



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

COORDINACIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

FACULTAD DE BIOLOGÍA

**“Análisis molecular del éxito de apareamiento y reproductivo
de *Abudefduf troschelii* (Pomacentridae) en Zihuatanejo”**

TESIS

Que presenta la

Biól. Yeimi Gabriela España Luna

Como requisito para obtener el grado de:

MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Del

PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRIA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Director de tesis: **Omar Chassin Noria.**

Morelia, Michoacán, Agosto de 2018.



AGRADECIMIENTOS

En primera instancia, agradezco a la vida (fuerza-energía) por ponerme en el lugar y momento correctos.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología y al Programa Institucional de Maestría en Ciencias Biológicas por el apoyo económico otorgado a través de mi beca.

A mi director de tesis, Dr. Omar Chassin por brindarme la oportunidad de pertenecer a su Laboratorio de Análisis Genómico (CMEB, UMSNH), por sus valiosos comentarios, ya que gracias a su apoyo pero sobre todo a su confianza pude lograr el término de este proyecto, le estaré eternamente agradecida.

A mi comité de tesis: Dr. Luis Felipe Mendoza, Dr. Antonio Gonzales, Dr. Gil Rosenthal y Dr. Pablo Cuevas, por sus sugerencias y comentarios críticos, que me sirvieron de mucho durante el desarrollo del proyecto y en la escritura del documento.

A mis compañeros y amigos de laboratorio Yuri y Moii (súper buzos), que me apoyaron en la colecta de campo y toma de datos y a todos mis compañeros de laboratorio: Danilo, Arturr, Const, Chinthia, Mariana, Mau y Raquel que de alguna u otra manera aportaron al presente trabajo y ayudaron a que mi pasantía por el laboratorio fuese placentera, esperando cientos de PCR's.

A toda mi familia por su comprensión por mi distanciamiento por cuestiones de investigación y de laboratorio, principalmente a mi madre por su apoyo emocional y porque siempre ha creído en mí.

El mayor agradecimiento es para mi esposo Carlos, mi pequeña princesa Alexia y este dulce bebe(a) que ya quiere salir, son lo más hermoso que la naturaleza me pudo regalar, gracias por su apoyo, desvelos, desmadrugadas, regaños, tolerancia, pero sobre todo mil gracias por su amor, los adoro tanto!!

“Con dedicatoria especial para mi pequeño ser que vino a alegrar unos momentos de mi vida”

CONTENIDO

RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCIÓN.....	3
Éxito de apareamiento.....	3
Éxito reproductivo.	6
<i>Abudefduf troschelii</i>	9
HIPÓTESIS.....	11
OBJETIVOS.....	11
Objetivo general.	11
Objetivos particulares.	11
MATERIALES Y MÉTODOS.....	12
Área de estudio y colecta de muestras.....	12
Exploración de los datos y análisis de variables.....	13
Análisis Molecular.....	14
Amplificación de microsátélites.	14
Genotipado.....	14
Frecuencias alélicas y estimación del éxito de apareamiento.....	15
Análisis del éxito reproductivo.....	15
RESULTADOS.....	17
Correlación de variables.....	17
Análisis molecular.....	18
Éxito de apareamiento.....	19
Éxito reproductivo.....	21
Análisis estadístico del éxito de apareamiento y reproductivo.....	21
DISCUSIÓN.....	23
Correlación de variables.....	23
Éxito de apareamiento.....	25
Éxito reproductivo.....	28

CONCLUSIONES.....	31
LITERATURA CITADA.....	33
RECOMENDACIONES.....	34
ANEXOS.....	45

RESUMEN

Los peces exhiben una amplia gama de sistemas de apareamiento y son uno de los grupos de organismos donde el apareamiento múltiple y las tácticas de apareamiento alternativas son comunes. El éxito de apareamiento y reproductivo puede ser estudiado desde diversas perspectivas; para el presente trabajo se definió como el número de hembras y tamaño de progenie que obtiene un macho. La familia Pomacentridae cuenta con un registro de 22 especies endémicas en el Pacífico Oriental, una de ellas es *Abudefduf troschelii* la cual presenta una sincronía reproductiva relacionada con los ciclos lunares y donde el macho realiza la preparación del nido y otorga el cuidado parental. En estudios previos se ha demostrado que el éxito de apareamiento y reproductivo (número de hembras y tamaño de progenie) de algunas damiselas es influenciado por características propias del macho como el tamaño, y externas, como el sitio de anidación, por lo que en este trabajo se analizaron tres variables del macho (tamaño, índice gonadosomático y asimetría fluctuante) y características del nido (complejidad espacio-topográfica) en relación al éxito de apareamiento y reproductivo con el objetivo de determinar qué factores influyen en la reproducción de *A. troschelii*. Los resultados muestran una clara relación entre el tamaño del macho custodio y el índice gonadosomático con la complejidad del nido. Con ayuda de tres marcadores moleculares se determinó un 100% de poliginia en los nidos analizados, con la presencia de 3 a 6 hembras que participan en la fertilización de la progenie y se reporta que en el 90% de los nidos hubo presencia de al menos un macho intruso (táctica de apareamiento alternativa) participando en la fecundación de la progenie.

Palabras clave: éxito de apareamiento y reproductivo, paternidad, microsatélites.

ABSTRACT

Fish exhibit a wide range of mating systems and are one of the groups of organisms where extra pair spawning and alternative mating tactics are common. The mating and breeding success can be studied from different perspectives for the present work it was defined as the number of females and progeny size that a male obtains. The Pomacentridae family has with a register of 22 species endemics to Eastern Pacific, one of them is *Abudefduf troschelii*, the which presents a reproductive synchrony relationated with the moon cycles and where the male prepares the nest and grants parental care to the progeny. We analyzed three intrinsic variables of the male (size, gonadosomatic index and fluctuating assymetry) and the nest in relation to mating and reproductive success in order to determine that factors influence in the reproduction of *A. troschelii*. The results show a clear relationship between the size of the male custodian and gonadosomatic index with the complexity of the nest. With the help of three molecular markers 100% of polygyny was determined in the nests analyzed, with the presence of 3 to 6 females participating in the fertilization of the progeny and is reported that in 90% of the nests there was presence of at least one male intruder (alternative mating tactics) participating in the fertilization of the progeny.

Keywords: Mating and reproductive success, paternity, microsatellites

INTRODUCCIÓN

Los peces exhiben una amplia gama de sistemas de apareamiento (Awise *et al.*, 2002) y son uno de los grupos de organismos donde el apareamiento múltiple y las tácticas de apareamiento alternativas son comunes (DeWoody y Awise, 2001). Específicamente, el sistema de apareamiento define que estrategias conductuales se rigen para obtener pareja, bajo qué circunstancias se obtienen, las características de los vínculos dentro de la pareja y quien otorga el cuidado parental. Los sistemas de apareamiento reconocidos incluyen monogamia, poligamia (la que incluye poliginia, poliandria, y poliginandria) y promiscuidad (Emlen y Oring, 1977; Krebs y Davies, 1993). Para el presente trabajo el éxito de apareamiento se definió como el número de hembras que posee un macho en su nido.

