



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE
HIDALGO**



**PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRÍA EN
CIENCIAS BIOLÓGICAS
FACULTAD DE BIOLOGÍA**

**EVALUACIÓN DE LA VARIACIÓN ESTACIONAL, EN LA FRECUENCIA
DE MATERNIDAD MÚLTIPLE DE *Stegastes acapulcoensis*
(POMACENTRIDAE).**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(ECOLOGÍA Y CONSERVACIÓN)**

P R E S E N T A

BIÓLOGA LILIANA ARELI ROBLEDO AVILA

DIRECTOR DE TESIS:

DOCTOR EN CIENCIAS OMAR CHASSIN NORIA

MORELIA, MICHOACÁN

AGOSTO 2015

AGRADECIMIENTOS

Este trabajo no hubiera sido posible sin la ayuda de muchas personas e instituciones que me apoyaron a lo largo de mis estudios de Maestría. Por lo que quiero plasmar mis más sinceros agradecimientos a todos ellos.

A mi asesor de tesis el Dr. Omar Chassin Noria por abrirme las puertas de su laboratorio y haberme impulsado a iniciar este proyecto, otorgándome su apoyo académico y su amistad incondicional.

A las instituciones que me apoyaron económicamente durante el proceso de mis estudios y en mi estancia académica en la Universidad de Texas A&M. Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT); al Programa Integral de Fortalecimiento Institucional (PIFI) junto con la Dra. Rebeca Rueda Jasso y a la Coordinación de la Investigación Científica (CIC) de la UMSNH por el apoyo a este proyecto.

Con gran respeto y agradecimiento para el Dr. Gil Rosenthal de la Universidad de Texas A&M, quien me brindó la oportunidad de conocer y trabajar en su laboratorio y me hizo parte de su gran equipo de trabajo. A todos mis compañeros y amigos de Texas gracias por su valiosa amistad y por su apoyo académico incondicional.

A mi comité revisor: Dr. Luis Mendoza, Dra. Carla Gutiérrez, Dr. Juan Manuel Ortega y al M. en C. Xavier Madrigal, por sus comentarios y sus consejos en cada uno de mis tutoriales, por enriquecer este proyecto en esta importante etapa de mi vida académica.

Con todo mi amor y respeto a mis padres, ESPERANZA y VÍCTOR que con su gran amor, paciencia, apoyo incondicional me han impulsado a seguir creciendo personal y profesionalmente. Gracias por apoyarme en cada aventura de esta hermosa carrera.

A mis hermanos Lucero, Frank y Hugo. Por su apoyo, su amor y sus consejos en todo momento de mi vida; son parte crucial de mi crecimiento personal y profesional. Los amo.

A mis sobrinos Romina y David, que han formado parte de este proceso, con sus risas, sus llantos y sus travesuras. Los amo peques. Con todo mi cariño a mis abuelitas Elvira (Q.E.P.D. †) y María. Mi infinito agradecimiento y amor.

A mis compañeros, amigos y colegas dentro y fuera del laboratorio por su constante apoyo y su grandiosa amistad: Cristina, Sebastián, Mayte, Verónica, Abraham, Xochil, Brisa, Denise, Mariana y Mayra.

EVALUACIÓN DE LA VARIACIÓN ESTACIONAL, EN LA FRECUENCIA DE MATERNIDAD MÚLTIPLE
DE *Stegastes acapulcoensis* (POMACENTRIDAE).

Robledo-Avila L. A.

CONTENIDO

| | |
|---|----|
| 1. RESUMEN GENERAL | 1 |
| 2. SUMMARY | 2 |
| 3. INTRODUCCIÓN GENERAL | 3 |
| 4. HIPÓTESIS: CAPITULO I Y II | 5 |
| 5. OBJETIVO GENERAL: CAPITULO I Y II | 6 |
| 6. OBJETIVOS PARTICULARES: CAPÍTULO I Y II | 6 |
| <hr/> | |
| CAPITULO I. VARIACIÓN TEMPORAL E HISTÓRICA DE VARIABLES AMBIENTALES EN LA LOCALIDAD DE LA MANZANILLERA, MICHOACÁN. | 7 |
| 7. RESUMEN | 7 |
| 8. ABSTRACT | 8 |
| 9. INTRODUCCIÓN | 9 |
| 10. MATERIALES Y MÉTODOS | 11 |
| 10.1 SITIO DE ESTUDIO | 11 |
| 10.2 VARIABLES AMBIENTALES TOMADAS EN CAMPO | 11 |
| 10.3 VARIABLES AMBIENTALES HISTÓRICAS | 12 |
| 11. RESULTADOS | 14 |
| 11.1 Módulo I. Análisis para el ciclo anual 2013 en la Manzanillera, Michoacán. | 14 |
| <i>11.1.1 Temperatura</i> | 14 |
| <i>11.1.2 Oxígeno disuelto</i> | 15 |
| <i>11.1.3 Salinidad</i> | 15 |
| <i>11.1.4 Turbidez</i> | 16 |
| 11.2 Módulo II. Análisis histórico de la Manzanillera, basado en imágenes satelitales de 2003 al 2013. | 16 |
| <i>11.2.1 Temperatura superficial del mar (TSM)</i> | 16 |
| <i>11.2.2 Productividad primaria (PP)</i> | 17 |
| 12. DISCUSIÓN | 20 |
| 13. CONCLUSIONES | 22 |

EVALUACIÓN DE LA VARIACIÓN ESTACIONAL, EN LA FRECUENCIA DE MATERNIDAD MÚLTIPLE
DE *Stegastes acapulcoensis* (POMACENTRIDAE).

Robledo-Avila L. A.

14. LITERATURA CITADA 23

**CAPITULO II. FRECUENCIA DE MATERNIDAD MÚLTIPLE DE *Stegastes acapulcoensis*
(POMACENTRIDAE) Y SU ASOCIACIÓN A VARIABLES AMBIENTALES Y ECOLÓGICAS EN LA
LOCALIDAD DE LA MANZANILLERA, MICHOACÁN.** 26

1. RESUMEN 26

2. ABSTRACT 27

3. INTRODUCCIÓN 28

3.1 SISTEMAS DE APAREAMIENTO 28

3.2 SISTEMAS DE APAREAMIENTO CON UN ENFOQUE CONDUCTUAL Y GENÉTICO 28

3.3 SISTEMAS DE APAREAMIENTO GENÉTICO (SAG) Y SU ASOCIACIÓN A VARIABLES
AMBIENTALES Y ECOLÓGICAS EN PECES 30

3.4 ESPECIE DE ESTUDIO 32

4. MATERIALES Y MÉTODOS 34

4.1 LOCALIDAD DE ESTUDIO 34

4.2 MATERIAL BIOLÓGICO 34

4.3 ANÁLISIS MOLECULAR 35

4.4 ANÁLISIS DE DATOS 36

5. RESULTADOS 38

5.1 MATERIAL BIOLÓGICO 38

5.2 ANÁLISIS GENÉTICO: POLIGINIA DE *S. acapulcoensis* 40

5.3 ÉXITO REPRODUCTIVO DE *S. acapulcoensis* 41

5.4 DENSIDAD POBLACIONAL 42

5.5 LONGITUD TOTAL DE *S. acapulcoensis* EN LA MANZANILLERA, MICH. 43

5.6 TERRITORIALIDAD DE *S. acapulcoensis* EN LA MANZANILLERA MICH. 43

5.7 ASOCIACIÓN DE VARIABLES AMBIENTALES Y ECOLÓGICAS CON LA FRECUENCIA DE
POLIGINIA DE *S. acapulcoensis* 44

6. DISCUSIÓN 46

6.1 ANÁLISIS GENÉTICO: POLIGINIA DE *S. acapulcoensis* 46

6.2 ÉXITO REPRODUCTIVO DE *S. acapulcoensis* 48

EVALUACIÓN DE LA VARIACIÓN ESTACIONAL, EN LA FRECUENCIA DE MATERNIDAD MÚLTIPLE
DE *Stegastes acapulcoensis* (POMACENTRIDAE).

Robledo-Avila L. A.

| | |
|--|----|
| 6.3 ASOCIACIÓN DE VARIABLES AMBIENTALES Y ECOLÓGICA CON LA FRECUENCIA DE POLIGINIA DE <i>S. acapulcoensis</i> | 49 |
| 7. CONCLUSIONES | 50 |
| 8. LITERATURA CITADA | 51 |
| 9. DISCUSIÓN GENERAL | 60 |
| 10. PERSPECTIVAS Y/O RECOMENDACIONES | 62 |

| | |
|--|----|
| ANEXO 1. PROBABILIDAD DE EXCLUSIÓN DE MATERNIDAD EN RELACIÓN AL NÚMERO DE <i>LOCI</i> | 65 |
| ANEXO 2. EXPERIMENTOS <i>in silico</i> | 68 |
| LITERATURA CITADA | 71 |
| ANEXO 3. GENOTIPOS DE HEMBRAS Y MACHOS | 72 |
| ANEXO 4. IDENTIFICACIÓN DE CUCKOLDRY | 75 |

1. RESUMEN GENERAL

Los peces arrecifales presentan gran variedad de sistemas de apareamiento; su conocimiento y las estrategias que los individuos emplean para la obtención de parejas es uno de los objetivos de la biología reproductiva. En el presente trabajo se analizó la frecuencia de poliginia usando tres *loci* de microsatélites, en el pez damisela *Stegastes acapulcoensis* y su asociación con variables ambientales (temperatura, productividad primaria, turbidez, oxígeno disuelto, salinidad) y ecológicas (densidad y longitud total de la población; tamaño y densidad del nido) de la localidad de la Manzanillera, Michoacán. Con registros del ciclo anual 2013 e históricos para los años 2003 al 2013 obtenidos de imágenes satelitales. Las variables ambientales se dividieron de dos maneras tomando en cuenta lo siguiente: 1) los periodos delimitados por la temperatura del sitio: periodo *cálido* y *templado* y por 2) corrientes oceánicas (corriente de California, corriente Norecuatorial y corriente del Golfo de California) reportadas para el Pacífico Oriental Tropical (POT); esto con el fin de identificar el patrón de comportamiento de dichas variables. Los periodos *cálido* y *templado* fueron los que tuvieron variación a lo largo del año y diferenciación para el sitio de estudio. En base a los periodos fue asociada la frecuencia de poliginia de *S. acapulcoensis*, la cual reportó 100% de poliginia a lo largo del año 2013 con un intervalo de tres a seis hembras por nido, sin diferencias significativas ($t(1) = 0.2655$ $p > 0.05$). Esta frecuencia de poliginia a lo largo del año se sugiere puede estar asociada a la productividad primaria, a la proporción sexual, y a la longitud total de los individuos; ya que la visibilidad, el número de hembras y la diferencia de tallas entre individuos pudo propiciar el que se relajara la selección sexual y por ende la distribución del éxito reproductivo de los machos en ambos periodos analizados. Este es el primer reporte de la variación temporal e histórica de variables ambientales y ecológicas para la Manzanillera, Mich., asociado a la frecuencia de poliginia de *S. acapulcoensis*.

Palabras clave: Sistemas de apareamiento genético, *Stegastes acapulcoensis*, frecuencia de poliginia, variables ambientales y ecológicas, Pacífico oriental tropical.

2. SUMMARY

The reef fish have a variety of mating systems; the knowledge and strategies that individuals employ to obtain couples is one of the reproductive biology objectives. In this study we analyzed the polygyny frequency with three microsatellites for *Stegastes acapulcoensis*, and its association with environmental and ecological variables (temperature, primary productivity, turbidity, oxygen dissolved, salt, nest size and density, population size) in the Manzanillera, Mich. Environmental variables records from the annual cycle 2013 and historical data from the satellite images between 2003 to 2013 it were analyzed with two ways: 1) for periods defined by the temperature of the site (warm and temperate) and by 2) ocean streams (California stream, North Equatorial stream and Gulf California stream) reported for the Eastern Tropical Pacific. The period warm and temperate reflected the variation and differentiation for the study site. From this scenario it was associated the polygyny frequency of *S. acapulcoensis*, which showed the 100% of polygyny throughout 2013 with a range from three to six females per nest, with no significant difference ($t(1) = 0.2655$ $p > 0.05$). This polygyny frequency through the year suggest that could be associated to the primary production, sex ratio and the population size; because the visibility, and the size difference between individuals, could be the reason to the sexual selection loose and the reproductive success distribution in both periods analyzed. This is the first report of the temporal and historical variation for environmental and ecological variables in the Manzanillera, Mich., associated with the polygyny frequency of *S. acapulcoensis*.

Key words: Genetic mating systems, *Stegastes acapulcoensis*, polygyny frequency, environmental and ecological variables, Eastern Tropical Pacific.

3. INTRODUCCIÓN GENERAL

Los sistemas de apareamiento (SA) permiten evaluar la manera en cómo los individuos obtienen parejas, el número de parejas que adquieren y los roles que juegan dentro de la pareja (Emlen y Oring 1977). Se han descrito tres tipos de apareamiento de acuerdo al número de parejas con las que se aparean un individuo en una temporada reproductiva: la monogamia, la poligamia y la promiscuidad. En la monogamia los apareamientos solo se dan entre una hembra y un macho; la poligamia tiene dos variantes, la poliandria, que se da cuando una hembra se aparean con más de un macho y la poliginia en la que un macho se aparean con más de una hembra; en la promiscuidad los apareamientos se dan aleatoriamente entre hembras y machos (Krebs y Davis 1993).

Estudios conductuales basados en observaciones directas han permitido comprender la manera en la que los individuos involucrados en un apareamiento obtienen parejas y las estrategias que emplean para garantizar cópulas y así maximizar el éxito reproductivo de los donadores de gametos (Petersen 1995, Asoh 2003, Clutton-Brock e Isvaran 2007). Este tipo de estudios han permitido hacer inferencias sobre los SA que a su vez han ayudado a explicar el comportamiento de organismos con patrones de comportamiento e historias de vida similares. Sin embargo, por la variación en los SA se pueden subestimar o sobreestimar el número de individuos involucrados en la generación de una progenie (Emlen y Origin 1977), por lo que las herramientas moleculares en las últimas décadas han permitido tener una mayor certidumbre del número de individuos que contribuyen en la generación de una progenie (Sistemas de Apareamiento Genético; SAG) corroborando o excluyendo la participación de individuos extra pareja en las progenes (Hughes 1996).

Los diferentes componentes de la reproducción de los organismos incluyendo la temporada reproductiva, proporción sexual y estrategias empleadas para atraer pareja se ven influenciados por la distribución espacial y temporal de factores bióticos (e.g. hembras receptivas, disponibilidad de alimento, competencia, productividad primaria) y abióticos (e.g. temperatura, turbidez, salinidad, concentración de oxígeno disuelto, disponibilidad del sustrato). Estos factores pueden influir directa e indirectamente con el potencial para monopolizar una o varias parejas (Järvenpää y Lindström 2004, Mobley y Jones 2009, Wilson 2009, Rios-Cardenas y Morris 2011, Andrew *et al.* 2013).

En la mayoría de los peces arrecifales y en especies de peces con fertilización externa, el cuidado parental es brindado solo por el macho, quien se encarga de custodiar los huevos del nido hasta su eclosión (Allen y Robertson 1998). Tal es el caso del pez damisela *Stegastes acapulcoensis* (Fowler 1944) que es una especie conspicua que habita en zonas someras de corales rocosos (Allen y Robertson 1998). Los machos de esta especie se encargan de limpiar el sitio de anidación, cortejan a las hembras para incitarlas al desove y cuidan de la progenie hasta su eclosión; además de que son territoriales (Allen y Robertson 1998), presentan una reproducción asincrónica a lo largo del año (Valencia-Méndez 2014). Esto aunado a otras características de la especie, incluyendo: agresividad, cambio de coloración con la edad, hábitat restringido, carencia de migraciones y abundancia (Acero 1978, Allen y Robertson 1998), lo hacen un excelente modelo de investigación para evaluar el SAG.

En el presente trabajo se analizó el sistema de apareamiento genético de *S. acapulcoensis* y su asociación a variables ambientales y ecológicas para el ciclo anual 2013 en la localidad de la Manzanillera, Mich. En el Capítulo I se reportan los primeros registros y la tendencia de las variables ambientales tomadas en cuenta para la localidad de estudio dispuestos en dos maneras: por periodos, con relación a la temperatura del ciclo anual 2013 y por corrientes oceánicas, presentes en el POT. Se analizaron las variables tomadas directamente en el sitio de estudio incluyendo temperatura, salinidad, turbidez y concentración de oxígeno disuelto en el 2013 y los registros de temperatura y productividad primaria históricas (2003 al 2013) obtenidas a partir de imágenes satelitales para el sitio de estudio. En el Capítulo II se reporta la frecuencia de poliginia de *S. acapulcoensis* a lo largo del año 2013 y su asociación con las variables ambientales analizadas en el Capítulo I, así como con variables ecológicas del sitio de estudio (densidad y tamaño de la población; tamaño y densidad de los nidos, así como la presencia y/o ausencia de territorios ocupados).

4. HIPÓTESIS

Capítulo I

Sí las variables ambientales tomadas en campo para el 2013 en la Manzanillera, Mich., tienen la misma tendencia que las variables históricas de la localidad, entonces se observará un comportamiento similar entre ambos grupos de datos.

Las variables ambientales agrupadas por periodos (*cálido* y *templado*) se comportan de igual manera a las variables agrupadas en los meses donde están presentes las corrientes oceánicas.

Capítulo II

Si el sistema de apareamiento genético de *S. acapulcoensis* es una característica influenciada por la variación estacional en las condiciones ambientales y de densidad poblacional, entonces se observará una relación entre estas variables a lo largo de un ciclo anual.

Si el éxito reproductivo de *S. acapulcoensis* está relacionado con la temperatura y la proporción sexual, entonces se observará una relación positiva entre la temperatura y el número de huevos, así como una relación negativa entre la temperatura y la frecuencia de poliginia.

5. OBJETIVO GENERAL

Capítulo I

Determinar la variación estacional de variables ambientales de la localidad de la Manzanillera, Mich., durante el ciclo anual 2013 y durante el periodo histórico comprendido entre 2003 y 2013.

Capítulo II

Determinar la variación estacional del sistema de apareamiento genético de *S. acapulcoensis* y su asociación con la variación ambiental temporal (2013) e histórica (2003-2013) en la Manzanillera, Mich.

6. OBJETIVOS PARTICULARES

Capítulo I

- Establecer la variación en las condiciones ambientales de la localidad de estudio con relación a las corrientes oceánicas del POT.
- Establecer la variación en las condiciones ambientales de la localidad de estudio en los periodos *cálido* y *templado*.
- Determinar el escenario que explique mejor el comportamiento de las variables ambientales en la localidad de estudio para relacionarlo al comportamiento reproductivo de *S. acapulcoensis*.

Capítulo II

- Determinar si existe variación temporal en el sistema de apareamiento genético de *S. acapulcoensis* en la Manzanillera, Mich.
- Establecer el patrón de variación temporal del sistema de apareamiento genético para *S. acapulcoensis*.
- Determinar si existe un factor o factores de la variación temporal que afectan el sistema de apareamiento genético de *S. acapulcoensis*, así como su relación entre estos.
- Determinar la presencia y/o ausencia de territorios ocupados a lo largo del ciclo 2013.

CAPITULO I. VARIACIÓN TEMPORAL E HISTÓRICA DE VARIABLES AMBIENTALES EN LA LOCALIDAD DE LA MANZANILLERA, MICHOACÁN.

7. RESUMEN

El conocimiento de la variación ambiental de un sitio en particular permite realizar inferencias y discriminar patrones de comportamiento de las variables ambientales de interés, las cuales pueden estar asociadas a la conducta de los organismos que habitan en el mismo. Para la obtención de datos puntuales de cada localidad o localidades a estudiar, la recolección de datos presenciales en campo es lo ideal, sin embargo actualmente una herramienta muy útil que ha permitido recolectar datos de variables ambientales de los sitios de estudio a través del tiempo son las imágenes satelitales, las cuales se encuentran en portales en línea con acceso público dispuestas para su descarga electrónica. El objetivo de este capítulo fue determinar la variación ambiental para el ciclo anual 2013 e histórica de 2003 al 2013 de variables ambientales en la localidad de la Manzanillera, Mich. Los periodos delimitados por la fluctuación de la temperatura en el sitio de estudio, permitió identificar el patrón de comportamiento de las variables ambientales analizadas, conformados por el periodo *cálido* (junio-noviembre) y el *templado* (diciembre-mayo). En el primero se detectaron temperaturas cálidas, alta concentración de oxígeno disuelto y una disminución en la productividad primaria, en contraste se observó el comportamiento opuesto de las variables analizadas en el segundo periodo. Este estudio reporta por primera vez los registros de variables ambientales en esta localidad de la costa michoacana, lo cual permitirá en un futuro ser utilizadas para su asociación con el comportamiento de las especies marinas que la habitan.

8. ABSTRACT

The knowledge of environmental variation of a particular site can make inferences and suggest behavior patterns of environmental variables of interest, which can be associated with the behavior of organisms that live in it. To obtain specific data for each locality or localities to study the collection in-field data is ideal, however currently a very useful tool that has allowed to get the data of environmental variables of the study sites throughout time are satellite images, which are found online with access to public ready for electronic download. The aim of this chapter it was to determine the variation throughout the year 2013 and historical (2003 to 2013) for environmental variables in the Manzanillera, Mich. The periods delimited by the temperature range in 2013, allowed identified the behavior pattern of environmental variables analyzed in this study, defined for the period: *hot* period (june to november) and *temperate* period (december to may). In the first period it was warm temperatures, high dissolved oxygen concentration and a decrease in productivity primary; the *temperate* period shows the contrast in the behavior of the variables analyzed. This study reported the first records of environmental variables in this place of the coast of Michoacán, which will allow in the future its use for the association of the behavior for marine species that inhabit in this place.

