

# HISTOLOGÍA COMPARADA DEL SISTEMA REPRODUCTIVO DE CUATRO ESPECIES DE RAYAS CARIBEÑAS (CHONDRICHTHYES: BATOIDEA)

Por

Arturo Acero P.<sup>1</sup>, Marcela Grijalba-Bendeck<sup>2</sup>, Fabián Moreno<sup>2</sup>, Kelly Acevedo<sup>2</sup> & Esperanza González<sup>3</sup>

## Resumen

**Acero, A., M. Grijalba-Bendeck, F. Moreno, K. Acevedo & E. González:** Histología comparada del sistema reproductivo de cuatro especies de rayas caribeñas (Chondrichthyes: Batoidea). Rev. Acad. Colomb. Cienc. **32**(125): 571-586, 2008. ISSN 0370-3908.

Con el fin de comparar histológicamente los sistemas reproductivos de diferentes linajes de batoideos se examinaron 93 ejemplares (62 hembras y 31 machos) de cuatro especies: *Narcine bancroftii* (familia Narcinidae), *Rhinobatos percellens* (familia Rhinobatidae), *Urotrygon venezuelae* (familia Urotrygonidae) y *Dasyatis guttata* (familia Dasyatidae). Se diferenciaron tres tipos de sistemas femeninos: *R. percellens* ejemplifica un sistema generalizado; *U. venezuelae* y *D. guttata* muestran un ovario que alberga ovocitos con estructuras internas únicas; *N. bancroftii* posee el ovario más derivado, en cuanto a la presencia y forma de estructuras exclusivas. Sin embargo, al ser las características claramente autapomórficas no es posible plantear hipótesis de relaciones a partir de los sistemas femeninos. Las diferencias son relativamente menos profundas en los sistemas masculinos, con *N. bancroftii* mostrando un testículo generalizado, mientras *R. percellens* presenta cierto grado de lobulación externa; *D. guttata* presenta un testículo de tipo Radial, que en *U. venezuelae* aparece modificado.

**Palabras clave:** Sistema reproductor, *Narcine bancroftii*, *Rhinobatos percellens*, *Urotrygon venezuelae*, *Dasyatis guttata*.

## Abstract

In order to compare histologically the reproductive systems of four different batoid lineages 93 specimens (62 females and 31 males) of four species were examined: *Narcine bancroftii* (family

- 1 Universidad Nacional de Colombia sede Caribe, CECIMAR/INVEMAR, Cerro Punta de Betín, Santa Marta, Colombia. Correo electrónico: aacero@invemar.org.co
- 2 Programa de Biología Marina, Universidad Jorge Tadeo Lozano, Mundo Marino, El Rodadero, Santa Marta, Colombia. Correos electrónicos: marcela.grijalba@utadeo.edu.co, fabian.morenorodriguez@gmail.com, kelly.acevedo@utadeo.edu.co
- 3 Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Jorge Tadeo Lozano, Bogotá D.C., Colombia.

Narcinidae), *Rhinobatos percellens* (family Rhinobatidae), *Urotrygon venezuelae* (family Urotrygonidae) and *Dasyatis guttata* (family Dasyatidae). Three types of female systems were differentiated: a generalized one, represented by *R. percellens*, one with ovaries including unique internal structures, such as those of *U. venezuelae* and *D. guttata*, and a highly derived one, with uniquely shaped internal structures, in *N. bancroftii*. However, those features are autapomorphic precluding the establishment of any hypothesis of relationships. Differences between male systems are less marked; testicles in *N. bancroftii* are generalized, while they show some degree of external lobulation in *R. percellens*; Radial testicles appear in *U. venezuelae* and *D. guttata*, which are modified in the former species.

**Key words:** reproductive system, *Narcine bancroftii*, *Rhinobatos percellens*, *Urotrygon venezuelae*, *Dasyatis guttata*.

## Introducción

El taxón Batoidea [considerado cohorte por **McEachran & Aschliman** (2004) y subdivisión por **Nelson** (2006)], un grupo natural de peces cartilaginosos elasmobránquios, incluye casi 550 especies, agrupadas en algo más de 70 géneros (**Nelson**, 2006) y conocidas casi universalmente en español como rayas. No existe, sin embargo, unanimidad en cuanto al número de taxones familiares y supra-familiares incluidos en Batoidea ni mucho menos acerca de las relaciones entre ellos. Mientras **Compagno** (1999) presenta una clasificación prolífica en número de órdenes (seis) y de familias (21), **McEachran & Aschliman** (2004) y **Nelson** (2006) coinciden en la aceptación de sólo cuatro órdenes (Torpediniformes, Pristiformes, Rajiformes y Myliobatiformes), pero desacuerdan acerca de cuantas familias de rayas deben ser reconocidas; **McEachran & Aschliman** (2004) aceptan sólo 14 familias mientras **Nelson** (2006) reconoce 17.

En las plataformas continentales caribeñas existen diez familias de rayas, representativas de cuatro órdenes (**Nelson**, 2006; **Mejía-Falla et al.**, 2007). Sin embargo, el precario estatus de conservación de los peces sierra (familia Pristidae), únicos representantes del orden Pristiformes (**Acero et al.**, 2002), impide completamente cualquier estudio biológico de esos peces, por lo cual no es posible realizar estudios comparativos de todos los taxones involucrados. Recientemente se ha desarrollado un esfuerzo importante para conocer la biología reproductiva y otros aspectos biológicos y ecológicos de los batoideos comunes en el Caribe colombiano (**Téllez et al.**, 2006; **Acevedo et al.**, 2007; **Grijalba-Bendeck et al.**, 2007a; 2007b; 2008; **Moreno et al.**, en prensa). Dentro de ese gran objetivo, se presenta aquí una visión comparada a nivel histológico de los procesos de maduración gonadal de las rayas de aguas someras del Caribe, cotejando cuatro especies comunes en la costa norte de Colombia: un Torpediniformes, *Narcine*

*bancroftii* (Griffith & Smith, 1834) (familia Narcinidae), un Rajiformes *Rhinobatos percellens* (Walbaum, 1792) (familia Rhinobatidae) y los Myliobatiformes *Urotrygon venezuelae* Schultz, 1949 (familia Urotrygonidae) y *Dasyatis guttata* (Bloch & Schneider, 1801) (familia Dasyatidae).

## Metodología

Se colectaron ejemplares de las cuatro especies de rayas en los sectores de playa Salguero (11°10'-11°N, 74°13'-14°W) y Don Jaca (11°06'-07°N, 74°13'-14°W), Santa Marta, entre agosto 2005 y octubre 2007, con muestreos mensuales. Los especímenes se disectaron ventralmente para extraer los principales órganos que conforman el sistema reproductor, los cuales fueron fijados en paraformaldehído al 10% (**Snelson et al.**, 1988) y luego conservados en una solución de alcohol isopropílico al 40 % (**Natanson & Cailliet**, 1986).

Para el proceso histológico los órganos fijados (hembras: ovario, glándula nidamental, oviducto, útero y ovocito; machos: testículo, epidídimo y vesícula seminal) se lavaron con agua corriente para eliminar el exceso de fijador. De cada órgano se realizaron cortes en la parte anterior, media y posterior, longitudinales y transversales, abarcando parcial o totalmente la estructura. El tejido se sometió a las técnicas de deshidratación, impregnación, penetración, corte y coloración en sucesivas soluciones de hematoxilina-eosina de Harris propuestas por **Martoja & Martoja-Pierson** (1970), estandarizadas para peces cartilaginosos por el Grupo de Investigación en Peces del Caribe GIPECA. Se realizaron descripciones macroscópicas (Tabla 1) e histológicas (Tabla 2) de las estructuras del sistema reproductor en machos y hembras durante cada una de las etapas del desarrollo gonadal (**Grijalba-Bendeck et al.**, 2007a; 2007b).

**Tabla 1.** Escala de desarrollo gonadal macroscópico adaptada para peces cartilagosos.

<b>HEMBRAS</b>	
<b>I</b>	Inmadura: Sin desarrollo ovárico, ovarios pequeños de textura acuosa, oviductos delgados poco diferenciados.
<b>II</b>	En maduración: Ovarios delgados, consistentes y de apariencia uniforme, sin ovocitos visibles, oviductos delgados y diferenciables.
<b>IIIa</b>	Madura sin embriones: Ovario con ovocitos visibles, oviductos gruesos y útero parcialmente ensanchado.
<b>IIIb</b>	Madura con embriones: Ovarios con ovocitos, embriones ubicados dentro de los úteros, que se encuentran ensanchados, ocupando gran parte de la cavidad visceral.
<b>IV</b>	Maduras Postparto: Útero ensanchado con paredes sanguinolentas y flácidas. Abertura cloacal expandida.
<b>MACHOS</b>	
<b>I</b>	Inmaduro: Testículos acuosos, ductos poco diferenciados, cláspers pequeños, flácidos, rifiodón cerrado, ausencia de semen y rotación menor a 360 °.
<b>II</b>	En maduración: Testículos consistentes, ductos bien desarrollados, epidídimos enrollados en la porción anterior y media, del ducto eferente, cláspers aumentan de tamaño y están parcialmente calcificados.
<b>III</b>	Maduro: Testículos con lóbulos prominentes indicativos de activa producción espermática, conducto eferente se extiende adyacente a la columna vertebral, epidídimo enrollado a lo largo de todo el conducto hasta llegar a la vesícula seminal, cláspers totalmente calcificados, con rifiodón abierto y presencia de semen. Rotación 360 °.