Por otra parte, debido al número de categorías desde las cuales se puede tener una aproximación al éxito reproductivo de una especie, como lo son: número de cigotos producidos por individuo, presencia o ausencia de receptibilidad sexual de hembras y machos, número de descendientes que sobreviven hasta la eclosión, número de individuos que sobreviven hasta el término del cuidado parental, sobrevivencia de la descendencia hasta la madurez sexual y receptibilidad de la descendencia (Howard, 1979), el éxito reproductivo en este trabajo fue definido por el número de cigotos producidos por individuo o tamaño de progenie (área del nido, densidad de huevos por cm² y número de huevos por nido).

Éxito de apareamiento

El estudio de las interacciones de pareja ha tenido ciertas limitaciones, por un lado las observaciones conductuales en muchas ocasiones pueden subestimar o sobreestimar la frecuencia de paternidad-maternidad múltiple (Emlen y Oring, 1977), pero con ayuda de herramientas moleculares se ha logrado tener mayor certidumbre de la paternidad y frecuencia de maternidad múltiple, razón por la cual han sido aplicadas en diferentes grupos de vertebrados (aves, Bird *et al.* 2013; peces, DeWoody *et al.*, 2000b; Mackiewicz *et al.*, 2002; Mobley y Jones, 2009; Wilson, 2009; anfibios y reptiles, Uller y Olsson, 2008; insectos, Goodisman, 2007) y de ahí la importancia de analizar el sistema reproductivo de más especies de peces, donde las tácticas de apareamiento alternativas son comunes (DeWoody y Awise, 2001) y no siempre fáciles de identificar mediante la observación directa.

La maternidad múltiple es comúnmente observada en peces donde el macho realiza cuidado parental del nido (Coleman y Jones, 2011). Mediante el uso de marcadores moleculares se ha confirmado que el apareamiento múltiple es una táctica común en al menos una docena de especies de peces (Awise *et al.*, 2002). Específicamente en el orden perciformes, la frecuencia de poliginia ha sido reportada para algunas especies como el blénido *Scartella cristata* (rango 3 a 9 hembras, Mackiewicz *et al.*, 2005), *Chromis chromis* (rango 2 a 15 hembras, Mascolino *et al.*, 2016), y *Stegastes acapulcoensis* (rango 3 a 6 hembras, Robledo-Ávila; rango 4 a 6 hembras, Urbiola-Rangel, 2012; rango 4 a 7 hembras, Hernández, 2017) y en todos los casos se reporta la participación de varias hembras en la fertilización de una progenie.

En algunos sistemas los machos optan por proteger a las parejas reproductivas o los recursos, como lo son los nidos y su territorio de anidación (Emlen y Oring, 1977), por lo cual se espera que los machos intenten atraer a varias hembras a sus nidos al exhibir despliegues elaborados para demostrar su calidad o con la elaboración de sofisticados nidos. Específicamente el cortejo por parte de algunos pomacéntridos, puede ocurrir a través de un nado rítmico y abanicado (Albrecht, 1968) e incluso con la producción de sonido y audición, útiles para el cortejo a distancias cortas (*Abudefduf abdominalis*, Maruska *et al.*, 2007).

En cuanto a la elección de pareja, en el orden Perciformes, se sugiere como en el blennido *Ophioblennius atlanticus*, que la elección de las hembras se basa principalmente en el tamaño del macho, mientras que el área del nido es de importancia secundaria (Cote y Hunte 1989). Así mismo se ha observado una relación positiva del éxito de apareamiento con el tamaño del macho, como es el caso de las damiselas *S. acapulcoensis* y *S. rectifraenum* (Urbiola-Rangel, 2012; Hernández, 2017; Hoelzer, 1990). Contrario a lo anterior, en *S. partitus* y *S. nigricans* se ha determinado que ni el tamaño del macho ni el tamaño de la puesta influyeron en el éxito de apareamiento del macho, las hembras eligieron a los machos con base en la calidad de cortejo, agresividad y el número e intensidad de despliegues natatorios (Schmale, 1981; Knapp y Warner, 1991).

En cuanto a las características de los sitios de anidación, en las hembras del gobio de arena *Pomatoschistus minutus* parece ser que esta elección se basa en la calidad de los sitios de anidación, los cuales son disputados por los machos para obtener el control de los mejores sitios (Lindström, 1988). Un atributo elegible por las hembras de especies como *S. nigricans* y *S.*

rectifraenum es la presencia de huevos en el nido, pues se estima es un buen indicador de la calidad del macho custodio (Hoelzer, 1990; Karino y Nakazono, 1993).

Por lo tanto, la gran variación dificulta definir patrones generales en el sistema reproductivo de la familia y sugiere la importancia de seguir analizando las características de apareamiento y reproductivas de más pomacéntridos.

Por otra parte, en algunos peces con fertilización externa, especialmente cuando la progenie es resguardada por el macho, la intensa competencia por el acceso a las copulas requiere ejecutar estrategias para lograr un mayor éxito reproductivo, conocidas como tácticas de apareamiento alternativas (TAA) las cuales se refieren a formas alternativas de obtener fertilizaciones tanto en machos como en hembras. En vertebrados como los peces las TAA son realmente comunes debido a cuatro razones: en su mayoría la fertilización es externa, el crecimiento es indeterminado después de la madurez, existe una alta inversión y diversidad de cuidado parental y por último la alta variabilidad de la determinación del sexo (Taborsky *et al.*, 2001).

Algunos peces Perciformes, como TAA tienden a imitar la presencia de huevos para atraer a las hembras, como es el caso del pez *Etheostoma virgatum* y los cíclidos *Oreochromis* y *Nyasalapia* (Wickler, 1962, 1997; Porter *et al.*, 2002). En pomacéntridos una TAA comun es el “sneaking” (machos furtivos), es decir un macho intruso en un nido al momento del desove de la hembra. Un ejemplo reportado a partir de observaciones de campo es *Chromis chromis* donde se encontró que el parasitismo reproductivo es una estrategia común, observando que la probabilidad de que los machos custodios sean parasitados por sneakers no se correlacionó con el tamaño de su propio nido; por el contrario, dependía tanto del número de nidos vecinos como del número de machos vecinos con nidos vacíos (Picciulin *et al.*, 2012). Además, en esa misma especie con ayuda de análisis genético, se ha reportado la presencia de machos parásitos en todos los nidos de una población, en los cuales la mitad de los huevos pertenecían a machos parásitos (Mascolino *et al.*, 2016). Otro ejemplo a partir de un análisis observacional es *Chromis multilineata* donde los machos territoriales ocasionalmente dejan su nido, encuentran una hembra desovando en otro nido y presionan su abdomen al substrato para lograr fecundar algunos huevos (Albrecht, 1968), del mismo modo se ha reportado en *S. nigricans* que los machos más grandes de la colonia tienen sus propios nidos y además suelen fertilizar nidos de los vecinos, promoviendo un sistema de apareamiento promiscuo (Karino y Nakazono, 1993).

