.0	0	0	10
Abril 2006	SF	64	82.3	102	1.2	326
Abril 2006	BK	101	72.8	233	2.9	83
Mayo 2006	BK	10	74.4	42	10.1	0
Junio 2006	BK	31	79.3	153	15.5	0
Febrero 2007	BK	27	67.8	0	0	31
Marzo 2007	BK	11	65.4	0	0	6
Mayo 2007	SF	70	86.6	388	3.0	0
Mayo 2007	BK	75	70.2	472	8.7	0
Junio 2007	BK	5	68.3	4	16.4	28
Total		650		2,047		484

Se realizó una disección por medio de una incisión en la parte ventral del organismo, removiendo hígado, estómago e intestino. Las muestras se etiquetaron, se colocaron en bolsas y cajas de plástico duro para evitar que las partes blandas se maltrataran, finalmente se colocaron en hielo para su transporte.

III.2. Procesamiento de muestras y análisis de datos

Se analizó el contenido de los úteros tomando en cuenta el estadio en que se encontraba el periodo de gestación. Se realizó un conteo del número de embriones o huevos depositados en cada útero. Cuando había sólo presencia de huevos se determinó el peso total (W_t); en el caso de los embriones se tomó la longitud total (LT), el peso total, peso del saco vitelino (W_{sv}) y el peso del embrión (W_{em}). Para la determinación de la relación nutricional madre-embrión se utilizaron úteros completos (pareados) de los cuales se obtuvo el peso fresco; posteriormente se colocaron en bolsas herméticas para su congelación y análisis en laboratorio. Para el muestreo de los embriones de la fase terminal del desarrollo embrionario se realizó el mismo procedimiento, considerando el diámetro de los ovocitos maduros presentes en los ovarios.

III.2.1. Periodo de gestación

Para determinar el periodo de gestación se relacionó la longitud total de los embriones con respecto al mes en que se recolectó cada organismo y así observar la variación estacional ontogénica de la especie. Se asignó un valor de 0.1 cm en las hembras que contenían huevos fertilizados y que no se observaron embriones a simple vista (Walker, 2005).

III.2.2. Crecimiento embrionario

Para determinar el crecimiento embrionario se midió la longitud total de los embriones y se relacionó con las siguientes variables: peso de los embriones, peso del saco vitelino externo y peso total (embrión más saco vitelino). Así mismo, utilizando la longitud de los embriones se determinó la frecuencia de tallas en intervalos de 2 cm. Para obtener la

relación peso-longitud se utilizó la ecuación (1) de Nielsen y Johnson (1985):

$$W_{em} = a(LT_{em})^b, \quad (1)$$

en donde W_{em} representa el peso de los embriones (en gramos), LT_{em} es la longitud total de los embriones en cm, a y b son constantes de la función, siendo b la constante de la tasa de crecimiento. Los valores de la ecuación se determinaron mediante el ajuste de una regresión potencial. Una vez obtenidos estos datos, se realizó una prueba t de Student para determinar si el valor de b es significativamente diferente a tres y establecer si el crecimiento de los embriones es isométrico, lo que significa que todas las partes del cuerpo crecen en las mismas proporciones (Zar, 1999).

La proporción del saco vitelino (P_{sv}) se determinó con la finalidad de observar como cambia el peso del saco vitelino en función del cambio del peso del embrión, para lo cual se utilizó la ecuación (2) de Walker (2005):

$$P_{sv} = W_{sv}/(W_{em} + W_{sv}), \quad (2)$$

en donde W_{sv} es el peso del saco vitelino y W_{em} representa el peso de los embriones. Para estimar el número de ciclos reproductivos de cada hembra dependiendo de la longitud total de éstas, se utilizó la ecuación de edad y crecimiento (ec. 3) determinada para esta especie por Downton Hoffman (2007):

$$LT = 136.69(1 - \exp^{-0.166(t - (-0.83))}) \quad (3)$$

Una vez obtenido el número de ciclos reproductivos anuales, se clasificó a las hembras en pequeñas (1 a 2 ciclos), medianas (3 a 4 ciclos) y en grandes (5 a más ciclos). Con esta

clasificación se determinó la fecundidad, peso de huevos uterinos y la talla de nacimiento de las crías en función de la talla materna.

III.2.3. Úteros

Del total de las muestras analizadas, a 60 úteros se les determinó el número de pliegues, la longitud valle-cresta (altura) de los pliegues y la distancia que había entre éstos; se consideraron distancias menores a 1 mm entre pliegues y las mayores de 2 mm. Para una mejor interpretación de los valores obtenidos se realizó un esquema en donde se observa la tendencia de los pliegues con respecto al ancho de los úteros, considerando sólo los meses en que se lleva acabo el desarrollo embrionario.

Para el análisis histológico se utilizaron úteros de hembras con diferentes tallas, con el fin de representar todos los estadios del desarrollo embrionario desde la fase inicial hasta la terminal. Los úteros vacíos fueron preservados en formaldehído al 10 %.

Se realizaron cortes transversales de 1 cm³ de las partes anterior, media y posterior de los úteros, las cuales se lavaron con agua corriente durante 12 horas para eliminar el exceso de fijador. Las muestras se procesaron en el deshidratador de tejidos LEICA TP1040 durante 24 horas (tabla III). Posteriormente las muestras se incluyeron en parafina utilizando el inclusor LEICA EG1160, dando como resultado un bloque de parafina con el tejido en su interior. De cada bloque se obtuvieron, con un microtomo, cortes de 5 μ m de grosor. Estos cortes fueron extendidos en baño maría a 40°C, se colocaron en un portaobjetos y se prepararon para la desparafinación (tabla IV). Para el proceso de tinción se utilizó la técnica hematoxilina-eosina floxina (tabla V). Las laminillas teñidas fueron montadas con resina para su análisis posterior.

Con el propósito de observar los cambios presentes en la pared de los úteros durante

el desarrollo embrionario, se hicieron observaciones en los cortes histológicos con un microscopio estereoscópico; utilizando una cámara LEICA DC180 se fotografiaron los ejemplares más representativos de cada estadio.

Tabla III: Método de deshidratación de tejidos en procesador Leica TP 1040.

Orden	Reactivo	Tiempo (h)
1	Alcohol al 70 %	1
2	Alcohol al 96 % I	2
3	Alcohol al 96 % II	2
4	Alcohol al 100 % I	2
5	Alcohol al 100 % II	2
6	Alcohol-Benceno	2
7	Benceno I	2
8	Benceno II	2
9	Parafina-Benceno	2
10	Parafina I	2
11	Parafina II	2

Tabla IV: Proceso de desparafinación de tejidos.

Orden	Reactivo	Tiempo (Min)
1	Xileno 100 % I	2
2	Xileno 100 % II	2
3	Xileno 100 % III	2
4	Alcohol 100 % I	2
5	Alcohol 100 % II	2
6	Alcohol 96 %	2
7	Alcohol 10 %	2
8	Agua destilada	2

Tabla V: Técnica de tinción Hematoxina-Eosina Floxina.

Orden	Reactivo	Tiempo
1	Hematoxina	5 min
2	Agua destilada	15 s
3	Alcohol ácido	10 s
4	Carbonato de litio	2 min
5	Agua corriente	15 s
6	Agua destilada	15 s
7	Alcohol etílico 95 %	1.5 min
8	Eosina-Floxina	2 min
9	Alcohol 96 % I	15 s
10	Alcohol 96 % II	15 s
11	Alcohol 100 % I	15 s
12	Alcohol 100 % II	15 s
13	Alcohol 50 % + Xileno 50 %	2 min
14	Xileno 100 %	2 min
15	Xileno 100 %	5 min

III.2.4. Relación nutricional madre-embrión

Para establecer la incidencia de la madre en la alimentación de los embriones durante el periodo de gestación, se determinó el peso seco de los huevos fecundados y el de los embriones con el saco vitelino externo absorbido en su totalidad. Para determinar el valor estándar del porcentaje del contenido de agua, las muestras se descongelaron a temperatura ambiente; del contenido de cada útero se determinó el peso húmedo promedio, se colocaron los huevos uterinos en crisoles de porcelana y fueron secados en una estufa a 60°C hasta que el peso se mantuvo constante de 15 a 20 días (Capapé *et al.*, 1990). En el caso de los embriones se utilizó el mismo procedimiento, colocando un embrión en cada crisol.

La incidencia de la madre en los embriones se estimó utilizando las ecuaciones (4) y (5) de Capapé *et al.* (1990):

$$\text{Contenido de agua} = W_h - W_s, \quad (4)$$

$$\% \text{ de agua} = \frac{\text{contenido de agua}}{W_h} * 100, \quad (5)$$

en donde W_h es el peso húmedo de la muestra y W_s el peso seco. Este análisis se realizó independientemente para huevos fertilizados y embriones de la fase terminal. El porcentaje estándar obtenido se aplicó al resto de la base de datos para estimar el peso seco promedio de huevos y embriones. Por último se obtuvo la tendencia de la materia orgánica por medio de la proporción del peso seco durante el desarrollo embrionario la cual se obtuvo aplicando la ecuación (6):

$$\text{Proporción del peso seco} = \frac{\bar{X}W_{em}}{\bar{X}W_{sc}}. \quad (6)$$

en donde $\bar{X}W_{em}$ es el peso seco promedio de los embriones de la fase terminal del desarrollo embrionario y $\bar{X}W_{sc}$ es el peso seco promedio de los huevos uterinos.

IV

Resultados

IV.1. Frecuencia de tallas en embriones

Durante los muestreos realizados en la pesca comercial durante el periodo de abril a junio de los diferentes años, se realizaron observaciones morfológicas en una muestra de 2,047 embriones y un total de 484 huevos fecundados (19 % de la muestra) correspondientes a 650 hembras. Los embriones presentaron un intervalo de tallas de 0.7 a 19.2 cm LT, con una media de 8.1 cm LT, en los cuales las tallas con mayor frecuencia se ubicaron en los intervalos de 2 a 4 cm representando el 21 % (figura 2). En el intervalo de 18 a 20 cm LT se registraron 33 organismos (1 %) siendo la talla máxima de 19.2 cm LT. Del total de embriones observados 1,143 se colectaron en el Alto Golfo y 904 en Bahía de Kino (tabla II).

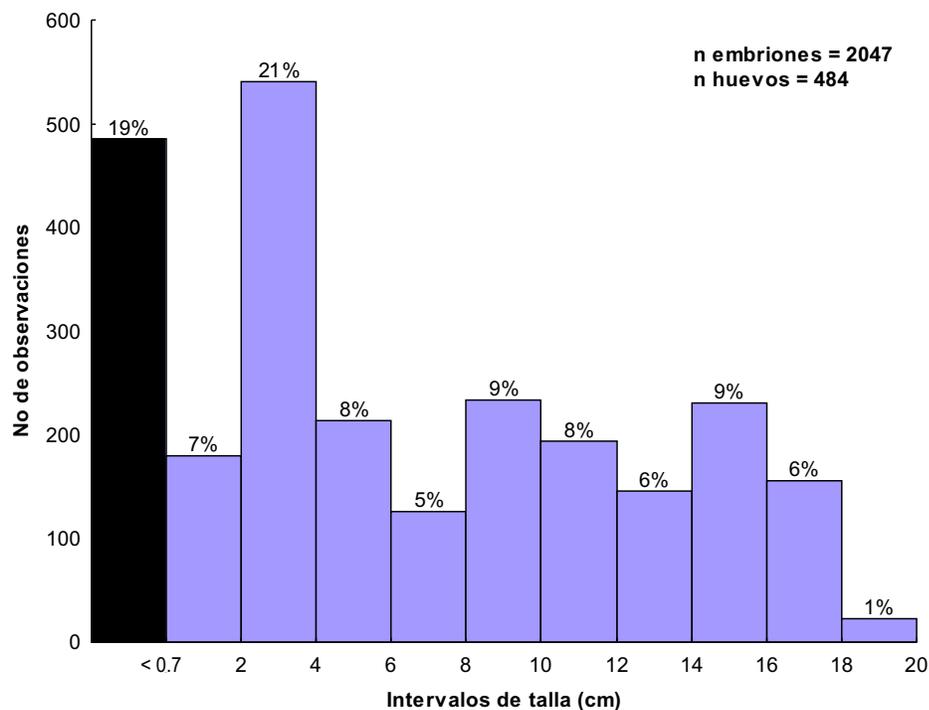


Figura 2: Frecuencia y porcentaje de tallas de todos los embriones recolectados durante los diferentes años de muestreo.