**Tabla 2.** Escala de desarrollo gonadal microscópico generalizado para rayas marinas.

<b>HEMBRAS</b>	
<b>Estado 1</b>	Ovocito con el núcleo y nucléolo visibles, este último se puede encontrar hacia uno de los bordes de la membrana nuclear y pueden ser entre uno y seis. El ovocito está rodeado de epitelio plano simple, que se transforma en cúbico simple y capas de tejido conjuntivo.
<b>Estado 2</b>	Los ovocitos están rodeados de la zona pelúcida (membrana acelular), y epitelio cúbico simple. Se reconocen granulaciones muy parecidas a vitelo. Aumenta el número de ovocitos de todos los tamaños. En el interior del ovocito se diferencia el núcleo con un nucléolo.
<b>Estado 3</b>	Ovocitos bordeados de la zona pelúcida y células cúbicas alrededor, que se van transformando a columnar simple, externamente se observa un tejido conjuntivo laxo con fibroblastos y fibras de colágeno.
<b>Estado 4</b>	Ovocitos conteniendo gránulos de vitelo en variado estado de desarrollo, rodeados de la zona pelúcida, epitelio columnar y tejido conjuntivo laxo.
<b>MACHOS</b>	
<b>Estado 1</b>	Cistos de forma circular, bordeados de tejido conjuntivo y fibroblastos, alrededor células espermáticas “espermatogonias” también redondeadas, conteniendo células germinativas y cromatina granulosa basófila. También células de Sertoli y tejido conjuntivo, los nucléolos son visibles y de coloración rojiza.
<b>Estado 2</b>	Aumenta la abundancia de espermatogonias, cromatina menos granulosa y adquiere mayor densidad, las células de Sertoli se diferencian por su coloración blanquecina, todavía son visibles los nucléolos de color rojo oscuro.
<b>Estado 3</b>	Los cistos aumentan su diámetro, la cromatina adquiere un aspecto alargado y espiralado, son visibles los núcleos y las células de Sertoli, que son menos numerosas, más claras y se ubican basalmente.
<b>Estado 4</b>	La célula espermática “espermatocono”, reduce su tamaño, la cromatina se hace muy condensada y reticulada, los cistos son grandes y en los bordes siguen ubicadas las células de Sertoli
<b>Estado 5</b>	Las células espermáticas se hacen más pequeñas y levemente alargadas; son visibles las células de Sertoli en los márgenes del cisto, donde se ven separadas y desorganizadas.
<b>Estado 6</b>	Comienza la fase de espermátide, con fuerte reducción celular, la cromatina se alarga y comienza a formar la cabeza y la cola de los espermatozoides, en <i>R. percellens</i> no se diferencia el cuello, las células de Sertoli reducen su material citoplasmático.
<b>Estado 7</b>	La célula espermática continúa haciéndose más pequeña, la cabeza es marcadamente reducida y es evidente el alargamiento y adelgazamiento de la cola; comienza el alineamiento de las células al interior del cisto. Algunas células de Sertoli siguen siendo conspicuas, otras se han perdido.
<b>Estado 8</b>	La célula espermática adquiere la denominación de “espermatozoide”, las cabezas se observan muy pequeñas y contienen la cromatina muy condensada a manera de puntos oscuros, la cola es larga y casi recta, el esperma continúa la organización por paquetes y alrededor se diferencian bien las células de Sertoli.
<b>Estado 9</b>	Los espermatozoides están completamente desarrollados, en <i>R. percellens</i> las cabezas son diminutos puntos oscuros de las que se desprenden colas rizadas. Los espermatozoides forman paquetes denominados espermatozugmata. Las cabezas espermáticas se orientan a través de la periferia del espermatocisto y se embeben en la región apical de las células de Sertoli; cada una se asocia a un paquete de esperma cuya ruptura inicia la liberación del esperma (espermiación).

## Resultados

Se examinó un total de 93 ejemplares de las cuatro especies de batoideos. Dicha suma es discriminada así: 16 ejemplares de *N. bancroftii* entre 196 y 328 mm de ancho del disco (AD) (13 hembras, tres machos), 24 *U. venezuelae* (14 hembras, diez machos) entre 66 y 167 mm AD, 29 *R. percellens* (17 hembras, doce machos) entre 66 y 245 de longitud total y 24 *D. guttata* (18 hembras, seis machos) entre 413 y 1710 mm AD. En cada especie los ejemplares analizados estuvieron distribuidos en todo el espectro de tallas.

El resumen de los principales resultados encontrados para las 62 hembras de las cuatro especies estudiadas se presenta en la Tabla 3. Se determinó la estructura histológica de los ovarios de todas las especies. La pared ovárica fue observada en tres de las especies estudiadas, con presencia de epitelio cúbico simple y tejido conjuntivo laxo; sin embargo, en *U. venezuelae* no se pudo detallar esa estructura. Se encontró presencia de gránulos en las cuatro especies objeto (Figura 5), siendo más abundantes en los ejemplares inmaduros. En todas las especies se estudió en detalle al menos el estado IIIa de madurez de los ovarios, caracterizado por presentar ovocitos con estados medios a finales de desarrollo y vitelo abundante (Figura 6), llegándose en el caso de *N. bancroftii* a detallar la situación en cuatro estados de madurez. Así mismo, se halló en las especies estudiadas, excepto *D. guttata*, el estado de desarrollo IIIb (Figura 7), caracterizado por la presencia de embriones uterinos. En *N. bancroftii* los ovocitos del estado IIIb atraviesan un proceso de reabsorción. En *U. venezuelae* no se observó reabsorción, sino que se hallaron ovocitos en estados medios a finales de desarrollo, lo cual podría indicar que ellos funcionan como un lote de reserva. Además, para el caso de *N. bancroftii*, se detectó el estado ovárico IV (postparto) (Figura 8), caracterizado por su elevada irrigación y carencia de ovocitos.

Se detectaron entre cuatro (condición usual) y siete estados de desarrollo de los ovocitos con diámetros entre 0,10 y 5,86  $\mu\text{m}$ , según la especie; se destaca que en *N. bancroftii* se produce una elongación secundaria de los ovocitos, que llegan a medir hasta 19,81  $\mu\text{m}$ . En cuanto a los oviductos, sus paredes están, en general, conformadas por tejido conjuntivo y muscular liso, mientras que los canales en todas las especies, excepto en *R. percellens*, están recubiertos de epitelio columnar pseudoestratificado ciliado. La glándula nidamental, por su parte, sólo fue detectada y estudiada en dos especies, *R. percellens* y *U. venezuelae*. Finalmente, el útero de las cuatro rayas fue analizado en detalle, encontrándose que en general la pared es de tejido muscular liso y conjuntivo, irrigada por venas, arterias, vasos y capilares.

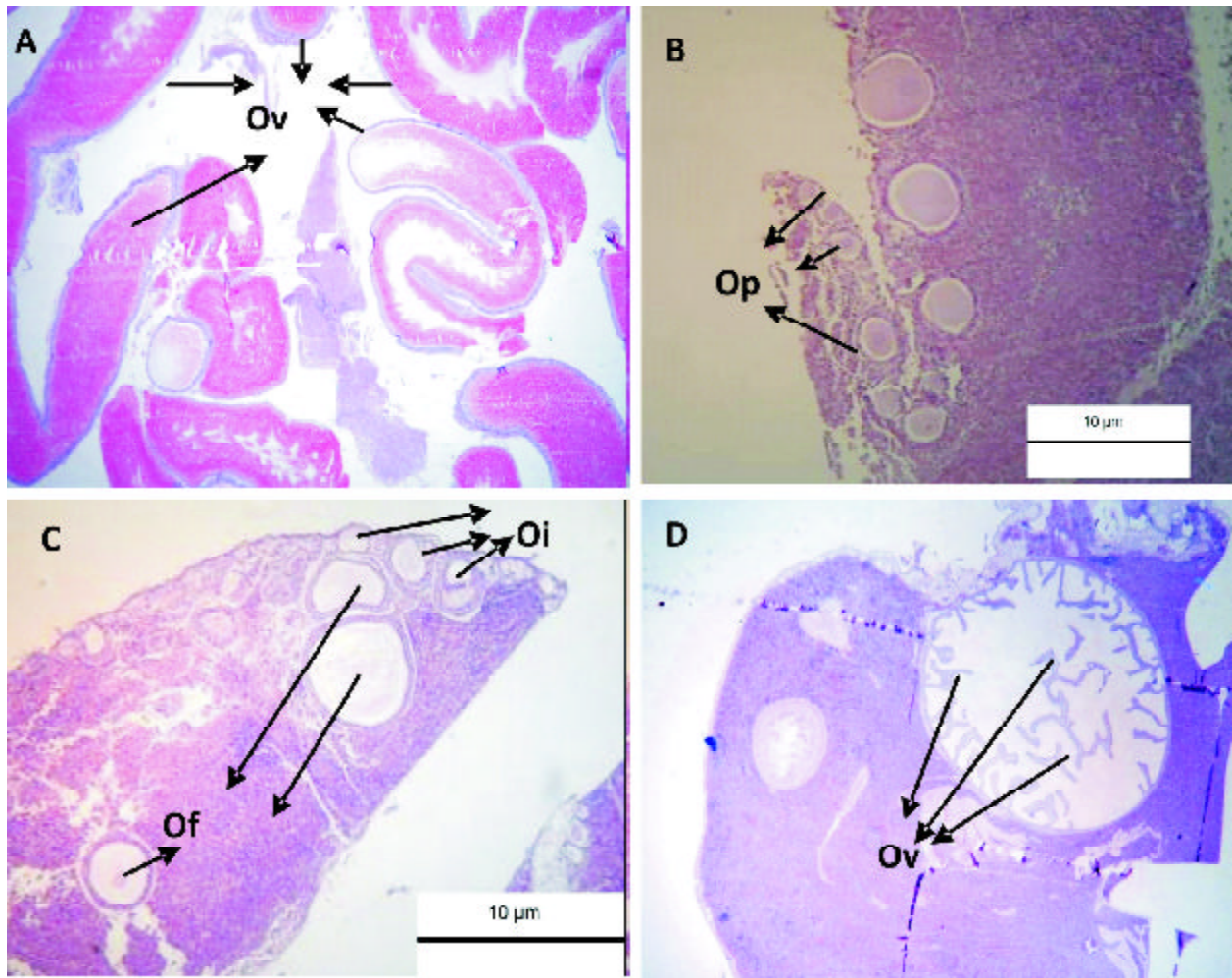
La información recopilada tras estudiar los cortes efectuados en las gónadas de los 31 machos detallados se presenta en la Tabla 4. Los testículos de las cuatro especies son del tipo compuesto y se realizaron cortes representativos de condiciones inmaduras, en maduración y maduras. Así mismo, para todas las especies se detectaron siete estados de desarrollo espermático y fue posible el estudio del órgano epigonal. El epidídimo fue localizado en sólo tres especies, no en *N. bancroftii*, mientras que únicamente se describió la vesícula seminal de *R. percellens* y *U. venezuelae*.