En el pacífico central se ha evidenciado en *S. acapulcoensis* la presencia de TAA en una frecuencia del 10% (ej. engaño o cuckoldry) con la aportación de hasta 7 hembras por nido (Urbiola-Rangel, 2012 y Hernández, 2017).

En el género *Abudefduf*, se han hecho observaciones de “sneakers” en al menos dos especies: *A. abdominalis* (Tyler, 1995) y *A. saxatilis* donde machos territoriales se acercan a dos peces al momento del desove y presionan su abdomen contra el substrato, acompañado de una serie de movimientos con las aletas pectorales (Albrecht, 1968). Además de las estrategias presentadas por los machos, también sobre las hembras existe una fuerte selección al elegir buenos machos y es de esperarse que exhiban estrategias como, por ejemplo, la estrategia que ejecuta *A. sexfasciatus* con los “huevos de prueba”, donde una hembra desova una pequeña cantidad de huevos, y puede volver o no a desovar, con base a su evaluación del cuidado parental que ofrece el macho (Manica, 2010), ya que la sobrevivencia de la progenie depende del cuidado parental que ofrecen los machos.

Para la especie de estudio *A. troschellii*, mediante observaciones conductuales, existe evidencia de la preferencia de las hembras por machos con nidos situados al centro de las colonias, en los que el riesgo de depredación de los embriones es menor en comparación con la escasa preferencia hacia machos con nidos periféricos (Foster, 1989). Recientemente el trabajo de Guillen-Parra (2018) en Baja California Sur, donde con ayuda de marcadores moleculares, presenta evidencia de la aportación genética de al menos cinco hembras y tres machos parásitos en la fertilización de un nido, presentando un sistema de apareamiento al parecer promiscuo, donde se destaca que el nido analizado cambia de tamaño a partir del primer evento de oviposición a lo largo los cinco días de seguimiento. Así mismo se determinó que tal variación podría deberse a la eclosión de los huevos, canibalismo filial pero principalmente a la depredación de la cual se presenta evidencia por parte de individuos conespecíficos y heteroespecíficos.

Éxito reproductivo

En pomacéntridos, existen estudios que han relacionado al éxito reproductivo con el tamaño del macho y características del territorio. En cuanto al tamaño en *S. acapulcoensis* en recientes trabajos se ha encontrado una correlación positiva significativa entre la talla del macho y el éxito reproductivo (i.e. área del nido) donde también se ha señalado correlación positiva entre el éxito

reproductivo del macho y la complejidad del sitio, lo que podría estar asociado a la elección de las hembras hacia un macho de mayor calidad (Urbiola-Rangel, 2012 y Hernández, 2017), pues esta reportado que *S. acapulcoensis* prefiere sitios con mayor complejidad espacio-topográfica para refugio (Wellington, 1982).

Otro ejemplo es *S. rectifraenum* donde los machos de mayor tamaño tienen mayor número de huevos con respecto a los machos pequeños y en cuanto a las características del territorio, se asocia positivamente a la densidad de alimentos con la disponibilidad de refugio (como rugosidad o complejidad espacio-topográfica del nido) lo cual abre la posibilidad de lograr algún efecto reproductivo (Hoelzer, 1990). En *S. leucostictus*, los machos prefieren sitios de anidación expuestos con menor complejidad, seguido a esto, los machos que defendían tales sitios tenían el doble de éxito reproductivo que aquellos machos defendiendo sitios con mayor complejidad (Itzkowitz y Makie, 1986).

En cuanto a las características del nido una propiedad que se ha evaluado en peces del orden perciformes, es la densidad de huevos. Un estudio en el gobio de agua dulce *Rhinogobius sp.*, se reporta que esta variable puede ser un índice útil para explicar el éxito de apareamiento de la especie, argumentando que las densidades de huevos aumentaron con el número de hembras reproductoras involucradas; los nidos cuyas densidades fueron inferiores a 106 huevos/cm² son casi siempre engendrados por una sola hembra, los que estaban entre 106 y 143 huevos/cm² por dos hembras, y los que contenían más de 143 huevos/cm² por tres o más hembras, por lo tanto, los nidos grandes pueden pertenecer a machos que se aparean con mayor número de hembras que engendran más huevos (Tamada, 2008).

En la mayoría de los peces existe un amplio rango de la talla en los machos reproductivos, dada esta variación los machos pequeños regularmente emplean una TAA que les permita aumentar su éxito reproductivo, por ejemplo, la inversión de energía en la generación de gónadas más grandes, al no ser capaces de obtener un buen territorio (sitio de anidación) para atraer a las hembras (DeWoody *et al.*, 2000c; Taborsky, 2001; Mackiewicz *et al.*, 2002).

El desarrollo de un rasgo que permita aumentar las posibilidades de fertilización puede restringir el desarrollo de otras características con la misma función (Taborsky, 1998), por lo tanto, si el tamaño de las gónadas y el número de espermatozoides aumentan, la energía disponible para la competencia intrasexual es probable que disminuya, como sucede en el caso

de *Gasterosteus aculeatus* (De Fraipont *et al.*, 1993) donde los machos jóvenes producen más espermatozoides y con mayor movilidad que los machos mayores, esta mayor producción gamética puede ser una medida alternativa para competir con los machos de mayor talla y edad por territorios.

En cuanto a la producción gamética en algunos pomacéntridos se han reportado valores de índice gonadosomático (IGS) en machos, en *Dascyllus aruanus*, por ejemplo, se presenta un promedio de 0.64%, en *S. acapulcoensis* tanto Valencia (2014) como Hernández (2017) definieron un promedio de 0.36%. También dentro del género *Abudefduf*, tal es el caso de *A. sexfasciatus* donde se ha definido un IGS promedio de 1.70% (Shadrin, 2007) y para *A. troschellii*, Hernández (2008) reporta un valor promedio de 0.75%. Sin embargo, en ninguno de los casos se ha relacionado al índice gonadosomático con el éxito reproductivo o de apareamiento.