IV.2. Periodo de gestación

Los datos fueron agrupados por mes para facilitar su interpretación. Considerando ciclos anuales de enero a diciembre, durante el periodo de agosto del primer año a marzo del siguiente, las hembras sólo presentaron huevos en los úteros; los embriones empezaron a ser visibles a mediados de abril hasta los últimos días de junio (figura 3). El rango de tallas durante el mes de abril llegó a 4.6 cm LT ($\bar{x}=2.4\pm 1$), en mayo de 0.9 a 15.9 cm LT ($\bar{x}=6.8\pm 3.5$) y en junio fue de 12 a 19.2 cm LT ($\bar{x}=15.6\pm 1.6$), con diferencias mensuales que fueron estadísticamente significativas ($F=536.1$; $df=11,2160$; $p<0.001$). Durante el mes de mayo se registró el mayor número de especímenes recolectados debido a la abundancia de la especie en las zonas de pesca.

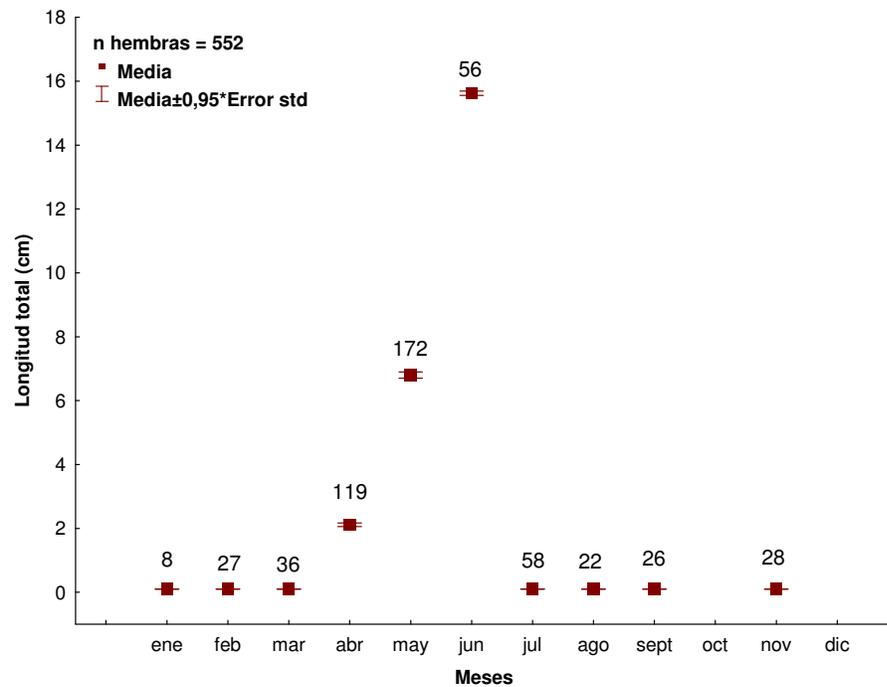


Figura 3: Periodo de gestación. Registro de 368 hembras con embriones y 282 hembras con presencia de huevos uterinos. En esta especie el periodo de gestación dura aproximadamente 12 meses.

Al hacer un análisis quincenal de las longitudes totales registradas (figura 4) se observó que el crecimiento de los embriones fue acelerado de abril a junio, con diferencias significativas entre las tallas ($F=2478.9$; $df=6,2121$; $p<0.001$). A finales del mes de marzo aun no había registro de embriones al igual que durante la primer quincena de abril (marzo I y abril I), sólo huevos depositados en los úteros. En la segunda quincena (abril II) se registró una talla media de 2.1 cm LT y aún había presencia de huevos en menor cantidad. En el mes de mayo las tallas variaron de 4.2 a 9.6 cm LT por quincena. En cambio, durante el mes de junio los embriones presentaron una longitud media de 15.6 cm sin haber diferencias significativas entre las tallas registradas en la primer y segunda quincena (junio I y II) ($t=0.62$; $df=471$; $p>0.05$). El resto del las quincenas (julio I a abril I) se observaron huevos uterinos sin embriones.

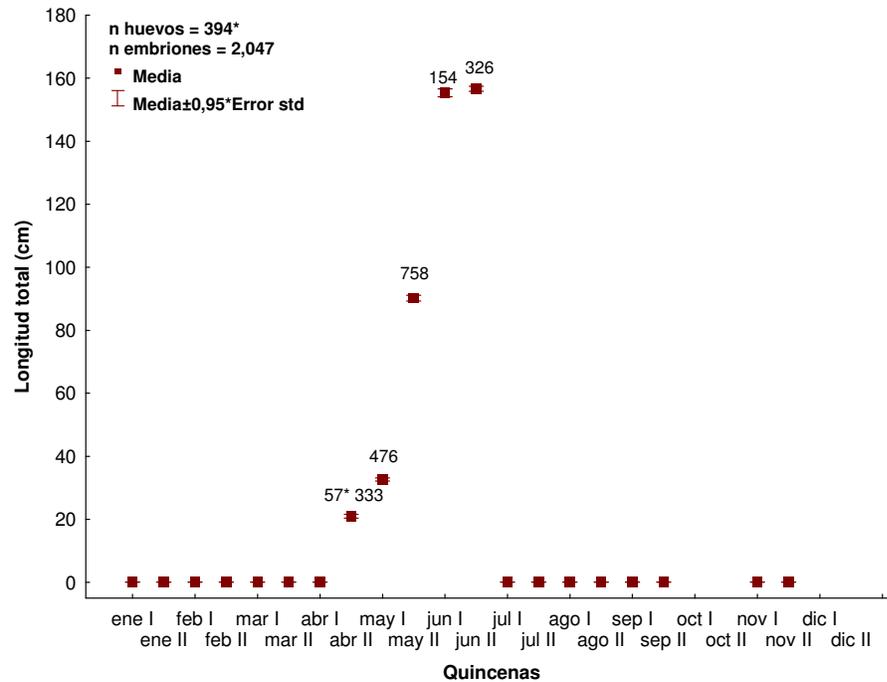


Figura 4: Crecimiento quincenal durante todo el periodo de gestación.

Al obtener el porcentaje de frecuencia de los estadios del desarrollo embrionario por quincenas (ver texto pág. 27) se observó que durante las quincenas de junio I de un año a abril I del siguiente año el estadio 1 representó el 100 % (figura 5). En las quincenas de abril II y mayo I el estadio 2 representa el 88.2 y 95.5 % respectivamente aunque las medias quincenales presentaron diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.001$); esto se debe a que los estadios son con base en las características externas de los embriones y no con su longitud total. Durante mayo II se observaron embriones del estadio 2 con 13 %, el estadio 3 con el 40 % y en mayor abundancia el estadio 4 el cual representó el 46 %, sin presencia de huevos uterinos ni embriones de la fase terminal. En la penúltima quincena del desarrollo se presentaron los primeros embriones del estadio 5 (junio I) con una frecuencia de 5.9 % y la mayor abundancia estuvo representada por el estadio 4 (94.1 %). Durante junio II, el estadio 1 presento un 8.4 %, el estadio 5 un 12 % y el estadio 4 un 79.5 %, por lo que hay indicios de hembras recién ovuladas y posibles alumbramientos.

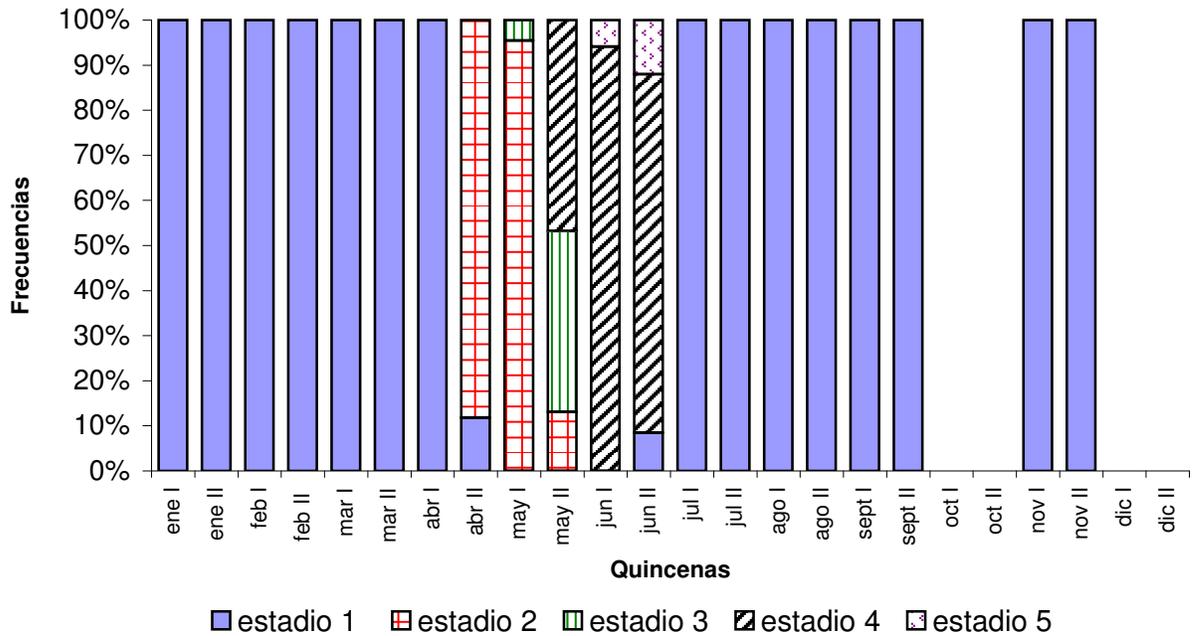


Figura 5: Porcentajes de frecuencia de los estadios por quincena durante todo el periodo de gestación.

IV.3. Crecimiento embrionario

En la relación peso-longitud el peso se incrementó exponencialmente conforme aumentó la longitud; el modelo potencial explicó una varianza de 98.98% y el valor de la pendiente fue de $b = 3.05$ (figura 6), que estadísticamente no es diferente de tres ($t=1.96$; $df=1,633$; $p<0.05$) por lo que esta especie presentó un crecimiento isométrico, esto es, que la longitud y el peso aumentaron proporcionalmente.