## Discusión

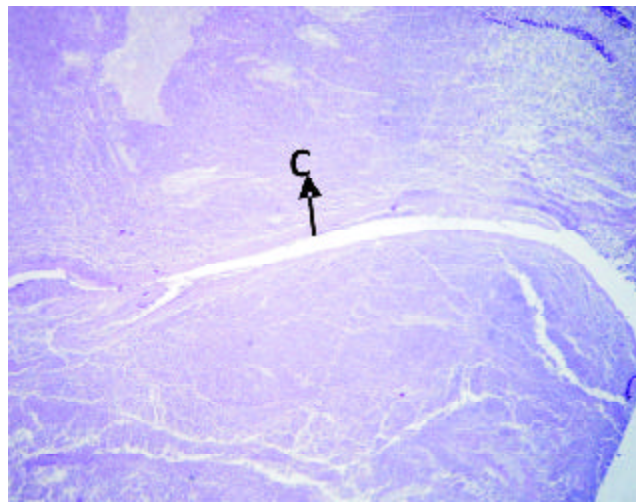
Los ovarios de dos de las especies estudiadas (*R. percellens* y *U. venezuelae*) coinciden en su carácter mixto (en este trabajo llamado Compuesto), pues poseen atributos que definen los tipos descritos por **Pratt** (1988), es decir presencia de ovocitos externos (Figura 1) y de un canal (Figura 2) para su salida. El ovario de *D. guttata* encajaría aparentemente con el tipo Externo de **Pratt** (1988), pues no se detectó un canal. Sin embargo, considerando el tamaño relativamente mayor de esta especie, es posible que los cortes no hayan caracterizado en su totalidad la gónada; así mismo, es factible que **Pratt** (1988) hubiese tenido problemas para ubicar el canal central en el ovario de *Prionace glauca*, su especie modelo, debido al gran tamaño de ese carcharhínido.

Por otro lado, el ovario de *N. bancroftii* no se asemeja a ninguno de los tipos descritos por **Pratt** (1988) ni con el Compuesto. El ovario de ese Torpediniformes, aquí denominado Atípico, se caracteriza por la presencia de varias estructuras tubulares, aguzadas en sus extremos, plegadas dentro del ovario (**Moreno et al.**, en prensa). Además, el ovario de esta especie presenta un conducto interno para la salida de los ovocitos. Este tipo de ovario no ha sido descrito anteriormente ni por **Pratt** (1988), en su descripción general de las gónadas de los elasmobranquios, ni por **Villavicencio** (1995), en su trabajo sobre la especie mexicana *N. entemedor*. Se considera que este tipo de estructura puede constituir un estado derivado, autapomórfico, cuya presencia debe ser corroborada en otras rayas eléctricas.

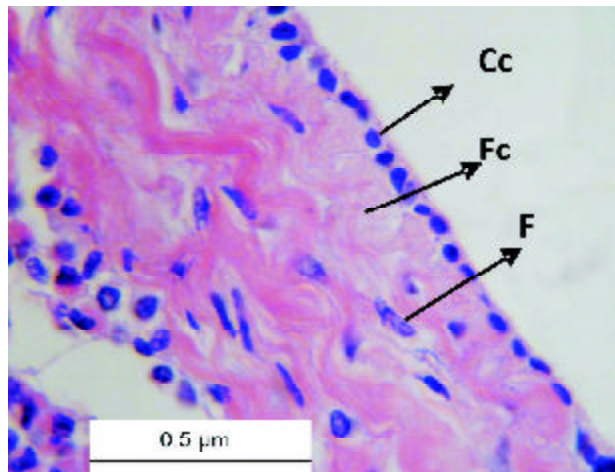
Se encontraron tres tipos distintos de la composición estructural histológica de los ovocitos. La estructura relativamente más sencilla parece ser la de *R. percellens*, cuyo ovario se caracteriza por el bajo número de estados, con cambios en la pared y aparición de células secretoras y de gránulos de vitelo en el estado más avanzado (Figura 8). Las dos especies de Myliobatiformes estudiadas coinciden



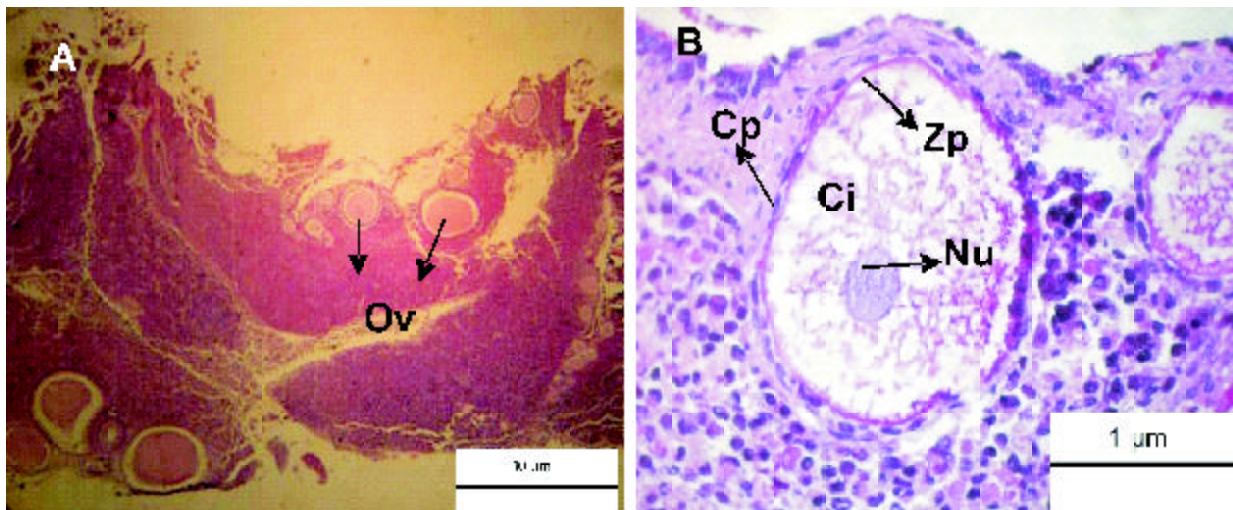
**Figura 1.** A. Ovario de *N. bancroftii* estado IIIa con ovocitos (Ov) alargados llenos de vitelo 16x, B. Corte de ovario con ovocitos en la periferia (Op) en hembra inmadura de *R. percellens* 40x, C. Ovario inmaduro de *U. venezuelae* con ovocitos inmaduros (Oi) y en formación (Of) ubicados cerca a la pared del ovario 4x y D. Ovario IIIa de *D. guttata* con ovocitos (Ov) en estado seis 10x.



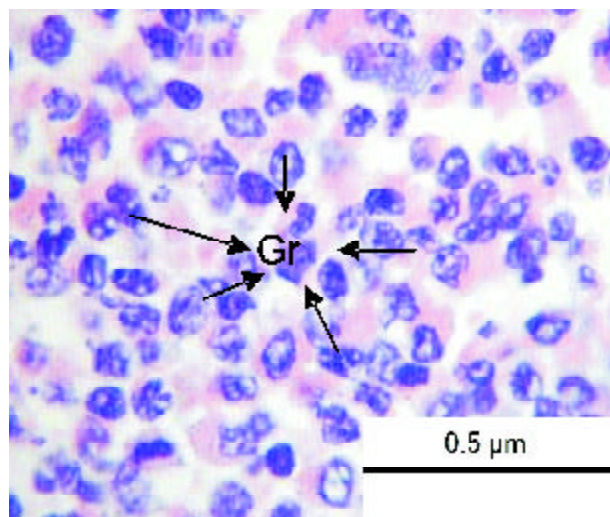
**Figura 2.** Conducto (C) presente en el ovario de *R. percellens* 25x.



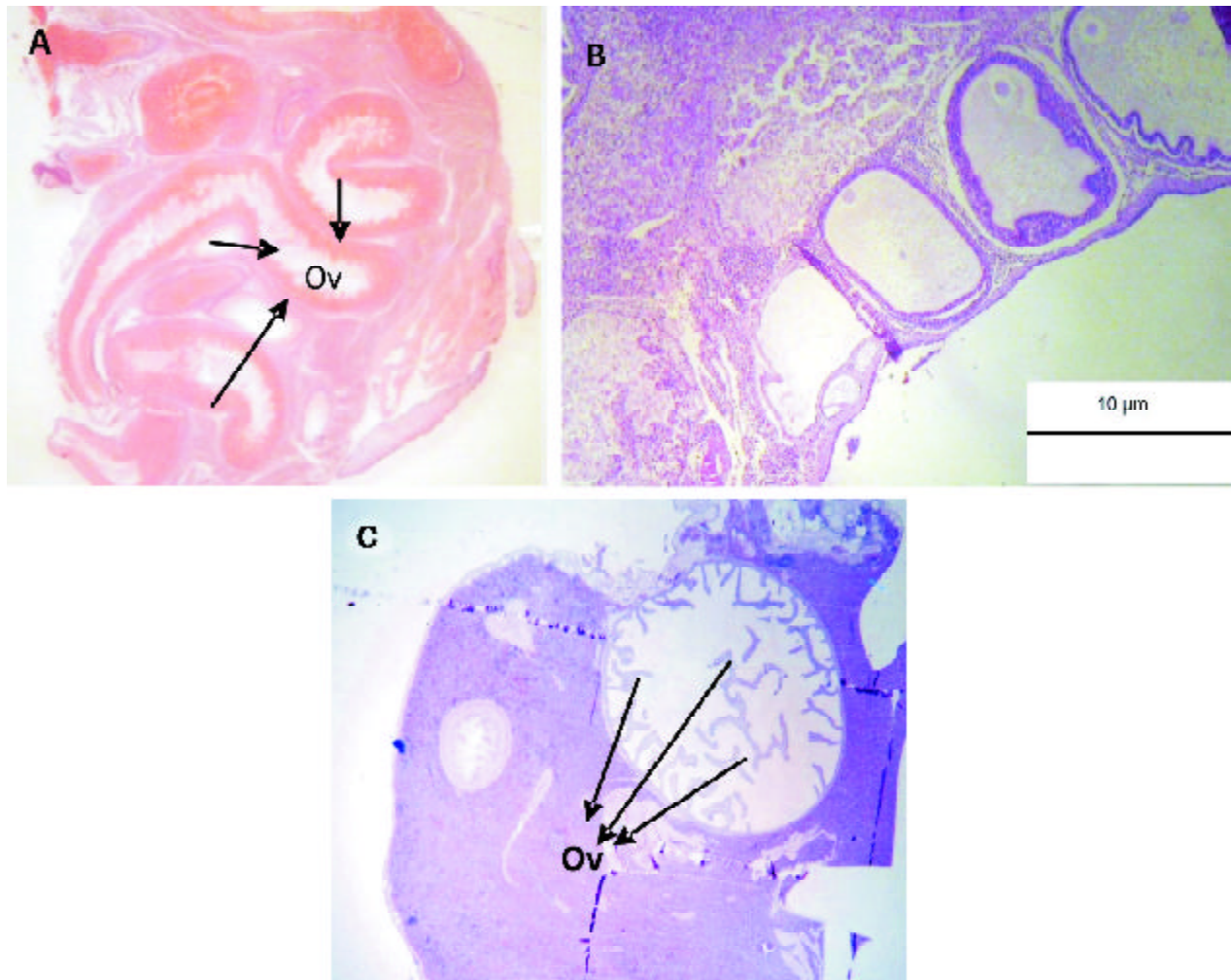
**Figura 3.** Pared ovárica de *N. bancroftii* con epitelio cúbico simple (Cc) tejido conjuntivo laxo con fibras de colágeno (Fc) y fibroblastos (F) 100x.