9. INTRODUCCIÓN

Las imágenes satelitales son una valiosa herramienta que nos permite evaluar, inferir e identificar patrones temporales y espaciales en sitios de interés para el estudio y el comportamiento de corrientes oceánicas, antes, durante y después de la actividad de fenómenos climatológicos (Pérez-Santos *et al.* 2014, Escalante-Almazán 2013), la interacción de variables ambientales (Vilchis *et al.* 2009), así como de las modificaciones y/o estrategias relacionadas con cambios a gran escala a través del tiempo (Escalante-Almazán 2013, Zaitsev 2014). Dentro de los portales en línea con acceso público para la descarga de imágenes satelitales encontramos a la Administración Nacional Oceánica y Atmosférica conocida como NOAA (National Oceanic and Atmospheric Administration; por sus siglas en inglés), así como en la Administración Nacional de la Aeronáutica y el Espacio mejor conocida como NASA (por sus siglas en inglés: National Aeronautics and Space Administration); los datos capturados por los satélites ambientales, climáticos y atmosféricos se encuentran desglosados en archivos diarios, semanales, mensuales y anuales, por lo que es posible descargar la información para su análisis. Dentro de la administración de la NASA se encuentra el grupo de Procesamiento de la Biología del Océano conocido como OBPG (por sus siglas en inglés: Ocean Biology Processing Group) el cual desde 1996 realiza detección remota a través de satélites almacenando los datos obtenidos en la página *Ocean Color*, medio por el cual se obtiene con facilidad la descarga de datos procesados de mapas claros y completos del globo terráqueo, lo cual permite manipularlos en programas diseñados para tal objetivo. De esta manera es posible obtener datos de algún punto específico en el globo terráqueo el cual se realiza mediante la superposición de las coordenadas geográficas del sitio de interés.

Por lo anterior, se puede considerar a las imágenes satelitales como una herramienta complementaria que permite hacer inferencias sobre el comportamiento de la interacción de variables ambientales y el objeto de estudio de interés. Dos variables ya implementadas en este tipo de estudios, son la temperatura superficial del mar (TSM) y la concentración de clorofila- α (Chl), como un estimador de la productividad primaria (PP); estas variables han aportado información estacional sobre la relación que guardan en relación a la morfología de peces marinos tomando en cuenta registros temporales y espaciales del sitio de estudio (Piñeros *et al.* 2015). De igual manera, el registro y procesamiento de variables ambientales tomadas en campo permiten comprender de manera particular el comportamiento de los datos

en el momento del muestreo, de esta forma se han realizado diversos estudios con enfoque en el comportamiento reproductivo de peces marinos y su relación con la temperatura (*Syngnathus sp.* Mobley y Jones 2009), la turbidez (estimador de PP) (*Pomatoschistus sp.* Järvenpää y Lindström 2004) y la concentración de oxígeno disuelto (*Valenciennea sp.* Takeshi y Nakazono 1999). En dichos estudios el éxito reproductivo de los machos se ha reportado con una relación negativa con respecto a la temperatura y una relación positiva con la turbidez y el oxígeno disuelto.

En la actualidad en el POM existen 43 regiones marinas prioritarias registradas por la Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO), de las cuales solo dos regiones incluyen parte de la costa de Michoacán (Maruata-Colola al norte y Mexiquillo-Delta del balsas al sur) (Arriaga *et al.* 1998). Entre estas dos regiones existe un espacio considerablemente amplio, dejando gran parte del territorio michoacano desprotegido, debido a la falta de estudios que permitan dar sustento de la importancia que guarda la costa michoacana en toda su extensión. Una de las localidades próximas a la región Maruata-Colola es el sitio de estudio del presente trabajo, la Manzanillera, la cual se sabe por estudios generales de la región que se trata de un área de alta diversidad de organismos, incluyendo especies conspicuas y abundantes de la familia Pomacentridae como el pez damisela *S. acapulcoensis* (Fowler 1944). Dicha especie se distribuye a lo largo de la costa del Pacífico oriental tropical (POT) y se asocia a corales rocosos habitando entre los 2 y 16 m de profundidad (Allen y Robertson 1998, Fishbase 2013). El estudio del hábitat de este tipo de especies y su asociación a variables ambientales temporales e históricas nos puede permitir inferir patrones de comportamiento conductuales y reproductivos relacionados con su éxito reproductivo durante la temporada reproductiva.

10. MATERIALES Y MÉTODOS

10.1 Sitio de estudio

El área de estudio se encuentra localizada en el POM entre los 18° 21' 19.50'' N y 103° 30' 48.68'' O (Figura 1), presentando un clima cálido húmedo-subhúmedo con lluvias predominantes y una temperatura media anual mayor a 26°C (Arriaga *et al.* 1998).

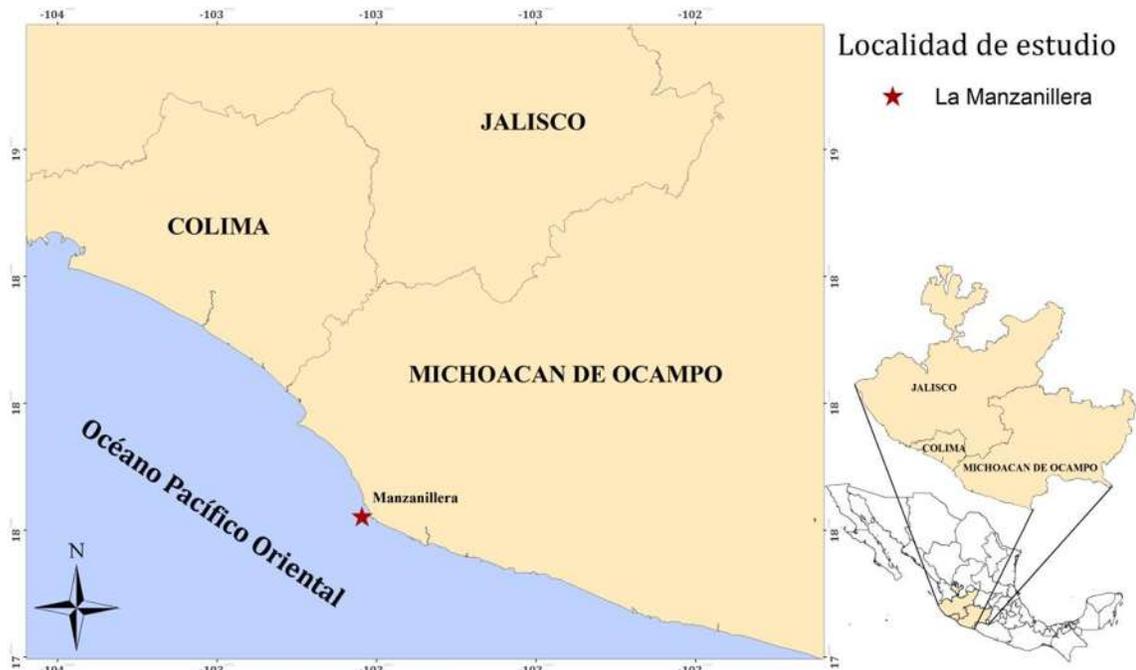


Figura 1. Ubicación espacial de la localidad de estudio en el territorio mexicano.

10.2 Variables ambientales tomadas en campo

En el sitio de estudio se realizaron cuatro muestreos representativos del ciclo anual 2013 (febrero, mayo, septiembre y noviembre), donde mediante inmersiones con SCUBA se tomaron los registros de turbidez, temperatura (T°), oxígeno disuelto (OD) y salinidad. La toma de registros se llevó a cabo como se describe a continuación: (1) turbidez: antes de cada inmersión y sobre la superficie se lanzó un disco de “Sechi”; (2) temperatura (T°): se registró con la computadora de buceo marca “Suunto Vyper” a una profundidad promedio de 7.5 m; (3) concentración de oxígeno disuelto (OD) y salinidad: se tomaron muestras de agua marina con ayuda en un frasco de vidrio DBO de 100 ml y en una botella de PET de 250 ml desde un punto de observación de uno de los vecindarios de *S. acapulcoensis*. La salinidad se midió con

un refractómetro (ppm) y el OD (mg/L) mediante el Método de Winkler modificado a la Azida de Sodio (APHA–AWWA-WPCF 1992).

10.3 Variables ambientales históricas

Las imágenes satelitales de temperatura superficial del mar (TSM) y de productividad primaria (PP) se obtuvieron a partir del sensor Moderate Resolution Imaging Spectroradiometer (MODIS) a través del satélite Aqua del *Ocean Color*, NOAA/NASA (<http://oceancolor.gsfc.nasa.gov/cms/homepage>) y por el sensor Vertically Generalized Production Model (VGPM) (Behrenfeld y Falkowski 1997) como el algoritmo estándar para la PP. Este sensor proporciona datos espaciales diarios, mensuales y anuales de TSM (C°) y de PP (mgC/m²/día). Los datos de estas variables derivaron de imágenes satelitales mensuales claras y completas en formato HDF Estándar Mapped Image File, a una resolución de 4 km²; para este estudio se consideraron las imágenes a partir del año 2003 hasta el 2013 (Figura 2A).

Las imágenes se encontraban en formato ASCII por lo que fueron importadas al software IDRISI ver.17 para su procesamiento. Se realizó un ajuste para los datos de TSM con una ecuación lineal para obtener el valor real de temperatura en grados centígrados ($T^{\circ} = m \cdot \text{dato-imagen} + (-2)$); en el caso de la PP no fue necesario realizar este procedimiento. Posteriormente las imágenes fueron exportadas en formato ASCII Raster para ser procesadas en el programa ArcGis ver.9.3 en el cual se superpusieron las diferentes capas de los datos mensuales de cada variable con un vector que contenía la localidad de estudio, esto para poder obtener el dato puntual de cada mes en el sitio de estudio ubicando las coordenadas de la Manzanillera (Figura 2B).

Con el fin de identificar los cambios de las variables ambientales durante diferentes periodos de tiempo (1 año y 10 años) en el sitio de estudio y para determinar a qué posible escenario están más relacionados los datos de las variables tomadas en el campo y a lo largo de 10 años, fueron analizados y agrupados de dos formas:

1) En relación al análisis de fluctuación de la temperatura en la localidad de estudio durante el año 2013, resultando dos periodos: el *cálido* (junio-noviembre; $T^{\circ} = 29.0^{\circ}\text{C}$) y el *templado* (diciembre-mayo; $T^{\circ} = 24.6 \pm 1.04$) (Silva-Segundo *et al.* 2008).

2) En relación de la presencia de las corrientes oceánicas reportadas para el Pacífico oriental tropical (POT): la corriente de California (febrero-mayo), la corriente Norecuatorial

(junio-septiembre) y la corriente del Golfo de California (octubre-enero) (Wirtky 1966 en Ríos-Jara 2013).

Los análisis estadísticos utilizados para cada escenario fueron “t de Student” con corrección de Welch y análisis de varianza “ANOVA” a una vía respectivamente, seguida de pruebas de Tukey-Kramer (corrientes oceánicas), así como pruebas de varianza con Kruskal Wallis para los datos tomados en campo (2013), todo ello analizado en el Software GraphPad Prism5 (Inc. 2007) y el Software JMP 6 (SAS Institute 2005).

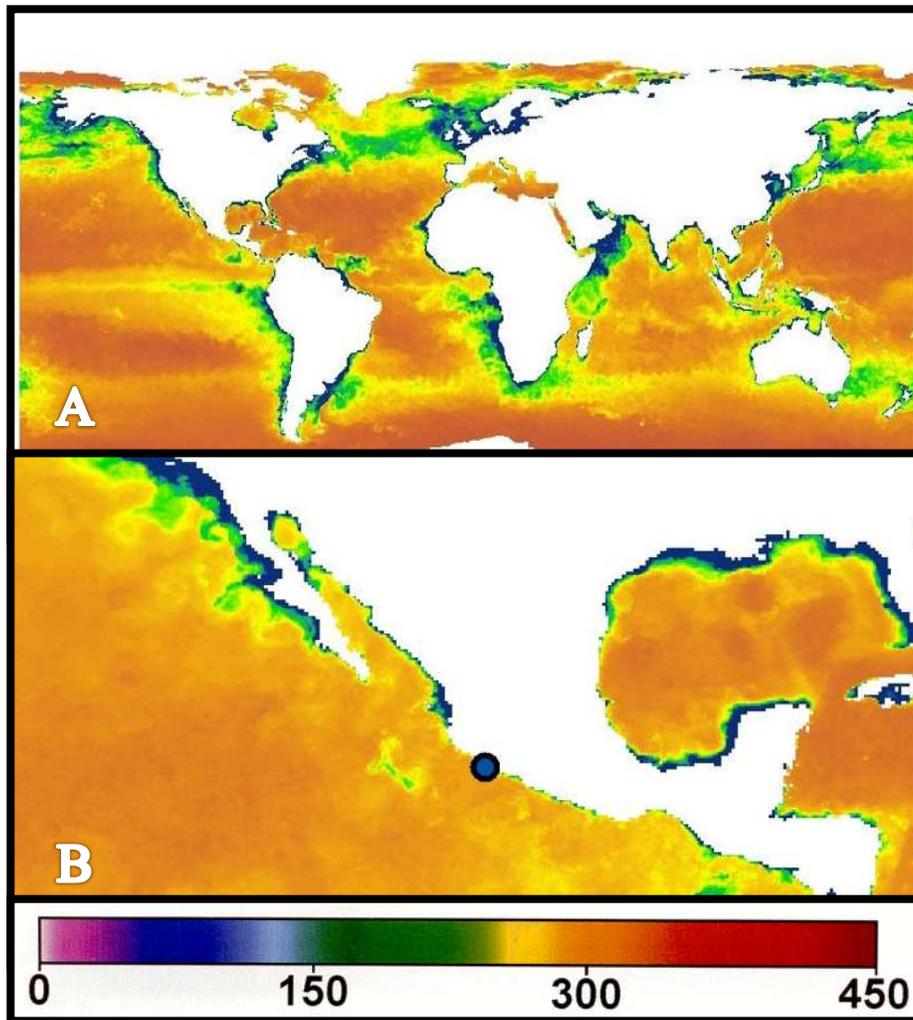


Figura 2. A) Imágenes satelitales de concentración de PP ($\text{mgC}/\text{m}^2/\text{día}$). B) Acercamiento al territorio mexicano, el punto azul corresponde al sitio de estudio. El color rojo representa la concentración más alta de PP registrada (Behrenfeld y Falkowski 1997).

11. RESULTADOS

Los resultados presentados a continuación se desglosan por módulos con respecto al análisis temporal e histórico de la localidad de estudio y en relación a la agrupación de datos dispuestos para su análisis descrito en la metodología anterior.

11.1 Módulo I. Análisis para el ciclo anual 2013 en la Manzanillera, Mich.

11.1.1 Temperatura (T°)

La variación de la T° para la Manzanillera registrada en campo permitió discernir dos periodos comparativos para la localidad de estudio, el *cálido* con un promedio de temperatura de 29.0°C y el *templado* con temperaturas más bajas, con un intervalo de $23.0\text{-}26.0^{\circ}\text{C}$ y un promedio de 24.6 ± 1.04 con diferencias significativas entre los meses involucrados en cada periodo ($p < 0.05$). Por otro lado, en el escenario de las corrientes oceánicas, la temperatura promedio más baja registrada corresponde a la corriente de California ($27.5\pm 0.71^{\circ}\text{C}$), donde no se observan diferencias significativas con la corriente Norecuatorial y la corriente del Golfo de California ($p > 0.05$; Figura 3).

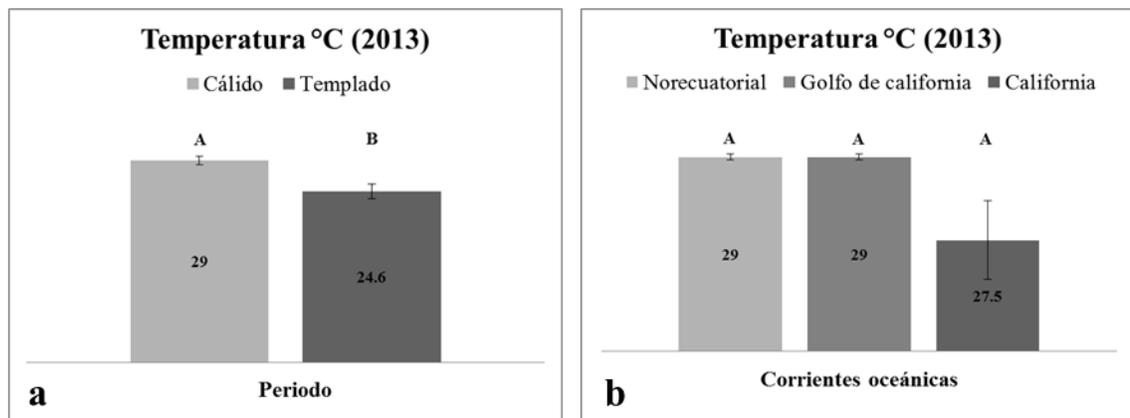


Figura 3. Temperaturas de la localidad de estudio durante el ciclo anual 2013. **a)** Promedios de T° agrupados en los periodos contrastantes del año con diferencias significativas ($t(1) = 14.26$, $p < 0.05$). **b)** Comparación de promedios de T° entre las corrientes oceánicas sin diferencias significativas ($F_{2,4} = 9.0$, $p > 0.05$). Cada letra representa a grupos iguales o diferentes dependiendo del caso (A, B).

11.1.2 Oxígeno disuelto

En relación a los datos obtenidos de OD se encontraron diferencias significativas tanto entre periodos, como entre corrientes oceánicas, donde el promedio más bajo registrado fue $5.8 \pm 0.73 \text{ mg/L}$ (Figura 4 c y d). EL OD más bajo se registró para el periodo *templado* y para la corriente de California, coincidiendo con los resultados de la temperatura. El promedio de la concentración de OD más alta ($7.6 \pm 0.37 \text{ mg/L}$) registrada fue para la corriente Norecuatorial y no difiere del OD registrado para la corriente del Golfo de California (Figura 4d).

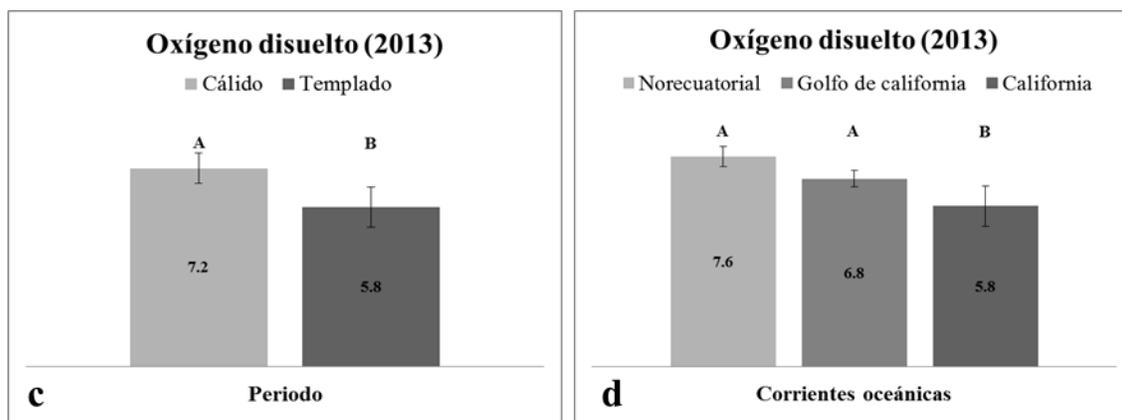


Figura 4. En las concentraciones de oxígeno disuelto registradas en 2013 y analizadas tanto entre periodos **c**) ($t(1) = 3.78$, $p < .05$) como entre corrientes oceánicas **d**) ($F_{2,2} = 9.711$, $p < .05$) se encontraron diferencias significativas A, B.

11.1.3 Salinidad

Se obtuvo un intervalo de salinidad entre 31-32 ppm, con los meses del periodo *templado* registrando la salinidad más alta (31.5 ppm) y la corriente de California (32 ppm), para el ciclo anual 2013. Estos datos solo son informativos, ya que solo se obtuvo un registro por mes muestreado y no fue posible un análisis estadístico.

11.1.4 Turbidez

La turbidez promedio del sitio de estudio durante el periodo *cálido* (septiembre y noviembre) fue de 5.6 m de visibilidad. El resto de los datos anteriores a estos meses se perdieron por cuestiones ajenas al estudio.