Durante el desarrollo embrionario el Saco Vitelino Externo (SVE) disminuyó conforme crecieron los embriones (figura 7). En crías con tallas similares existió una variación en el peso de los SVE y ésta se mantuvo hasta que el saco vitelino fue consumido en su totalidad. La correlación entre estas variables tiende a ser negativa ($r = -0.57$) dado que el peso del SVE disminuye conforme aumenta la longitud de los embriones. En un total de 1,305 embriones en que se registró el peso del SVE, el máximo valor obtenido fue de

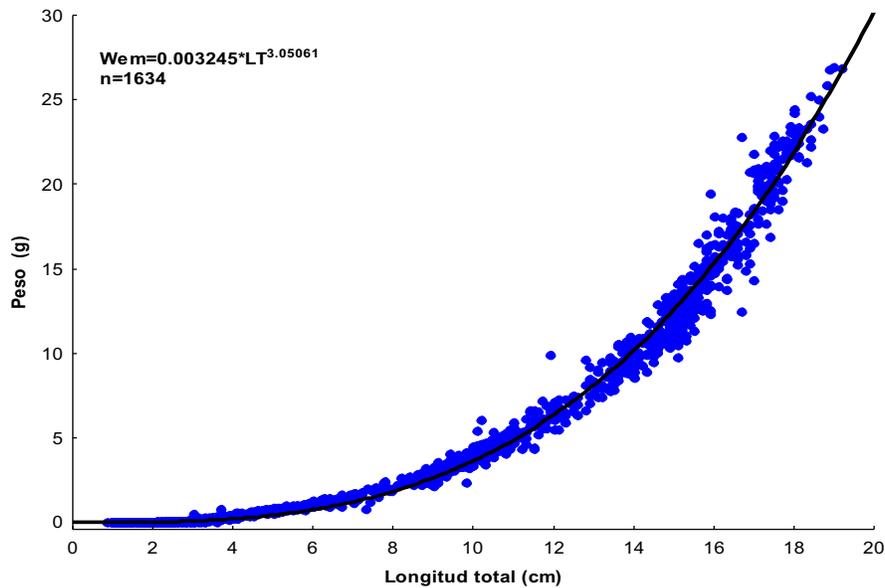


Figura 6: Relación peso-longitud en embriones de *Rhinobatos productus* del centro y alto Golfo de California.

15.14 g, correspondiente a un embrión de 3.5 cm LT, en una hembra de 88 cm LT.

Al incrementar la longitud total de los embriones el peso total (peso embrión más peso del saco vitelino) aumentó manteniendo una variación constante en los diferentes estadios (figura 8); cuando los embriones alcanzaron una talla aproximadamente de 12 cm LT, el crecimiento se aceleró al igual que el peso total.

Para explicar las diferencias en el peso de los sacos vitelinos y las tallas de nacimiento de los embriones (figuras 7 y 8), se estimaron la fecundidad, el peso de huevos fertilizados y la talla de nacimiento de las crías con respecto a la talla materna; las hembras se clasificaron con base en el número de ciclos reproductivos anuales: las hembras pequeñas tuvieron de uno a dos ciclos, las medianas de tres a cuatro ciclos y las grandes de cinco a más (tabla VI). Las hembras pequeñas con longitudes de 58 a 80 cm LT tuvieron de 1 a 11 crías en cada ciclo reproductivo ($\bar{x} = 4.4 \pm 2.3$), con una longitud total en promedio de 16.9 cm (± 0.6). Las hembras medianas con tallas entre 81 y 97 cm LT tuvieron de 2 a 14 crías en cada

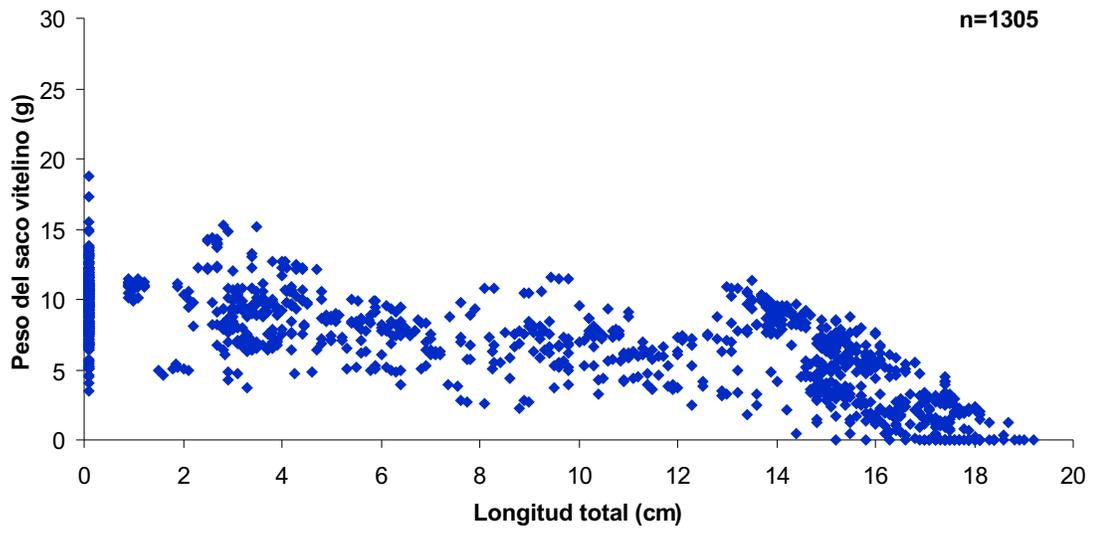


Figura 7: Peso del saco vitelino con respecto a la longitud total de los embriones.

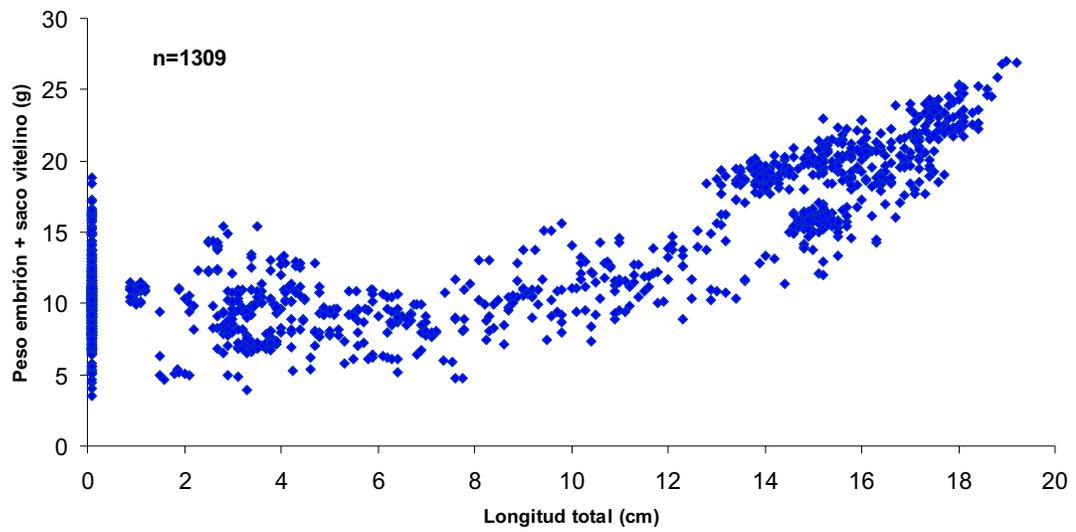


Figura 8: Peso total del saco vitelino externo mas el peso del embrión con respecto a la longitud total de los embriones.

ciclo reproductivo ($\bar{x} = 7.6 \pm 3$) la talla de nacimiento de los embriones en promedio fue de 17.4 cm (± 1). En cambio, las hembras grandes con longitudes mayores a los 98 cm LT tuvieron camadas de 5 a 30 crías ($\bar{x} = 14.4 \pm 5.2$) con una longitud media de 17.9 cm LT (± 0.3). En general se puede observar que dependiendo de la talla materna, existió un incremento en el peso de los huevos fertilizados, el número de crías por hembra y la longitud que alcanzaron los embriones antes de su nacimiento, con diferencias estadísticamente significativas entre las medias de cada variable ($p < 0.001$).

Tabla VI: Fecundidad, peso de huevos uterinos y talla de nacimiento de los embriones en función de la longitud total de las hembras. n es el número total de observaciones para cada grupo de hembras.

	Hembras pequeñas	Hembras medianas	Hembras grandes
LT hembras (cm)	58 - 80	81 - 97	98 - 115
Fecundidad	1 - 11	2 - 14	5 - 30
$\bar{x} \pm sd$	4.4 ± 2.3	7.6 ± 3	14.4 ± 5.2
n hembras	158	123	32
Peso huevos uterinos (g)	3.43 - 13.4	5.1 - 18.8	9.87 - 16.75
$\bar{x} \pm sd$	8.5 ± 1.9	10.6 ± 1.7	11.9 ± 1.6
n huevos	156	189	133
LT nacimiento embriones (cm)	15.9 - 18.6	15.2 - 19.2	17.5 - 18.4
$\bar{x} \pm sd$	16.9 ± 0.6	17.4 ± 1	17.9 ± 0.3
n embriones	14	29	23

Durante el desarrollo embrionario el SVE fue consumido en su totalidad por lo que al determinar su proporcionalidad con respecto al peso y longitud de los embriones se observó una relación inversa al crecimiento embrionario (figura 9). Desde que inició el periodo de gestación hasta que los embriones alcanzaron una talla aproximadamente de

12 cm LT el SVE representó más del 50 % del peso total, conforme el embrión aumentó su longitud el SVE disminuyó drásticamente hasta ser consumido en su totalidad, y pasó de ser SVE a ser Saco Vitelino Interno (SVI).

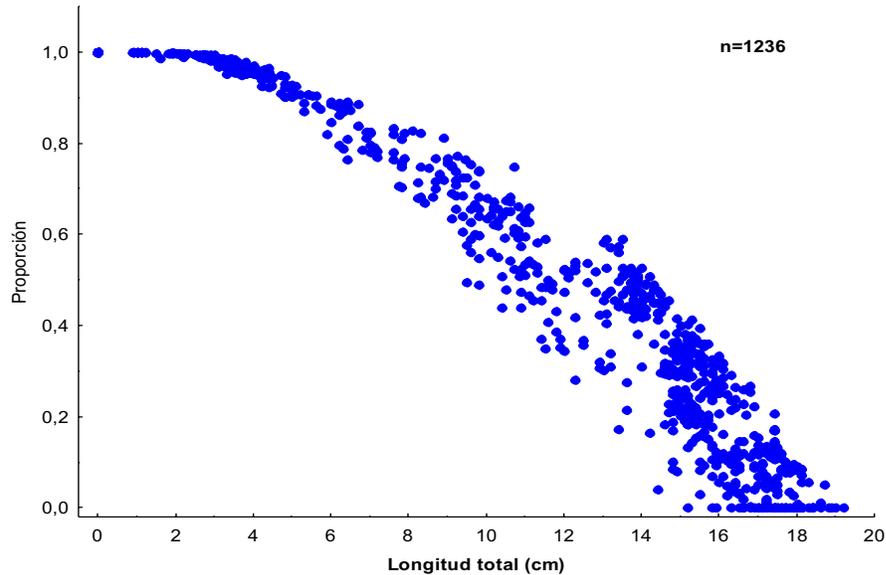


Figura 9: La proporción del saco vitelino disminuye con el incremento de la longitud total de los embriones.

El crecimiento embrionario puede ser diferenciado en cinco estadios principales:

Estadio A.- Los huevos fecundados estuvieron depositados una sola cápsula color verde ámbar sin compartimentos internos (figura 10a).

Estadio B.- Los embriones aún se encontraron dentro de la cápsula uterina. En esta etapa los embriones tuvieron el cuerpo comprimido lateralmente y fueron transparentes. Las hendiduras branquiales presentaron una posición lateral, con filamentos externos pequeños con longitudes de 0.2 a 0.3 cm (figura 10b). Todas las aletas estuvieron desarrolladas, excepto las pectorares las cuales crecieron en proporciones pequeñas en comparación con los adultos y se extendieron alrededor de las hendiduras branquiales. El saco vitelino representó el 96 % del peso total.

Estadio C.- Los embriones contaron con un gran parecido a los adultos y han roto la cápsula, en algunas ocasiones sólo hubo restos de ésta. Aún presentaron una coloración roja clara con 2 a 8 puntos pigmentados de color café en el dorso. Las aletas pectorales se han fusionado completamente a la región branquial y a la cabeza. Los ojos presentaron un círculo negro externo con el centro transparente y se han colocado en la parte dorsal de la cabeza (figura 10c). Las hendiduras branquiales tomaron una posición latero-ventral, los filamentos branquiales aún fueron externos y abundantes con una longitud de 0.8 a 1 cm.