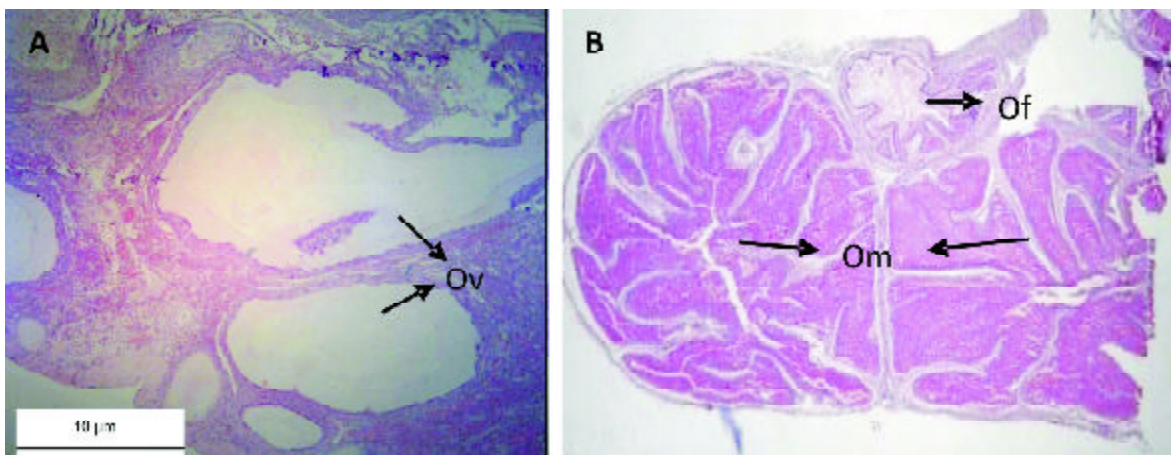
**Figura 4.** A. Ovario inmaduro de *R. percellens* con ovocitos (Ov) 40x y B. Primer estado de desarrollo para *U. venezuelae* con células planas (Cp) en la pared folicular, núcleo (Nu), Citoplasma (Ci) y zona pelúcida (Zp) 40x.



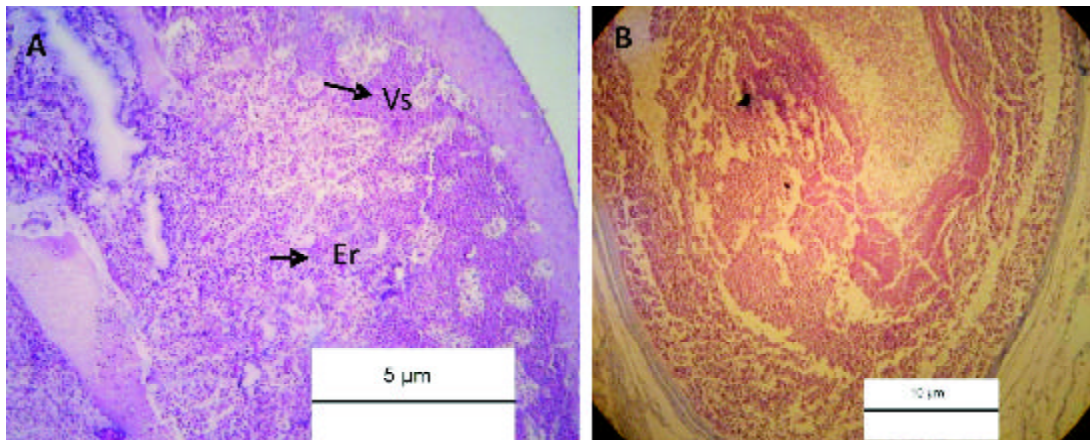
**Figura 5.** Gránulos en *U. venezuelae* (Gr) 100x.



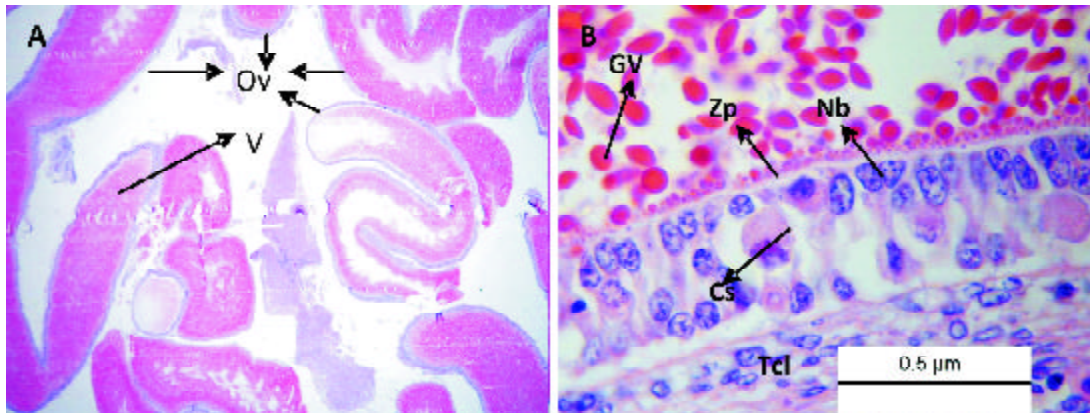
**Figura 6.** Cambios de estados de madurez **A.** Ovario IIIa con ovocitos (Ov) en *N. bancroftii* 8x, **B.** Ovario maduro IIIa de *U. venezuelae* 4x y **C.** Ovario IIIa de *D. guttata* con ovocitos (Ov) en estado seis 10x.



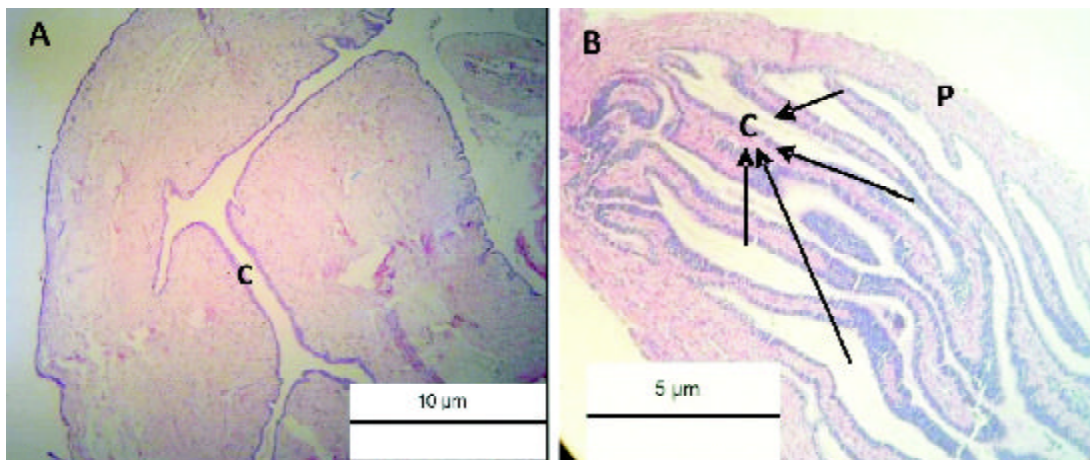
**Figura 7.** Cambios de estados de madurez en hembras **A.** Ovario IIIb con ovocitos (Ov) 4x de *N. bancroftii* y **B.** Ovario IIIb 20x con ovocitos maduros llenos de vitelo (Om) y ovocitos con inicios de formación de vitelo (Of) de *U. venezuelae*.



**Figura 8.** A. Ovario postparto IV con vasos sanguíneos (Vs) y eritrocitos (Er) 10x en *N. bancroftii* y B. Ovocito en cuarto estado de *R. percellens* conteniendo vitelo y rodeado del folículo (4X).



**Figura 9.** A. Ovocitos en estado seis (Ov) y vitelo (V) en *N. bancroftii* 16x. B. Pared de ovocito en estado seis con células secretoras (CS) núcleos basófilos (Nb), tejido conjuntivo laxo (Tcl), zona pelúcida (ZP) y gránulos de vitelo maduros (GV) 100X.