11.2 Módulo II. Análisis histórico de la Manzanillera, basado en imágenes satelitales de 2003 al 2013.

11.2.1 Temperatura superficial del mar (TSM)

La TSM promedio más baja registrada para la localidad de estudio obtenida a partir de los datos históricos de 2003 a 2013 fue de $27.1 \pm 0.34^\circ\text{C}$ para los meses que contempla el periodo *templado* y $26.6 \pm 0.66^\circ\text{C}$ para los meses durante los que ocurre la corriente de California, observándose diferencias significativas entre periodos ($t(1) = 6.12, p < 0.05$) y entre corrientes oceánicas ($F_{2,3} = 22.93, p < 0.05$). La mayor temperatura se registró en los meses en que se presenta la corriente Norecuatorial ($30.2 \pm 0.69^\circ\text{C}$; Figura 5)

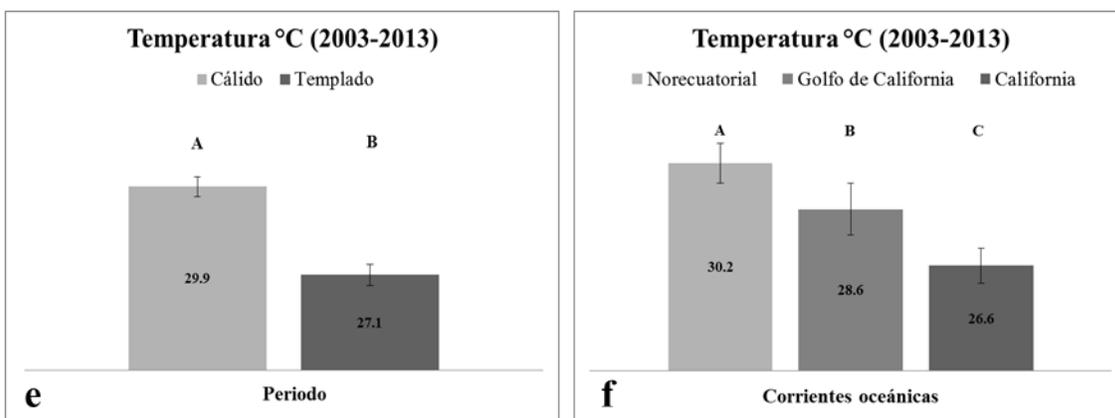


Figura 5. Temperaturas históricas del sitio de estudio (2003-2013). **e)** Diferencias significativas entre el periodo *cálido* y el *templado* ($t(1) = 6.12, p < 0.05$); **f)** Registros mensuales históricos dispuestos por las corrientes oceánicas con diferencias significativas ($F_{2,3} = 22.93, p < 0.05$) entre grupos (A, B, C).

11.2.2 Productividad primaria (PP)

Con respecto a los registros históricos de PP extraídos de las imágenes satelitales para la Manzanillera (2003-2013), se observaron diferencias significativas tanto entre periodos como entre corrientes oceánicas durante los once años analizados. La PP histórica más baja registrada para el sitio de estudio se registró en los meses más cálidos (875.5 ± 118.2 mgC/m²/día; Figura 6g) y en presencia de la corriente Norecuatorial (724.3 ± 143.4 mgC/m²/día; Figura 6h). Por el contrario, el promedio histórico más alto registrado fue para los meses templados (2489 ± 455.3 mgC/m²/día; Figura 6g) y cuando ocurre la corriente de California (3168 ± 464.7 mgC/m²/día; Figura 6h).

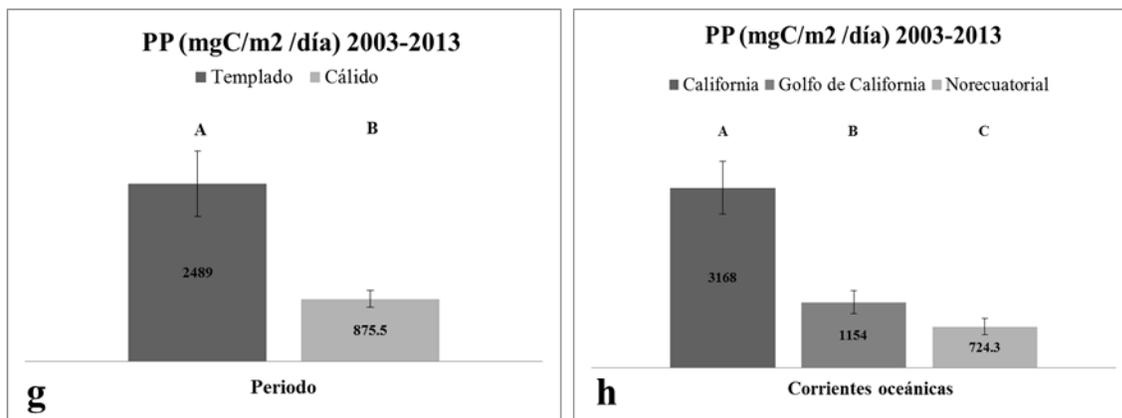


Figura 6. Productividad primaria de registros satelitales de once años para la Manzanillera. En ambos escenarios se reportan diferencias significativas formando grupos diferentes entre ellos; **g**) entre periodos ($t(1) = 3.43, p < 0.05$) y **h**) entre corrientes oceánicas ($F_{2,3} = 73.73, p < 0.05$).

La tendencia de las variables ambientales tomadas en campo (temperatura y turbidez) y las históricas (TSM y PP) en el sitio de estudio presentaron una fluctuación a lo largo del ciclo anual 2013 con un patrón similar a la tendencia de los registros históricos para el sitio de estudio. Esto sugiere que los datos obtenidos en campo y los registros históricos son un buen predictor del comportamiento de estas variables (Figura 7 y 8).

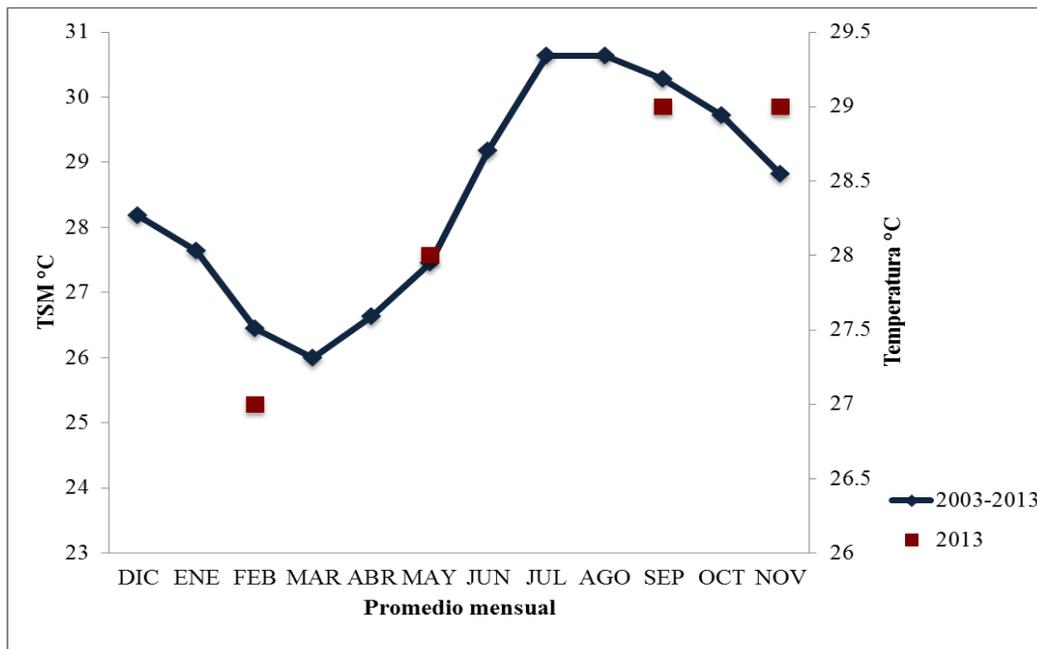


Figura 7. Fluctuación del promedio mensual de la TSM del 2003-2013 (línea azul) y temperatura registrada para el 2013 (cuadros rojos) en la Manzanillera, Michoacán con un comportamiento similar a lo largo del tiempo.

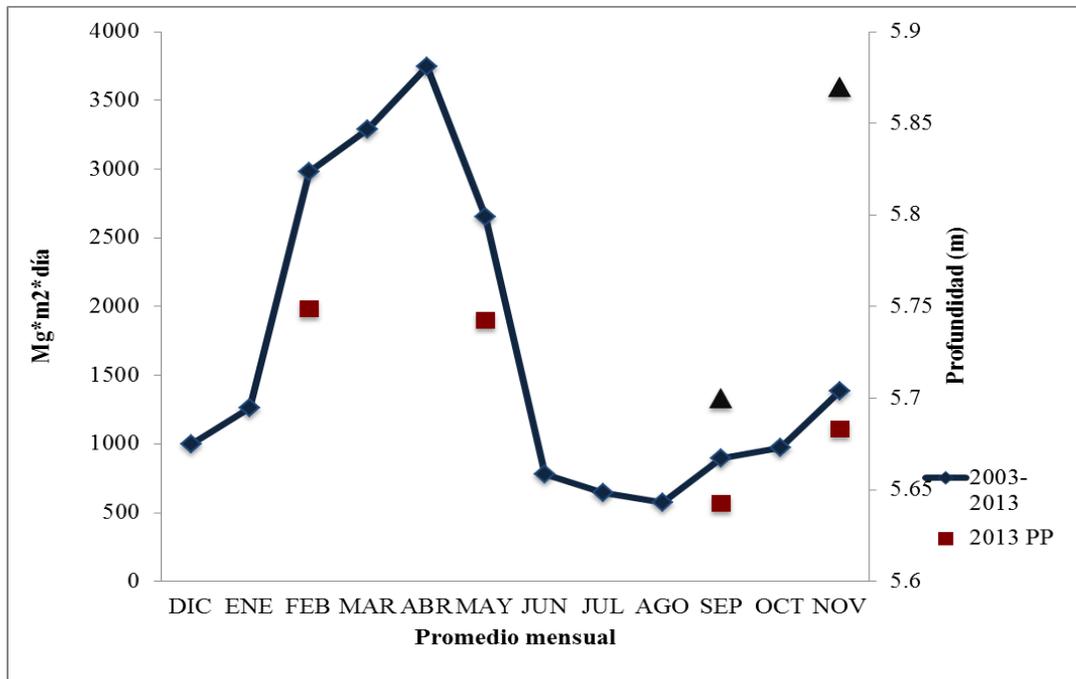


Figura 8. Tendencia del promedio mensual de la PP del 2003-2013 (línea azul), PP mensual para el 2013 (cuadros rojos) y turbidez registrada en campo (triángulos negros) para la Manzanillera, Mich., con una tendencia similar a lo largo del tiempo.

12. DISCUSIÓN

Los registros de las variables ambientales consideradas para este estudio fueron analizadas de dos maneras: por periodos del año (*cálido* y *templado* [Silva-Segundo *et al.* 2008]) y en relación a las corrientes oceánicas reportadas para el POT (Wirtky 1966 en Ríos-Jara 2013). El primer escenario se vincula a la tendencia y variabilidad de la temperatura en el ciclo anual 2013 para la Manzanillera, Mich., de tal manera que en los meses del periodo *templado* (diciembre-mayo) se reportan con temperaturas frías (promedio = 24.6°C), disminución del oxígeno disuelto (promedio = 5.8 mg/L), una alta productividad primaria (promedio = 2489 mgC/m²/día) y con esto último poca visibilidad. Mientras que en los meses del periodo *cálido* (junio-noviembre) se observó un contraste caracterizado por su tendencia a altas temperaturas (promedio = 29°C), un incremento del oxígeno disuelto (promedio = 7.2 mg/L), una baja productividad primaria (promedio = 875.5 mgC/m²/día) y una mejor visibilidad.

Por otro lado, considerando la influencia que tienen las corrientes presentes en el POT: 1) la corriente Norecuatorial con aguas cálidas del sur (junio a septiembre), 2) la corriente del golfo de California (octubre-enero) y 3) la corriente de California (febrero- mayo); estas dos últimas provenientes del norte transportando aguas más frías (Wirtky 1966 en Ríos-Jara 2013). En este escenario y de acuerdo con nuestros registros de campo para el 2013 e históricos (2003-2013), se reporta a la corriente de California como la más fría (promedio = 26.64°C) con un incremento en la PP (promedio = 3168mgC/m²/día) y que a diferencia de la corriente Norecuatorial y la del golfo de California estas fluyen con aguas más cálidas, lo cual coincide con lo descrito por Wirtky en 1966 para las corrientes oceánicas del POT; así como la corriente de California que transporta aguas más frías viajando del norte y bajando por la costa michoacana entre los meses de febrero a mayo.

De acuerdo con lo anterior, el comportamiento de las variables ambientales descritas en el presente estudio para la Manzanillera Mich., muestran los dos grupos descritos en el primer escenario, con un periodo *cálido* en que se integra tanto la corriente Norecuatorial como la del Golfo de California y un periodo *templado* que incluye a la corriente de California con la misma tendencia entre variables ambientales. Lo que sugiere que este podría ser el escenario adecuado para implementar la asociación entre variables ambientales y el comportamiento

reproductivo de los peces damisela en la localidad de estudio, en particular para *S. acapulcoensis*, ya que es una especie abundante y poco estudiada del POT.

Las variables aquí analizadas podrían como ya se ha hecho en otras especies marinas (*Syngnathus sp.*, *Pomatoschistus sp.*, *Valenciennea sp.*; Mobley y Jones 2009, Järvenpää y Lindström 2004, Takeshi y Nakazono 1999), ayudarnos a entender el comportamiento reproductivo de peces marinos, aportado información temporal y espacial de las variables ambientales que influyen en esta fase crucial de los seres vivos.

13. CONCLUSIONES

En el presente estudio se reporta un patrón de comportamiento consistente entre las variables de temperatura (T°), productividad primaria (PP) y oxígeno disuelto (OD) para un ciclo anual (2013), así como para el registro histórico (2003-2013) entre los periodos *cálido* y *templado*. Por lo que se sugiere que el mejor escenario que describe la temporalidad de las variables ambientales tomadas en campo (T° y OD) e históricas (T° y PP) en la Manzanillera, Mich., está dado por los periodos *cálido* y *templado* los cuales fueron delimitados por la fluctuación de la temperatura en el año 2013 en la localidad de estudio.

Por lo anterior, es importante señalar que los registros del ciclo 2013 e históricos (2003-2013) de variables ambientales aquí reportados para la Manzanillera, Mich., son los primeros en describirse para este sitio de la costa michoacana; estos resultados podrán ser asociados al comportamiento reproductivo de los peces damisela en la localidad de estudio.

14. LITERATURA CITADA

- Allen G. R. y D. R. Robertson. 1998. **Peces del Pacífico oriental tropical**. Conabio, Agrupación Sierra Madre y Cemex, México. 327pp.
- Arriaga-Cabrera L., E. Vázquez-Domínguez, J. González-Cano, R. Jiménez-Rosenberg, E. Muñoz-López, V. Aguilar-Sierra. 1998. **Regiones marinas prioritarias de México**. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad. México.
- APHA–AWWA-WPCF. 1992. **Methods for the Examination of Water**. American Public Health Association (APHA), American Methods Water Works Association (AWWA), Water Pollution Control Federation (WPCF), USA.
- Behrenfeld, M. J. y P. G. Falkowski. 1997. **Photosynthetic rates derived from satellite-based chlorophyll concentration**. *Limnology and Oceanography* 42 (1): 1-20.
- Escalante-Almazán, F. I. 2013. **Temporal and spatial variation of sea surface temperature, chlorophyll a, and primary productivity in the Gulf of California**. *Ciencias Marinas* 39 (2): 203-215.
- Horne J. A. y C. R. Goldman. 1994. **Limnology**. 2ª. ed. McGraw-Hill. 576 pp.
- Järvenpää, M. y K. Lindström. 2004. **Water turbidity by algal blooms causes mating system breakdown in a shallow-water fish, the sand goby *Pomatoschistus minutus***. *The Royal Society* 271: 2361-2365.
- Mobley, K. B. y A. G. Jones. 2009. **Environmental, demographic, and genetic mating system variation among five geographically distinct dusky pipefish (*Syngnathus floridae*) populations**. *Molecular Ecology* 18: 213-221.

- Nava, H. y M. T. Ramírez-Herrera. 2012. **Land use changes and impact on coral communities along the central Pacific coast of Mexico.** *Environmental Earth Sciences* 65(4): 1095-1104.
- Piñeros, J. V., O. Ríos-Cardenas, C. Gutierrez-Rodríguez y L. Mendoza-Cuenca. 2015. **Morphological differentiation in the damselfish *Abudefduf saxatilis* along the Mexican Atlantic coast is associated with environmental factors and high connectivity.** *Evolutionary Biology* 42(2): 235-249.
- Pérez-Santos, I., S. Wolfgang, A. Valle-Levinson, J. Garcés-Vargas, I. Soto, R. Montoya-Sánchez, N. Melo González y F. Müller-Karger. 2014. **Chlorophyll-a patterns and mixing processes in the Yucatan Basin, Caribbean Sea.** *Ciencias Marinas* 40 (1): 11-31.
- Ríos-Jara E., C. M. Galván-Villa, F. A. Rodríguez-Zaragoza, E. López-Uriarte, D. Bastida-Izaguirre y F. A. Solís-Marín. 2013. **Los equinodermos (Echinodermata) de bahía Chamela, Jalisco, México.** *Revista Mexicana de Biodiversidad* 84: 263-279.
- Silva-Segundo, C. A., R. Funes-Rodríguez, M. E. Hernández-Rivas, E. Ríos-Jara, E. G. Robles-Jarero, y A. Hinojosa-Medina. 2008. **Asociaciones de larvas de peces en relación a cambios ambientales en las Bahías Chamela, Jalisco y Santiago-Manzanillo, Colima (2001-2002).** *Hidrobiológica* 18(1): 89-103.
- Takeshi, T. y A. Nakazono. 1999. **Responses of the egg-tending gobiid fish *Valenciennea longipinnis* to the fluctuation of dissolved oxygen in the burrow.** *Bulletin of Marine Science* 65: 815-823.
- Vilchis, I. L., L. T. Ballance y W. Watson. 2009. **Temporal variability of neustonic ichthyoplankton assemblages of the eastern Pacific warm pool: Can community structure be linked to climate variability?** *Deep Sea Research Part I: Oceanographic Research Papers* 56(1): 125-140.

Zaitsev, O. 2014. **Oceanographic conditions over the continental shelf off Magdalena Bay (Mexico) in 2011–2012.** *Ciencias Marinas* 40(2): 89-112.

CAPITULO II. FRECUENCIA DE MATERNIDAD MÚLTIPLE DE *Stegastes acapulcoensis* (POMACENTRIDAE) Y SU ASOCIACIÓN A VARIABLES AMBIENTALES Y ECOLÓGICAS EN LA LOCALIDAD DE LA MANZANILLERA, MICHOACÁN.

1. RESUMEN

Los sistemas de apareamiento en peces pueden variar en espacio y tiempo; estudios previos sugieren que esta variación puede estar asociada a cambios en las condiciones ambientales así como a factores ecológicos, demográficos y morfológicos. *S. acapulcoensis* es una especie perteneciente a la familia Pomacentridae, que se distribuye a lo largo del POT desde Baja California hasta Perú. *S. acapulcoensis* es una especie territorial, sin dimorfismo sexual aparente y con fecundación externa. El macho se encarga de cortejar a la hembra, limpiar el lugar del nido y custodiar a los huevos demersales hasta su eclosión (dos a siete días). En este Capítulo se determinó la variación temporal del sistema de apareamiento genético y su asociación con la variación de condiciones ambientales temporales e históricas para *Stegastes acapulcoensis* en la localidad de la Manzanillera, Mich. Se realizaron cuatro muestreos a lo largo del ciclo anual 2013 obteniendo un total de 16 progenies y 13 machos custodios. El genotipo de los machos y 735 larvas se obtuvieron utilizando cuatro microsatélites nucleares, *SpGATA40*, *SpGATA16*, *SpTG53*, *SpAAT39*. Se encontró que *S. acapulcoensis* tiene un sistema de apareamiento poligínico durante todo el año con tres a seis hembras involucradas por nido sin variación anual entre los periodos analizados. Se sugiere que el éxito reproductivo de esta especie puede ser asociado con la turbidez (productividad primaria) y la proporción sexual; puesto que en base a la evidencia encontrada, estas variables pueden modificar el sistema de apareamiento genético de *S. acapulcoensis*.

2. ABSTRACT

In the Eastern Tropical Pacific have recorded 22 endemic species of the family Pomacentridae, including *S. acapulcoensis* distributed from Baja California to Peru; is territorial, with no apparent sexual dimorphism and external fertilization. The male is responsible to courting the female, clean the nest and guard the demersal eggs until their hatch (two to seven days). It is known that fish mating systems vary in space and time; previous studies suggest that this variation could be associated with changes in environmental conditions as well as ecological, demographic and morphological factors. This chapter describes the temporal variation of the genetic mating system and its association with the change in temporary and historical environmental conditions in the Manzanillera, Mich., for *Stegastes acapulcoensis*. The collection of samples it was conducted throughout the annual cycle 2013 obtaining a total of 13 guardian males and 16 nest. The genotype of the males and 735 larvae were obtained using four nuclear microsatellites: *SpGATA40*, *SpGATA16*, *SpTG53* and *SpAAT39*. We found that *S. acapulcoensis* has a mating system polygynous throughout the year with three to six females involved per nest without annual variation between the periods analyzed; so in this way we suggested that the reproductive success of this specie it's associate by the turbidity (primary productivity) and the sex ratio; in base of the evidence found these variables could modify the genetic mating system of *S. acapulcoensis*.

3. INTRODUCCIÓN

3.1 Sistemas de apareamiento

El sistema de apareamiento es la manera en la que un individuo obtiene parejas, las estrategias que emplea para su obtención, los vínculos dentro de la pareja, así como los cuidados parentales que brinda cada sexo (Emlen y Oring 1977). Krebs y Davies (1993) catalogan tres tipos de apareamiento de acuerdo al número de parejas en una temporada reproductiva: monogamia, poligamia y promiscuidad. En la monogamia un macho se aparea con una sola hembra, en la poligamia un individuo obtiene más de una pareja, con dos variantes: la poliginia, en donde un macho se aparea con más de una hembra y la poliandria, en la cual una hembra se aparea con más de un macho. En el sistema de promiscuidad diferentes machos y hembras se aparean indistintamente. Cabe señalar que estos tipos de apareamientos pueden ocurrir en una temporada reproductiva de manera simultánea (distintos eventos) o secuencial (un solo evento). Esta variación en los sistemas de apareamiento es un tema que ha sido investigado mediante observaciones conductuales y en décadas más recientemente por medio de marcadores moleculares, esto último ha permitido evaluar con mayor certeza la interacción de individuos extra-pareja, de tal manera que es posible identificar genéticamente el número de individuos involucrados en la generación de una progenie, definido como Sistema de Apareamiento Genético (S.A.G.; Hughes 1996).