Estadio D.- Los embriones se han formado en su totalidad y no hay presencia de filamentos branquiales, fueron idénticos a los adultos excepto por el saco vitelino externo, el cual representó menos del 40 % del peso total (figura 10d). La coloración se tornó café en todo el dorso con pigmentos blancos y algunos más oscuros.

Estadio E.- El saco vitelino a sido absorbido en su totalidad y pasa de ser externo a interno. En algunas ocasiones se observó el saco vitelino externo vacío (figura 10e).

IV.4. Úteros

El tracto urogenital femenino está compuesto por: los *ovarios*, localizados en la parte anterior del aparato reproductor; el *órgano epigonal*, que sirve como sostén de los ovarios y forma células sanguíneas; el *ostium*, que está encargado de recibir los óvulos del ovario, canalizándolos por los oviductos hacia la *glándula oviducal*, la cual tiene una forma de nudo o corazón con protuberancias en forma de cuernos laterales (Hamlett y Koob, 1999). *Rhinobatos productus* tiene dos *úteros* funcionales, en los cuales se lleva a cabo el desarrollo embrionario; la *vagina* conecta los úteros y la *cloaca*, que es la abertura rectal situada en la parte posterior ventral del organismo (figura 11).

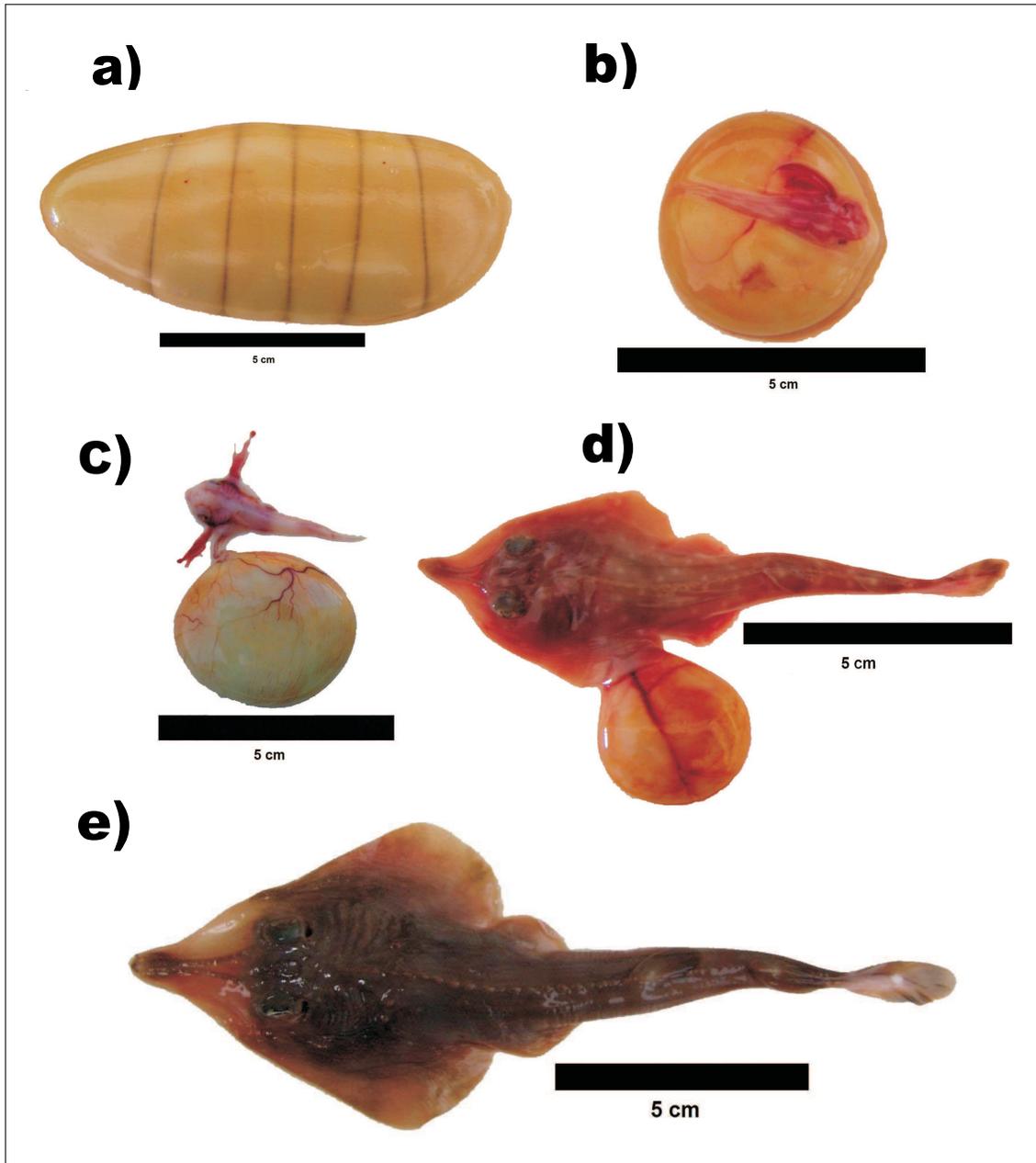


Figura 10: Comparación entre los cinco estadios del crecimiento embrionario. **a.-** Cápsula uterina con cuatro huevos fecundados. **b.-** Embrión con hendiduras branquiales laterales y cordón umbilical que se adhiere al saco vitelino. **c.-** Embrión con gran parecido a los adultos, todavía con branquias externas y saco vitelino. **d.-** Embrión sin branquias externas y saco vitelino externo con menos del 40% del peso total. **e.-** Embrión sin saco vitelino externo, coloración completa listo para su nacimiento.

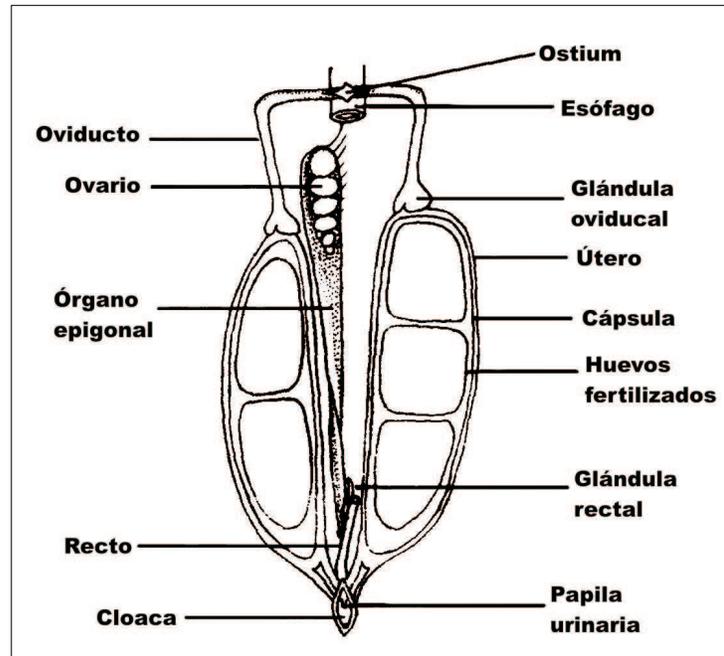


Figura 11: Tracto urogenital en hembras de *Rhinobatos productus*. Modificado de Wenbin y Shuyuan, 1993.

Durante el periodo de gestación los úteros las paredes uterinas presentan diferentes cambios. Al inicio de la gestación todos los huevos fertilizados son depositados en una cápsula en forma de bolsa, de textura blanda, lisa, delgada y color verde ámbar la cual es secretada por la glándula oviducal antes de la ovulación y se forma completamente una vez que termina éste proceso (figura 10a). En ningún estadio del desarrollo embrionario hubo presencia de compartimentos uterinos o membranas que separan a los huevos o embriones. Durante los meses en que se presentó la diapausa embrionaria (agosto a abril) los huevos uterinos permanecieron dentro de la cápsula hasta que los embriones iniciaron el desarrollo embrionario y contaban con una longitud de 3 a 4 cm LT, durante el resto del desarrollo se observaron restos de ésta dentro de los úteros hasta antes del alumbramiento.

Para una mejor interpretación de la presencia de pliegues en las paredes uterinas se clasificaron las hembras sexualmente maduras en tres grupos principales. Grupo A, hem-

bras menores a los 60 cm LT consideradas por lo general inmaduras, ya que no habían tenido actividad en los úteros pero sí en los ovarios (menos de 5 ovocitos por ovario); grupo *B*, hembras menores de 65 cm LT que tuvieron el primer o segundo ciclo reproductivo; grupo *C*, hembras mayores a 65 cm LT que habían tenido más de dos ciclos reproductivos y con fecundidad de 6 a 30 crías.

Los úteros de las hembras del grupo *A* eran pequeños con un ancho promedio de 1.4 cm y los oviductos estaban indiferenciados. En el grupo *B* los úteros eran pequeños con un grosor en la pared del útero menor a 0.5 cm y tenían en promedio de 39 a 41 pliegues longitudinales, y una distancia entre pliegues mayor a 0.1 cm (figura 12). Las hembras del grupo *C*, que habían presentado más de un ciclo reproductivo, al principio del desarrollo embrionario presentaron las paredes de los úteros gruesas con pliegues longitudinales bien diferenciados con menos de 0.1 cm de distancia entre pliegues; conforme avanzó el crecimiento de los embriones las paredes uterinas se expandieron, fueron más delgadas y presentaron vascularizaciones, un promedio de 30 pliegues (± 8.3) y una distancia máxima entre pliegues de 0.8 cm. Al incrementar el número de ciclos reproductivos en el organismo, los úteros aumentaron en longitud y las paredes se hicieron delgadas, transparentes y la longitud valle-cresta de los pliegues disminuyó a menos de 0.1 cm de longitud.

En la figura 13 se muestra un esquema que ilustra cómo fue la tendencia de la distancia entre pliegues con respecto al ancho de los úteros, considerando sólo a las hembras del grupo *C* y los meses en que duró el desarrollo embrionario. Antes de que iniciara el crecimiento embrionario (marzo) el útero se encontraba contraído por lo que la distancia entre pliegues fue menor a 0.1 cm, y los pliegues alcanzaron una longitud valle-cresta de 0.4 cm. Una vez que inició el crecimiento de los embriones (abril) la pared del útero se expandió gradualmente iniciando por la cara ventral, por lo que la distancia entre los

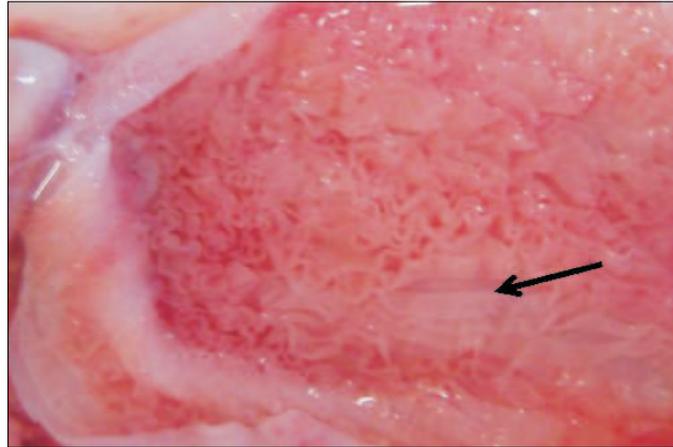


Figura 12: Pliegues longitudinales en útero de hembra con uno o dos ciclos reproductivos.

pliegues varió de 0.1 a 0.5 cm, al mismo tiempo que disminuyó la longitud valle-cresta de los pliegues a 0.2 cm en promedio. Cuando los embriones alcanzaron una longitud de 8 a 11 cm, durante la segunda quincena de mayo, el útero se podía diferenciar en parte dorsal y parte ventral. La parte dorsal presentó una acumulación de pliegues anchos y con distancia menor a 0.1 cm entre pliegue y pliegue. En cambio en la cara ventral la pared era delgada, transparente y con pliegues muy pequeños (longitud cresta-valle menor 0.1 cm) con una distancia intermedia de 0.5 a 0.6 cm entre pliegues. Al final del periodo de gestación, cuando los embriones alcanzaron una longitud promedio de 16 a 17 cm, los úteros presentaron pliegues con longitudes cresta-valle menores a 0.1 cm y una distancia intermedia de 0.7 a 0.9 cm, estas estructuras presentaron características uniformes entre la parte ventral y la dorsal.