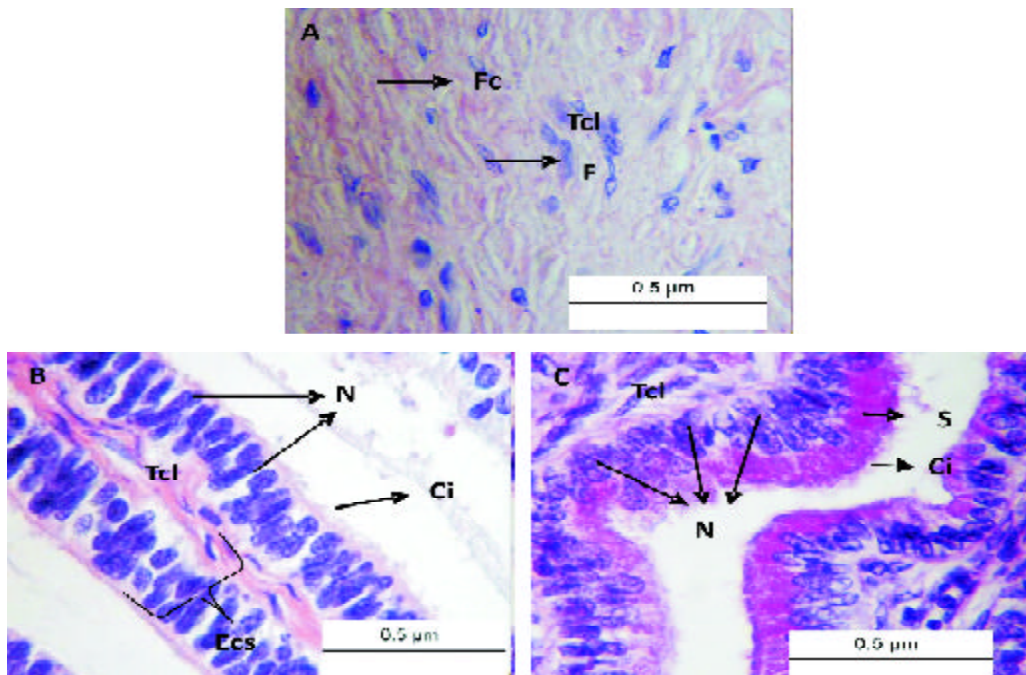


**Figura 10.** A. Oviducto de *N. bancroftii* con conducto central (C) 4x. B. Oviducto de *U. venezuelae*, se observa la pared (P) y los canales (C) 10x.

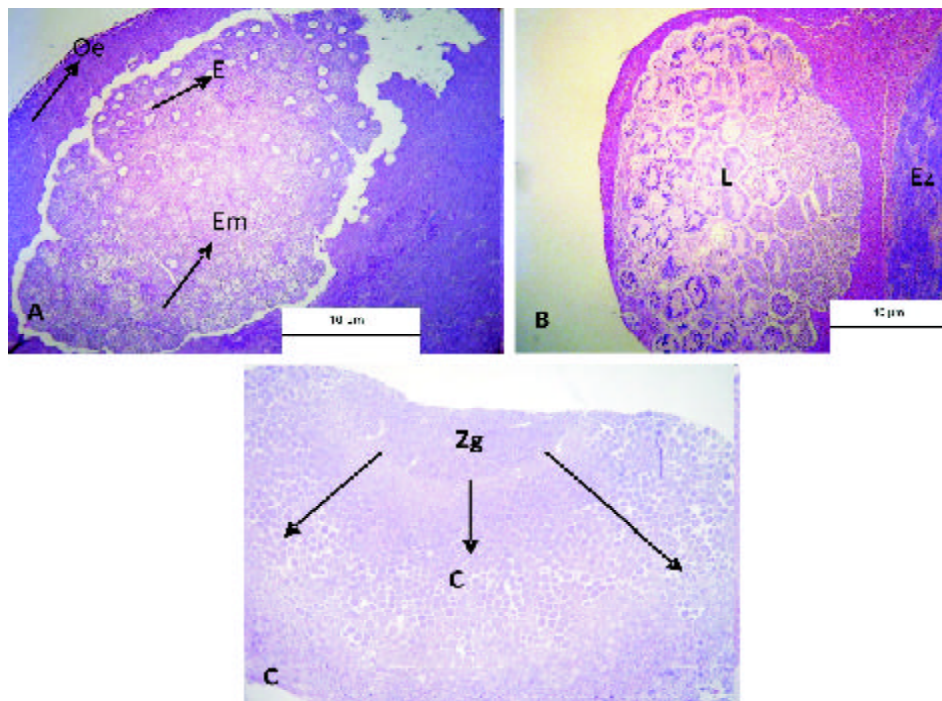


**Tabla 3.** Sumario de las principales características histológicas de los órganos reproductivos femeninos para cuatro especies de rayas de aguas someras del Caribe sur.

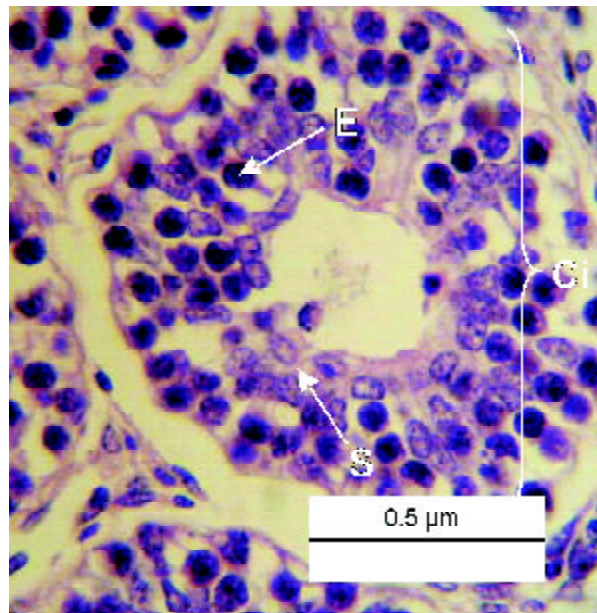
	<i>N. bancroftii</i>	<i>R. percellens</i>	<i>U. venezuelae</i>	<i>D. guttata</i>
<b>OVARIO</b>				
<b>Tipo</b>	Atípico, apariencia de hilos; presenta canal para Salida de ovocitos (Interno).	Compuesto, con ovocitos externos (Externo) y conducto central (Interno)	Compuesto, con ovocitos externos (Externo) y conducto central (Interno).	Externo, con ovocitos externos y ausencia de canal.
<b>Pared</b>	Epitelio cúbico simple y tejido conjuntivo laxo.	Capa externa de tejido epitelial cúbico simple y tejido conjuntivo laxo.	?	Epitelio cúbico simple y tejido conjuntivo laxo.
<b>Presencia de gránulos</b>	Presentes, inmersos en los espacios restantes de los ovocitos, cambian su proporción de acuerdo a la madurez del ejemplar.	Presentes, en mayor proporción en inmaduros que en maduros.	Presentes, en mayor proporción en inmaduros, que en maduros.	Presentes, no se pudo establecer diferencias entre inmaduros y maduros.
<b>Diferencias en estados de madurez</b>	Se establecieron diferencias en IIIa, IIIb y IV.	Las diferencias entre inmaduro, IIIa y IIIb radican en la proporción de cistos y en sus estados de madurez.	Descripciones para inmadura, IIIa y IIIb.	Sólo hay una descripción de IIIa.
<b>Estados de desarrollo ovocitario</b>	Seis estados, debidos a cambios en la pared folicular de células planas en inmaduros a cúbicas, rodeadas de tejido conjuntivo laxo, aparecen en la pared células secretoras, con incrementos en diámetro; cambios en la forma ya que se alargan y poseen vitelo en formación.	Cuatro estados, cambios en la pared que en inmaduros posee epitelio plano simple a columnar rodeado por tejido conjuntivo laxo, con dos a tres nucléolos, en maduros, inmerso en el epitelio columnar, aparecen células secretoras y gránulos de vitelo, incrementos en diámetros.	Siete estados, cambios en la pared, en inmaduros células planas a maduros con epitelio cúbico con tejido conjuntivo, sin células secretoras inmersas, aparecen vellosidades, con igual conformación de la pared, que ocupan el citoplasma, cambios de coloración en el vitelo, no se identificaron nucléolos.	Siete estados, diferencias principalmente en la composición de la pared que cambió de células planas en inmaduros (núcleo con un nucléolo) a cúbicas rodeadas de tejido conjuntivo laxo en maduras, aparición de prolongaciones derivadas que invaden el citoplasma hasta cubrirlo completamente y desarrollo de vitelo, aparecen células secretoras en las vellosidades.
<b>Diámetros máximo y mínimo</b>	0,10 $\mu\text{m}$ a 4,04 mm, con largo de 19,81mm, cambian de forma circular a alargados.	0,21 $\mu\text{m}$ a 13 mm, manteniendo la forma circular.	0,29 $\mu\text{m}$ a 1,48 mm, la forma se mantiene circular.	1,42 $\mu\text{m}$ a 5,86 mm, se mantiene la forma circular.
<b>OVIDUCTO</b>				
<b>Pared</b>	Tejido conjuntivo laxo y muscular liso.	Tejido conjuntivo y muscular liso.	Tejido muscular liso.	Tejido muscular liso.
<b>Canal</b>	Con un canal central recubierto de epitelio columnar pseudoestratificado ciliado.	?	Con varios canales recubiertos por tejido epitelial columnar pseudoestratificado y de tejido conjuntivo.	Tejido epitelial columnar pseudoestratificado ciliado, que presentó células secretoras, con tejido conjuntivo laxo inmerso entre los epitelios.
<b>Glándula nidamental</b>	?	Forma ovalada y dos porciones glandulares una circular y otra alargada, con secreción de mucus en su interior, con un ducto central y otros secundarios, canal recubierto de microvellosidades, ubicada anterior al útero	Un canal central con una pared de tejido conjuntivo laxo y muscular liso, recubierto de epitelio columnar pseudoestratificado ciliado, con dos porciones glandulares de la misma forma (circular) diferenciadas por presentar o carecer de granulaciones, ubica da en la parte anterior al útero.	?
<b>ÚTERO</b>				
	Capa externa de tejido epitelial columnar simple. Pared con tejido muscular liso y conjuntivo, irrigada por venas, arterias, vasos y capilares, con vellosidades tapizadas por epitelio columnar simple, sin células granulosas.	Con dos regiones, una glandular y otra con conductos rodeados de epitelio pseudoestratificado ciliado. En la luz del útero se observaron pliegues o prolongaciones uterinas, conformadas por células glandulares de tipo caliciforme, además de tejido conjuntivo y túbulos glandulares, irrigado por vasos sanguíneos y epitelio columnar provisto de microvellosidades.	Pared con tejido muscular liso, con tejido conjuntivo laxo, poco irrigada, con algunos capilares, prolongaciones no irrigadas, constituidas por tejido conjuntivo laxo y recubiertas con tejido columnar simple, no se encontró tapizada por cilios o microvellosidades.	Pared con tejido muscular liso irrigado con arteriolas y capilares grandes, vellosidades, irrigada con arteriolas, vasos y capilares sanguíneos, recubiertas por epitelio cúbico y tejido conjuntivo en el interior.