La asimetría corporal es otro factor que se ha relacionado con el éxito reproductivo. Tal es el caso de la polilla *Elcysma westwoodii* donde la selección femenina favoreció a los machos con clasps genitales más simétricos, así como a las antenas más largas y más simétricas, por tanto, se sugiere que la asimetría fluctuante en los rasgos de los machos puede tener influencias indirectas y directas en el éxito del apareamiento (Koshio *et al.*, 2007). En peces hay trabajos en la perca *Brachyistius frenatus* que subrayan la importancia funcional de la simetría de las aletas, sin embargo, no se hace referencia al éxito reproductivo (Tofts, *et al.*, 2016), resultados similares fueron publicados por Stringwell *et al.* (2014) en el salmón *Salmo salar*. Dentro de la familia gobidae, un estudio en *Pomatoschistus microps* señala que no hubo relación entre el número de huevos en el nido y el parasitismo con el nivel de asimetría (Sasal y Pampoulie, 2000), por lo tanto, la asimetría parece ser un predictor robusto de la adecuación en aspectos tales como crecimiento, fecundidad y supervivencia (Stringwell *et al.*, 2014).

Para la especie de estudio *A. troschellii*, se realizó un trabajo que evaluó el éxito reproductivo medido como el área de puesta, la densidad de huevos y la cantidad de huevos por nido, definiendo un promedio de área de puesta de 724.96cm², una densidad promedio de 129 huevos por cm² y un promedio de 89,288 huevos por nido, además se encontró una correlación positiva significativa entre el éxito reproductivo y el tamaño del macho. Sin embargo, se dedujo que la talla no es la variable que mejor explica el éxito reproductivo (Trujillo, 2014). Por lo cual es

importante seguir analizando el sistema reproductivo en peces damisela como *A. troschelii*, a través de marcadores moleculares para describir los factores que promueven el éxito de apareamiento y reproductivo de machos y hembras.

Abudefduf troschelii

La familia Pomacentridae cuenta con 22 especies registradas en el Pacífico Oriental que son endémicas para esta región (Allen y Robertson, 1998; Juárez, 2005) una de ellas es *A. troschelii* (Gill, 1862) que se distribuye desde México, a través del Golfo de California hasta el noreste de Perú (Fishbase, 2015), en Islas Galápagos y otras islas del Litoral (Figura 1). Los adultos habitan en los arrecifes rocosos y coralinos a profundidades de hasta 15m (Allen, 1991).



Figura 1. Adulto de *A. troschelii* (Allen, 1991) y Mapa de distribución geográfica, representada con cuadros rojos (aquamaps; Kaschner *et al.*, 2007).

Presenta cinco características rayas negras sobre un cuerpo blanco-plateado matizado de amarillo, con un punto negro en base de la aleta pectoral. La longitud máxima es de 22.9 cm, alcanzando su madurez sexual desde los 7 cm en longitud estándar. (Fig. 1; Allen y Robertson, 1998).

Abudefduf troschelii presenta la dieta más diversa del género (plancton, invertebrados bentónicos y algas en el arrecife) (Aguilar-Medrano, 2011), los juveniles se han observado dando limpieza a otros peces (*Mugil cephalus* e *Hyporhamphus*) y es considerada una especie de ornato con alta demanda comercial (Piña-Espallargas, 2005). En Panamá se señala que la temporada reproductiva de *A. troschelii* está relacionada con los ciclos lunares (Foster, 1987b), mostrando ritmos de desove lunar en lugares con rangos más extremos de marea; el desove se produce dentro de 9 días de luna nueva (un lapso de 18 días en el mes lunar). En esta especie

como en varios representantes de la familia Pomacentridae, los machos realizan el cuidado parental, el cual implica la preparación del sitio de anidación, el mantenimiento y aireación de los huevos, defensa del nido de los depredadores, así como el resguardo de los huevos ante posibles intrusos, los embriones eclosionan cuatro o cinco días después del desove (una hora después de la puesta del sol), al momento de la eclosión las larvas tienen ojos bien desarrollados y son capaces de nadar (Allen, 1991). Sin embargo, Hernández (2008) y Robertson (1990) para el Pacífico mexicano, reportan que el desove no está relacionado con el ciclo lunar. Robertson (1990) define que el desove de *A. troschelii* presenta una sincronía reproductiva, presentándose periodos de actividad de 2-3 días seguidos de periodos de inactividad total y que los machos reproductivos tanto en el pacífico de Panamá y el pacífico mexicano poseían nidos con una distancia de separación de entre 0.5-1 m dentro de la colonia. Las hembras se reproducen varias veces durante una temporada, presentándose en enero hembras en reposo y postdesove, de abril a diciembre hembras en desove y en postdesove de noviembre a febrero (Hernández, 2008). La fecundidad parcial registrada de las hembras, es de 2,052–22,208 ovocitos/hembra (Ayala, 2012).

Esta especie presenta una sincronía reproductiva que le otorga dos probables beneficios; la eclosión asociada a la condición de marea adecuada para el transporte de alevines fuera de los arrecifes y así una reducción de depredadores de embriones (Foster, 1987b).

Bajo este contexto *A. troschelii* ofrece un modelo de investigación interesante, al exhibir patrones y sincronías reproductivas únicas, razón por la cual en el presente trabajo se analizó con ayuda de marcadores moleculares (microsatélites) el éxito de apareamiento (número de hembras) y reproductivo (tamaño de progenie) de esta especie para establecer si existe relación entre el éxito de apareamiento y reproductivo con características intrínsecas del macho (tamaño, índice gonadosomático, entre otras) y externas como las características espacio topográficas del nido, con el fin de determinar las causas y factores que afectan el éxito de apareamiento y reproductivo de *A. troschelii*.

HIPÓTESIS

1. Si el tamaño del macho es un indicador de adecuación, entonces se observará una relación positiva de la talla con el éxito de apareamiento y reproductivo
2. Si el éxito de apareamiento y reproductivo está relacionado con las características espacio topográficas del nido, se encontrará mayor éxito en machos que custodian nidos con mayor complejidad topográfica.

OBJETIVOS

Objetivo general.

Determinar el éxito de apareamiento y reproductivo (número de parejas y tamaño de progenie) de *Abudefduf troschelii* en Zihuatanejo, Guerrero.

Objetivos particulares.

1. Establecer si existe relación entre el éxito de apareamiento y reproductivo y el tamaño del macho de *Abudefduf troschelii*
2. Determinar si existe relación entre el éxito de apareamiento y reproductivo de *Abudefduf troschelii* y las características espacio topográficas del nido.
3. Determinar las causas y factores que afectan el éxito de apareamiento y reproductivo de *Abudefduf troschelii*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Área de estudio y colecta de muestras

La bahía de Zihuatanejo ($17^{\circ}38'12''\text{N}$ $101^{\circ}33'05''\text{O}$ Altitud: 20 msnm), sitio donde se localiza la playa (Caleta de Chón), está ubicada en el estado de Guerrero, en la región Costa Grande (Fig. 2). Se caracteriza por un clima cálido subhúmedo y una ocurrencia de tormentas tropicales, huracanes, marea roja y "El Niño", así como procesos de turbulencia. Esta región del pacífico forma parte de 2 de las 43 áreas prioritarias marinas de México (Tlacoyunque y Coyuca-Tres Palos), son áreas categorizadas como sitios de alta biodiversidad, en los cuales se presenta alguna amenaza para la misma siendo usados por los diversos sectores (Arriaga *et al.*, 1998).