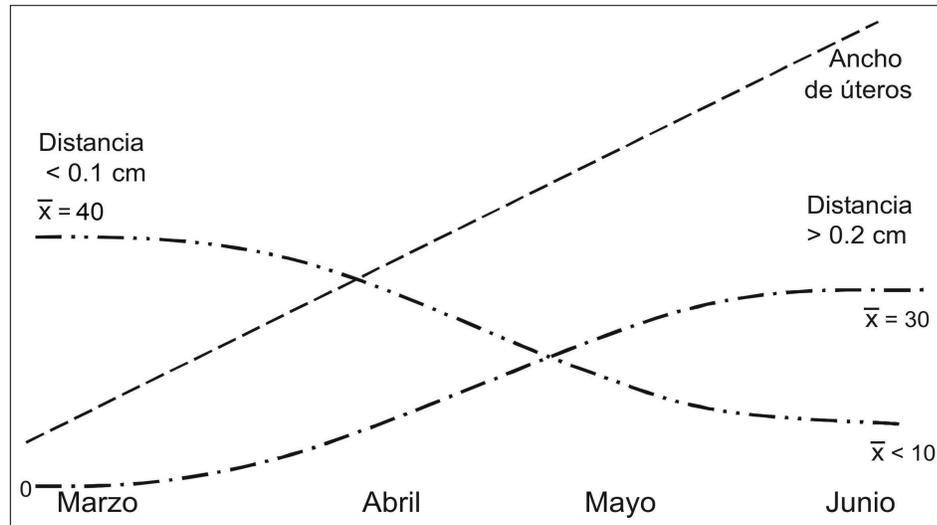


Figura 13: Esquema para explicar la distancia entre pliegues con respecto al ancho de los úteros durante el desarrollo embrionario en hembras que cuentan con más de un parto.

IV.4.1. Observaciones microscópicas

Se realizaron observaciones en un total de 27 muestras histológicas correspondientes a la pared uterina. Considerando que los cambios son mas evidentes al inicio y final del desarrollo embrionario, se utilizaron estos dos estadios para hacer una comparación de las características que presentan las paredes uterinas.

En general las paredes de los úteros están compuestas en la superficie interna por epitelio de transición, tejido conectivo, tejido muscular liso y vasos sanguíneos (figura 14a). El epitelio de revestimiento es cúbico simple. Todas las hembras grávidas presentaron pliegues longitudinales lineales compuestos por tejido conectivo vascularizado colocado entre dos capas de epitelio. En la base de estos pliegues se encontraron pequeñas criptas, que aumentaron la superficie de la pared de los úteros. Estas criptas fueron abundantes al inicio del desarrollo embrionario con tendencia a disminuir o desaparecer conforme avanzaron los estadios del desarrollo. En todo el epitelio de la cavidad interna hubo presencia de glándulas alveolares activas secretoras de mucus, las cuales fueron más abundantes al inicio del

desarrollo embrionario (figura 14b).

El tejido conectivo está compuesto por fibroblastos (células) que secretan fibrillas y que estructuran las haces de fibras de colágeno. En hembras que contaron con más de un ciclo reproductivo, durante los primeros estadios del desarrollo el tejido conectivo fue denso irregular (figura 15a). Conforme avanzó el desarrollo embrionario se incrementó la tensión sobre las paredes uterinas por lo que los haces de fibras de colágeno adoptaron una posición paralela ordenada, permitiendo que las paredes de los úteros se dilataran en su máxima capacidad hasta el final del periodo de gestación (figura 15b).

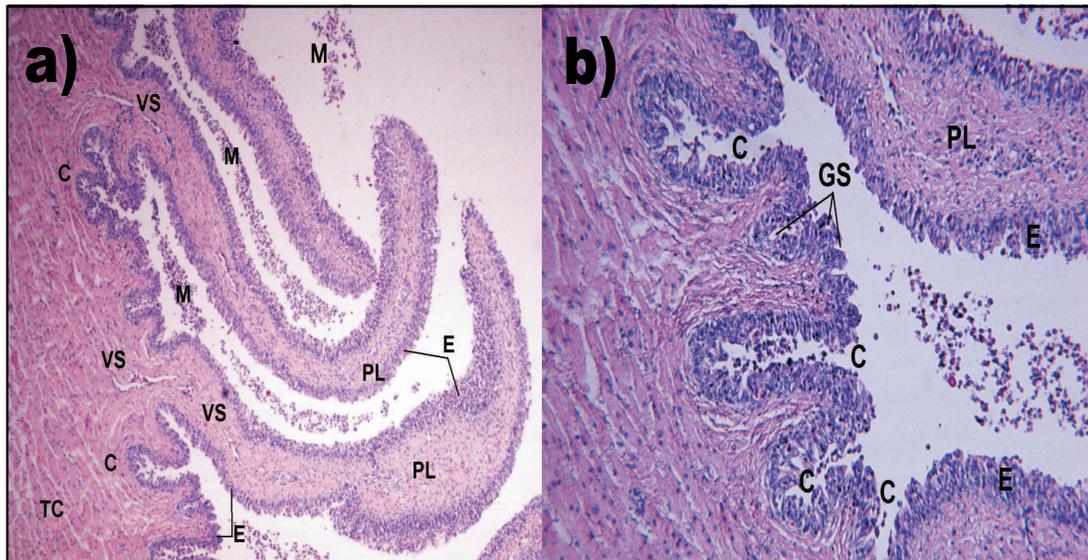


Figura 14: Pared uterina al inicio del desarrollo embrionario en una hembra de 81 cm LT, con dos o tres ciclos reproductivos. **a.-** Estructuras: Epitelio (E), pliegues longitudinales (PL), criptas basales (C), tejido conectivo (TC), vasos sanguíneos con presencia de eritrocitos (VS) y secreciones mucosas (M) 400X. **b.-** Útero relajado; formación de criptas (C) en la base de los pliegues longitudinales (PL), en su epitelio (E) se forman glándulas secretoras (GS) de mucus 4,000X.

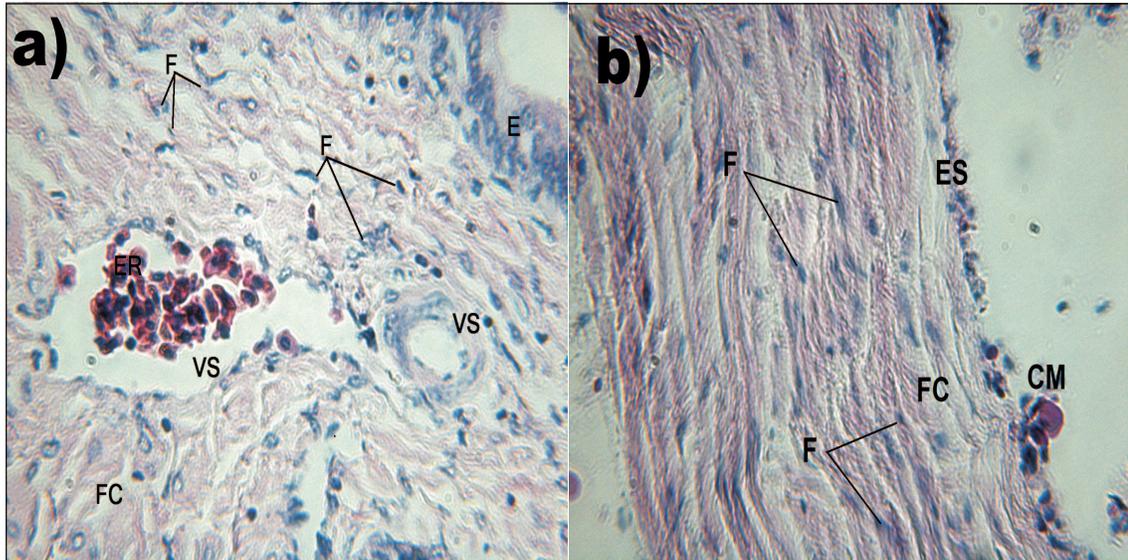


Figura 15: Cambios en las estructuras de las paredes uterinas en hembras que han tenido más de dos ciclos reproductivos. **a.-** Hembra de 83 cm LT con embriones de 2.8 cm LT en promedio (± 0.05) con 2 ó 3 ciclos reproductivos. Presencia de abundantes vasos sanguíneos con eritrocitos (VS) en la base de los pliegues longitudinales, tejido conectivo con fibroblastos (F) y fibras de colágeno (FC), epitelio de transición (E) multicelular 4,000X. **b.-** Hembra de 89 cm LT con embriones de 1 cm LT (± 0.18) y de 3 a 4 ciclos reproductivos. Tejido conectivo con fibroblastos (F) y haces de fibras de colágeno (FC), característica del estado dilatado de este tejido. Transformación de epitelio de transición a simple (ES). Presencia de células secretoras de mucus (CM) 4,000X.

IV.5. Relación nutricional madre-embrión

Para determinar el porcentaje estándar del contenido de agua en huevos y embriones de *R. productus*, se utilizaron un total de 16 huevos provenientes de 8 úteros y 4 embriones de la fase terminal (tablas VII y VIII). Los porcentajes del contenido de agua determinados para huevos y embriones fue del 48.6% y 80.75% respectivamente. Estos estándares se aplicaron a una base de datos con un registro de 328 huevos fertilizados los cuales presentaron una variación en los pesos frescos de 3.53 a 18.78 g (media $9.6 \text{ g} \pm 2$). En el caso de los embriones se utilizó un registro de 52 muestras con una variación en el peso fresco de 17.7 a 26.97 g (media $21.5 \text{ g} \pm 3.04$). Con base en estos valores, la media

del peso seco en huevos fue de 4.94 g y en embriones fue de 4.13 g, por lo que hubo una pérdida en el peso del 16.3%. La proporción de la materia orgánica de huevo a embrión es de 0.84. Considerando que en especies matotróficas debe haber una ganancia en el peso seco del orden de 20%, una proporción del peso seco mayor a 10; los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que el pez guitarra *R. productus* es una especie lecitotrófica.

Tabla VII: Valores del contenido de agua en huevos fecundados

LT hembra cm	No de huevos	Peso húmedo (g)	Peso seco (g)	Contenido agua %
61.0	2	17.63	9.24	47.6
61.0	2	16.45	8.48	48.4
62.5	2	16.16	8.16	49.5
63.2	1	6.14	3.06	50.2
63.2	3	18.66	9.46	49.3
65.0	3	21.90	11.56	47.0
74.0	3	22.52	11.51	48.9
74.0	3	33.03	17.17	48.0

Tabla VIII: Contenido de agua en cuatro embriones en fase terminal del periodo de gestación, obtenidos de una hembra de 68.3 cm LT.

Lt de embriones (cm)	Peso húmedo (g)	Peso seco (g)	Contenido agua %
15.9	14.04	2.68	80.95
16.5	16.34	3.16	80.65
16.6	16.53	3.20	80.65
16.8	15.84	3.05	80.75

V

Discusión

El pez guitarra, *Rhinobatos productus*, cuenta con amplia distribución. Dado que es una especie bentónica, la mayor parte del año se encuentra en aguas profundas y en periodos de reproducción migra hacia cuerpos de agua someros como bahías y esteros. Las embarcaciones de mediana altura capturan a esta especie durante los meses de julio a marzo y las de pesca artesanal la capturan de febrero a junio, por lo que la población del Golfo de California está todo el año bajo presión de pesca (Romo Curiel, 2004).