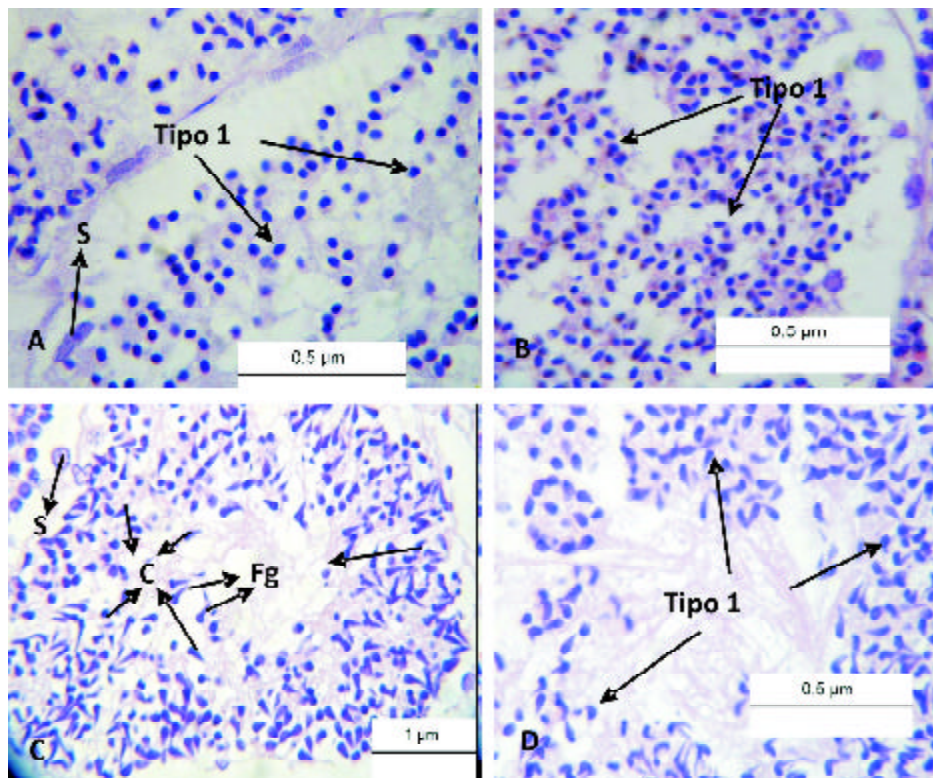
**Figura 11.** A. Pared del oviducto de *D. guttata* formada por tejido conjuntivo laxo (Tcl) con fibroblastos (F) y fibras de colágeno (Fc) 100x. B. Canales de *D. guttata* recubiertos de epitelio columnar pseudoestratificado (Ecs) con núcleos (N) en diferente posición, cilios (Ci) y en la parte central tejido conjuntivo (S) 100x. C. Superficie de canales en *D. guttata* con células columnares con secreciones (S) 100x.



**Figura 12.** A. Testículo de *N. bancroftii* en maduración con espermatogonias (E), órgano epigonal (Oe) y espermatozoides maduros (Em) 4x. B Testículo maduro de *U. venezuelae* con lóbulos (L), se observan diferentes estados de maduración de los espermatozoides (Ez) 4x. C. Testículo radial en maduración de *D. guttata* con quistes (C), células espermáticas en diferentes estados de desarrollo y zona germinal (Zg) 16x.



**Figura 13.** Primera etapa de desarrollo testicular en *R. percellens*, se observan los cistos (Ci), células de Sertoli (S) y espermatogonias (E) 100x.



**Figura 14.** A. Proceso de espermiogénesis en *N. bancroftii*, se observan espermatídes tipo I acompañadas de células de Sertoli (S) 100x. B. Espermatídes tipo I en *R. percellens* 100x.

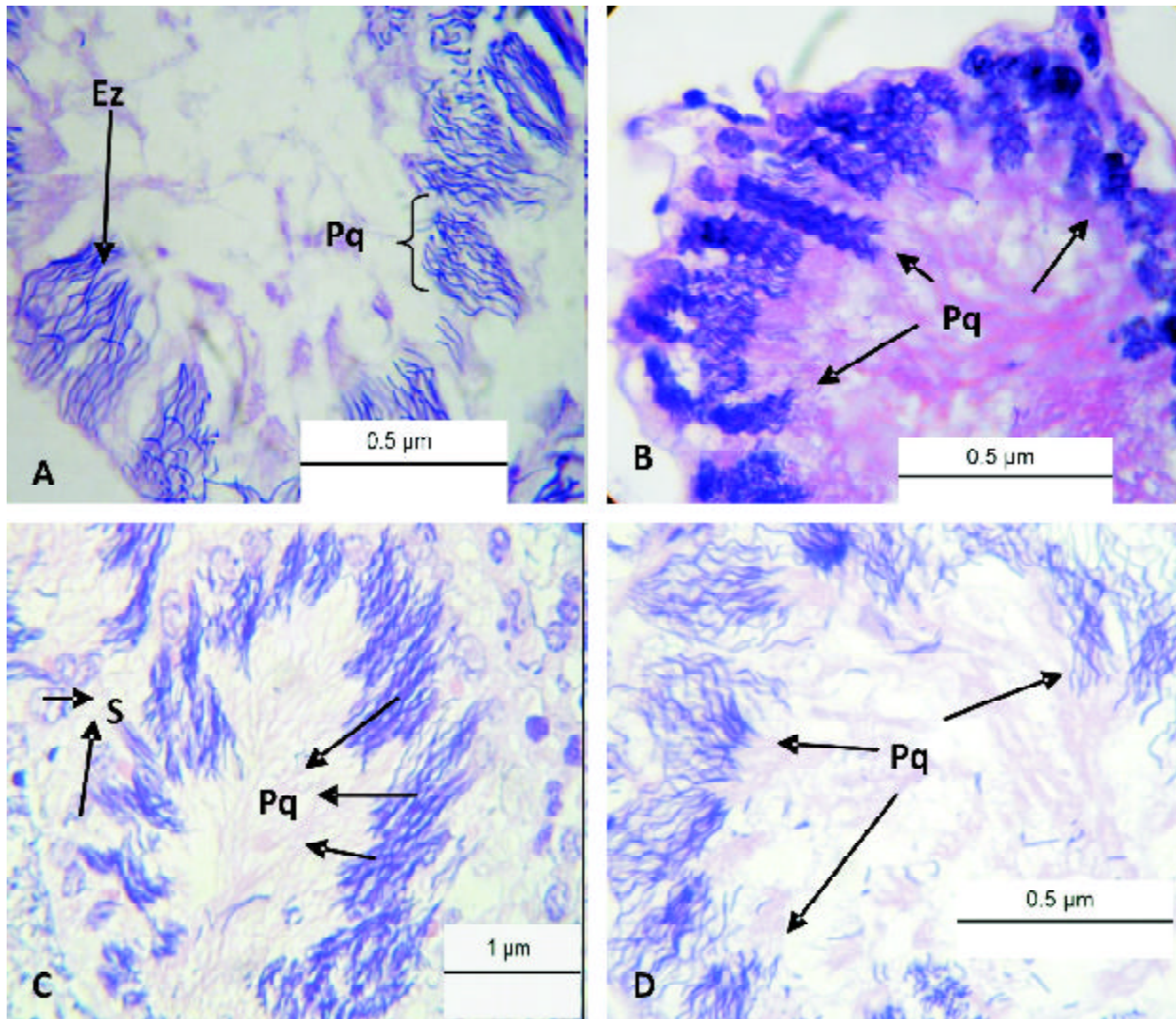
C. Desarrollo de espermatídes tipo I en *U. venezuelae*, se aprecian las cabezas (C) y flagelos (Fg) y las células de Sertoli (S) 40X. D. Espermatídes tipo I ovaladas con un triángulo que será el flagelo en *D. guttata* 100X.

**Tabla 4.** Sumario de las principales características histológicas de los órganos reproductivos masculinos para cuatro especies de rayas de aguas someras del Caribe sur.

	<i>N. bancroftii</i>	<i>R. percellens</i>	<i>U. venezuelae</i>	<i>D. guttata</i>
<b>TESTÍCULO</b>				
<b>Tipo</b>	Compuesto: alargados y comprimidos dorsoventralmente, área germinal en región lateral, grupos de desarrollo folicular con áreas más desarrolladas cercanas o en la misma dirección.	Compuesto: aspecto lobular externo, zona germinal en superficie lateral, cistos desarrollándose radialmente y hacia el interior del testículo.	Radial: cilíndrico aplanado dorsoventralmente constituido por unidades formadas por folículos seminíferos que funcionan independientemente, rodeadas de órgano epigonal.	Radial: cilíndrico, aplanado dorsoventralmente, superficie lobular sin unidades funcionales formadas por cistos, con canal de salida de espermatozoides.
<b>Estados de maduración</b>	Inmaduros: sólo se observan cistos de espermatogonias. En maduración: presentaron espermatogonias y espermatoцитos primarios y secundarios. Maduros: todos los estados de desarrollo.	Inmaduros: bajo número de cistos y espermatogonias. En maduración: mayor cantidad de cistos con espermátides y espermatoцитos primarios y secundarios. Maduros: todos los estados de desarrollo.	Inmaduros: pocos cistos con espermatogonias y espermatoцитos primarios. En maduración: aumento del número de cistos, presentando espermátides. Maduros: todos los estados, con predominio de espermatozoides.	Inmaduros: algunos cistos con espermatogonias. En maduración: solo una parte con espermatogonias a espermatoцитos secundarios. Maduros: todos los estados desde espermatogonias hasta espermatozoides.
<b>Espermatogénesis</b>	Siete estados de desarrollo espermático en las cuatro especies (espermatogonias, espermatoцитos primarios, secundarios, espermátides tipo I, tipo II, tipo III y espermatozoide), se registraron variaciones principalmente en forma de células espermáticas avanzadas (espermátides), durante las etapas cambiaron forma y tamaño de cabeza (redonda u ovalada) y flagelo ondulado en las especies <i>N. bancroftii</i> , <i>U. venezuelae</i> y <i>D. guttata</i> a rizado en <i>R. percellens</i> .			
<b>EPIDÍDIMO</b>	No se colectó	Inmaduros, conductos pequeños y estrechos. Maduros, conductos abiertos llenos de espermatozoides con flagelos bien rizados, paredes de tejido epitelial acompañados de musculatura lisa y tejido conjuntivo.	Inmaduros túbulos cerrados. Maduros, dos sectores uno de túbulos cerrados y otro de abiertos llenos de espermatozoides, con paredes de tejido cúbico.	Inmaduros, cerrados con dos sectores. Maduros, abiertos con espermatozoides, con paredes de tejido cúbico y cerrados con paredes de tejido columnar.
<b>VESÍCULA SEMINAL</b>	No se colectó	Tapizada por musculatura lisa. Inmaduros, constituida por tejido muscular y conjuntivo. Maduros, formado además por ductos tapizados internamente por una capa de epitelio columnar.	Ductos rodeados de tejido conjuntivo laxo, sin células columnares en interior.	No se colectó