3.2 Sistemas de apareamiento con un enfoque conductual y genético

Con respecto a las estrategias de apareamiento empleadas por los vertebrados para la obtención de parejas receptivas, los estudios conductuales han permitido responder al cómo y al porqué del comportamiento de estos organismos en el medio en que habitan (Pankhursts 1995, Székely *et al.* 2000, Clutton-Brock e Isvaran 2007). De manera que se ha podido evaluar diferentes características involucradas al respecto, tales como la defensa de los recursos (e.g. agresividad, territorialidad; Harrington y Losey 1990, Itzkowitz *et al.* 1995, Marcos-Camacho *et al.* 2011, Deitloff *et al.* 2014), selección de parejas (e.g. cortejo, tácticas alternativas de apareamiento [cuckoldry], proporción sexual; Karino 1995, Matsumoto y Takegaki 2013, Řežucha y Reichard 2014, Liker *et al.* 2014), así como los roles dentro de la pareja (e.g. cuidados parentales; Székely *et al.* 2000, Sasal 2006, Platek y Shackelford 2006). Estas particularidades en su conjunto han permitido tener una mayor comprensión del

comportamiento reproductivo de los individuos tanto en sus hábitats naturales (Hoelzer 1990, Van Rooij *et al.* 1996), como en los artificiales (Järvenpää y Lindström 2004, Myhre *et al.* 2012). Estos últimos con la ventaja de poder ser manipulados, retando a los individuos a interactuar en ambientes contrastantes.

En la mayoría de los peces arrecifales y en algunos peces con fertilización externa, el cuidado parental es brindado solo por uno de los padres, quien se encarga de custodiar el nido hasta su eclosión (Allen y Robertson 1998). Esta inversión reproductiva diferencial entre progenitores es un factor determinante en los sistemas de apareamiento (Ríos-Cárdenas y Morris 2011), dado que uno de los padres queda liberado de la responsabilidad del cuidado de la progenie; permitiendo a la pareja ir en búsqueda de otros apareamientos conduciendo a un sistema polígamo (Denis 1997). De tal forma que en las poblaciones en las que la proporción sexual se desvía hacia uno de los sexos las dinámicas de apareamiento se ven modificadas. Por ejemplo, se ha observado que en poblaciones en las que la proporción de hembras es mayor, se incrementa la frecuencia de poliginia y poliandria, esto en relación al individuo que se encarga del cuidado de la progenie (Kvarnemo y Merilaita 2006, Liker *et al.* 2014).

Mediante observaciones conductuales en peces de la familia Pomacentridae se ha reportado que los machos del género *Stegastes* cortejan a las hembras para incitar el desove en un sustrato previamente preparado y poder fertilizar los huevos (Allen y Robertson 1998). Esta estrategia reproductiva genera competencia entre machos por oportunidades de apareamiento, mientras que las hembras pueden elegir al macho con el que se aparearán (Karino 1995, Knapp y Kovach 1991). En *S. rectifraenum* se ha observado que varias hembras desovan en un solo nido, y es posible que una sola hembra desove en varios nidos por lo que el sistema de apareamiento en estos organismos puede variar entre poligamia y promiscuidad (Hoelzer 1990). En ambientes artificiales y naturales, se ha reportado que algunas hembras de esta familia tienden a desovar sobre nidos con presencia de huevos (*Chrysiptera cyanea*, *Stegastes partitus*, *S. rectifraenum*, *S. dorsopunicans*, *S. leucostictus* [Petersen 1995] y *Amblyglyphidodon leucogaster* [Haley *et al.* 2002]), sobre todo en las primeras fases de desarrollo (hasta dos días). Se ha sugerido que esto disminuye la probabilidad de depredación inter e intra-específica (e.g. canibalismo filial), incrementando la supervivencia de la progenie (Hoelzer 1990, Denis 1997); además, resulta ventajoso para las hembras ya que les proporciona un menor costo energético en la búsqueda de pareja ya que esta se reduce al

seleccionar a un macho con progenie, dando señales de ser un buen custodio (Matsumoto y Takegaki 2013, Kvarnemo y Merilaita 2006). De esta manera las hembras pueden invertir su tiempo en el forrajeo y la producción de huevos para poder aparearse con otros machos, incrementando así su éxito reproductivo de la temporada (Denis 1997).

Sin embargo, dado que las observaciones conductuales en muchas ocasiones pueden subestimar o sobreestimar la frecuencia de fertilizaciones extra-pareja (Emlen y Oring 1977), las herramientas moleculares han permitido tener una mayor certidumbre del número de padres involucrados y la proporción en la cual contribuyen en la progenie, lo cual ha sido aplicada en diferentes grupos de vertebrados como aves (Bird *et al.* 2013); peces (DeWoody *et al.* 2000b, Mackiewicz *et al.* 2002, Mobley and Jones 2009, Wilson 2009); anfibios y reptiles (Uller y Olsson 2008), en los cuales se ha reportado una amplia variación en estos sistemas.

La familia Pomacentridae son abundantes y conspicuos en ambientes arrecifales en mares tropicales y templados alrededor del mundo (Allen y Robertson 1998). Sus hábitos altamente especializados (agresividad, cambio de coloración con la edad, cuidado parental, hábitat restringido y carencia de migraciones), los hace un excelente modelo de investigación de tal variación para estudios ecológicos, etológicos (Acero 1978, Petersen 1995, Asoh 2003) y genéticos (Carvalho *et al.* 2000, Munkres *et al.* 2006, Urbiola-Rangel 2012, González-Valdez *et al.* 2013).

3.3 Sistemas de apareamiento genético (SAG) y su asociación a variables ambientales y ecológicas en peces

Dado que las variables ambientales de cada población difieren unas de otras, factores ecológicos, demográficos (*Syngnathus floriadae* [Mobley y Jones 2009]), morfológicos (*Abudefduf saxatilis* [Piñeros *et al.* 2015]) proveen información de gran importancia para estudios experimentales y comparativos de la evolución del sistema de apareamiento (Mobley y Jones 2009). En diversos estudios del SAG en peces marinos con cuidado parental por parte del macho, realizados a lo largo de un gradiente latitudinal se ha reportado que el éxito reproductivo de los machos se relaciona con la temperatura (*S. floriadae* [Mobley y Jones 2009]; *S. acapulcoensis* [Urbiola-Rangel 2012]), el número de huevos (*S. floriadae* [Mobley y Jones 2009]; *S. acapulcoensis* [Urbiola-Rangel 2012]), la talla del macho custodio (*Syngnathus leptorhynchus* [Wilson 2009]; *S. acapulcoensis* [Urbiola-Rangel 2012]), y el

tamaño del nido (*S. acapulcoensis* [Urbiola-Rangel 2012]). Se ha sugerido que esto es debido a las diferencias en las condiciones ambientales entre localidades, observándose una relación positiva entre la talla del macho y la latitud; lo cual se ha relacionado con regla de Bergmann (1847). La regla de Bergmann sugiere que a bajas temperaturas la talla de los organismos es más grande, puesto que tardan en alcanzar la asíntota de crecimiento en estos ambientes (anfibios [Ashton 2002]; peces marinos [Wilson 2009, Urbiola- Rangel 2012]). Por lo que Wilson (2009) sugiriere que la poliginia es necesaria para maximizar el éxito reproductivo del macho (*S. leptorhyncus*), ya que al ser de mayor tamaño requieren de un mayor número de desoves por parte de las hembras y de esta manera contrarrestar el tiempo invertido en el cuidado parental.

La turbidez del agua es otra variable ambiental que puede afectar el éxito reproductivo de los peces marinos (Järvenpää y Lindström 2004, Myhre et al 2012) ya que puede disminuir la capacidad de las hembras para seleccionar pareja., Se ha reportado que la oportunidad de selección sexual y diferencial se vuelve más laxa en ambientes con agua turbia, sugiriendo ser un factor de importancia que pueda alterar el sistema de apareamiento; dado que al haber poca visibilidad las hembras se vuelven menos selectivas y el éxito reproductivo se distribuye uniformemente entre machos de todos tamaños (*Pomatoschistus minutus* [Järvenpää y Lindström 2004] y *Gobiusculus flavescens* [Myhre et al 2012]). Por otro lado los machos de *Stegastes nigricans* emplean una estrategia diferente en ambientes turbios, ya que ellos nadan hasta el territorio de la hembra para realizar los despliegues de cortejo y poder ser evaluados; dado que la distancia impide a las hembras elegir al macho cuando este intenta cortejarlas desde su propio territorio (Karino 1995).

Otra variable que puede comprometer el éxito reproductivo de los machos con cuidado parental es la concentración de oxígeno disuelto (OD), debido a que la demanda de este recurso se incrementa conforme la progenie se acerca a la eclosión y el cuidado parental se intensifica (frecuencia y duración del abaniqueo) en ambientes con bajas concentraciones de OD (*Valenciennea longipinnis* [Takeshi y Nakazono 1999]).

La territorialidad es una característica de un gran número de los peces de la familia Pomacentridae; en los machos *A. saxatilis* se ha observado que durante cautiverio en temporada reproductiva exhiben una relación positiva entre la permanencia territorial y su éxito reproductivo (Prappas et al. 1991). Así también la calidad de los sitios para la anidación

son de importancia ya que éstos son los primeros en ser ocupados (sitios no degradados). La estrategia para mejorar la calidad del territorio es ir en búsqueda de sitios de mejor calidad (rocas más expuestas que sean menos propensas a ser sepultadas por los sedimentos) que les provea un mayor éxito reproductivo (Itzkowitz *et al.* 1995).

Por lo anterior se tiene evidencia de que los sistemas de apareamiento son dinámicos (Andrew *et al.* 2013), de esta manera los factores ambientales espaciales y temporales pueden potenciar el control y la dispersión de los recursos para atraer parejas (e.g. proporción sexual operacional, disponibilidad de alimentos y la defensa de recursos); su uso, aprovechamiento y defensa dirigirá el tipo de sistema de apareamiento (Emlen y Oring 1977, Knapp y Kovach 1991).

3.4 Especie de estudio

La familia Pomacentridae está ampliamente distribuida alrededor del mundo, en mares tropicales, subtropicales y templados. En el Pacífico oriental se tiene registro de 22 especies endémicas de la región. *Stegastes acapulcoensis* perteneciente a esta familia, se distribuye a lo largo de POT y se reporta desde México (Baja California) hasta Perú, incluyendo las islas galápagos (Grove *et al.* 1986, Allen y Robertson 1998); vive a lo largo de costas rocosas entre 2 a 16 m de profundidad. Alcanza una longitud total promedio de 185 mm (Urbiola-Rangel 2012); no presenta dimorfismo sexual aparente. En estadio adulto son de color café, más claro en la cabeza y parte anterior del cuerpo; los radios pectorales superiores y los labios en color blanco, constituyen caracteres diagnósticos de la especie (Figura 1a). Los juveniles son de color azul brillante con un ocelo prominente en la base de la dorsal suave y una mancha negra ocelada en el borde dorsal del pedúnculo caudal (Figura 1b; Allen y Robertson 1998).

Al igual que otros miembros de la familia, *S. acapulcoensis* es territorial, y presenta un modo de reproducción, en el cual el macho se encarga de limpiar el lugar del nido y despliega el comportamiento de cortejo con nado rápido y extensión de las aletas, así también se encargan de custodiar los huevos, los cuales se pegan al fondo por medio de hilos adhesivos (Allen y Robertson 1998). Los huevos eclosionan entre dos a siete días, posteriormente las larvas son transportadas por las corrientes oceánicas por periodos que varían de 19 a 23 días (Wellington y Victor 1989). Eventualmente las crías se establecen en el fondo y adquieren la coloración de los juveniles. El crecimiento de los juveniles es variable entre 5 a 15 mm por

mes y gradualmente disminuye conforme se acercan a la madurez (Allen y Robertson 1998). Se ha reportado que los individuos de esta especie pueden llegar a vivir hasta 32 años (Meekan *et al.* 2001, Fishbase 2013).

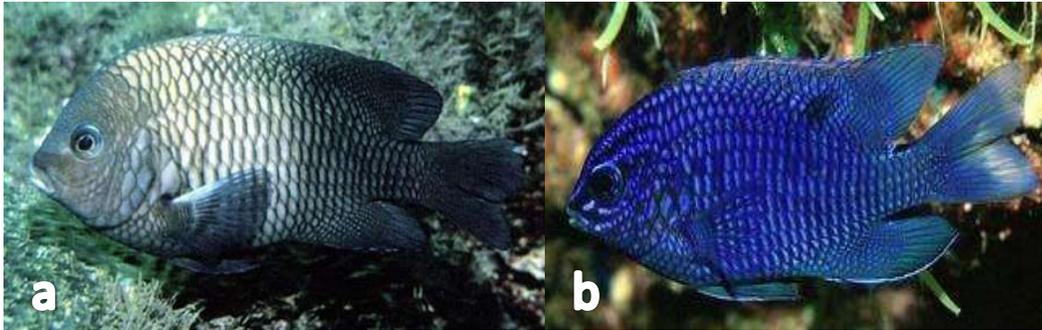


Figura 1. *Stegastes acapulcoensis* (Fowler, 1944). Adulto (a); Juvenil (b); (Fotos de Allen G. R. Tomadas de Fishbase 2013).

Urbiola-Rangel en un estudio reciente con *S. acapulcoensis* (2012) en cuatro localidades del POM, reportó variación espacial en el SAG, presentándose con mayor frecuencia la poliginia con dos a seis hembras involucradas por nido. El patrón sugerido en ese estudio es que a mayor latitud, la talla de los machos se incrementa así como su éxito reproductivo. Por otra parte se reportó evidencia de Tácticas de Apareamiento Alternativas (TAA), “cuckoldry” en baja frecuencia (16%), aunque aún se desconoce la relación causal de este comportamiento.

Definir el grado de plasticidad del sistema de apareamiento, así como las causas y consecuencias de esta variación, es uno de los temas de la biología evolutiva, que es posible analizar gracias al uso de marcadores moleculares.

El presente estudio analizó la variación del SAG de *S. acapulcoensis* a lo largo del ciclo anual 2013, así como su asociación a variables ambientales y ecológicas temporales para el 2013 (temperatura, oxígeno disuelto, turbidez y densidad poblacional) e históricas del 2003 al 2013 (temperatura y productividad primaria) en la Manzanillera, Michoacán.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Localidad de estudio

El presente estudio se realizó en la localidad de la Manzanillera, Mich., ($18^{\circ} 21' 19.50''$ N; $103^{\circ} 30' 48.68''$ O) en el POM (Figura 2), en la cual se identificó mediante inmersiones con equipo autónomo de buceo SCUBA la presencia de poblaciones reproductivas de *S. acapulcoensis*.

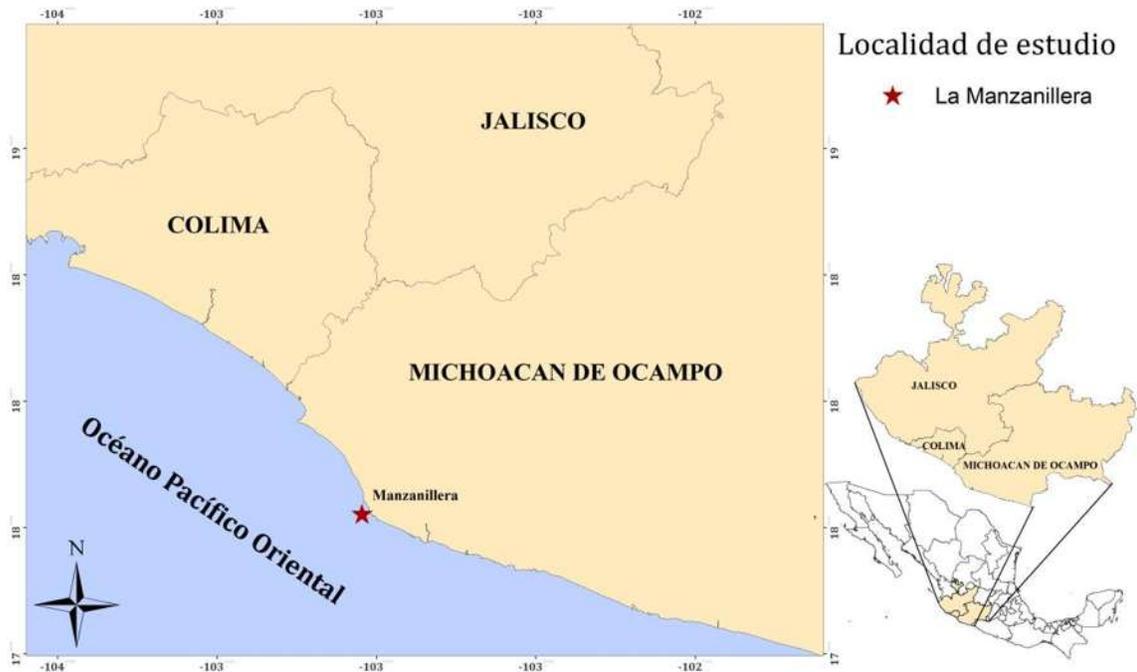


Figura 2. Ubicación espacial de la Manzanillera, Mich., en el territorio mexicano.

4.2 Material biológico

Se llevó a cabo cuatro recolectas representativas a lo largo del año 2013 en los meses de febrero, mayo, septiembre y noviembre; durante las cuales se recolectaron machos custodios de *S. acapulcoensis* y sus respectivas progenies custodiadas mediante SCUBA y arpón manual. Bajo el agua se fotografiaron los nidos con una cámara GoPro y se utilizó una regla de 30 cm como referencia para calcular su tamaño; cuando la posición del nido no permitió obtener la fotografía, se trazaron dibujos del contorno del nido y se registraron las medidas de largo y ancho del mismo. Posteriormente se tomó una muestra aleatoria de cada nido (100 larvas y/o huevos aproximadamente) y ya en superficie las progenies se almacenaron en tubos falcon de 15 ml con etanol absoluto. Se registró la longitud total (LT) de

los machos custodios recolectados a los cuales se les tomó una fotografía así como una muestra de la aleta pectoral para ser almacenada en viales de 1.5 ml con etanol absoluto; los organismos fueron etiquetados y almacenados en botes plásticos con etanol al 96%.

La densidad poblacional de *S. acapulcoensis* se calculó con transectos de 20x2m, los cuales se lanzaron desde un punto de referencia establecido con la marca de un cincho plástico blanco (30 cm); a partir de este punto se lanzaron cuatro líneas en dirección de los puntos cardinales para hacer el conteo de los organismos. Además en el mes de mayo se marcaron tres nidos ocupados por un macho custodio y su progenie respectivamente, los cuales se etiquetaron con ligas de colores y en septiembre se marcaron once nidos ocupados con cinchos plásticos blancos de 30 cm anillando a su vez cinchos más pequeños de colores (10 cm), para poder identificarlos individualmente; posteriormente en el mes de septiembre y noviembre se registró y se identificó los territorios con nidos ocupados.

Al final de la obtención de datos y muestras, se recolectó un promedio de 28 organismos adultos con ayuda del arpón manual, en tres de los meses muestreados (mayo, septiembre y noviembre); a estos organismos se les midió la LT, se les tomó una fotografía y se les etiquetó para su almacenamiento en etanol al 96% para posteriores análisis en el laboratorio.

Los registros anteriores de los meses de recolecta se agruparon por periodos delimitados por la fluctuación de la temperatura para el sitio de estudio (ver Cap. I); el periodo *cálido* que abarca de junio a noviembre y el periodo *templado* que abarca de diciembre a mayo. De igual manera se tomaron en cuenta los resultados del Capítulo I para las variables ambientales registradas en el 2013 e históricas (2003-2013) analizadas para la localidad de estudio entre estos periodos, con la finalidad de asociarlas a la frecuencia de poliginia de *S. acapulcoensis*.

4.3 Análisis molecular

De cada progenie recolectada y macho custodio correspondiente se realizó la extracción de ADN utilizando el protocolo de precipitación de proteínas con acetato de amonio propuesto por FitzSimmons (1997). Para la estimación del número de *loci* a utilizar se realizaron simulaciones con los registros de las frecuencias alélicas de la población de *S. acapulcoensis* para el PCM (Urbiola-Rangel y Chassin-Noria 2013), en el software GERUD 2.0 (Jones 2005), donde se analizó la probabilidad de exclusión de maternidad en relación al

número de *loci* (ver Anexo 1). De esta manera se utilizó en total tres pares de oligonucleótidos diseñados para *Stegastes partitus* (*SpGATA-40*, *SpGATA-16*; *SpTG-53* y *SpAAT39*; Williams *et al.* 2003, Thiessen y Heath 2007) marcados con fluoróforos de filtro G5 (6-FAM, VIC, PET, NED Applied Biosystems). En el caso de los nidos 2, 6 y 14 se utilizó los microsatélites: *SpGATA-40*, *SpGATA-16* y *SpAAT39*; y para el resto de los nidos se utilizó los microsatélites: *SpGATA-40*, *SpGATA-16* y *SpTG-53* (ver Anexo 1), lo anterior debido a inconvenientes en la amplificación de los microsatélites.