Durante los muestreos realizados en las diferentes áreas de estudio cubriendo todo el año, las hembras observadas presentaron diferentes estadios del periodo de gestación, excepto los organismos con tallas menores a los 57 cm LT, los cuales se consideraron como inmaduros, conforme a Romo Curiel (2004) quien determinó una maduración entre 58 y 71 cm LT para las hembras en el alto Golfo de California.

Con base en las observaciones realizadas en el presente estudio se puede determinar que la gestación en *R. productus* dura aproximadamente 12 meses. En los primeros 9 meses hay una diapausa embrionaria (letargo en el crecimiento embrionario) y en los siguientes tres meses se realiza el desarrollo embrionario. Villavicencio Garayzar (1993), González García

(1998) y Downton Hoffman (2007) coinciden con esta diapausa, donde ellos estimaron un período de letargo de 8 a 8.5 meses (agosto-abril) y un desarrollo embrionario de 3 meses (mayo-julio) en la población de Bahía Almejas y Laguna San Ignacio, Baja California Sur. Márquez Farías (2007) estimó un tiempo de 11 a 12 meses de gestación en las costa este del Golfo de California, sin especificar en el tiempo de duración del desarrollo embrionario. En *Rhinobatos horkelii*, Lessa *et al.* (1986) determinaron que el periodo de gestación se divide en dos fases: en la primera los ovocitos depositados en los úteros no se desarrollan durante 8 meses (abril a noviembre), sin presencia de embriones (diapausa embrionaria); y en la segunda se lleva acabo el desarrollo embrionario, con una duaración de 3 meses (diciembre a febrero). De igual manera White *et al.* (2002) determinaron una diapausa de 5 meses (julio a noviembre) en *Trygonoptera personata* donde los embriones mantienen una misma talla, y el crecimiento es acelerado durante los siguientes 5 meses de gestación (diciembre a abril).

Al hacer un análisis quincenal de las tallas embrionarias, durante el mes de junio no hubo un crecimiento promedio significativo entre las medias de junio I y junio I. Esto podría atribuirse a que el estadio 4 fué el mas abundante en las dos quincenas, con una frecuencia del 94.1 y 79.5 % respectivamente (figura 5) y el estadio 5 sólo en 10 %; ésto nos indica que la mayoría de los embriones estarían listos para su nacimiento a finales del mes de junio, aunque probablemente algunos ya habían nacido por lo que el estadio 5 no era el mas abundante, cabe destacar que la presencia del estadio 1 durante esta quincena nos indica que ya hay hembras que estuvieron en el proceso de la ovulación.

Los meses de apareamiento y expulsión de embriones obtenidos por Villavicencio Garayzar (1993), González García (1998) y Downton Hoffman (2007) se encuentran desfasados por un mes, en relación a las encontradas en el presente trabajo, ya que en el Golfo

de California los embriones empezaron a ser visibles durante la segunda quincena de abril y nacieron a finales del mes de junio; en el caso de la Laguna San Ignacio y Bahía Almejas el desarrollo embrionario se lleva a cabo de mayo a julio-agosto. Ésto podría deberse a los ciclos de temperaturas que presentan las zonas de estudio, ya que Bahía Almejas y Laguna San Ignacio son bañadas por las aguas del Pacífico que presentan temperaturas bajas, comparadas a las que se encuentran dentro del Golfo de California las cuales son más elevadas incluyendo las zonas someras de Bahía de Kino y el Alto Golfo de California.

En los tres meses en que se lleva a cabo el desarrollo embrionario el incremento del peso se relaciona directamente con la longitud total. Para este análisis se incluyeron los embriones que habían sido expulsados durante el manejo de los adultos en las embarcaciones de pesca. Al estimar la curva de crecimiento para los embriones de *R. productus* ésta sugiere que el crecimiento es isométrico ($b = 3.045$), lo cual significa que la longitud total y el peso de los organismos se incrementan en las mismas proporciones. Este mismo crecimiento se observa después del nacimiento en juveniles y adultos para ambos sexos de la misma especie con valores de $b = 3.04$ en el alto Golfo de California (Romo Curiel, 2004), en Bahía Magdalena los valores son de $b = 3.16$ y $b = 2.99$ para machos y hembras respectivamente, sin encontrar diferencias significativas entre sexos (Downton Hoffman, 2007). Este mismo crecimiento se observa en otras especies del mismo género, como *Zapterix brevirostris* (Da Silva, 1987) y *R. horkelii* (Lessa, 1982), así como en otros elasmobranquios.

Desde que inicia el desarrollo de los embriones éstos se alimentan del saco vitelino externo al que están unidos por medio del cordón umbilical compuesto por arterias, venas y ductos vitelointestinales ciliados. Éstos últimos transportan el vitelo al canal alimenticio o intestino del embrión el cual es digerido en el complejo sincitio endodermo (Hamlett y Hisell, 1998).

Cuando los embriones aumentan en talla, el peso y diámetro del saco vitelino externo disminuye hasta ser consumido en su totalidad. En embriones con tallas similares existe una variación en el peso del vitelo, diferencias que son atribuidas directamente a la talla materna y al número de ciclos reproductivos que han tenido, ya que en hembras que presentan su primer ciclo los úteros son pequeños por lo que fecundan de uno a tres huevos por útero, con diámetros menores a los 2 cm y un peso promedio de 3 g (tabla VI). De acuerdo con Conrath (2004) el número de embriones por hembra es dependiente de la talla materna en diversas especies, tanto en tiburones como en rayas, por lo que conforme aumenta la longitud total y la capacidad de la cavidad ventral de la hembra resulta un espacio mayor para almacenar más crías. Esta variación en la fecundidad se observa en varias especies del mismo género, tal es el caso de *R. horkelii* (Lessa *et al.*, 1986), *R. hynnicephalus* (Wenbin y Shuyuan, 1993), *R. cemiculus* (Capapé y Zaouali, 1994), *R. rhinobatos* (Adbel-Aziz *et al.*, 1993), *Aptychostrema rostrata* (Kyne y Bennett, 2002) y *Zapterix exasperata* (Villavicencio Garayzar, 1995) las cuales presentan fecundidades de 1 a 25 embriones.

Durante los primeros estadios del desarrollo embrionario de *R. productus* el peso total del saco vitelino y el embrión se mantiene constante hasta que éstos últimos alcanzan longitudes mayores a los 12 cm, cuando el saco vitelino representa menos del 50% del peso total (figura 9). De acuerdo con Ranzi (1932) y Mellinger y Wisez (1989) hay un incremento significativo en el contenido de agua durante el desarrollo; el primer autor estimó en total 48% de agua en huevos fecundados y 83% en embriones listos para nacer. En cambio para *Scyliorhinus canicula* las cantidades de agua variaron de 50% y 75% (Mellinger y Wisez, 1989). En el presente estudio se estimaron valores de 48.6% de agua en huevos uterinos y de 80.75% en embriones, los cuales se asemejan a los valores estimados

por Ranzi (1932); este incremento en el peso se observa claramente en la figura 8.

Considerando las tallas en que los embriones han consumido el saco vitelino en su totalidad y las tallas máximas registradas podemos estimar una talla de nacimiento a partir de los 16 cm LT en hembras pequeñas (58 a 80 cm de LT) y una talla máxima de 19.2 cm en hembras mayores a los 81 cm LT. Con respecto a las tallas de nacimiento registradas en estudios anteriores para esta misma especie, Timmons y Bray (1997) estimaron una talla máxima de nacimiento de 23 cm LT, Villavicencio Garayzar (1993) y Downton Hoffman (2007) plantean una talla de nacimiento entre 20 y 24 cm LT para la Laguna de San Ignacio y Bahía Almejas, en tanto que Márquez Farías (2007) estimó una talla de 17.5 cm LT para la costa este del Golfo de California.

El que los embriones nazcan con tallas pequeñas es el reflejo de la ovulación de huevos pequeños en hembras menores a los 70 cm LT y por lo general las hembras que han presentado más de un parto ovulan ovocitos grandes, por lo que los embriones alcanzan tallas mayores antes de su nacimiento ya que cuentan con el alimento que les provee mayor energía para alcanzar tallas cercanas a los 20 cm LT (figura 9). Read (1968) encontró este mismo patrón en *Raja binoculata*, especie ovípara, señala que la talla final de los embriones depende completamente del volumen inicial del saco vitelino. Por lo tanto, la diferencia entre las tallas de nacimiento estimadas por Timmons y Bray (1997), Villavicencio Garayzar (1993) y Downton Hoffman (2007) con respecto a la obtenida en este trabajo podría deberse a la diferencia en tallas de las hembras registradas; ya que sus muestras estuvieron representadas principalmente por hembras mayores a los 90 cm LT. En cambio Márquez Farías (2007) estimó una talla de 17.5 cm LT, la cual es igual a la media obtenida en este trabajo debido principalmente a que se utilizó el mismo intervalo de tallas.

Cabe destacar que las hembras registradas con tallas mayores a un metro de LT fueron recolectadas en la zona de pesca de San Felipe, la cual se encuentra ubicada a un costado de la zona de amortiguamiento de la Reserva de la Biósfera del Alto Golfo de California y Delta del Río Colorado, que básicamente provee protección a la especie de las artes de pesca y esto posiblemente le permite a los adultos alcanzar tallas grandes; gracias a ésto las hembras pueden producir un número mayor de crías (de 15 a 30) con tallas de nacimiento superiores a los 17 cm LT.

Los úteros tienen un papel muy importante durante el desarrollo embrionario. Independientemente de la protección que proporcionan a los embriones, éstos regulan el ambiente intrauterino, proveen de nutrientes a las crías por largos periodos así como de oxígeno para las demandas respiratorias anabólicas; regulan la eliminación de los desechos de los embriones, y llevan acabo la osmoregulación y la transferencia inmunológica de la madre a los embriones. El grado con que se realizan estas actividades dentro de los úteros depende completamente del modo de reproducción (Koob y Hamlett, 1998).

De acuerdo con Hamlett *et al.* (2005) los úteros de las especies vivíparas lecitotróficas cuentan con características muy particulares: incremento en la vascularización, el desarrollo de pliegues longitudinales o vellosidades que incrementan el área superficial de intercambio respiratorio, una superficie epitelial delgada con una a dos células de grosor y cuentan con úteros especializados para el intercambio respiratorio y la osmoregulación, pero no necesariamente para proveer nutrientes a los embriones.

Durante el desarrollo embrionario de *R. productus* los úteros pasan por diferentes fases dependiendo de la talla y madurez de la hembra. En el caso de las hembras inmaduras (grupo A) los úteros son pequeños con un ancho promedio de 1.4 cm, después de la ovulación (grupo B) la pared se expande y los huevos depositados se encuentran muy

ajustados, por lo que al manipular los organismos durante el proceso de captura, en la pesca, es muy común que expulsen los embriones o el saco vitelino. Las hembras maduras (grupo *C*) presentan las paredes de los úteros expandidas y una cavidad ventral mayor; en el caso de los ovarios éstos presentan un promedio de 10 ovocitos en crecimiento que serán fecundados en la siguiente ovulación. En *R. hynnicephalus* Wenbin y Shuyuan (1993) relacionaron la presencia de pliegues en la pared uterina con la posible presencia de células glandulares que secreten material nutritivo que sirva de alimento a los embriones durante el desarrollo. De acuerdo con los análisis realizados en el presente estudio, la presencia de pliegues en la pared de los úteros se relaciona directamente con la necesidad de incrementar la superficie de éstos durante la fase terminal del desarrollo embrionario y no necesariamente para secretar leche uterina.