en el alto número de estados, presentando prolongaciones derivadas de la pared, denominadas pliegues foliculares (Babel, 1967), las cuales ocupan el citoplasma. En *D. guttata* se observaron células secretoras en los pliegues, las cuales no se vieron en *U. venezuelae*. En *N. bancroftii* ocurre una elongación de los ovocitos, paralela

a la de las masas tubulares descritas anteriormente; de ese modo, los ovocitos de *N. bancroftii* llegan a alcanzar longitudes de casi dos centímetros, mientras que su anchura es de menos de medio centímetro (Figura 9). Además, las paredes de los ovocitos de esta especie también poseen las células secretoras ya mencionadas.

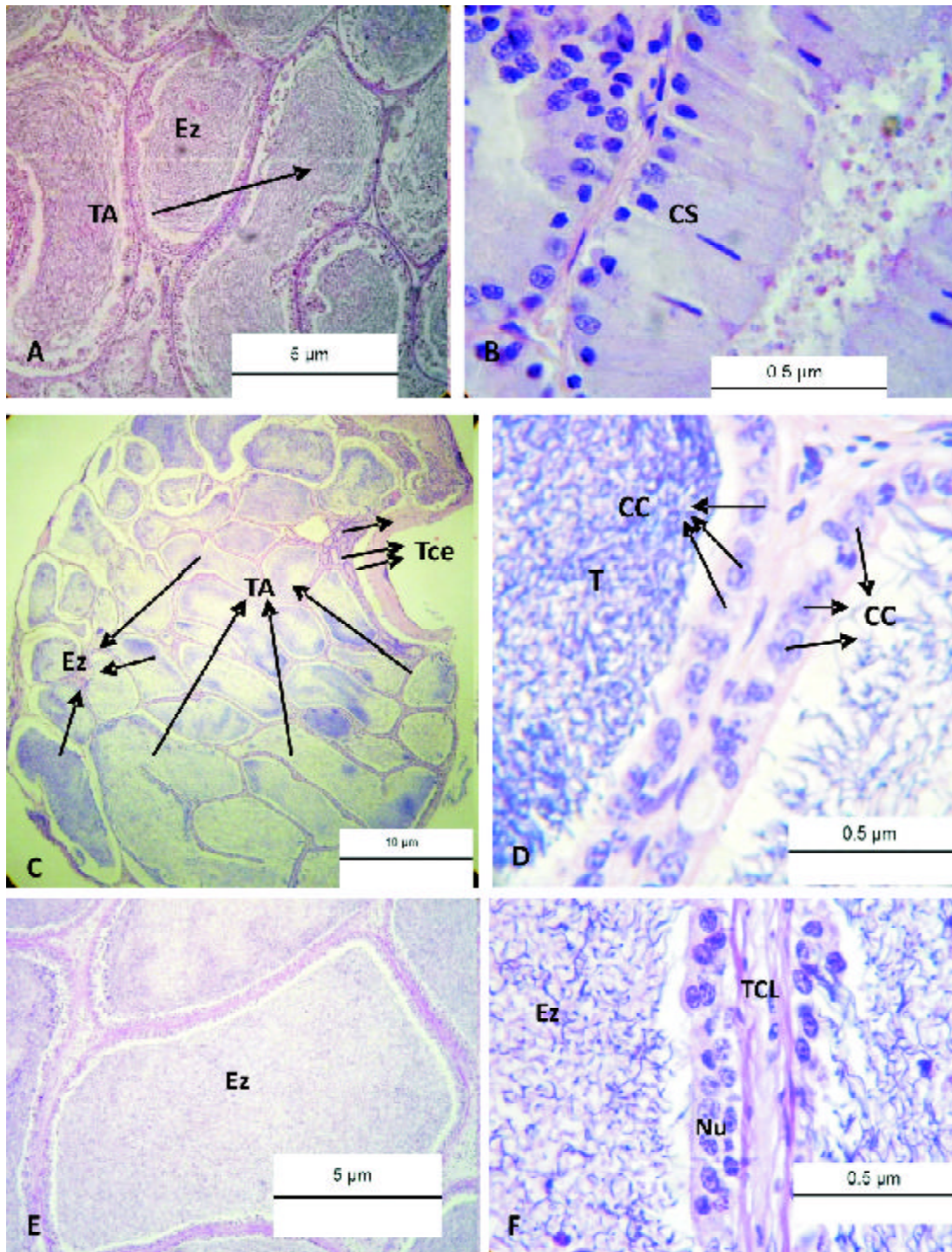


**Figura 15.** A. Espermatozoides (Ez) agrupándose en paquetes (Pq) en *N. bancroftii*, los flagelos están poco ondulados 100x. B. Espermatozoides de *R. percellens* completamente maduros, en paquetes y muy rizados 100x. C. Espermatozoides largos y ondulados en *U. venezuelae*, formando paquetes, acompañados de células de Sertoli (S) 40x. D. Espermatozoides que se están empaquetando en *D. guttata* 100X.

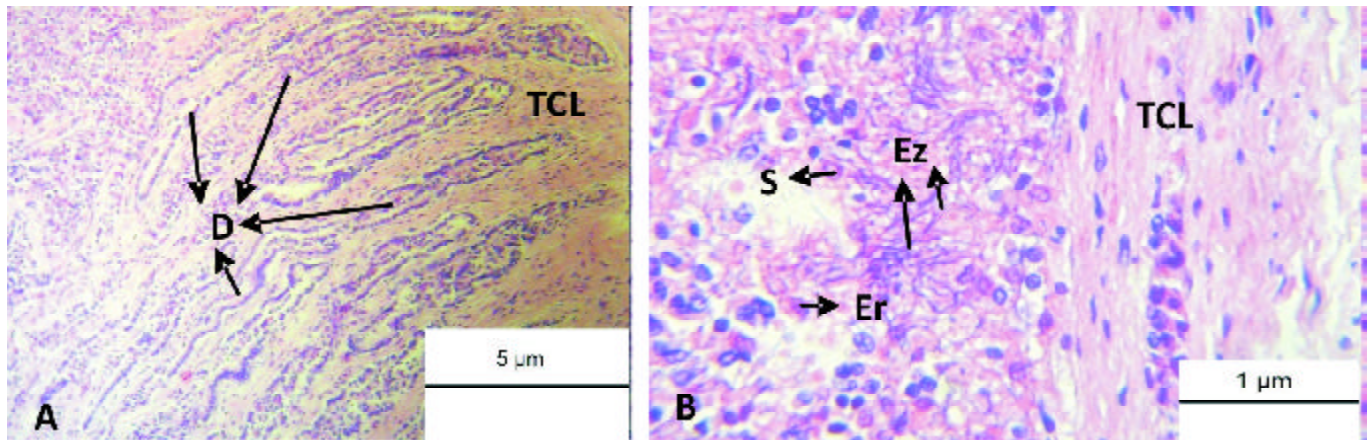
Los oviductos de *U. venezuelae* y *N. bancroftii* (Figura 10) difieren en que en la última sólo hay un canal, mientras que en la primera se detectaron varios canales; no fue posible dilucidar si se trata, en este caso, de varios canales o de uno solo, ramificado. La otra especie de Myliobatiformes estudiada (*D. guttata*) parece presentar también varios canales del oviducto y se observaron células secretoras en su superficie (Figura 11). Sólo fue posible estudiar las glándulas nidamentales de *R. percellens* y *U. venezuelae*, las que difieren en que una de las porciones glandulares en *R. percellens* es alargada. Además, esta especie tiene células caliciformes, secretoras de mucus.

El útero de *R. percellens* difiere del de las otras especies pues posee dos regiones, una de ellas con células glandulares caliciformes; en este caso se podría tratar de una autapomorfía de los rhinobátidos. No se pudieron detectar diferencias ligadas a la estrategia de nutrición embrionaria de los Myliobatiformes, conocida como trofonemata (Hamlett *et al.*, 1999).

Los testículos de las cuatro especies estudiadas son aplanados dorsoventralmente, acorde con la morfología general de las rayas. *Narcine bancroftii* y *R. percellens* son similares al tipo Compuesto (Pratt, 1988), caracterizado



**Figura 16.** A. Corte transversal epidídimo en *R. percellens*, se observan espermatozoides (Ez) y túbulos abiertos (TA) 10x. B. Pared celular en *R. percellens* constituida por tejido columnar simple (CS) 100x. C. Corte transversal de epidídimo en *U. venezuelae*, con túbulos abiertos (TA) llenos de espermatozoides (Ez) y túbulos cerrados (Tce) sin células espermáticas 4x. D. Membrana que divide los túbulos (T) conformada por células cúbicas (CC) en *U. venezuelae* 100x. E. Ampliación de ductos abiertos con espermatozoides (Ez) en *D. guttata* 10x. F. Pared de ductos abiertos con espermatozoides (Ez) en *U. venezuelae*, formado por células cúbicas con núcleos en diferentes posiciones (Nu) y tejido conjuntivo (TCL) 100x.