Para la amplificación de los oligonucleótidos se utilizó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR por sus siglas en inglés) con las siguientes concentraciones de reactivos: 200 μM de dNTP's, 3 mM de MgCl_2 , 0.5 μM de cada oligonucleótido, 2 U de Taq polimerasa, 2.5 μL de buffer 10X (100 mM Tris, 500 mM KCl; pH 8.3) y de 20 a 200 ng de ADN y con el programa: 94°C 1 min seguido de 30 ciclos de 94°C 10 seg, 49°C 10 seg, 72°C 10 seg y extensión final 72°C por 2 min, para *SpGATA-40* y *SpTG-53*. Para la amplificación de *SpGATA-16* se utilizaron las siguientes concentraciones: 200 μM de dNTP's, 4 mM de MgCl_2 , 0.25 μM de cada oligonucleótido, 2 U de Taq polimerasa, 2.5 μL de buffer 10X (100 mM Tris, 500 mM KCl; pH 8.3) y de 20 a 200 ng de ADN, con el programa: 94°C 3 min, seguido de 35 ciclos de 94°C 1 min, 49°C 1 min, 72°C 1 min y extensión final por 72°C 2 min. Y para *SpAAT39* se amplificó con las siguientes concentraciones: 200 μM de dNTP's, 2 mM de MgCl_2 , 0.5 μM de cada oligonucleótido, 2 U de Taq polimerasa, 2.5 μL de buffer 10X (100 mM Tris, 500 mM KCl; pH 8.3) y de 20 a 200 ng de ADN, con el programa: 94°C 2 min, seguido de 35 ciclos de 94°C 1 min, 48°C 1 min, 72°C 1 min y extensión final por 72°C 2 min. La determinación de los genotipos se realizó mediante electroforesis capilar en un equipo automatizado en la Universidad de Yale, utilizando como marcador interno LIZ-500 (Applied Biosystems). La asignación de tamaño de los alelos se llevó a cabo en el software Peak Scanner v. 1.0 (Applied Biosystems).

4.4 Análisis de datos

Para la detección de alelos nulos, dominancia de alelos pequeños y errores de genotipado se realizó un análisis en el software Micro-Checker v. 2.2.3. (Van Oosterhout *et al.* 2004). Dado las progenies de *S. acapulcoensis* se estiman por entre 12,716 a 91,858 huevos, imposibilita realizar un análisis genético exhaustivo de las progenies (Urbiola-Rangel 2012);

por lo que se estimó el número de progenie necesaria para identificar al menos un alelo de los progenitores involucrados, mediante la probabilidad de detección del número de genotipos con un experimento *in silico* realizado con el programa BROOD en MatLab (DeWoody *et al.* 2000a; ver Anexo 2).

La estimación del número de progenitores involucrados en la fertilización de la progenie y la reconstrucción de los genotipos maternos se realizó en el software GERUD 2.0 (Jones 2005). En el caso de los tres nidos (3, 4, 8) donde no se capturó el macho custodio correspondiente, el genotipo del padre fue inferido por la frecuencia de alelos presentes en cada progenie (ver Anexo 3).

La variación de la frecuencia de poliginia de *S. acapulcoensis* a lo largo del ciclo anual 2013, se estimó mediante una prueba de “t de Student” en el software JMP 6 (SAS Institute 2005) comparando los registros entre los periodos *cálido* y *templado* influenciados por la temperatura en el sitio de estudio.

El cálculo del área total del nido (cm²) se realizó a partir de las fotografías tomadas de los nidos en el programa ImageJ (Abramoff *et al.* 2004). Se realizó el conteo del número de huevos por cm² en una muestra de coral rocoso de cada progenie por conteo manual en microscopio estereoscópico con cámara digital integrada AMScope. Usando ambos datos (área total del nido y número de huevos por cm²) se calculó el total de huevos por nido. Esto se relacionó con la longitud total del macho custodio correspondiente para la determinación del éxito reproductivo por medio de una regresión múltiple en el software JMP 6 (SAS Institute 2005).

5. RESULTADOS

5.1 Material biológico

Se recolectaron un total de 16 nidos y 13 machos custodios a lo largo del ciclo anual 2013 con un promedio de ocho nidos por periodo. Para el periodo *templado* se recolectaron cinco machos custodios y para el periodo *cálido* se recolectaron ocho machos custodios (Cuadro 1). Del total de las progenies 15 nidos eran sencillos y uno compuesto, este último conformado por dos manchones de huevos adheridos en diferentes rocas a una distancia no mayor a 10cm entre ellos, constituyendo una sola progenie custodiada por un macho (Figura 3).

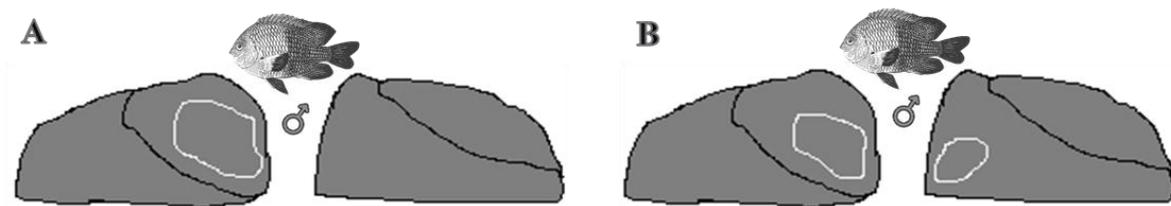


Figura 3. Tipos de nidos adheridos en el coral rocoso encontrados de la localidad de estudio. A) nido sencillo, compuesto por un solo manchón el cual es custodiado por un macho. B) nido compuesto, constituido por dos manchones a una distancia no mayor a 10 cm entre ambos los cuales están custodiados por un macho.

Cuadro 1. Nidos y machos custodios recolectados dispuestos por periodos para el 2013 numerados por orden de recolecta. Se muestra el tamaño y el número de huevos, así como la longitud total (LT) del macho custodio. La densidad promedio de la progenie fue de 106 huevos por cm² con un intervalo de 42 a 198 huevos por cm². La “n” es el número de larvas genotipificadas por nido. El nido compuesto se diferencia por los símbolos griegos α y β , indicando la primera y segunda parte del nido respectivamente.

| Periodo | Nido | Tamaño del nido (cm ²) | Número de huevos | n | Macho | LT macho (mm) | Periodo | Nido | Tamaño del nido (cm ²) | Número de huevos | n | Macho | LT macho (mm) |
|-------------------------------|------|------------------------------------|------------------|----|-------|---------------|------------------------------|-------------|------------------------------------|------------------|----|-------|---------------|
| <i>Templado</i> (dic-mayo) | 1 | 1,725 | 115,575 | 34 | SI | 156 | <i>Cálido</i> (junio-nov) | 9 | 2,278 | 243,777 | 39 | SI | 170 |
| | 2 | 1,688 | 138,426 | 37 | SI | 156 | | 10 | 3,759 | 390,984 | 37 | SI | 175 |
| | 3 | - | - | 25 | NO | - | | 11 | 2,146 | 420,742 | 31 | SI | 171 |
| | 4 | - | - | 22 | NO | - | | 12 | 2,412 | 101,340 | 20 | SI | 161 |
| | 5 | 1,769 | 113,192 | 24 | SI | 162 | | 13 | 1,672 | 329,418 | 29 | SI | 164 |
| | 6 | 1,226 | 79,659 | 35 | SI | 178 | | 14 | 2,696 | 533,884 | 33 | SI | 159 |
| | 7 | 4,075 | 211,880 | 38 | SI | 151 | | 15 | 2,425 | 215,827 | 27 | SI | 156 |
| | 8 | - | - | 21 | NO | - | | 16 α | 2,513 | 379,437 | 16 | SI | 151 |
| | | | | | | | 16 β | 838 | 70,387 | 18 | | | |

5.2 Análisis genético: poliginia de *S. acapulcoensis*

No se detectó la presencia de alelos nulos, dominancia de alelos pequeños ni errores en el genotipado en las 16 progenies analizadas para la Manzanillera, Mich., (software Micro-Checker v. 2.2.3. [Van Oosterhout *et al.* 2004]). En relación a los experimentos *in silico* se tomó como base los genotipos de una población adulta de *S. acapulcoensis* (n=29) obtenida de los registros del análisis espacial para el PCM (Urbiola-Rangel y Chassin-Noria 2013), con ello se estimó el número de progenie necesaria para identificar al menos un alelo de hasta cinco madres que contribuyen en un nido (n=35), así como el número de progenie necesaria para identificar los genotipos de todos los padres involucrados (n*=37) (ver Anexo 2). Para la elección del número de microsatélites a utilizar en el presente estudio se estimó la probabilidad de exclusión de maternidad (Jones 2005) donde se encontró que la diferencia entre la combinación de tres, cuatro y cinco *loci* es mínima (0.9989, 0.9998 y 0.9999 respectivamente), por lo que tomó en cuenta tres microsatélites para el análisis de las progenies de este estudio, ya que resulta idóneo para la detección de las madres involucradas, con una probabilidad de exclusión de 0.9989 en su conjunto (ver Anexo 1).

La determinación de la frecuencia de poliginia se analizó con 30 larvas en promedio de cada progenie (intervalo de 16 a 39 larvas), en el software GERUD 2.0 donde se obtuvo la reconstrucción de los genotipos de las madres involucradas en cada nido (Jones 2005), considerando los patrones de herencia mendeliana y las frecuencias alélicas de la población de *S. acapulcoensis* (Urbiola-Rangel y Chassin-Noria 2013).

En los 16 nidos analizados se encontró un 100% de poliginia, con un intervalo de tres a seis hembras involucradas por nido para el periodo *templado* y un intervalo de cuatro a seis hembras involucradas por nido para el periodo *cálido*. No se detectaron diferencias significativas de poliginia entre periodos ($t(1) = 0.2655$ $p > 0.05$) (Figura 4). Cinco de los 16 nidos analizados presentaron diferencias significativas en la contribución de huevos ovopositados por parte de las hembras ($X^2: p < 0.05$), de los cuales dos nidos pertenecen al periodo *templado* (5 y 6) y tres nidos al periodo *cálido* (10, 14 y 15) (Figura 4).

Se identificaron 85 genotipos maternos, de los cuales dos se encontraron en más de un nido (nido 4 y 14; hembra 18*) recolectados en el mes de febrero y noviembre respectivamente; así como en los nidos 6 y 14 (hembra 26*) recolectados en el mes de mayo y noviembre respectivamente. Esto sugiere la presencia de la misma hembra en diferentes

periodos (Figura 4). Se detectaron 16 genotipos paternos únicos para los nidos analizados, uno por nido, sugiriendo que no hay evidencia de “cuckoldry”. Para los casos donde no se recolectó el macho custodio, el genotipo paterno fue inferido mediante la frecuencia de alelos presentes en la progenie (ver Anexo 3 y 4 respectivamente).

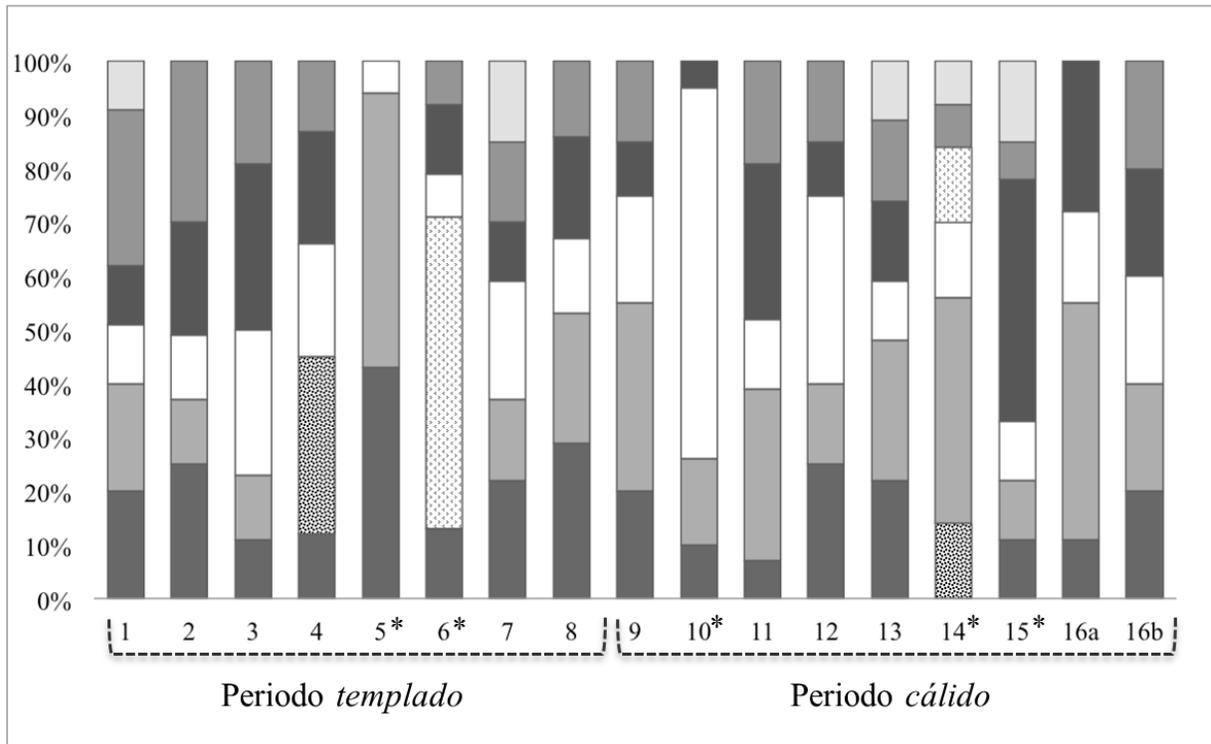


Figura 4. Porcentaje de contribución de hembras en los 16 nidos correspondientes al periodo *templado* y *cálido* para el 2013; el nido compuesto se identifica con las letras a, b. Los dos tipos de tramas punteadas en gris claro y gris oscuro, representan a la progenie de dos hembras que participaron en diferentes momentos (nido 4, 6 y 14); el resto corresponde a la contribución de diferentes hembras. El asterisco señala a los nidos con contribuciones significativamente diferentes ($X^2: p < 0.05$).

5.3 Éxito reproductivo de *S. acapulcoensis*

No se encontró relación entre el éxito reproductivo de los machos custodios (LT del macho) con el tamaño de su nido y a la densidad de huevos en cm^2 para el periodo *templado* ni para el periodo *cálido* (periodo *templado*: $LT = 161 \text{ mm}$, $nido = 2,097 \text{ cm}^2$, $[r^2 = 7.2789 p$

>0.05]; periodo *cálido*: LT= 163 mm, nido= 2,383 cm², [$r^2= 0.1679$, $p >0.05$] respectivamente; Cuadro 1; Figura 5).

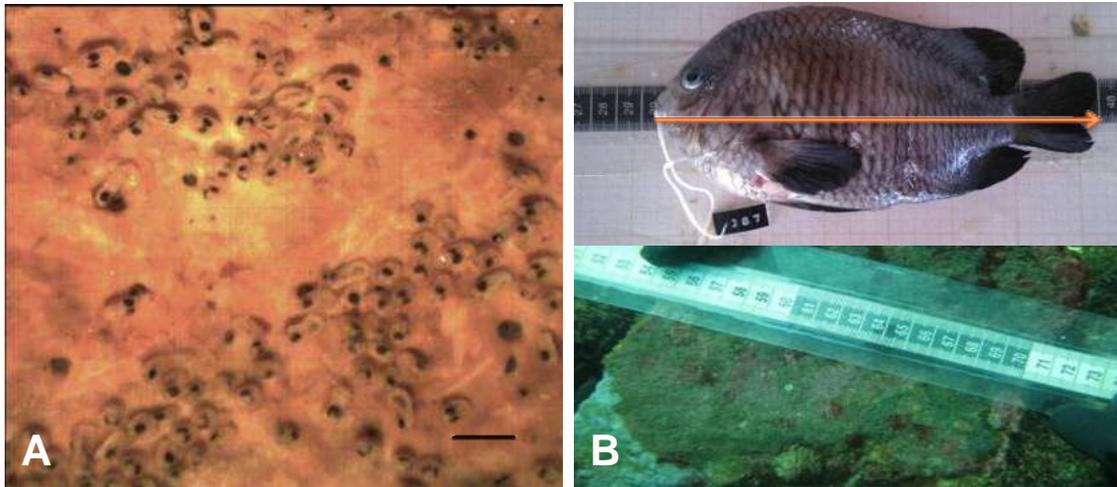


Figura 5. A) Huevos adheridos al coral rocoso, fotografía tomada a través de microscopio estereoscópico; barra = 1 mm. B) Relación de la LT del macho custodio con respecto al tamaño de su nido y a la densidad de su progenie.

5.4 Densidad poblacional

La densidad promedio de *S. acapulcoensis* más baja registrada para la población de la Manzanillera en el 2013 fue de 7.3 ± 1.5 individuos/m² para el periodo *templado*, sin diferencias significativas ($t(1) = 1.7132$, $p >0.05$; Figura 7).

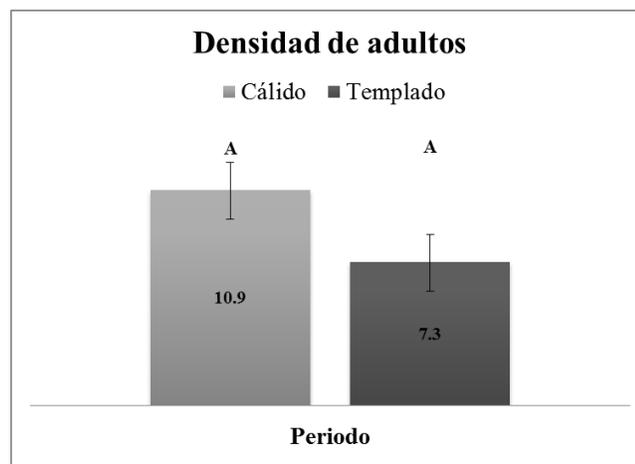


Figura 7. Densidad promedio de adultos de *S. acapulcoensis* (individuos/m²), sin diferencias significativas entre periodos $t(1) = 1.7132$, $p >0.05$; la letra "A" corresponde al mismo grupo.

5.5 Longitud total de *S. acapulcoensis* en la Manzanillera, Mich.

Se recolectaron un total de 79 individuos adultos a lo largo del 2013, con un promedio de 26.3 peces por mes de recolecta. La LT promedio más baja fue de 158 ± 1.998 mm para el periodo *templado* y un máximo de 165 ± 2.839 mm para el periodo *cálido*; con diferencias significativas entre periodos ($t(1) = 1.8158, p < 0.05$; Figura 8).

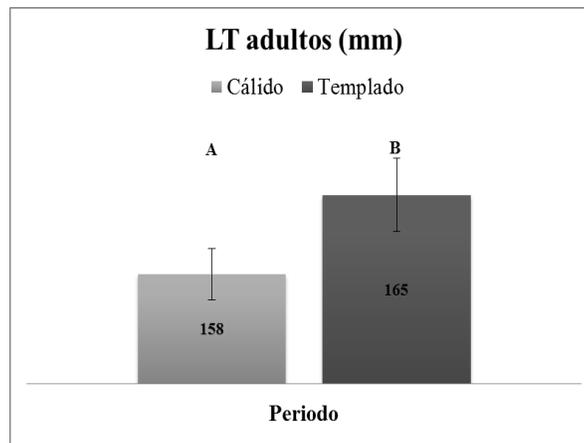


Figura 8. Longitud total promedio de *S. acapulcoensis* con diferencias significativas entre periodos ($t(1) = 1.8158, p < 0.05$); las letras corresponden a grupos diferentes, A y B.

5.6 Territorialidad de *S. acapulcoensis* en la Manzanillera, Mich.

En la primera recolecta del periodo *templado* (mayo) se marcaron tres territorios con nidos ocupados, de los cuales solo dos se encontraron ocupados para el periodo *cálido* (septiembre). Adicionalmente, en este periodo (septiembre) se marcaron otros 12 territorios ocupados con nidos, de los cuales solo uno se encontraba ocupado y dos se observaron con restos de larvas recientemente eclosionadas, en ese mismo periodo (noviembre).

No se marcó al macho custodio correspondiente a cada territorio en ambos periodos; por lo que solo se registró presencia o ausencia de territorios ocupados previamente marcados (Figura 9).



Figura 9. Nido número cinco marcado con cinchos plásticos, ocupado en el periodo *cálido* y abandonado dos meses después del marcaje.

5.7 Asociación de variables ambientales y ecológicas con la frecuencia de poliginia de *S. acapulcoensis*.

Para tener una mayor claridad sobre el análisis de las variables involucradas y/o asociadas en la frecuencia de poliginia de *S. acapulcoensis* en el POM, fue necesario identificar los posibles escenarios que permitieran explicar el comportamiento reproductivo de esta especie. Con respecto al análisis de variables ambientales y ecológicas tomadas en campo e históricas para la Manzanillera Mich., reportadas en el Capítulo I, los resultados obtenidos se describieron en relación a dos distintos escenarios (periodos y corrientes oceánicas). Sin embargo se denota que el escenario que permite tener una mejor apreciación del comportamiento de las variables analizadas se conforma por dos periodos: *cálido* y *templado*, los cuales se diferencian por la fluctuación de la temperatura en la localidad de estudio.