Microscópicamente los tejidos de la pared uterina en hembras de *R. productus* presentan diferentes cambios durante los estadios del desarrollo embrionario. Durante el inicio del desarrollo las paredes uterinas presentan un epitelio de transición con glándulas alveolares secretoras de mucus, las cuales no se consideran secreciones lipídicas ya que en la técnica utilizada en la tinción se utilizan alcoholes, en especial xileno, los cuales diluyen los lípidos y no permiten la coloración de éstos; cuando hay presencia de estas células lipídicas se observa un delgado reborde de citoplasma que contiene el núcleo en la zona engrosada, las cuales no se encontraron en este trabajo. Otro punto importante es señalar que existe una diferencia al comparar el mucus con eritrocitos, ya que estos últimos cuentan con núcleo bien diferenciado. Al hacer una comparación entre las estructuras uterinas entre las hembras pequeñas y grandes se pueden diferenciar algunas características específicas, ya que en las hembras pequeñas que presentan su segundo o tercer ciclo de reproducción los úteros son gruesos con el epitelio multicelular y el tejido conectivo laxo con fibroblastos

(figura 14 a); y en las hembras grandes las paredes uterinas son delgadas y semitransparentes, presentan el epitelio delgado simple, las criptas basales disminuyen al igual que las glándulas secretoras y los fibroblastos de colágeno son más evidentes los cuales proporcionan mayor elasticidad (figura 15 b). Durante la transición del estado en reposo de las paredes uterinas al estado dilatado, los cambios no son uniformes en todo el útero. En algunas zonas el epitelio disminuye en número de células, y los haces de fibras de colágeno no cuentan con un patrón uniforme de estiramiento, ya que en ocasiones se observaron los haces gruesos entretejidos en una red tridimensional mezclados con los haces paralelos sin tener un comportamiento uniforme en toda la pared uterina.

La presencia de secreciones uterinas que no están relacionadas directamente con la alimentación, son de vital importancia para mantener la regulación del contenido de líquidos y sales para la osmorregulación durante todo el crecimiento embrionario. En el caso de *Squalus acanthias*, especie lecitotrófica al igual que *R. productus*, los embriones salen de la cápsula en los estadios tempranos del periodo de gestación para crecer libres en los úteros y las branquias son utilizadas para la osmoregulación; en estadios avanzados existe una gran cantidad de células ricas en mitocondrias en los filamentos branquiales las cuales realizan la osmoregulación al igual que en los adultos (Kormanik, 1993). Este mismo autor señala que durante los primeros estadios del periodo de gestación las concentraciones de sodio y cloro en los fluidos uterinos son intermediados por el plasma materno y el agua de mar, con niveles de urea aproximadamente iguales a los de la sangre materna. Posteriormente los fluidos uterinos son idénticos al agua de mar y las concentraciones de urea son bajas, lo cual indica que los úteros regulan los fluidos internos en estadios tempranos del periodo de gestación pero después contribuyen muy poco, excepto por la acidificación de los fluidos, con remoción de amonio acumulado.

El incremento de vascularizaciones en estadios avanzados de la gestación se relacionan con la demanda de oxígeno de los embriones grandes o la acidificación de los fluidos uterinos. *S. acanthias* presenta una pérdida considerable en peso del contenido orgánico (15-55 %) del huevo al embrión, por lo que se supone que los úteros no presentan secreción nutricional alguna para los embriones. Los úteros de hembras gravidas en *S. acanthias* son especializados para el intercambio gaseoso y la regulación iónica por medio de vascularizaciones, una reducción en la distancia de difusión entre el mucus y los capilares subyacentes y el incremento de área de la superficie uterina durante la gestación (Kormanik, 1993).

En especies estrictamente lecitotróficas el saco vitelino es el único recurso de alimentación intrauterina durante el desarrollo embrionario. De acuerdo con Wourms *et al.* (1988) se pueden distinguir dos tipos en esta alimentación: en la primera existe una disminución en el peso seco de los embriones del 35 % durante el desarrollo, con una variación del 25 al 55 %; en el segundo caso la pérdida de peso varía de 23 a 34 % ya que existe una producción de materia orgánica. Estos mismos autores sugieren que la pérdida de biomasa es debido principalmente a la energía metabólica utilizada durante el crecimiento del embrión. En especies matotróficas existe un incremento en el peso del orden del 238,300 al 842,900 %, alcanzando valores de 1,000,000 veces el peso seco en especies aplacentadas como *Scoliodon laticaudus*, ya que durante la etapa final del desarrollo hay una aportación importante de aminoácidos, ácidos grasos, proteínas y lípidos que son consumidos en su totalidad por las crías (Hamlett *et al.*, 2005). Por otro lado, Guallart y Vincent (2001) sugiere que para determinar si una especie es ovovivípara y estrictamente lecitotrófica debe existir una pérdida en el peso seco de -20 %; en el caso de las especies matotróficas el incremento debe ser más de 20 veces el peso seco de la especie.

En especies con histotrofía mínima como *Mustelus antarcticus*, el aumento en el peso seco en los embriones de la fase terminal con respecto a los ovocitos y de los huevos ya fecundados es de 784.19% (Hamlett *et al.*, 2005). De acuerdo con estos autores, existe secreción abundante de mucus que provee nutrientes a los embriones durante la fase intermedia del periodo de gestación y durante la última fase transfiere principalmente agua y minerales que mantiene las condiciones similares al agua de mar.

La diferencia en el peso seco durante el desarrollo embrionario de *R. productus* se redujo en un 16.3%, lo cual indica que las hembras no proporcionan suplementos nutricionales a los embriones durante el desarrollo embrionario. Dado que los huevos depositados en los úteros de *R. productus* son muy frágiles, se pesó el contenido total del útero y se contó el número de huevos fecundados para sacar un promedio general por útero. En el caso de los embriones, se consideraron como organismos del estadio final aquellos que habían consumido el saco vitelino en su totalidad y los que presentaban un saco vitelino externo con peso menor a los 0.3 g; para determinar el contenido de agua se utilizó el peso fresco de los organismos ya que para su transporte del campo hacia el laboratorio éstos tuvieron que ser congelados, en consecuencia durante el proceso de descongelación se registró una pérdida en el peso de 2 g en promedio.

Otro análisis utilizado para determinar el tipo de alimentación intrauterina de diferentes especies de elasmobranquios es el balance químico de desarrollo (BQD), el cual consiste en determinar las medias de los pesos secos en huevos fertilizados y embriones antes de su nacimiento (Capapé, 1993). En el estudio realizado por Guallart y Vincent (2001) estimaron los valores de peso húmedo, seco y cenizas (materia inorgánica) en *Centrophorus granulosus* y señalan que el peso seco puede ser aceptado como un indicativo de la tendencia general del contenido de materia orgánica, pero no como un estimador puntual, ya

que hay una diferencia significativa entre las cantidades de peso seco y materia inorgánica estimadas en esta especie y que en realidad la diferencia entre el peso seco y el peso de las cenizas puede ser el principal indicador de los aportes nutrimentales de la madre hacia el embrión.

Considerando la proporción del peso seco como un indicativo de la materia orgánica y no un valor puntual, en especies lecitotróficas se han estimado valores de BQD de 1.13 para *R. cemiculus* (Capapé y Zaouali, 1994), y de 0.5 para dos especies de *Squatina* Capapé *et al.* (1990). En cambio en especies con matotrofia se han determinado valores de 30.6 para *Gymnura altavela* (Capapé *et al.*, 1992) de 15 en *Dasyatis centroura* (Capapé, 1993) y en *Rhizoprionodon acutus* de 23 (Capapé *et al.*, 2006). Por lo que aun considerando que el BQD sea una aproximación de la disminución de materia orgánica, la diferencia en los valores estimados para las especies lecitotróficas y matotróficas es significativa. En *R. productus* el BQD estimado fue de 0.84.

Considerando las características del desarrollo embrionario, la ausencia de glándulas secretoras de nutrientes en las paredes uterinas, la pérdida en el peso seco de 16.3% y la proporción de la materia orgánica de huevo fertilizado a embrión sugieren que las hembras de *R. productus* no aportan suplementos nutricionales a los embriones durante su desarrollo por lo que esta especie puede ser considerada como estrictamente lecitotrófica.

VI

Conclusiones

En el presente trabajo se determinó el tipo de alimentación de los embriones en *Rhinobatos productus*, con base en las observaciones realizadas durante el periodo de gestación, en los diferentes estadios del crecimiento embrionario y en los cambios que presentan las estructuras de la pared de los úteros en las hembras preñadas.

El periodo de gestación dura 12 meses, inicia en julio y termina en un alumbramiento a finales del mes de junio. Durante éstos meses existe una diapausa en el desarrollo de 8 a 9 meses y en los tres meses restantes hay un crecimiento isométrico hasta el nacimiento de las crías, cuando los embriones alcanzan una longitud total de 17.5 cm en promedio. Durante el desarrollo embrionario se pueden distinguir cinco estadios principales dependiendo de las características externas de los organismos.

El tamaño de los huevos fecundados, la talla de nacimiento de los embriones y número de crías por hembra está en función de la talla materna y el número de ciclos reproductivos (partos) realizados. Ya que con el aumento de la talla de las hembras maduras, aumentan estas variables.

El análisis histológico sugiere que no existen secreciones con nutrientes que sirvan de alimentación a los embriones antes de su nacimiento.

La presencia de pliegues longitudinales en la pared de los úteros es con la finalidad de aumentar la superficie de los úteros durante el desarrollo embrionario, principalmente en la fase terminal.

La pérdida en el peso seco durante el desarrollo embrionario es del orden del 16.3 % y la proporción del peso seco de huevo a embrión es de 0.84, por lo que los huevos fertilizados presentan mayor contenido de materia orgánica que los embriones.

Considerando las características generales que presentan los embriones durante su desarrollo, el que no haya estructuras que secreten leche uterina y la pérdida en el peso seco de los embriones, se puede considerar a *R. productus* como especie puramente lecitotrófica ya que la incidencia de la madre en los embriones durante el desarrollo embrionario es reducida.

Se recomienda aplicar otros métodos de tinción para observar los mucopolisacaridos ácidos y ver el tipo de mucus que secretan los úteros de *R. productus* durante el desarrollo embrionario, así como especificar los cambios presentes en estas estructuras durante todo el desarrollo.

Literatura citada

- Adbel-Aziz, S. H., Khalil, N. A. y Adbel-Maguid, S. A. (1993). Reproductive cycle of the common guitarfish, *Rhinobatos rhinobatos* (Linnaeus, 1758), in Alexandria Waters, Mediterranean Sea. *Australian Journal Marine of Freshwater Research*, **44**: 507–517.
- Álvarez Borrego, S. (1983). Gulf of California. En: B. K. Ketchum, editor, *Ecosystems of the world 26. Estuaries and Enclosed Seas*, páginas 427–429. Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam.
- Amoroso, E. C. (1960). Viviparity in fishes. *Symposium of the Zoologist Society of London*, **1**: 153–1981.
- Capapé, C. (1993). New data on the reproductive biology of the thorny stingray, *Dasyatis centroura* (Pisces: Dasyatidae) from off the Tunisian coasts. *Environmental Biology of Fishes*, **38**: 73–80.
- Capapé, C. y Zaouali, J. (1994). Distribution and reproductive biology of the blackchin guitarfish, *Rhinobatos cemiculus* (Pisces:Rhinobatidae), in Tunisian Waters (Central Mediterranean). *Australian Journal Marine of Freshwater Research*, **45**: 551–561.
- Capapé, C., Quignard, J. P. y Mellinger, J. (1990). Reproduction and development of two angel sharks, *Squatina squatina* and *S. oculata* (Pisces:Squatinae), off Tunisian