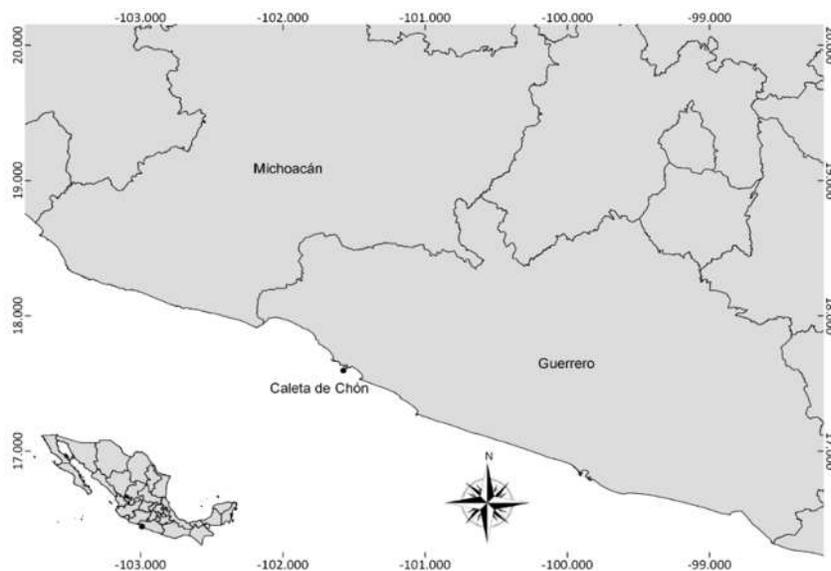


Figura 2. Mapa de ubicación espacial del área de estudio: Caleta de Chón, Zihuatanejo, Gro. (Tomado de Hernández-Bahena, 2017).

La colecta se realizó del 8 al 10 de noviembre de 2016. Para la colecta de muestras se utilizó equipo SCUBA y arpón manual, antes de la colecta de cada nido se tomaron fotografías de 19 nidos con una cámara GoPro usando como referencia una regla (30cm) para posteriormente calcular el tamaño de estos. 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.

Se colectaron un total de 19 machos adultos de *A. troschelii* y una muestra aleatoria de sus respectivas progenies. Además, se colectaron al azar 7 machos sin progenie para el posterior análisis de frecuencias alélicas de la población. Con el objetivo de conocer la complejidad espacio-topográfica de los sitios de anidación se estimó el índice de rugosidad de los nidos (IR; Wellington, 1982), mediante el uso de una cadena delgada de 5m aproximadamente. Se tomó la distancia sobre el contorno del sustrato de los nidos, siguiendo las entrantes y salientes de los mismos y en la parte superior se tiró una línea recta de 1 m.

Posteriormente, en superficie se tomaron fotografías de ambos perfiles de cada macho para posteriormente calcular la talla y simetría de estos (Anexo 1, Fig. 8). Todos los adultos fueron pesados previo a la disección para extraer sus gónadas las cuales también fueron pesadas mediante una báscula electrónica, para el posterior análisis del índice gonadosomático. Se sexaron todos los individuos como machos con base en el análisis de las gónadas de *Stegastes fuscus*, presentado por Souza *et al.*, (2007). Se obtuvo una muestra de la aleta pectoral izquierda para análisis molecular, la cual fue preservada en viales de 1.5 mL con etanol absoluto y finalmente se preservaron los adultos en etanol al 96%.

Exploración de los datos y análisis de variables

Con ayuda del programa Image J (Abramoff *et al.*, 2004) se calculó el tamaño de los organismos usando una referencia de tamaño de 1cm definido en papel milimétrico. Se calculó el índice de rugosidad para los 19 nidos colectados, sustituyendo en la siguiente fórmula $IR=L/1$: L=Longitud real del fondo; 1=Longitud de la línea horizontal (Wellington, 1982). Así mismo con los datos obtenidos en campo se obtuvo el Índice gonadosomático (IGS) de cada macho, sustituyendo en la siguiente fórmula: $IGS= (\text{Peso gónada}/\text{Peso total}-\text{Peso gónada}) *100$ (Saborido-Rey 2008).

Se realizó un análisis de asimetría fluctuante (FA, por sus siglas en inglés), la cual es definida como las pequeñas diferencias aleatorias entre el lado izquierdo y derecho de un organismo bilateralmente simétrico (Van Valen, 1962), para este se asignaron tres regiones homólogas de cada pez medidas con el software Image J (Abramoff *et al.*, 2004); distancia de la boca al preopérculo, distancia de la boca al opérculo y diámetro del ojo de ambos perfiles, izquierdo y derecho (Left-Right) (Anexo 2, Fig. 9) y se procedió con la siguiente fórmula: $FA= 100 * [(\ln$

(L) - $\ln(R)$] (Tocto, *et al.*, 2016) (Anexo 2, Fig. 10), realizando una sumatoria de la FA de las tres regiones homologas (Anexo 2, Fig. 11).

Análisis molecular

Se seleccionaron de una lista de oligonucleótidos diseñados para *A. saxatilis* por Piñeros *et al.*, (2015) los loci a utilizar, los cuales fueron amplificados en *A. troschellii* y cuya elección se basó en ciertos atributos; con menor diferencia entre heterocigosidad observada y esperada para que el locus estuviese en Equilibrio de Hardy-Weinberg, que tuviesen un alto grado de polimorfismo y sin presencia de alelos nulos. Los oligonucleótidos seleccionados todos tetranucleótidos marcados con fluoróforos de filtro G5 (Applied Biosystems), fueron Absa-10 (286-336pb, NED-amarillo), Absa-23(325-410pb, 6-FAM-azul) y Absa-41 (375-450pb, VIC-verde) (Tabla 1). Se realizó la extracción de ADN de 16 adultos y de un total de 6 nidos (244 embriones) de *A. troschellii*, mediante el protocolo de precipitación de proteínas previamente estandarizado (FitzSimmons, 1997) a partir de la muestra de aleta dorsal de los machos y de cada larva o huevo fecundado.