De acuerdo con lo anterior, la frecuencia de poliginia de *S. acapulcoensis* en la Manzanillera, no presenta diferencias significativas entre periodos, mientras que para la temperatura (T°), productividad primaria (PP), oxígeno disuelto (OD) y la talla de los organismos (LT) muestran diferencias significativas entre periodos. Cabe destacar que en el periodo *templado* se encontró una mayor proporción de hembras así como mayor LT en comparación con los machos (González-Valdez *et al.* datos no publicados) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Breve análisis de las variables ambientales y ecológicas tomadas en campo e históricas en la Manzanillera y la frecuencia de poliginia de *S. acapulcoensis* entre periodos.

| | Periodos | |
|--|-------------------------------|------------------------------|
| | <i>Templado</i> (dic-mayo) | <i>Cálido</i> (junio-nov) |
| Temperatura promedio del agua (C°±DS) | | |
| Campo | [^] 24.55±1.036 | 29±0 |
| Histórica (2003 al 2013) | [^] 27.06±0.3374 | 29.88±0.3129 |
| Turbidez | | |
| NPP (historica) | [^] 2489±455.3 | 875.5±118.2 |
| Oxígeno Disuelto (mg/L) | | |
| | [^] 5.795±0.7273 | 7.193±0.3667 |
| Salinidad (‰) | | |
| | 32 | 31.5 |
| Demografía: | | |
| Promedio de individuos/m ² | 7.3 | 11 |
| Individuos recolectados (n) | 26 | 29 |
| *Machos (n) | 11 | 18 |
| *Hembras (n) | 15 | 11 |
| Longitud total; LT (mm) | [^] 164.5±135.24 | 158.4.1±149.09 |
| Promedio (mm) | 12.7.5 | 188.85± |
| *Machos | 164.2 | 161.05 |
| *Hembras | 169.9 | 163.95 |
| Poliginia: | | |
| Hembras por nido | 3 a 6 | 4 a 6 |
| LT macho custodio (mm) | 163.67±12.01 | 164.89±8.90 |
| Nido: | | |
| Área (cm ²) | 2141.4±1014.3 | 2217.8±984.2 |
| Marcados (ocupados nuevamente) | 3 (2) | 12 (1) |

** González-Valdez *et al.* datos no publicados

[^]Variables significativamente diferentes ($p < 0.05$)

6. DISCUSIÓN

6.1 Análisis genético: poliginia de *S. acapulcoensis*.

Para la genotipificación de los machos custodios y su progenie se utilizaron tres *loci* elegidos en relación a la probabilidad de exclusión acumulada en su conjunto (0.9989), lo cual resulta viable para la identificación de al menos un alelo de los padres involucrados en la progenie (DeWoody *et al.* 2000c [2 *loci* = 0.995], McCoy *et al.* 2001 [3 *loci* = 0.974], Mackiewicz *et al.* 2005 [3 *loci* = 0.99], ver Anexo 2).

Para la estimación del número de progenitores involucrados en la fertilización de una progenie se han diseñado diversos programas, uno de ellos el software Kinalyzer (Ashley *et al.* 2009), el cual está provisto de una plataforma en línea desde donde se realizan dichos análisis, los resultados que se obtienen de este software es el número de padres que contribuyen en la progenie (hasta más de seis), así como la progenie correspondiente a cada uno de los padres putativos, sin embargo este programa no permite indicar en la base de datos al genotipo paterno (aún cuando se conozca), así como tampoco arroja los genotipos hipotéticos de las madres involucradas. Por otro lado el software GERUD 2.0 (Jones 2005) de igual manera encontrado en línea para su descarga en la plataforma de Windows, permite introducir en el análisis al genotipo paterno cuando se tiene identificado, de tal manera que al correr el análisis despliega una serie de escenarios con los genotipos hipotéticos de cada madre involucrada (de una a seis) así como el número de hijos de cada uno de ellos. Otra de las ventajas que ofrece GERUD 2.0 es que permite ordenar los escenarios probables de los genotipos de las madres con respecto al grado de verosimilitud. Por lo anterior y para el análisis de los nidos del presente estudio, se optó por utilizar el software GERUD 2.0 (Jones 2005).

La frecuencia de poliginia de *S. acapulcoensis* para la localidad de la Manzanillera, Mich., en el ciclo anual 2013 fue de un 100%, sin diferencias significativas entre los periodos *templado* (tres a seis hembras) y *cálido* (cuatro a seis hembras), ($t(1) = 0.2655$ $p > 0.05$). La contribución huevos ovopositados por parte de las hembras difirió entre algunos de los nidos, con dos de estos siendo significativamente diferentes durante el periodo *templado* (nidos 5 y 6) y tres durante el *cálido* (nidos 10, 14 y 15). Con una de las hembras para cada uno de estos nidos donando poco más del 50% de los gametos en la progenie (Figura 4). Dicha disparidad en la contribución de gametos por parte de las hembras en una progenie se ha observado en *S. diencaeus*, pez damisela del Caribe (González-Valdez *et al.* 2013), en el cual se reporta para

tres de los cuatro nidos analizados una proporción de más del 60% de inversión por parte de una de las hembras en cada nido.

La reproducción de *S. acapulcoensis* y la presencia de nidos a lo largo del año se ha sugerido que se debe al desarrollo gonádico asincrónico de la especie, presentando desoves parciales a lo largo del año, con dos periodos máximos reproductivos: marzo-abril y septiembre-noviembre (Valencia-Méndez 2014); esto último concuerda con los resultados aquí reportados para la localidad de estudio, ya que dichos picos de reproducción se encuentran dentro de los periodos analizados.. Esta estrategia reproductiva pudiera estar modulada en parte por la alta tasa de mortalidad en esta especie (Valencia-Méndez 2014), compensando de esta manera la producción masiva de huevos durante todo el año.

De los genotipos maternos encontrados en los 15 nidos simples y uno compuesto, solo el genotipo de dos hembras se presentó en ambos periodos (hembra 18* y hembra 26*), inicialmente apareciendo en el periodo *templado* en dos nidos diferentes (nido 4 y 6; recolectados en el mes de febrero y mayo respectivamente) y posteriormente en el periodo *cálido*, ambas en el nido 14 recolectado en el mes de noviembre; dado este escenario permite inferir que las dos hembras participaron en la generación de más de una progenie en distintos eventos reproductivos. Este comportamiento poligínico está determinado por la preferencia de las hembras a desovar en nidos donde ya hay huevos, lo cual se ha reportado para diferentes especies de la familia Pomacentridae (Petersen 1995, Hoelzer 1990, Haley *et al.* 2002), esto ha sido propuesto como una estrategia que les permite disminuir la probabilidad de que su progenie sea objeto de canibalismo filial (i.e. más huevos, menor probabilidad de ser consumidos), puede ser abandonada por el padre, debido a que la probabilidad de deserción de nidos por parte de los machos aumenta conforme disminuye el número de huevos en el nido (Hoelzer 1992, Denis 1997, Matsumoto y Takegaki 2013).

Por otra parte en este estudio solo se detectó un genotipo paterno por cada progenie, los cuales coincidieron con el del macho custodio recolectado (n=13) y con la frecuencia de alelos de las progenies para aquellos nidos en los que no se colectó al macho custodio (n=3) (Anexo 3, Cuadro 2). No se detectó la contribución de otro macho (“cuckoldry”) en las progenies de la localidad de estudio, lo cual sugiere que los machos custodios de esta localidad tienen una territorialidad efectiva evitando fertilizaciones extra pareja por parte de otro macho (Anexo 4). La probabilidad de encontrar un macho “cuckoldry” en la población de *S. acapulcoensis* es

baja (16%) la cual solo se ha reportado para la localidad de Jalisco en el POM (Urbiola-Rangel 2012); estas tácticas de apareamiento le permite a un macho ajeno al nido (cuckoldry) obtener parte de la progenie de las hembras fertilizando una porción de los huevos (Mackiewicz *et al.* 2005, Byrne y Avise 2009).

6.2 Éxito reproductivo de *S. acapulcoensis*

En el género *Stegastes* se ha observado que el éxito reproductivo de los machos está correlacionado con la latitud, la talla del macho, la presencia de huevos en el nido, el radio sexual, así como por el cortejo (Urbiola-Rangel 2012, Hoelzer 1990, Karino 1995). De lo anterior, en el presente estudio se evaluó el éxito reproductivo de *S. acapulcoensis* para el ciclo anual 2013, mediante una regresión múltiple relacionando la LT de los machos custodios (mm) con el tamaño y la densidad de su nido custodiado (cm²), sin embargo no se encontró relación para ninguno de los periodos analizados ($r^2= 7.2789, p >0.05$ y $r^2= 0.1679, p >0.05$). Cabe señalar que en el periodo *templado* la LT promedio de las hembras fue mayor con respecto a la LT de los machos (González-Valdez *et al.* datos no publicados), además de que se reportó para este periodo una mayor turbidez (PP), lo cual podría considerarse como un factor que pudiera estar interviniendo en la selección de machos por parte de las hembras (Järvenpää y Lindström 2014, Tootell y Steele 2012), ya que al haber menor visibilidad la selección sexual se vuelve más laxa permitiendo mayores oportunidades de apareamiento con individuos más pequeños que las hembras.

En algunas especies de la familia Pomacentridae como: *Stegastes partitus*, *S. rectifraenum*, *S. leucostictus* y *Amblyglyphidodon leucogaster* se ha reportado que las hembras tienden a elegir nidos con la presencia de huevos, sobre todo en los primeros estadios de desarrollo (Petersen 1995, Haley *et al.* 2002) y en otros casos optan por seleccionar al macho mediante el cortejo que este realiza para atraer a la hembra (Karino 1995). En el caso de *S. acapulcoensis*, se puede sugerir que la visibilidad tiene un efecto en la distribución del éxito reproductivo de los machos y probablemente la presencia de huevos en el nido sea otro factor que atrae a las hembras dado que se observó una mayor cantidad de estadios embrionarios en el periodo *templado* en comparación con el periodo *cálido* (obs. per.), además de que en este último la turbidez disminuyó notablemente (PP), y la LT entre hembras y machos fue mínima (González-Valdez *et al.* datos no publicados).

6.3 Asociación de variables ambientales y ecológicas con la frecuencia de poliginia de *S. acapulcoensis*

En años recientes diversos estudios han realizado estudios a nivel espacial (localidades en diferentes latitudes), donde han tomado en cuenta diversas variables ambientales (temperatura superficial del mar, salinidad, turbidez ([Wilson 2009, Mobley y Jones 2009, Myhre et al 2012]) y ecológicas a evaluar (demografía, proporción sexual [Mobley y Jones 2009]), tamaño de la progenie, tamaño del macho custodio ([Wilson 2009, Urbiola-Rangel 2012]), las cuales han tratado de asociarse al SAG de peces marinos para explicar su comportamiento. Sin embargo, de las variables anteriores solo se ha reportado asociación al SAG con la latitud, la temperatura, la producción de huevos, el tamaño de la progenie y a la LT del macho custodio (Wilson 2009, Mobley y Jones 2009).

En el presente estudio se reporta un 100% de poliginia para *S. acapulcoensis* sin diferencias entre el periodo *cálido* (cuatro a seis hembras) y *templado* (tres a seis hembras); $t(1) = 0.2655$ $p > 0.05$. Por otra parte de las variables ambientales y ecológicas analizadas en la localidad de estudio la temperatura, la productividad primaria, la LT de los organismos recolectados y la proporción sexual, presentan diferencias significativas entre periodos (Cuadro 2), observándose un sesgo hacia el número de hembras en el periodo *templado* y un mayor número de machos en el periodo *cálido*.

Con respecto a la ausencia y/o presencia de territorios ocupados por *S. acapulcoensis*, se observa un movimiento constante por parte de los machos a lo largo del año, lo que sugiere que estos peces solo permanecen en un sitio antes y durante los eventos reproductivos, y al termino de estos dejan los sitios de anidación para forrajear (*Dascyllus albisella* [Asoh 2003]); posteriormente regresan y se incorporan a la búsqueda de nuevos territorios que les provean un mayor éxito reproductivo en la temporada (*S. leucostictus* [Itzkowitz et al. 1995]).

7. CONCLUSIONES

La especie objeto de estudio del presente trabajo *S. acapulcoensis* presenta un 100% de poliginia a lo largo del año, sin variación temporal significativa, en la frecuencia de maternidad múltiple con tres a seis hembras involucradas por nido para el periodo *templado* (diciembre-mayo; T°= 24°C) y cuatro a seis hembras por nido en el periodo *cálido* (junio-noviembre; T°= 29°C), se reportó diferencias significativas entre las contribuciones de las hembras donadoras de gametos con hasta 50% de su participación en la progenie (cinco nidos).

Se detectó un total de 85 genotipos maternos diferentes, dos de los cuales se presentaron en ambos periodos analizados y se identificó un genotipo paterno para cada nido. La participación de dos hembras en diferentes momentos, sugiere evidencias de una estrategia reproductiva por parte de ellas ya reportada para otras especies del género (*S. nigricans* y *S. rectifraenum*).

La longitud total de los machos custodios no se relacionó con el número de huevos ni con el tamaño de su nido, por lo que se sugiere que posiblemente la turbidez está afectando la selección sexual por parte de las hembras y/o en su caso elijan a los machos con base en características diferentes a la talla; probablemente el comportamiento de cortejo como sucede en *S. nigricans* (Karino 1995), por la presencia de huevos en el nido (Petersen 1995, Hoelzer 1990, Haley *et al.* 2002) y/o por la agresividad del macho (defensa del nido).

Con respecto a las variables ambientales y ecológicas tomadas en campo e históricas del sitio de estudio, se reporta diferencias significativas entre periodos para la longitud total (LT) de los organismos, la temperatura, turbidez (PP), oxígeno disuelto, la proporción de machos-hembras y la LT entre sexos (Cuadro 3). Aun cuando existe tal variación a lo largo del ciclo anual, se observa que éstas variables no impactan en el SAG de *S. acapulcoensis* en relación al número de hembras involucradas por nido entre el periodo *cálido* y *templado*. Por lo anterior, *S. acapulcoensis* no cumple con el patrón de variación espacial reportado para el POM asociado a la temperatura.

8. LITERATURA CITADA

- Abramoff M. D., P. J. Magalhaes, S. J. Ram. 2004. **Image Processing with ImageJ**. *Biophotonics International* 11: 36-42.
- Acero, P. A. 1978. **Anotaciones ecológicas y sistemáticas sobre los peces de la familia Pomacentridae en el Caribe colombiano**. *Anales del Instituto de Investigaciones Mararinas de Punta Betín*. 10: 249-259.
- Allen G. R. y D. R. Robertson. 1998. **Peces del Pacífico oriental tropical**. Conabio, Agrupación Sierra Madre y Cemex, México. 327 pp.
- Andrew, R. L., L. Bernatchez, A. Bonin, C. A. Buerkle, B. C. Carstens, B. C. Emerson, D. Garant, T. Giraud, N. C. Kane, S. M. Rogers, J. Slate, H. Smith, V. L. Sork, G. N. Stone, T. H. Vines, L. Waits, A. Widmer y L. H. Rieseberg. 2013. **A road map for molecular ecology**. *Molecular Ecology* 22(10): 2605-2626.
- APHA–AWWA-WPCF. 1992. **Methods for the Examination of Water**. American Public Health Association (APHA), American Methods Water Works Association (AWWA), Water Pollution Control Federation (WPCF), USA.
- Asoh, K. 2003. **Reproductive parameters of female Hawaiian damselfish *Dascyllus albisella* with comparison to other tropical and subtropical damselfishes**. *Marine Biology* 143: 803-810.
- Ashton, 2002. **Do amphibians follow Bergmann's rule?** *Canadian Journal of Zoology*, 2002, 80(4): 708-716,
- Ashley M. V., I. C. Caballero, W. Chaovalitwongse, B. Dasgupta, P. Govindan, S. I. Sheikh, e Y. Berger-Wolf. 2009. **KINALYZER, a computer program for reconstructing sibling groups**. *Molecular Ecology Resources* doi: 10.1111/j.1755-0998.2009.02562.x

- Bird, K. L., C. L. Aldridge, J. E. Carpenter, C. A. Paszkowki, M. S. Boyce y D. W. Coltman. 2013. **The secret sex lives of sage-grouse: multiple paternity and intraspecific nest parasitism revealed through genetic analysis.** *Behavioral Ecology* 24(1): 29-38.
- Byrne, R. J. y J. C. Avise. 2009. **Multiple paternity and extra-group fertilizations in a natural population of California grunion (*Leuresthes tenuis*), a beach-spawning marine fish.** *Marine Biology* 156(8): 1681-1690.
- Carvalho M. C., R. Streiff., T. Guillemaud, P. Afonso, R. S. Santos y M. L. Cancela. 2000. **Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers in *Abudefduf luridus*.** *Molecular Ecology* 9: 993-1011.
- Clutton-Brock, T. H. y K. Isvaran. 2007. **Sex differences in ageing in natural populations of vertebrates.** *Proceedings of the royal Biology Society* 274(1629): 3097-3104.
- Deitloff, J., M. A. Alcorn y S. P. Graham. 2014. **Variation in mating systems of salamanders: Mate guarding or territoriality?** *Behavioural Processes* 106: 111-117.
- Denis, G. 1997. **Reproductive behavior and spawning success of female *Amblyglyphidodon leucogaster* (Pisces: Pomacentridae) from the Red Sea.** *Environmental Biology of Fishes* 50: 49-60.
- DeWoody, J. A., Y. D. DeWoody, A. C. Fiumera y J. C. Avise. 2000a. **On the number of reproductives contributing to a half-sib progeny array.** *Genetical Research Cambridge* 75: 95-105.
- DeWoody, J. A. D. E. Fletcher, S. D. Wilkins y J. C. Avise. 2000b. **Parentage and Nest Guarding in the Tessellated Darter (*Etheostoma olmstedi*) Assayed by Microsatellite Markers (Perciformes: Percidae).** *Copeia* 3: 740-747.

- DeWoody, J. A., D. Walker y J. C. Avise. 2000c. **Genetic Parentage in Large Half-Sib Clutches: Theoretical Estimates and Empirical Appraisals.** *Genetics* 154: 1907-1912.
- Emlen, S. T. y L. W. Oring. 1977. **Ecology, sexual selection, and evolution of mating systems.** *Science* 197: 215-223.
- Froese, R. y D. Pauly. 2011. **FishBase.** *World Wide Web electronic publication.* www.fishbase.org
- FitzSimmons N. 1997. **Male marine turtles: gene flow, philopatry and mating systems of the green turtle *Chelonia mydas*.** Tesis Doctoral. Universidad de Queensland. Australia. 241 pp.
- Girndt, A., R. Riesch, C. Schröder, I. Schlupp, M. Plath y R. Tiedemann. 2012. **Multiple paternity in different populations of the sailfin molly, *Poecilia latipinna*.** *Animal Biology* 62(3): 245-262.
- González-Valdez, V. L., J. A. Villa-Melchor, L. Mendoza-Cuenca y O. Chassin-Noria. 2013. **Identificación del sistema de apareamiento de *Stegastes diencaeus*: Un análisis con microsatélites.** *Biológicas* 15(2): 25-30.
- Grove, J. S., D. Gerzon, M. D. Saa y C. Strang. 1986. **Distribución y ecología de la familia Pomacentridae (Pisces) en las islas Galápagos.** *Revista biología tropical* 34(1): 127-140.
- Haley, M. P., M. Itzkowitz y A. L. Cleveland. 2002. **Female choice for males in the beaugregory damselfish.** *Caribbean Journal of Science* 38(1-2): 143-144.

- Harrington, M. E. y G. S. Losey. 1990. **The importance of species identification and location interspecific territorial defense by the damselfish *Stegastes fasciolatus*.** *Environmental Biology of Fishes* 27: 139-145
- Hoelzer G. A. 1990. **Male-male competition and female choice in the Cortez damselfish, *Stegastes rectifraenum*.** *Animal behavior* 40: 339-349.
- Hoelzer G. A. 1992. **The ecology and evolution of partial-clutch cannibalism by paternal Cortez damselfish.** *Oikos* 65:113-120.
- Hughes, C. 1996. **Integrating molecular techniques with field methods in studies of social behavior: a revolution results.** *Molecular Techniques in Ecology* 79: 383-399.
- Itzkowitz, M., D. E. Itzkowitz y D. Shelly. 1995. **Territory use and disuse in the beaugregory damselfish.** *Bulletin of Marine Science* 57: 653-662.
- Järvenpää, M. y K. Lindström. 2004. **Water turbidity by algal blooms causes mating system breakdown in a shallow-water fish, the sand goby *Pomatoschistus minutus*.** *The Royal Society* 271: 2361-2365.
- Jones, A. G. 2005. **GERUD 2.0: a computer program for the reconstruction of parental genotypes from half-sib progeny with known or unknown parents.** *Molecular Ecology Notes* 5: 708-711.
- Karino, K. 1995. **Male – male competition and female mate choice through courtship display in the territorial damselfish *Stegastes nigricans*.** *Ethology* 100: 126–138.
- Knapp, R. A., J. T. Kovach. 1991. **Courtship as an honest indicator of male parental quality in the bicolor damselfish, *Stegastes partitus*.** *Behavioural Ecology* 2: 295–300.

- Kvarnemo, C. y S. Merilaita. 2006. **Mating distribution and its temporal dynamics affect operational sex ratio: a simulation study.** *Biological Journal of the Linnean Society* 89: 551-559.
- Liker, A., P. R. Freckleton y T. Székely. 2014. **Divorce and infidelity are associated with skewed adult sex ratios in birds.** *Current Biology* 24(8): 880-884.
- López-Uriarte, E. y E. Ríos-Jara. 2009. **Reproductive biology of *Octopus hubbsorum* (Mollusca: Cephalopoda) along the central Mexican Pacific coast.** *Bulletin of Marine Science* 84: 109-121.
- Mackiewicz, M., B. A. Porter, E. E. Dakin y J. C. Avise. 2005. **Cuckoldry rates in the Molly Miller (*Scartella cristata*; Blenniidae), a hole-nesting marine fish with alternative reproductive tactics.** *Marine Biology* 148(1): 213-221.
- Mackiewicz, M., D. E. Fletcher, S. D. Wilkins, J. A. DeWoody y J. C. Avise. 2002. **A genetic assessment of parentage in a natural population of dollar sunfish *Lepomis marginatus*.** *Molecular Ecology* 11: 1877-1883.
- Marcos-Camacho, S., E. Enriquez-Hernandez, M. Solís-Mendoza y L. Mendoza-Cuenca. 2011. **Selección y distribución del hábitat de especies del genero *Stegastes* en el Parque Nacional Arrecife de Puerto Morelos, Quintana Roo.** *Biológicas* 13(2): 36-40.
- Matsumoto, Y. y T. Takegaki. 2013. **Female mate choice copying increases egg survival rate but does not reduce mate-sampling cost in the barred-chin blenny.** *Animal Behaviour* 86(2): 339-346.
- McCoy, E. E., A. G. Jones y J. C. Avise. 2001. **The genetic mating system and tests for cuckoldry in a pipefish species in which males fertilize eggs and brood offspring externally.** *Molecular Ecology* 10: 1793-1800.