**Figura 17.** **A.** Vesícula seminal en *U. venezuelae* con los ductos (D) donde se almacena el semen rodeados de tejido conjuntivo laxo (TCL) 10x. **B.** Acercamiento del interior del ducto con semen, constituido por espermatozoides (Ez), partes de células de Sertoli (S) y eritrocitos (Er), además de tejido conjuntivo laxo (TCL) 40x.

porque el tejido epigonal está reducido a una capa delgada ~~alrededor del tejido conectivo~~ (Figura 12). Pratt (1988) registró que el testículo de *Dasyatis* sp. es del tipo Radial, definiéndolo como una estructura lobulada con desarrollo compuesto a través de cada lóbulo; los cortes estudiados de los testículos de *D. guttata* parecen cumplir con esa descripción (Figura 12). *Urotrygon venezuelae* difiere de ese patrón en que el testículo está formado por lóbulos, cada uno rodeado por órgano epigonal y albergando los diferentes estados de espermatogénesis (Figura 12); este tipo sería parcialmente similar al Radial, difiriendo en la relación entre los lóbulos y el tejido epigonal, lo cual podría constituir un estado derivado, autapomórfico, de los urotrygónidos. Pratt (1988) había advertido que, al aumentar el número de batoides examinados, se incrementarían, así mismo, los tipos estructurales de sus gónadas.

El desarrollo de la madurez testicular incluye, para las cuatro especies, tres estados generales: inmaduros, en maduración y maduros. La espermatogénesis, por su parte, es similar para las especies estudiadas, con siete estados (Figuras 13-15). Se destaca que las cabezas de los espermatozoides, que se empiezan a formar a partir del cuarto estado, cambian ontogenéticamente de redondeadas a ovaladas. Los flagelos de los espermatozoides se desarrollan similarmente en las cuatro especies, pero los de *R. percellens* en el séptimo estado difieren claramente de los de las otras especies en que son altamente rizados (Figura 15). Esto ya había sido registrado por Wenbin y Shuyuan, (1993) para la especie asiática *R. hynnicephalus*, por lo cual es aparentemente una carácter derivado compartido, sinapomorfía, de estas dos especies de rhinobátidos.

El epidídimo fue detectado para tres de las especies, pues no se encontró en *N. bancroftii*. Se halló que en *R. percellens* los ductos están formados por paredes de tejido epitelial con musculatura lisa y tejido conjuntivo (Figura 16), mientras que en *U. venezuelae* y *D. guttata* las paredes están formadas por tejido cúbico (Figura 16). Además, en *D. guttata* se presentan también células columnares. La vesícula seminal sólo fue vista en *R. percellens* y *U. venezuelae*, difiriendo en que en *R. percellens* los ductos se hallan tapiados internamente por una capa de epitelio columnar, mientras que en *U. venezuelae* ellos solo poseen tejido conjuntivo laxo (Figura 17).

Resumiendo, se detectaron tres tipos diferentes de sistemas reproductivos femeninos en las rayas estudiadas. *Rhinobatos percellens* ejemplifica un sistema generalizado, que incluye características ampliamente representadas en los peces cartilaginosos. Los Myliobatiformes, por su parte, muestran un ovario relativamente generalizado, pero que alberga ovocitos con estructuras internas únicas. *Narcine bancroftii* posee el ovario más derivado, en cuanto a la presencia y forma de estructuras exclusivas. Las diferencias parecen ser menos marcadas en los sistemas reproductivos masculinos, con *N. bancroftii* mostrando un testículo generalizado, mientras *R. percellens* presenta cierto grado de lobulación externa. El testículo de *D. guttata* es de tipo Radial; *U. venezuelae* podría poseer un testículo Radial modificado.

Desde el punto de vista filogenético, los resultados no aportan información que permita dilucidar las relaciones entre los tres órdenes de rayas estudiados. Se detectaron estados claramente derivados, pero autapomórficos, para

*N. bancroftii*, *R. percellens* y *U. venezuelae*. Al no encontrarse estados que constituyan sinapomorfías, salvo uno probable para las dos especies de *Rhinobatos*, se hace imposible aun utilizar esos datos para el esclarecimiento de las afinidades dentro de los batoideos.

### Agradecimientos

La Fundación para la Promoción de la Investigación y la Tecnología del Banco de la República, Bogotá, financió parcialmente este trabajo a través del proyecto 2174 "Biología reproductiva de cuatro especies de batoideos: una contribución histológica". La Universidad Nacional de Colombia, por intermedio del Centro de Investigaciones en Ciencias del Mar y el Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras financiaron en parte y colaboraron con infraestructura para el trabajo del primer autor. El programa de Biología Marina de la Facultad de Ciencias Naturales de la Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, en Bogotá y Santa Marta, contribuyó con el uso de sus laboratorios para el análisis de las muestras y el procesamiento de la información. A los pescadores de playa Salguero y Don Jaca en Santa Marta, Magdalena y a sus familias. Contribución 325 CECIMAR, Universidad Nacional de Colombia y Contribución 008 del Grupo de Investigación de Peces Cartilagosos (GIPECA-UJTL).

### Bibliografía

- Acero P., A., L.S. Mejía & M. Santos-Acevedo.** 2002. *Pristis pectinata*, *Pristis perotteti*: 47-52 En **Mejía, L.S. & A. Acero P.** (Eds.) Libro rojo de peces marinos de Colombia. Inst. Cienc. Nat., Univ. Nal. Colombia/INVEMAR, Bogotá, 174 p.
- Acevedo, K., J. Bohórquez-Herrera, F. Moreno, C. Moreno, E. Molina, M. Grijalba-Bendeck & P. Gómez-Canchong.** 2007. Tiburones y rayas (subclase Elasmobranchii) descartados por la flota de arrastre camaronero en el Caribe de Colombia. *Acta Biol. Colomb.*, **12** (2): 71-81
- Babel, J.** 1967. Reproduction, life history and ecology of the round stingray *Urolophus halleri* Cooper. *Calif. Fish Game Bull.*, **137**: 1-104.
- Compagno, L.J.V.** 1999. Checklist of living elasmobranchs: 471-498. En **Hamlett, W.C.** (Ed.) *Sharks, skates, and rays. The biology of elasmobranch fishes*, John Hopkins University, Baltimore.
- Grijalba-Bendeck, M., C. Polo-Silva & A. Acero P.** 2007a. Una aproximación a la abundancia de los batoideos capturados artesanalmente en Santa Marta (Colombia). *Bol. Invest. Mar. Cost.*, **36**: 251-268.
- Grijalba-Bendeck, M., Polo C.J., K. Acevedo, F. Moreno & D. Mojica.** 2007b. Aspectos biológicos de algunos Batoideos en Santa Marta (Caribe colombiano). Centro de Investigaciones Científicas. Facultad de Ciencias Naturales. Programa de Biología Marina. Universidad Jorge Tadeo Lozano. Santa Marta. 180 p.
- Grijalba-Bendeck, M., K. Acevedo, F. Moreno, D. Mojica & A. Acero P.** 2008. Condición reproductiva y descripción anatómica del sistema reproductor de algunos batoideos capturados artesanalmente en Santa Marta (Caribe colombiano). *Resultados de Investigación* **1**(3): 1-20.
- Hamlett, W., M. Jezior & R. Spieler.** 1999. Ultrastructural analysis of folliculogenesis in the ovary of the yellow spotted stingray *Urolophus jamaicensis*. *An. Anat.*, **181**: 159-172.
- Martoja, R & M. Martoja-Pierson.** 1970. *Técnicas de Histología Animal*. Toray-Masson, Barcelona, 350 p.
- McEachran, J.D. & N. Aschliman.** 2004. Phylogeny of Batoidea: 79-113. En J.C. Carrier, J.A. Musick y M.R. Heithaus (Eds.) *Biology of sharks and their relatives*, CRC, Boca Raton, EE.UU.
- Mejía-Falla, P.A., A.F. Navia, L.M. Mejía-Ladino, A. Acero P. & E. Rubio.** 2007. Tiburones y rayas de Colombia (Pisces: Elasmobranchii): lista actualizada, revisada y comentada. *Bol. Invest. Mar. Cost.*, **36**: 111-149.
- Moreno, F., K. Acevedo, M. Grijalba-Bendeck, A. Acero P. & J. Páramo.** En prensa. Reproducción de la raya eléctrica *Narcine bancroftii* (Griffith & Smith) en Santa Marta, Caribe de Colombia. *Latin Am. J. Aquat. Res.*
- Natanson, L. & G. Cailliet.** 1986. Reproduction and development of the Pacific angel shark, *Squatina californica*, off Santa Barbara, California. *Copeia*, (4): 987-994.
- Nelson, J.S.** 2006. *Fishes of the world*. Cuarta Ed. Wiley, Hoboken, EE.UU., 601 p.
- Pratt, H.L.** 1988. Elasmobranch gonad structure: a description and survey. *Copeia*. (3): 719-729.
- Snelson, F., S. Williams-Hooper & T. Schmidt.** 1988. Reproduction of the Atlantic stingray, *Dasyatis sabina*, in Florida coastal lagoons. *Copeia*. (3): 729-739.
- Téllez, L., C. Vargas & M. Grijalba-Bendeck.** 2006. Algunos aspectos biológicos de *Urotrygon venezuelae* Schultz, 1949 (Elasmobranchii, Rajiformes, Urolophidae), capturada en playa Salguero, Santa Marta, Caribe de Colombia. *Rev. U.D.C.A. Actual. Divulg. Cient.*, **9** (2): 75-87.
- Villavicencio, C.** 1995. Observaciones sobre la biología reproductiva de *Narcine brasiliensis* (Olfers) (Pisces: Narcinidae), en la bahía Almejas, B.C.S. México. *Rev. Inv. Cient.*, **4** (1): 95-99.
- Wenbin, Z & Q. Shuyuan.** 1993. Reproductive biology of the guitarfish, *Rhinobatos hynnicephalus*. *Env. Biol. Fish.*, **38**: 81-93.

Recibido: abril 5 de 2008

Aceptado para su publicación: noviembre 13 de 2008