Amplificación de microsatélites

Para la amplificación de los productos se utilizó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y se utilizaron las siguientes concentraciones: Buffer 10x (200 mM Tris HCl (pH 8.4), 500 mM KCl), tres condiciones de MgCl₂ (primer Absa10: 4mM, primer Absa23: 4.5mM y primer Absa41: 3.5mM), Primer (F y R): 0.5µM, dNTP's: 150µM, Taq polimerasa: 1U y aproximadamente 50ng de ADN por reacción. El programa en el termociclador para los 3 loci inicio con 94°C por 3 min, seguido de 35 ciclos con las siguientes condiciones: 94°C 30 s, 48°C (T_M calculada) 30 s, 72°C 30 s y con una extensión final de 72°C por 3 min. Las muestras se corrían y visualizaban en un gel de agarosa al 1.5% teñido con SYBR.

Genotipado

La determinación de los genotipos se realizó mediante electroforesis capilar en un equipo automatizado (ABI 3100) en la compañía UIUC CORE SEQUENCING FACILITY, Madigan Laboratory, Urbana, IL. Utilizando como marcador interno LIZ-500. La asignación del tamaño de alelos se realizó mediante el software Peak Scanner v. 1.0 (Applied Biosystems). En el programa se creó un tamaño estándar de 100-500 Liz para poder identificar los alelos de los

machos custodios y del total de nidos analizados (6 nidos) identificando los tres primers; Absa10, Absa23 y Absa41.

Frecuencias alélicas y estimación del éxito de apareamiento

Se estimó la distribución de frecuencias alélicas, heterocigosis esperada y observada así como una prueba de equilibrio de Hardy Weinberg en el programa GenAlex v. 6.5 (Peakall y Smouse, 2012), para el total de los machos custodios, con lo cual se realizó un análisis de probabilidad de detección de maternidad.

A partir del tamaño de los fragmentos reportado para cada una de las muestras de embriones, se procedió a realizar el “binning alleles” (Peakall y Smouse, 2012), donde se tomó el alelo con mayor frecuencia y de ahí se sumó y se restó en múltiplos de cuatro, ya que los tres loci son tetranucleótidos. De los genotipos resultantes se agruparon solo los que tuviesen algún alelo perteneciente al macho custodio para la estimación del número de progenitores involucrados en la fertilización de la progenie lo cual se realizó con el software GERUD v. 2.0 (Jones, 2001), el cual es un software diseñado para reconstruir grupos de hermanos compartiendo un progenitor, a partir de microsatélites, usando uno de los genotipos parentales conocido, en nuestro caso el genotipo paterno.

Análisis del éxito reproductivo

El éxito reproductivo fue estimado por tres parámetros; el tamaño de la progenie el cual se refiere al área total (cm²) cubierta por huevos, la densidad de huevos por cm² y el número promedio de huevos por nido y su análisis se obtuvo con ayuda del software Image J (Abramoff *et al.*, 2004). El área total de cada nido se obtuvo a partir de las fotografías tomadas en campo con la referencia de tamaño y usando el software Image J (Abramoff *et al.*, 2004). Para el cálculo de la densidad de huevos por cm² y número de huevos por nido se contó con tres réplicas de cada nido para obtener un análisis más completo, estas fueron nombradas: p1, p2 y p3, de cada una se obtuvo la cantidad de huevos por cm² y el número de huevos, obteniendo un promedio de la sumatoria de las tres réplicas. La creación de la base de datos y los cálculos correspondientes se realizaron en Microsoft Excel (2013).

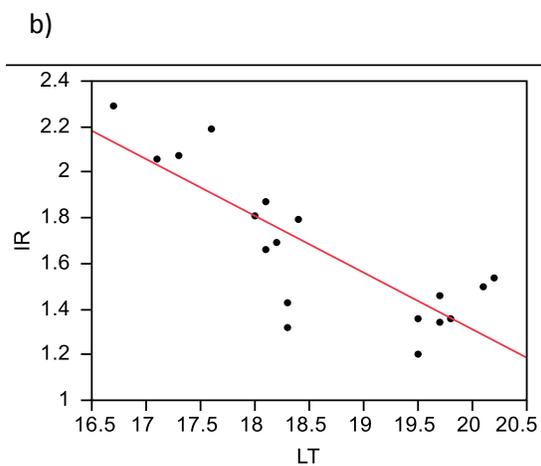
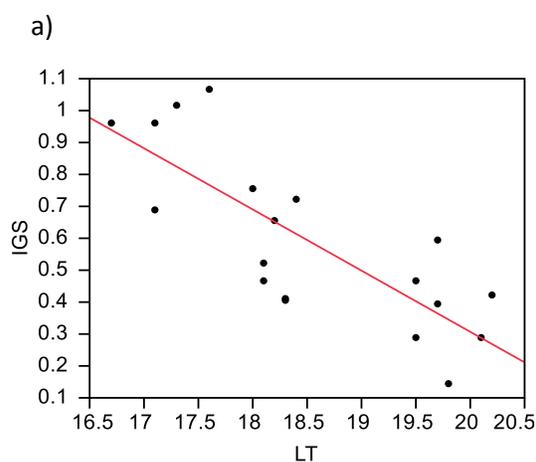
El análisis de correlación de las variables con el éxito de apareamiento y reproductivo (número de hembras y tamaño de la progenie) de los machos custodios, se analizó con el Software JMP V.8 (SAS Institute, 2005) realizando análisis de regresión simples.

RESULTADOS

Los machos de *A. troschelii* presentaron una longitud total máxima de 20.2 cm (rango 16.7-20.2 cm), con un índice gonadosomático promedio de 0.592% (rango 0.143-1.068%). En el análisis de asimetría fluctuante (FA), se obtuvo la sumatoria y un promedio de 26.67 de asimetría fluctuante, con un valor mínimo de 8.62 y un máximo de 57.36. El índice de rugosidad promedio de todos los nidos fue de 1.71 (rango 1.2-2.29). A partir de las características medidas a los machos y de las características del territorio, se generó una tabla donde se presentan además datos de los machos no reproductivos colectados (Anexo 3, Tabla 3).