- Meekan, M. G., J. L. Ackerman y G. M. Wellington. 2001. **Demography and age structures of coral reef damselfishes in the tropical eastern Pacific Ocean.** *Marine Ecology Progress Series* 212: 223-232.
- Mobley, K. B. y A. G. Jones. 2009. **Environmental, demographic, and genetic mating system variation among five geographically distinct dusky pipefish (*Syngnathus floridae*) populations.** *Molecular Ecology* 18: 213-221.
- Munkres, K. P., L. K. Bay, D. R. Jerry, M. I. McCormick y L. Van Herwerden. 2006. **Development and characterization of microsatellite markers for parentage analyses of the coral reef damselfish (*Pomacentrus amboinensis*: Pomacentridae).** *Conservation Genetics* 8(4): 987-990.
- Myhre, L. C., E. Forsgren y T. Amundsen. 2012. **Effects of habitat complexity on mating behavior and mating success in a marine fish.** *Behavioral Ecology* 24(2): 553-563.
- Ocean Color WEB/NASA* (2013). En línea: <http://oceancolor.gsfc.nasa.gov/>
- Pankhursts, N. W. 1995. **Hormones and reproductive behavior male damselfish.** *Bulletin of Marine Sciences* 57(3): 569-581.
- Petersen, C. W. 1995. **Male mating success and female choice in permanently territorial damselfishes.** *Bulletin of Marine Sciences* 57(3): 690-704.
- Piñeros, J. V., O. Ríos-Cardenas, C. Gutierrez-Rodríguez y L. Mendoza-Cuenca. 2015. **Morphological differentiation in the damselfish *Abudefduf saxatilis* along the Mexican Atlantic coast is associated with environmental factors and high connectivity.** *Evolutionary Biology* 42(2): 235-249.

- Platek S. M y T. K. Shackelford. 2006. **Introduction to theory and research on anti-cuckoldry tactics: overview of current volume.** En: Platek S. M. y T. K. Shackelford (Ed.) *Female infidelity and paternal uncertainty.* Cambridge University Press, Cambridge. 3–13 pp.
- Prappas, J. M., E. G. Lawrence y R. White. 1991. **Reproductive behavior of the sergeant major, *Abudefduf saxatilis*, within a closed system aquarium.** *Environmental Biology of Fishes* 31: 33-40.
- Řežucha, R. y M. Reichard. 2014. **The effect of social environment on alternative mating tactics in male Endler's guppy, *Poecilia wingei*.** *Animal Behaviour* 88: 195-202.
- Rios-Cardenas O. y M. R. Morris. 2011. **Mating Systems and Strategies of Tropical Fishes.** En: UNESCO (Ed.) *Tropical Biology and Conservation Management.* Vol. VII. EOLSS Publishers, Oxford, UK.
- Sasal, P. 2006. **Nest guarding in a damselfish: evidence of a role for parasites.** *Journal of Fish Biology* 68: 1215-1221.
- Singer, A., C. Kvarnemo, K. Lindstrom y O. Svensson. 2006. **Genetic mating patterns studied in pools with manipulated nest site availability in two populations of *Pomatoschistus minutus*.** *Journal of Evolutionary Biology* 19(5): 1641-1650.
- Székely T., J. N. Webb e I. C. Cuthill. 2000. **Mating patterns, sexual selection and parental care: an integrative approach.** En: M. Apollonio, M. Festa-Bianchet y D. Mainardi (Eds.) *Vertebrate Mating Systems.* World Science Press, London. 194-223 pp.
- Takeshi, T. y A. Nakazono. 1999. **Responses of the egg-tending gobiid fish *Valenciennesa longipinnis* to the fluctuation of dissolved oxygen in the burrow.** *Bulletin of Marine Science* 65: 815-823.

- Thiessen, R. J. y D. D. Heath. 2007. **Characterization of one trinucleotide and six dinucleotide microsatellite markers in bicolor damselfish, *Stegastes partitus*, a common coral reef fish.** *Conservation Genetics* 8: 983-985.
- Uller, T. y M. Olsson. 2008. **Multiple paternity in reptiles: patterns and processes.** *Molecular Ecology* 17(11): 2566-2580.
- Urbiola-Rangel E. 2012. **Sistema de apareamiento genético de *Stegastes acapulcoensis* (Pomacentriade) en el Pacífico central de México.** Tesis de Maestría. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Michoacán, México. 53 pp.
- Urbiola-Rangel, E. y O. Chassin-Noria. 2013. **Conectividad genética de *Stegastes acapulcoensis* (Pomacentridae) en el Pacífico central de México.** *Hidrobiológica* 23(3): 275-279.
- Valencia-Méndez O. 2014. **Aspectos reproductivos y dinámica poblacional en la damisela *Stegastes acapulcoensis* (Fowler, 1944) (Actinopterygii: Pomacentridae) de la bahía la Entrega, Oaxaca, México.** Tesis de Maestría. Universidad del Mar. Oaxaca, México. 56 pp.
- Van Rooij, J. M., F. J. Kroon y J. J. Videler. 1996. **The social and mating system of the herbivorous reef fish *Sparisoma viride* one male versus multi-male groups.** *Environmental Biology of Fishes* 47: 353-378.
- Wellington, G. M. y B. C. Victor. 1989. **Planktonic larval duration of one hundred species of Pacific and Atlantic damselfishes (Pomacentridae).** *Marine Biology* 101: 557-567.
- Williams, D. A., J. Purcell, C. R. Hughes y R. K. Cowen. 2003. **Polymorphic microsatellite loci for population studies of the bicolor damselfish, *Stegastes partitus* (Pomacentridae).** *Molecular Ecology* 3: 547-549.

Wilson, A. B. 2009. **Fecundity selection predicts Bergmann's Rule in syngnathid fishes.**
Molecular Ecology 18: 1263-1272.

9. DISCUSION GENERAL

En el presente estudio se evaluaron diferentes variables ambientales y ecológicas temporales (2013) e históricas (2003 al 2013) para la localidad de la Manzanillera, Mich., en el POM donde habita el pez damisela *S. acapulcoensis*. La Manzanillera es un sitio poco estudiado por lo que los resultados aquí reportados para las variables ambientales y ecológicas son registradas por primera vez para la localidad. Estas variables analizadas fueron relacionadas al SAG de *S. acapulcoensis* el cual se reportó con un sistema de apareamiento poligínico a lo largo del año, con un intervalo de tres a seis hembras involucradas por nido donadoras de gametos en diferentes proporciones; y con evidencia que sugiere que las hembras se reproducen con más de un macho en cada evento reproductivo. Por otra parte se encontró el genotipo de un solo macho para cada nido, lo cual permite inferir sobre la eficacia de los machos custodios para defender su nido, evitando el robo de fertilización por parte de otros machos, estos últimos mejor conocidos como machos “cuckoldry” quienes aprovechan el momento en que las hembras ovopositan en el sustrato para fertilizar parte de los huevos (Singer 2006, Mackiewicz *et al.* 2006), aunque esta estrategia reproductiva parece ser poco frecuente en esta especie, ya que solo se ha reportado en una población del estado de Jalisco en baja proporción (16%) (Urbiola-Rangel 2012).

Se ha argumentado que la reproducción de diferentes especies de peces depende de la variación espacial y temporal de variables ambientales y ecológicas tales como la temperatura (*S. floriadae*), la turbidez (*S. nigricans*; *P. minutus*), la presencia de huevos en el nido (*S. partitus*, *S. rectifraenum*, *S. dorsopunicans*, *S. leucostictus*), el tamaño del macho custodio (*P. minutus*; *G. flavescens*), entre otros (Petersen 1995, Haley *et al.* 2002; Järvenpää y Lindström 2004, Myhre *et al.* 2012, Andrew *et al.* 2013). Dichos factores pueden modificar el sistema de apareamiento de estos organismos (Moblely y Jones 2009). En este estudio se sugiere que la turbidez y la proporción sexual son factores que pueden influir en las estrategias de apareamiento de *S. acapulcoensis*, ya que se observó que durante el periodo *templado* (diciembre-mayo), que presenta mayor producción de productividad primaria se asocia con poca o nula visibilidad; además de que en este periodo se registra una mayor proporción de hembras (González-Valdez *et al.* datos no publicados) todo ello en comparación con el periodo *cálido* (junio-noviembre), que presenta en contraste las temperaturas más cálidas del año (29 °C), mejor visibilidad y menor proporción de hembras. De acuerdo con este resultado

y las variables analizadas para la localidad de estudio, se presume que al haber menor visibilidad las hembras se vuelven menos selectivas y la selección sexual se vuelve más laxa permitiendo que machos de diferentes tamaños tengan la misma probabilidad de ser elegidos (Järvenpää y Lindström 2014, Tootell y Steele 2012), siendo estas variables quien pudieran estar modificando la estrategia de selección.

S. acapulcoensis no presenta variación temporal en el SAG para la localidad de la Manzanillera, Mich., a pesar de las diferencias reportadas en el presente trabajo para variables ambientales y ecológicas, ya que ello no afectó el número de hembras involucradas por nido entre periodos.

10. PERSPECTIVAS Y/O RECOMENDACIONES

Para estudios a futuro sería conveniente ampliar las observaciones en campo en la Manzanillera, Mich., llevar a cabo estudios conductuales *in situ* para *S. acapulcoensis*, en una escala de días o semanas por cada mes a lo largo del año, con el fin de comprender las características que los machos y/o las hembras eligen para aparearse con el sexo opuesto.

Tomar en cuenta para el análisis reproductivo variables semejantes a las ya evaluadas para especies del género como: el cortejo, presencia o ausencia de huevos en el nido e incluso estímulos olfatorios u hormonales en ambientes turbios.

Además, es conveniente el realizar estudios en otras localidades del POM, para ampliar aún más el panorama del comportamiento reproductivo de este pez endémico de dicha región.

Idear estrategias para capturar y marcar a los machos custodios, de esta manera poder ser monitoreados a lo largo del año.

ANEXO 1

Probabilidad de exclusión de maternidad en relación al número de *loci*

Se realizaron simulaciones en el software GERUD 2.0 (Jones 2005) donde se analizó la probabilidad de exclusión en relación al número de *loci* a utilizar. En este ejercicio se excluyó al *locus* con la menor probabilidad de exclusión (*SpGATA-40*; 0.87). Los resultados de las probabilidades de exclusión con respecto al número de *loci* utilizados se observan en el cuadro 1, así como la tendencia de los mismos (Figura 1).

Cuadro 1. Probabilidades de exclusión con respecto al número de *locus* utilizados en la prueba: de dos a 10 *loci*.

| Probabilidad de exclusión | # Loci |
|---------------------------|--------|
| 0.99059722 | 2 |
| 0.998993959 | 3 |
| 0.999873189 | 4 |
| 0.999963381 | 5 |
| 0.99999598 | 6 |
| 0.999999984 | 8 |
| 1 | 10 |

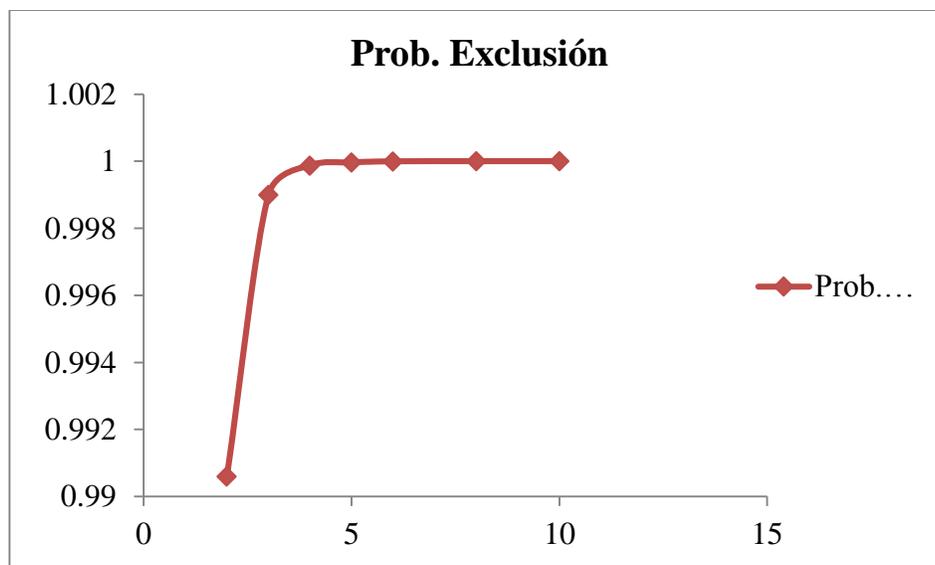


Figura 1. Tendencia de las probabilidades de exclusión en relación al número de *loci* utilizados excluyendo al *locus* con la menor probabilidad de exclusión (*SpGATA-40*).

Por otra parte, se realizaron simulaciones involucrando al *locus* con la menor probabilidad de exclusión (*SpGATA40*). En estas simulaciones se analizó la tendencia de la probabilidad de exclusión más baja de los *loci* a utilizar (Cuadro 2, figura 2).

Cuadro 2. Probabilidades de exclusión con respecto al número de *locus* utilizados en la prueba de dos a 10 *loci*.

| Probabilidad de exclusión | # Loci |
|---------------------------|--------|
| 0.984100169 | 2 |
| 0.997994399 | 3 |
| 0.999747195 | 4 |
| 0.99999598 | 6 |
| 0.999999936 | 8 |
| 0.999999999 | 10 |

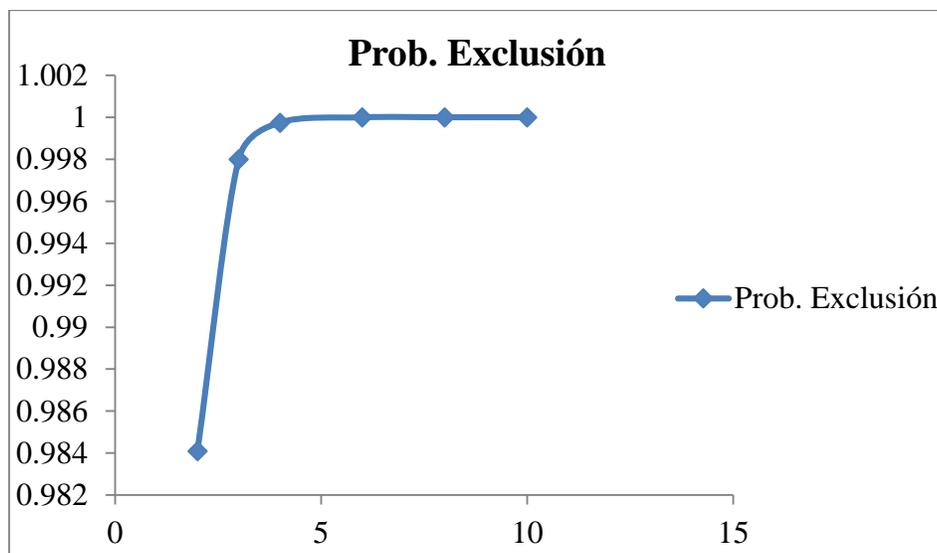


Figura 2. Tendencia de la probabilidad de exclusión incluyendo al *locus* con la menor probabilidad de exclusión (*SpGATA-40*) para todos los casos.

El análisis anterior indica que la probabilidad de exclusión está relacionada al número de *loci* utilizados; por lo que la asíntota se alcanza a partir de tres *loci* con una probabilidad de exclusión de 0.998 cuando se excluye *SpGATA-40* y 0.997 cuando este microsatélite es incluido. Por lo tanto, el uso de tres *loci* para el análisis de maternidad múltiple nos resulta conveniente, puesto que la probabilidad de exclusión entre tres y 10 *loci* es mínima; además de que el costo económico e inversión de horas hombre se ve disminuida.

ANEXO 2

Experimentos *in silico*

Los experimentos *in silico* son simulaciones por computadora, aplicados a poblaciones teóricas de medios hermanos cuyas progenies exceden las 100 crías (ej. peces, anfibios, insectos) (Mackiewicz *et al.* 2002), que permiten inferir el número de embriones necesarios para identificar al menos un alelo de los padres que contribuyen en el nido (n), así como el número de progenie necesaria para identificar los genotipos de todos los padres involucrados (n^*). Dichas simulaciones se corren en el Software MatLab, con el programa “BROOD”. Los datos que se requieren para realizar dicha simulación son: el tamaño de la progenie, la frecuencia de genotipos y tamaño de la población adulta, el número de *loci* y el número de padres o madres no compartidos en la progenie (DeWoody *et al.* 2000a).

Una progenie promedio de *S. acapulcoensis* está estimada entre los 12,716 y 91,858 huevos por nido (Urbiola-Rangel 2012), dificultando realizar un análisis exhaustivo de las progenies, y haciendo útil las simulaciones *in silico* en MatLab con el programa BROOD (DeWoody *et al.* 2000a), para identificar el número mínimo de embriones que nos permitan obtener los genotipos de los padres que contribuyen en las progenies. Para esto se utilizaron los siguientes datos: frecuencias de los genotipos de tres *loci* (SpGATA-40, SpGATA-16 y SpTG-53) para una población promedio de 29 individuos con 101 alelos en total (Urbiola-Rangel y Chassin-Noria 2013), de dos a siete hembras involucradas por nido con una frecuencia de contribución igual para todos los casos y un tamaño de progenie de 1000 embriones (Cuadro 1; Figura 1).

Cuadro 1. Experimentos *in silico* de la población de *S. acapulcoensis* con un intervalo de dos a siete hembras no compartidas en cada caso (datos en crudo). **La frecuencia de contribución de cada hembra es igual para todos los casos**, con un nivel de confianza estimado del 95%. “n”= alelos de los padres involucrados; n*= número de embriones necesarios para detectar a los genotipos de cada uno los padres involucrados en la progenie.

| Hembras | Frecuencia de contribución | n | std n | 95% n | n* | std n* | 95% n* | Gametos |
|---------|----------------------------|----|---------|-------|----|---------|--------|---------|
| 2 | 0.5 | 11 | 3.3984 | 16.9 | 11 | 3.3561 | 17 | 4 |
| 3 | 0.3333 | 17 | 6.3067 | 29.5 | 18 | 6.1653 | 30 | 5.8 |
| 4 | 0.25 | 25 | 9.4339 | 44.5 | 27 | 8.6543 | 44.8 | 7.4 |
| 5 | 0.2 | 35 | 11.0639 | 57.5 | 37 | 10.9341 | 60 | 9 |
| 6 | 0.1667 | 41 | 12.9716 | 67.5 | 45 | 14.4672 | 75.4 | 10.7 |
| 7 | 0.1429 | 50 | 18.3339 | 87.8 | 56 | 16.7291 | 89.5 | 11.5 |

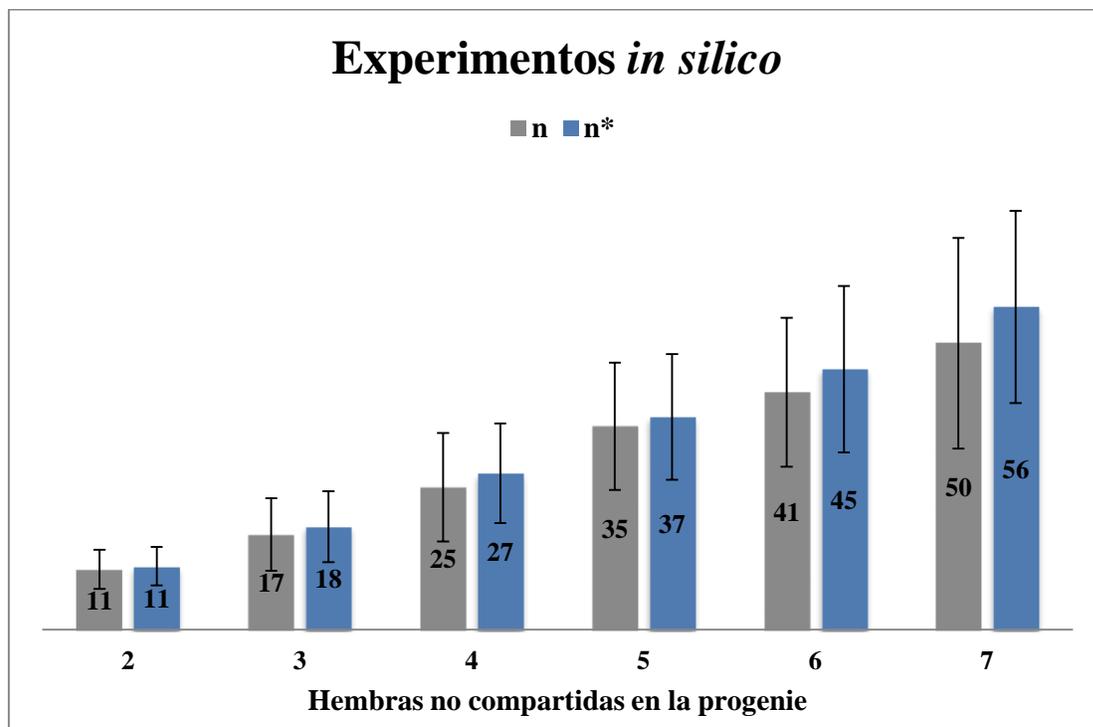


Figura 1. Número de embriones mínimo necesario para detectar los alelos de los padres involucrados (n; barra gris), así como el número de embriones necesarios para detectar a los genotipos de cada uno los padres involucrados en la progenie (n*; barra azul), **con dos a siete hembras no compartidas con contribuciones en partes iguales en la generación de una progenie**, a un nivel de confianza del 95%.