- coasts: semidelayed vitellogenesis, lack of egg-capsule and lecithotrophy. *Journal of Fish Biology*, **37**: 347–356.
- Capapé, C., Zouali, J., Tomasini, J. P. y Bouchereau, J. L. (1992). Reproductive biology of the spiny butterfly ray, *Gymnura altavela* (Linnaeus, 1758) (Pisces: Gymnuridae) from off the Tunisian coasts. *Scientia Marina.*, **56**: 347–355.
- Capapé, C., Diatta, Y., Diop, M., Guélorget, O., Vergne, Y. y Quignardi, J. (2006). Reproduction in the milk shark, *Rhizoprionodon acutus* (Ruppell, 1837) (Chondrichthyes: Carcharhinidae), from the coast of Senegal (eastern tropical Atlantic). *Acta Adriatica*, **47**: 111–126.
- Castro, J. I. (1983). *The Sharks of North American Waters*. Texas A and M University, United States of America.
- Conrath, C. L. (2004). Reproductive Biology. En: J. A. Musick y R. Bonfil, editores, *Elasmobranch Fisheries Management Techniques*, capítulo 7, páginas 133–164. IUCN, Singapur.
- Da Silva, B. D. (1987). Length-weight relationship of the little guitarfish, *Zapterix brevirostris* (Chondrichthyes:Rhinobatidae), from Itaipu Inlet, Río de Janeiro. *Copeia*, **3**: 787–789.
- Downton Hoffman, C. A. (1996). Estrategia reproductiva de la guitarra *Rhinobatus productus* (Ayres, 1856), en la costa occidental de Baja California Sur, México. Tesis de maestría, Universidad Autónoma de Baja California Sur. La Paz, Baja California Sur, México. 51 pp.
- Downton Hoffman, C. A. (2007). Biología del pez guitarra *Rhinobatus productus* (Ayres,

- 1856), en Baja California Sur, México. Tesis de doctorado, CICIMAR, Instituto Politécnico Nacional. La Paz, Baja California Sur, México. 195 pp.
- Ebert, D. A. (2003). *Sharks, Rays and Chimeras of California*. University of California Press, Los Angeles, EUA. 284 pp.
- González García, M. J. (1998). Desarrollo embrionario de *Rhinobatus productus* (Girard, 1854) (Chondrichthyes: Rajiformes: Rhinobatidae). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma de Baja California Sur. La Paz, Baja California Sur, México. 98 pp.
- Guallart, J. y Vincent, J. (2001). Changes in composition during embryo development of the gulper shark, *Centrophorus granulosus* (Elasmobranchi, Centrophoridae): an assessment of maternal-embryonic nutritional relationship. *Environmental Biology of Fishes*, **61**: 135–150.
- Hamlett, W. y Hisell, M. (1998). Uterine specialization in elasmobranch. *The Journal of Experimental Zoology*, **282**: 438–459.
- Hamlett, W. C. y Koob, T. J. (1999). Female reproductive system. En: W. C. Hamlett, editor, *Sharks, Skates and Rays. The biology of elasmobranch fishes*. páginas 398–443. The Johns Hopkins University Press.
- Hamlett, W., Kormanik, G., Storrie, M., Stevens, B. y Walker, T. (2005). Chondrichthyan parity, lecithotrophy and matotrophy. En: W. C. Hamlett, editor, *Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: sharks, batoid, and chimeras*, volumen 3 de *Reproductive Biology and Phylogeny*, capítulo 3, páginas 45–71. Science Publisher, INC., USA.
- Hamlett, W. C., Musick, J. A., Eullit, A. M., Jarell, R. L. y Kelly, M. A. (1996). Ultrastructure of uterine trophonemata, accommodation for uterogestation, and gas exchange

- in the southern stingray, *Dasiatys americana*. *Canadian Journal of Zoology*, **74**: 1417–1430.
- Hernández Méndez, M. A. (1998). Modelo batimétrico digital del Golfo de California y la margen occidental de la península de Baja California: una herramienta oceanográfica. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias Marinas, Universidad Autónoma de Baja California, Ensenada, Baja California, México. 89 pp.
- Jollie, W. P. y Jollie, L. G. (1967). Electron microscopic observations on accommodations to pregnancy in the uterus of the spiny dog fish, *Squalus acanthias*. *Journal of Ultrastructure Research*, **20**: 161–178.
- Koob, T. J. y Hamlett, W. C. (1998). Microscopic structure of the gravid uterus in the little skate, *Raja erinacea*. *Journal of Experimental Zoology*, **20**: 421–437.
- Kormanik, G. A. (1993). Ionic and osmotic environment of developing elasmobranch embryos. *Environmental Biology of Fishes*, **38**: 233–240.
- Kyne, P. M. y Bennett, M. B. (2002). Reproductive biology of the eastern shovelnose ray, *Aptychotrema rostrata* (Shaw and Nodder, 1974), from Moreton Bay, Queensland, Australia. *Australian Journal Marine Freshwater Research*, **53**: 583–589.
- Lavín, M. F., Beier, E. y Badán, A. (1997). Estructura Hidrográfica y circulación del Golfo de California: Escalas estacional e interanual. En: M. F. Lavín, editor, *México contribuciones a la Oceanografía Física en México*, número 3, páginas 141–171. Unión Geofísica Mexicana, México.
- Lessa, R. (1982). Biologie et dynamiques des populations du *Rhinobatos horkelii*, du

- plateau continental du Río Grande du Sul (Brasil). Tesis de doctorado, Universidad do Bretagne Occidentale, Brasil. 238 pp.
- Lessa, R. T., Vooren, C. M. y Lahaye, J. (1986). Desenvolvimento e ciclo sexual das femeas, migrações e fecundidade da viola *Rhinobatos horkelii* (Müller and Henle, 1841) do sul do Brasil. *Atlântica, Rio Grande*, **8**: 5–34.
- Lluch-Cota, S. E., Aragón-Noriega, E. A., Arreguín-Sánchez, F., Auriolles-Gamboa, D., Bautista-Romero, J. J., Brusca, R. C., Cervantes-Duarte, R., Cortés-Altamirano, R., Del-Monte-Luna, P., Esquivel-Herrera, A., Fernández, G., Hendrickx, M. E., Hernández-Vázquez, S., Hugo Herrera-Cervantes, H., Kahru, M., Lavín, M., Lluch-Belda, D., D., L.-C. B., López-Martínez, J., Marinone, S. G., Nevárez-Martínez, M. O., Ortega-García, S., Palacios-Castro, E., Parés-Sierra, A., Ponce-Díaz, G., Ramírez-Rodríguez, M., Salinas-Zavala, C. A., Schwartzlose, R. A. y Sierra-Beltrán, A. P. (2007). The Gulf of California: Review of ecosystem status and sustainability challenges. *Progress in Oceanography*, **73**: 1–26.
- Márquez Farías, J. F. (2007). Reproductive biology of sholvelnose guitarfish *Rhinobatos productus* from the eastern Gulf of California México. *Marine Biology*, **151**: 1445–1454.
- McEachran, J. D. y Notarbartolo di Sciara, G. (1995). Peces batoideos. En: W. Fischer, F. Krupp, C. Sommer, V. Niem y K. Carpenter, editores, *Guía FAO Para la Identificación de Especies Para los Fines de la Pesca. Pacífico centro-oriental*, páginas 746–798. FAO, Roma. Volumen II. Vertebrados - Parte 1.
- Mellinger, J. y Wriesez, J. (1989). Biologie et physiologie comparée de deux sélaciens ovipares, les roussettes, *Scylliorhinus stellaris*. Evolution de la matière sèche, de léau et

- des ions (Cl, Na, K) dans le vitellus de *S. canicula* au cours du développement. *Bulletin de la Societe Zoologique de France*, **114**: 51–62.
- Moreno, C., Weaver, A., Bourillón, L., Torre, J., Égido, J. y Rojo, M. (2005). Diagnóstico Ambiental y Socioeconómico de la Región Marina-Costera de Bahía de Kino, Isla Tiburón, Sonora, México: Documento de trabajo y discusión para promover un desarrollo sustentable. Reporte técnico, Comunidad y Biodiversidad, Asociación Civil, Guaymas, Sonora. 88 pp.
- Musick, J. A. y Ellis, J. K. (2005). Reproductive evolution in Elasmobranchs. En: W. C. Hamlett, editor, *Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: sharks, batoid, and chimeras*, volumen 3 de *Reproductive Biology and Phylogeny*, capítulo 3, páginas 45–71. Science Publisher, INC., USA.
- Nielsen, L. A. y Johnson, D. L. (1985). *Fisheries Techniques*. Assistant, United States. 875 pp.
- Ranzi, S. (1932). Le basi fisio-morfologiche dello sviluppo embrionale dei Selaci. *I. Pubblicazioni Stazione Zoologica di Napoli*, **12**: 209–290.
- Read, L. J. (1968). Urea and trimethylamine oxide levels in the elasmobranch embryos. *Biology Bulletin*, **135**: 537–547.
- Romo Curiel, A. (2004). Biología Reproductiva del pez guitarra *Rhinobatos productus* Ayres, 1856 (Chondrichthyes:Rhinobatidae) en la región norte del Golfo de California, México. Tesis de licenciatura, Facultad de Ciencias Marinas, UABC, Ensenada, B. C., México. 50 pp.

- Seck, A. A., Diatta, Y., Diop, M., Guélorget, O., Reynaud, C. y Capapé, C. (2004). Observations on the reproductive biology of the blackchin guitarfish, *Rhinobatos cemiculus* E. Geoffroy Saint-Hilaire, 1817 (Chondrichthies, Rhinobatidae) from the coast of Senegal (Eastern tropical Atlantic). *Scientia Gerundensis*, **27**: 19–30.
- Talent, L. G. (1985). The occurrence, seasonal distribution, and reproductive condition of elasmobranch fishes in Elkhon Slough, California. *California Department of Fisheries and Game*, **71**: 210–229.
- Timmons, M. y Bray, R. N. (1997). Age, growth, and sexual maturity of shovelnose guitarfish, *Rhinobatus productus* (Ayres). *Fisheries Bulletin*, **95**: 349–359.
- Villavicencio Garayzar, C. J. (1993). Biología reproductiva de *Rhinobatus productus* (Pisces: Rhinobatidae), en Bahía Almejas, Baja California Sur, México. *Revista de Biología Tropical*, **41**: 777–782.
- Villavicencio Garayzar, C. J. (1995). Biología reproductiva de la guitarra pinta, *Zapterix exasperata* (Pisces: Rhinobatidae), en Bahía Almejas, Baja California Sur, México. *Ciencias Marinas*, **21**: 141–153.
- Walker, T. I. (2005). Reproduction in Fisheries Science. En: W. C. Hamlett, editor, *Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: sharks, batoid, and chimeras*, volumen 3 de *Reproductive Biology and Phylogeny*, capítulo 4, páginas 81–127. Science Publisher, Inc., USA.
- Wenbin, Z. y Shuyuan, Q. (1993). Reproductive biology of the guitarfish, *Rhinobatos hynnicephalus*. *Environmental Biology of Fishes*, **38**: 81–93.
- White, W. T., Hall, N. G. y Potter, I. C. (2002). Reproductive biology and growth

- during pre- and postnatal life of *Trygonoptera personata* and *T. mucosa* (Batoidae:Urolophidae). *Marine Biology*, **140**: 699–712.
- Wourms, J. P. (1977). Reproduction and development in Chondrichthyan Fishes. *American Zoologist*, **17**: 379–410.
- Wourms, J. P. (1981). Viviparity: the maternal-fetal relationship in fishes. *American Zoologist*, **21**: 473–515.
- Wourms, J. P. (1993). Maximization of evolutionary trends for placental viviparity in the spadenose shark, *Scoliodon laticaudus*. *Environmental Biology of Fishes*, **38**: 269–294.
- Wourms, J. P., Grove, B. D. y Lombardi, J. (1988). The maternal-embryonic relationship in viviparous fishes. En: W. S. Hoar y D. J. Randall, editores, *Fish Physiology*, volumen IIB, páginas 1–134. Academic Press, San Diego, USA.
- Zar, J. H. (1999). *Biostatistical Analysis*. Prentice Hall International, Inc., cuarta edición. 663 pp.