Correlación de variables

El tamaño del macho mostro relación negativa con el índice gonadosomático (IGS) ($r^2=0.4933$ $p<0.001$) (Fig. 3, a) así como con el índice de rugosidad (IR) ($r^2=0.4101$ $p<0.05$) (Fig. 3, b), mientras que el IGS mostro relación positiva con el IR del nido ($r^2=0.7245$ $p<0.001$) (Fig. 3, c) y una relación negativa con la asimetría fluctuante (FA) ($r^2= 0.2260$ $p<0.05$) (Fig. 3, d).



c)

d)

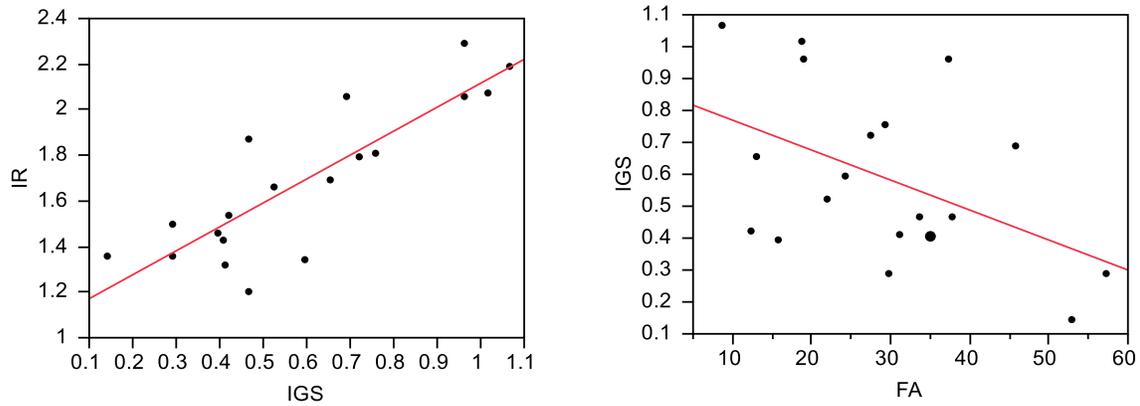


Figura 3. a) Análisis correlación Longitud Total (LT) del macho custodio - Índice gonadosomático (IGS) ($r^2=0.4933$ $p<0.001$); b) Correlación Longitud Total (LT) del macho custodio - Índice de rugosidad ($r^2=0.4101$ $p<0.05$); c) Correlación Índice gonadosomático (IGS) - Índice de rugosidad ($r^2=0.7245$ $p<0.001$) y d) Correlación Asimetría fluctuante (FA) – IGS ($r^2=0.2260$ $p<0.05$).

Análisis molecular

En los tres loci de microsatélites (Absa10, Absa23 y Absa41) no se detectó presencia de homocigotos, no hubo evidencia de error de scoring por stutters y tampoco se detectó la presencia de alelos nulos en el análisis de una muestra de 16 adultos de *A. troschellii*, con ayuda del programa Micro-Cheker v. 2.2.3 (Shipley, 2003), así mismo a partir de la estimación de la distribución de frecuencias alélicas (Fig. 4), heterocigosis esperada y observada, las cuales no fueron significativamente diferentes, por lo tanto se acepta que el apareamiento es aleatorio, requisito para que la población esté en equilibrio Hardy-Weinberg (Tabla 1).

Tabla 1. Análisis de los tres loci amplificados en *A. troschellii* y sus características.

Locus	n	Tamaño (pb)	MR	EHW	AN	K	Ho	He
Absa10	16	264-336	ATCT	Si	No	17	0.933	0.913
Absa23	16	382-472	AGAT	Si	No	20	1	0.922
Absa41	16	328-418	ATCT	Si	No	18	1	0.896

*n: Numero de muestras, (pb): Tamaño en pares de bases, *MR: Motivo repetitivo, *EHW: En equilibrio de Hardy-Weinberg *AN: Alelos nulos, *K: Numero de alelos, *Ho: Heterocigosis observada y *He: H. esperada.

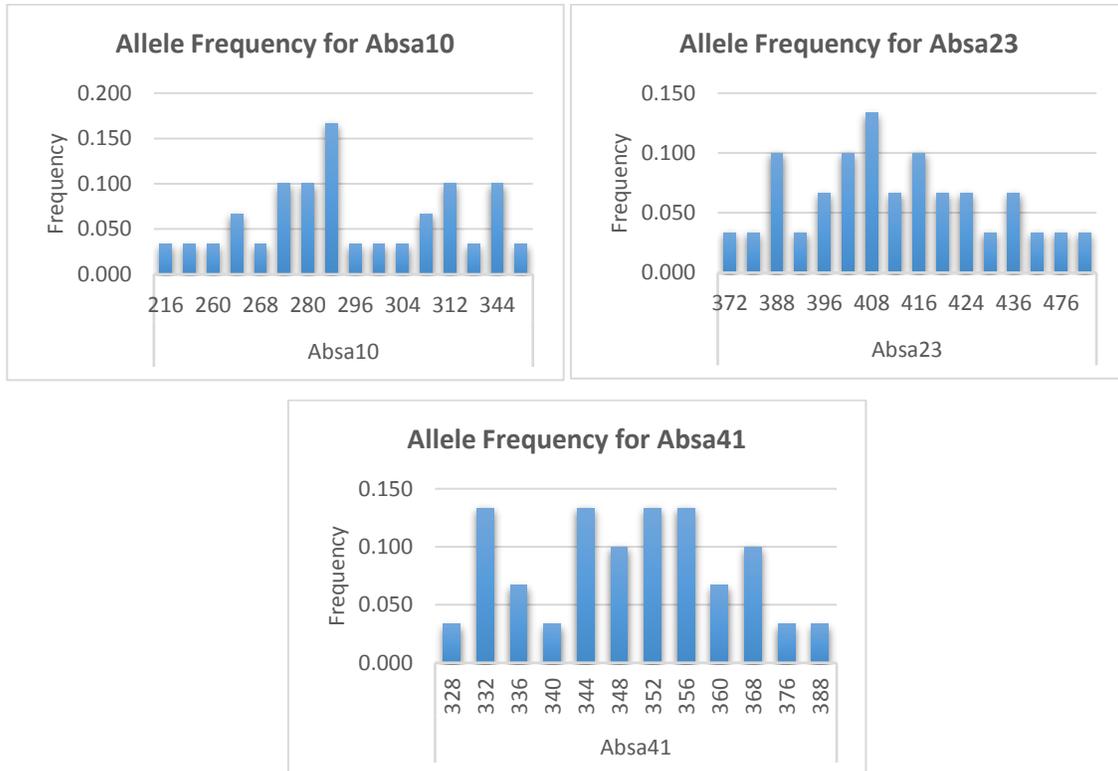


Figura 4. Frecuencias alélicas en los 3 loci: Absa10, Absa23 y Absa41 para el total de los machos.

Mediante un análisis de probabilidad de exclusión en GERUD 2.0 (Jones, 2001) se demostró que con el uso de 3 loci se puede obtener una probabilidad de exclusión de maternidad de 0.998 para cada uno de ellos y en su conjunto (Anexo 4, Fig. 12).

Éxito de apareamiento

La estimación del número de progenitores se realizó en 6 nidos de *A. troschelii*, de los genotipos encontrados se agruparon solo los que tuviesen algún alelo perteneciente al macho custodio para la estimación del número de progenitores involucrados en la fertilización de la progenie, el cual nos definió de 3 a 6 grupos de hermanos, es decir, la participación de un promedio de 4.5 hembras (rango 3 a 6) en la fertilización de la progenie (Fig. 5).