Por lo anterior podemos deducir que para poder detectar la contribución de hasta siete hembras en un nido de *S. acapulcoensis*, es necesario analizar entre 50 a 56 embriones. Sin embargo, en el género se ha reportado la contribución de hasta cinco hembras por nido (20 a 35 embriones) con diferentes porcentajes de contribución en el nido (Urbiola-Rangel 2012, González-Valdez *et al.* 2013). Por lo que para el presente trabajo se tomó en cuenta un intervalo de entre 18 a 39 embriones para la identificación de las madres involucradas en 18 nidos de *S. acapulcoensis* recolectados en la Manzanillera, Mich.

LITERATURA CITADA

- DeWoody, A., J. Y. D. DeWoody, A. C. Fiumera y J. C. Avise. 2000a. **On the number of reproductives contributing to a half-sib.** *Genetic Research, Cambridge*. **75**: 95-105.
- González-Valdez, V. L., J. A. Villa-Melchor, L. Mendoza-Cuenca y O. Chassin-Noria. 2013. **Identificación del sistema de apareamiento de *Stegastes diencaeus*: Un análisis con microsatélites.** *Biológicas* 15 (2): 25-30.
- Mackiewicz, M., D. E. Fletcher, S. D. Wilkins, J. A. DeWoody y J. C. Avise. 2002. **A genetic assessment of parentage in a natural population of dollar sunfish *Lepomis marginatus*.** *Molecular Ecology* 11: 1877-1883.
- Urbiola-Rangel E. 2012. **Sistema de apareamiento genético de *Stegastes acapulcoensis* (Pomacentriade) en el Pacífico central de México.** Tesis de Maestría. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Michoacán, México. 53 pp.
- Urbiola-Rangel, E. y O. Chassin-Noria. 2013. **Conectividad genética de *Stegastes acapulcoensis* (Pomacentridae) en el Pacífico central de México.** *Hidrobiológica* 23(3): 275-279.

ANEXO 3

Genotipos de hembras y machos.

Cuadro 1. Genotipos maternos de los 16 nidos analizados. En cursivas se denota a las hembras cuyos genotipos se repiten en más de un nido (18* y 26*).

| Nido | Hembras | Genotipo | | | |
|-------------|----------------|-----------------|-----------------|---------------|----------------|
| | | <i>SpGATA40</i> | <i>SpGATA16</i> | <i>SpTG53</i> | <i>SpAAT39</i> |
| 1 | 1 | 183/203 | 155/163 | 253/257 | |
| | 2 | 179/215 | 163/199 | 265/219 | |
| | 3 | 187/179 | 171/163 | 217/259 | |
| | 4 | 187/191 | 151/159 | 243/257 | |
| | 5 | 187/211 | 163/171 | 217/233 | |
| | 6 | 171/187 | 163/199 | 219/233 | |
| 2 | 7 | 179/179 | | 269/253 | 157/187 |
| | 8 | 179/179 | | 253/259 | 157/203 |
| | 9 | 199/195 | | 217/233 | 157/166 |
| | 10 | 199/195 | | 269/253 | 157/187 |
| | 11 | 199/195 | | 217/233 | 160/169 |
| 3 | 12 | 187/179 | 187/103 | 185/185 | |
| | 13 | 219/223 | 107/167 | 205/207 | |
| | 14 | 219/223 | 171/171 | 225/183 | |
| | 15 | 219/183 | 107/175 | 225/185 | |
| | 16 | 183/179 | 107/187 | 225/183 | |
| 4 | 17 | 195/195 | 167/167 | 227/265 | |
| | 18* | 195/195 | 167/171 | 223/215 | |
| | 19 | 195/199 | 171/183 | 227/249 | |
| | 20 | 195/235 | 175/191 | 215/225 | |
| | 21 | 191/187 | 175/191 | 249/223 | |
| 5 | 22 | 175/151 | 171/191 | 249/197 | |
| | 23 | 195/151 | 171/171 | 249/213 | |
| | 24 | 219/223 | 139/139 | 249/249 | |
| 6 | 25 | 207/207 | | 207/277 | 154/154 |
| | 26* | 207/179 | | 207/223 | 169/148 |
| | 27 | 179/195 | | 271/225 | 148/148 |
| | 28 | 175/171 | | 207/223 | 169/148 |
| | 29 | 195/199 | | 271/271 | 169/163 |
| 7 | 30 | 219/183 | 167/163 | 211/227 | |
| | 31 | 219/183 | 167/163 | 199/201 | |
| | 32 | 219/203 | 167/167 | 225/217 | |
| | 33 | 183/191 | 163/191 | 199/225 | |
| | 34 | 191/203 | 167/187 | 219/227 | |
| | 35 | 191/203 | 187/155 | 199/279 | |
| 8 | 36 | 211/151 | 155/163 | 207/177 | |

| | | | | |
|------------|-----|---------|---------|-----------------|
| | 37 | 199/187 | 155/155 | 229/223 |
| | 38 | 227/191 | 155/199 | 219/223 |
| | 39 | 227/151 | 155/155 | 229/229 |
| | 40 | 187/151 | 199/151 | 207/205 |
| 9 | 41 | 187/223 | 151/163 | 245/257 |
| | 42 | 187/211 | 135/159 | 245/245 |
| | 43 | 203/239 | 171/179 | 219/233 |
| | 44 | 139/163 | 155/159 | 225/245 |
| | 45 | 191/199 | 171/195 | 219/245 |
| | 46 | 187/211 | 135/159 | 245/245 |
| 10 | 47 | 203/203 | 171/159 | 207/207 |
| | 48 | 203/219 | 167/159 | 213/205 |
| | 49 | 203/219 | 167/159 | 239/209 |
| | 50 | 207/183 | 167/167 | 239/239 |
| 11 | 51 | 171/171 | 183/183 | 215/187 |
| | 52 | 171/175 | 187/179 | 231/215 |
| | 53 | 171/191 | 159/191 | 207/207 |
| | 54 | 203/203 | 191/191 | 251/223 |
| | 55 | 203/191 | 171/179 | 251/223 |
| 12 | 56 | 155/155 | 159/191 | 211/245 |
| | 57 | 219/207 | 183/171 | 179/221 |
| | 58 | 219/215 | 187/155 | 211/245 |
| | 59 | 187/131 | 175/175 | 179/179 |
| | 60 | 215/131 | 175/175 | 221/221 |
| 13 | 61 | 187/199 | 135/159 | 223/233 |
| | 62 | 183/195 | 135/151 | 215/233 |
| | 63 | 163/207 | 131/151 | 215/223 |
| | 64 | 163/151 | 131/143 | 225/233 |
| | 65 | 175/179 | 135/135 | 221/233 |
| | 66 | 159/168 | 143/147 | 215/217 |
| 14 | 18* | 195/195 | | 223/215 169/184 |
| | 67 | 195/191 | | 249/205 169/160 |
| | 68 | 195/191 | | 249/203 166/163 |
| | 26* | 179/179 | | 211/223 169/184 |
| | 69 | 179/179 | | 179/189 160/151 |
| | 70 | 179/211 | | 207/207 166/151 |
| 15 | 71 | 187/187 | 175/183 | 257/265 |
| | 72 | 187/223 | 139/175 | 243/243 |
| | 73 | 187/223 | 139/171 | 241/257 |
| | 74 | 187/175 | 163/175 | 231/217 |
| | 75 | 191/227 | 179/223 | 279/249 |
| | 76 | 227/195 | 175/183 | 249/205 |
| 16a | 77 | 179/167 | 179/167 | 251/271 |

| | | | | |
|------------|----|---------|---------|---------|
| | 78 | 171/191 | 199/155 | 223/215 |
| | 79 | 171/191 | 195/131 | 215/215 |
| | 80 | 171/199 | 183/167 | 251/199 |
| 16b | 81 | 183/183 | 187/155 | 253/253 |
| | 82 | 183/171 | 187/187 | 253/195 |
| | 83 | 183/171 | 155/155 | 215/252 |
| | 84 | 203/203 | 171/167 | 251/251 |
| | 85 | 203/191 | 171/159 | 253/197 |

Cuadro 2. Genotipos de machos custodios de cada uno de los nidos analizados con tres microsatélites. Solo en tres de los nidos difiere un microsatélite, donde se sustituyó *SpGATA16* por *SpAAT39* debido a inconvenientes en su amplificación.

| Nido | <i>SpGATA40</i> | <i>SpGATA16</i> | <i>SpTG53</i> | <i>SpAAT39</i> |
|-------------|-----------------|-----------------|---------------|----------------|
| 1 | 175/179 | 159/163 | 207/219 | - |
| 2 | 199/203 | - | 225/189 | 178/175 |
| 3 | 187/219 | 107/171 | 207/225 | - |
| 4 | 191/199 | 171/175 | 203/223 | - |
| 5 | 151/195 | 171/179 | 235/197 | - |
| 6 | 191/175 | - | 277/233 | 148/154 |
| 7 | 199/207 | 191/191 | 211/219 | - |
| 8 | 191/223 | 195/155 | 263/211 | - |
| 9 | 199/212 | 163/183 | 203/223 | - |
| 10 | 187/187 | 171/143 | 207/213 | - |
| 11 | 215/199 | 183/175 | 187/205 | - |
| 12 | 199/219 | 159/171 | 255/221 | - |
| 13 | 171/175 | 135/143 | 217/223 | - |
| 14 | 211/187 | 179/189 | 166/169 | - |
| 15 | 207/179 | 175/183 | 231/243 | - |
| 16 | 163/195 | 183/199 | 199/215 | - |

ANEXO 4**Identificación de “cuckoldry”****1. Frecuencia de alelos****Cuadro 1.** Base de datos de alelos dentro de una progenie analizada con un locus.

| 19 Larvas | Locus 1 | | Alelo | Frecuencia |
|-----------|---------|-----|------------|------------|
| | | | | |
| 1 | 158 | 182 | 158 | 14 |
| 2 | 178 | 182 | 178 | 4 |
| 3 | 182 | 190 | 182 | 10 |
| 4 | 158 | 158 | 142 | 1 |
| 5 | 178 | 182 | 166 | 4 |
| 6 | 142 | 158 | 176 | 1 |
| 7 | 166 | 158 | 138 | 1 |
| 8 | 158 | 152 | 190 | 1 |
| 9 | 158 | 158 | 156 | 1 |
| 10 | 166 | 156 | 152 | 1 |
| 11 | 158 | 158 | | |
| 12 | 176 | 158 | | |
| 13 | 178 | 182 | | |
| 14 | 178 | 182 | | |
| 15 | 158 | 182 | | |
| 16 | 158 | 158 | | |
| 17 | 166 | 182 | | |
| 18 | 138 | 158 | | |

Identificar los alelos diferentes y los más frecuentes en la base de datos de los alelos de la progenie (Cuadro 1); se marca los dos alelos que se repiten más veces en la base de datos, los cuales formarán el genotipo del macho custodio. De acuerdo con el cuadro 1, los alelos más frecuentes son **158** y **182**.

2. Apareamientos

El siguiente paso es verificar que los alelos frecuentes se emparejen con el resto de los alelos (apareamientos). Para aquél o aquellos alelos que no se emparejen con los del macho custodio, se identificarán como alelos de macho (s) “cuckoldry”.

*En el ejemplo podemos observar en color amarillo el alelo 156 el cual se repite solo una vez y no se empareja con ninguno de los alelos más frecuentes (i.e. macho custodio), por lo tanto se infiere que ese alelo pertenece a un macho “cuckoldry” encontrado en baja frecuencia.

Es posible detectar “cuckoldry” siguiendo los pasos antes mencionados independientemente del escenario que nos presente. Y esto es posible aunque no se tenga certeza del genotipo del macho custodio, ya que es posible inferirlo.

ESCENARIOS:

Primer escenario.

100% de paternidad del macho custodio (dos alelos frecuentes).

Los alelos involucrados en la generación de esta progenie pertenecerán a un macho y a una o varias hembras, observándose en la frecuencia de alelos, donde los más frecuentes (macho custodio) se emparejarán con el resto de los alelos; de esta manera se descarta paternidad múltiple.

Segundo escenario.

90% de paternidad del macho custodio y 10% de un macho “cuckoldry” (dos alelos más frecuentes y uno o dos alelos con poca frecuencia).

Es posible detectarlo. Nuevamente frecuencia más alta de alelos corresponderá al custodio, los alelos del macho “cuckoldry” estarán en baja frecuencia. Estos últimos se identifican debido a que sus alelos no se emparejan con los del macho custodio, por lo tanto se infiere que son de otro u otros machos “cuckoldry”.

Ejemplo:

Progenie de 50 larvas.

Proporciones y genotipo:

Macho custodio 90% (a, b)

Macho “cuckoldry” 10% (g, h)

Hembra- α 50% (c, d); hembra- β 50% (e, f)

Debido a que el alelo “g” y “h” no se emparejan con los frecuentes, se deduce que se trata de un “cuckoldry”, los cuales se presentan en baja frecuencia (cuadro 2). En el cuadro 1 se puede observar los apareamientos dentro de la progenie y la identificación de los alelos del macho “cuckoldry”.

Cuadro 1. Apareamientos del macho custodio con las dos hembras (46 larvas en la progenie). La progenie que pertenece al macho “cuckoldry” se observa en negritas y resaltado en color amarillo, el cual se aparea con la hembra- β (4 larvas en la progenie).

| | | | |
|----------|----------|---|---|
| a | e | b | e |
| a | f | b | f |
| b | e | a | e |
| b | f | a | f |
| a | e | b | e |
| a | f | b | f |
| b | e | a | e |
| b | f | a | f |
| a | e | b | e |
| a | f | b | f |
| b | f | a | e |
| g | e | a | f |
| a | c | b | c |
| a | d | b | d |
| b | c | a | c |
| b | d | a | d |
| a | c | b | c |
| a | d | b | d |
| b | c | a | c |
| b | d | a | d |
| a | c | b | c |

| | | | |
|---|---|---|---|
| a | d | b | d |
| g | f | a | c |
| h | e | a | d |
| a | b | h | f |

Cuadro 2. Frecuencias de alelos. El alelo “a” y el “b” son los más frecuentes en la progenie. Por lo tanto pertenecen al macho custodio.

| Alelo | Frecuencia |
|-------|------------|
| a | 25 |
| b | 22 |
| e | 14 |
| f | 14 |
| c | 11 |
| d | 11 |
| g | 2 |
| h | 2 |

Tercer escenario.

50% de paternidad del macho custodio y 50% de paternidad del macho “cuckoldry” (cuatro alelos frecuentes).

En este escenario no es posible inferir los alelos del macho custodio, el “cuckoldry” y el de las hembras, debido a que la frecuencia de alelos es la misma (Cuadro 5).

Ejemplo:

Progenie de 40 larvas.

Proporciones:

Macho custodio 50% (a, b)

Macho “cuckoldry” 50% (g, h)

Hembra α 50% (c, d); Hembra β 2; 50% (e, f)

Cuadro 3. Apareamientos del macho custodio con las dos hembras (20 larvas en la progenie).

| | | | |
|---|---|---|---|
| a | e | a | c |
| a | f | a | d |
| b | e | b | c |
| b | f | b | d |
| a | e | a | c |
| a | f | a | d |
| b | e | b | c |
| b | f | b | d |
| a | e | a | c |
| a | f | a | d |
| b | e | b | c |
| b | f | b | d |

Cuadro 4. Apareamientos del macho “cuckoldry” con las dos hembras (20 larvas en la progenie).

| | | | |
|----------|----------|----------|----------|
| g | e | g | c |
| g | f | g | d |
| h | e | h | c |
| h | f | h | d |
| g | e | g | c |
| g | f | g | d |
| h | e | h | c |
| h | f | h | d |
| g | e | g | c |
| g | f | g | d |
| h | e | h | c |
| h | f | h | d |

Cuadro 5. Frecuencias de los alelos. Los ocho alelos cuentan con la misma frecuencia en la progenie, por lo tanto no es posible diferenciar entre machos y hembras.

| Alelo | Frecuencia |
|-------|------------|
| a | 12 |
| b | 12 |
| e | 12 |
| f | 12 |
| c | 12 |
| d | 12 |
| g | 12 |
| h | 12 |

3. Entonces, ¿Cuál es el umbral para poder distinguir “cuckoldry”?

Es posible distinguir los alelos de un macho custodio a los de un “cuckoldry”, siempre y cuando la proporción del custodio sea entre el 55 al 100% de la progenie.

Dado que la proporción del macho custodio por debajo del 55% nos arroja frecuencias de alelos iguales, lo cual nos impide identificar los alelos del macho custodio. Por lo tanto, mientras que el macho custodio tenga una proporción superior al 55% de paternidad es posible detectar “cuckoldry”.

A continuación describo dos ejemplos para poder tener más en claro lo anterior.

Ejercicio 1. Macho custodio con una proporción del 54% de la progenie. Macho “cuckoldry” con una proporción del 46% de la progenie. Apareamiento con dos hembras α y β (50% cada una).

Progenie de 100 larvas.

Cuadro 6. Apareamientos del macho custodio (54%) con las dos hembras (54 larvas en la progenie).

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| a | e | a | f | a | c | a | d |
| a | f | b | e | a | d | b | c |
| b | e | b | f | b | c | b | d |
| b | f | a | e | b | d | a | c |
| a | e | a | f | a | c | a | d |
| a | f | b | e | a | d | b | c |
| b | e | b | f | b | c | b | d |
| b | f | a | e | b | d | a | c |
| a | e | a | f | a | c | a | d |
| a | f | b | e | a | d | b | c |
| b | e | b | f | b | c | b | d |
| b | f | a | e | b | d | a | c |
| a | e | a | f | a | c | a | d |
| | | b | e | | | b | c |

Cuadro 7. Apareamientos del macho “cuckoldry” (46%) con las dos hembras (46 larvas en la progenie).

| | | | | | | | |
|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| g | e | h | e | g | c | h | c |
| g | f | h | f | g | d | h | d |
| h | e | g | e | h | c | g | c |
| h | f | g | f | h | d | g | d |
| g | e | h | e | g | c | h | c |
| g | f | h | f | g | d | h | d |
| h | e | g | e | h | c | g | c |
| h | f | g | f | h | d | g | d |
| g | e | h | e | g | c | h | c |
| g | f | | | g | d | | |
| h | e | | | h | c | | |
| h | f | | | h | d | | |
| g | e | | | g | c | | |
| g | f | | | g | d | | |

Cuadro 8. Frecuencia de alelos. Como podemos ver, las frecuencias de alelos son semejantes. Por lo que con este índice de proporciones nos resulta difícil distinguir los alelos del macho custodio.

| Alelo | Frecuencia |
|--------------|-------------------|
| a | 28 |
| b | 26 |
| e | 26 |
| f | 24 |
| c | 26 |
| d | 24 |
| g | 24 |
| h | 22 |

Sin embargo, en la proporción 55% - 45% aún podemos distinguir el macho custodio de un macho “cuckoldry”.

Ejercicio 2. Macho custodio con una proporción del 55% de la progenie. Macho “cuckoldry” con una proporción del 45% de la progenie. Apareamiento con dos hembras α y β (50% cada una).

Progenie de 100 larvas.

Cuadro 10. Apareamientos del macho custodio (55%) con las dos hembras (55 larvas en la progenie).

| | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| a | e | b | e | a | c | b | c |
| a | f | b | f | a | d | b | d |
| b | e | a | e | b | c | a | c |
| b | f | a | f | b | d | a | d |
| a | e | b | e | a | c | b | c |
| a | f | b | f | a | d | b | d |
| b | e | a | e | b | c | a | c |
| b | f | a | f | b | d | a | d |
| a | e | b | e | a | c | b | c |
| a | f | b | f | a | d | b | d |
| b | e | a | e | b | c | a | c |
| b | f | a | f | b | d | a | d |
| a | e | b | e | a | c | b | c |
| a | f | | | a | d | | |

Cuadro 11. Apareamientos del macho “cuckoldry” (45%) con las dos hembras (45 larvas en la progenie).

| | | | | | | | |
|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|
| g | e | g | e | g | c | g | c |
| g | f | g | f | g | d | g | d |
| h | e | h | e | h | c | h | c |
| h | f | h | f | h | d | h | d |
| g | e | g | e | g | c | g | c |
| g | f | g | f | g | d | g | d |
| h | e | h | e | h | c | h | c |
| h | f | h | f | h | d | h | d |
| g | e | g | e | g | c | g | c |
| g | f | g | f | g | d | g | d |
| h | e | | | h | c | | |
| h | f | | | h | d | | |

Cuadro 12. Frecuencia de alelos.

| Alelos | Frecuencia |
|---------------|-------------------|
| a | 28 |
| b | 26 |
| e | 25 |
| f | 24 |
| c | 25 |
| d | 23 |
| g | 24 |
| h | 20 |

Por lo tanto, con esta proporción nos es posible diferenciar al macho custodio (a, b) del “cuckoldry” (g, h).