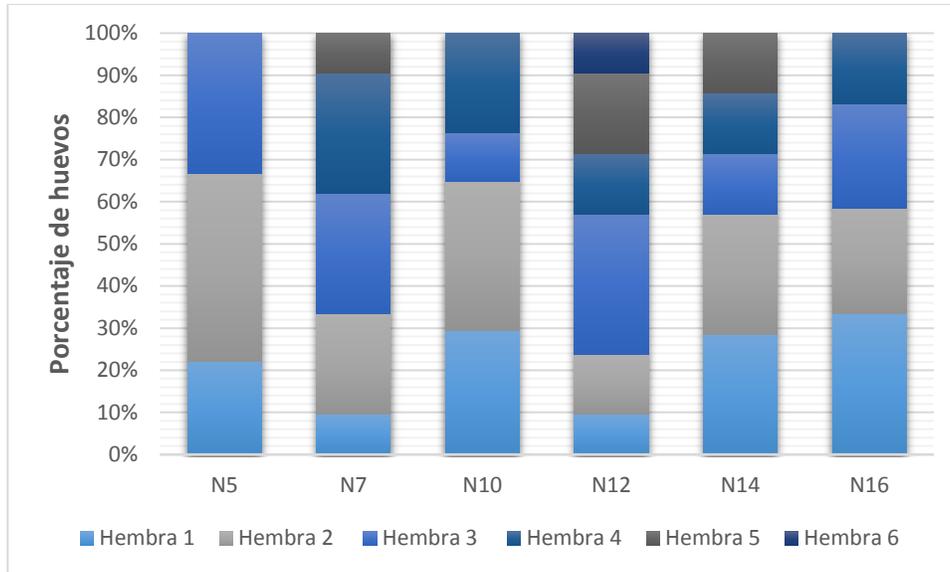


Figura 5. Análisis del número de hembras participantes y el porcentaje de aportación en la fertilización de los nidos, GERUD 2.0 (Jones, 2001).

Para el análisis de los embriones que no coincidieron con alguno de los alelos del genotipo paterno, se construyó una serie de pasos para definir que progenie es proveniente de otro macho externo (posible resultado de TAA's) en nidos con genotipo del macho custodio conocido (Anexo 5), señalando la presencia en el nido marcado como el número 5 de un promedio de tres machos extras, en el nido 7 un macho extra, en el nido 10 un promedio de tres machos extras, en el nido 12 un promedio de 2.5 machos extras, en el nido 14 un promedio de 4 machos extras y en el nido 16 no se detectó ningún macho extra fecundando la progenie (Tabla 2).

Tabla 2. Numero de nidos, embriones, hembras y machos extras analizados.			
Nido	Embriones	#Hembras	#Machos extras
*5	24	3	2 a 4
*7	20	5	1
*10	17	4	2 a 4
*12	21	6	1 a 2
*14	16	5	3 a 5
*16	12	4	0

Éxito reproductivo

El área promedio de los 19 nidos fue de 384 cm² (rango 206-950 cm²), la densidad promedio obtenida de 87.5 (rango 34-163) huevos por cm² y el número de huevos promedio por nido fue de 26, 898 (rango 6,032-56,803) (Fig. 6).

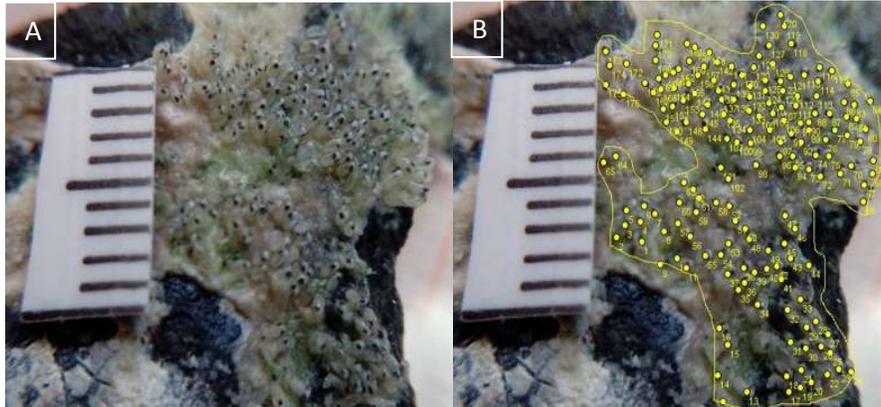
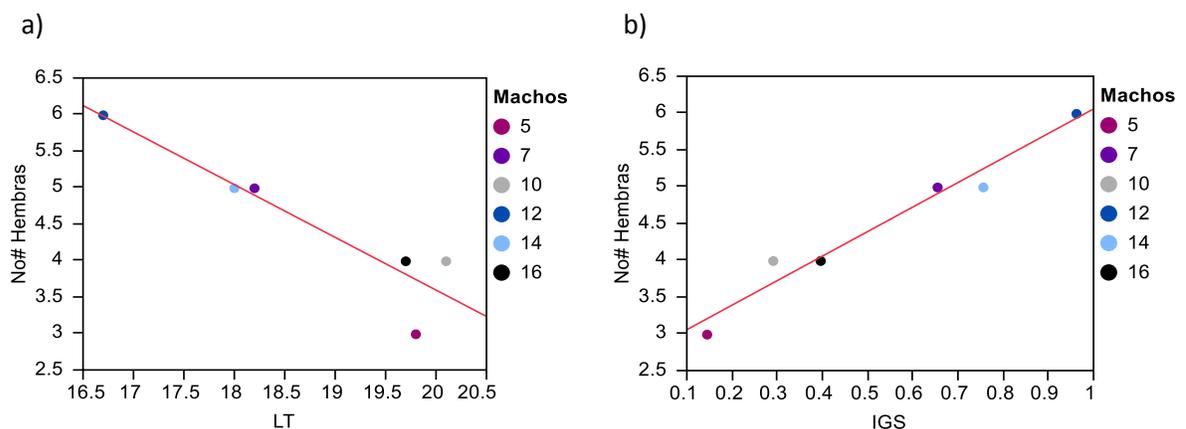


Figura 6. Nido con huevos *A. troschelii*. A) imagen del número de huevos. B) cálculo del área y densidad de huevos (Image J).

Análisis estadístico del éxito de apareamiento y reproductivo

El éxito de apareamiento (No. Hembras) mostro una relación negativa con el tamaño del macho ($r^2=0.85$ $p<0.05$) (Fig. 7, a), mientras que presentó una relación positiva con el IGS ($r^2=0.92$ $p<0.05$) (Fig. 7, b) y con el IR ($r^2=0.88$ $p<0.05$) (Fig. 7, c).



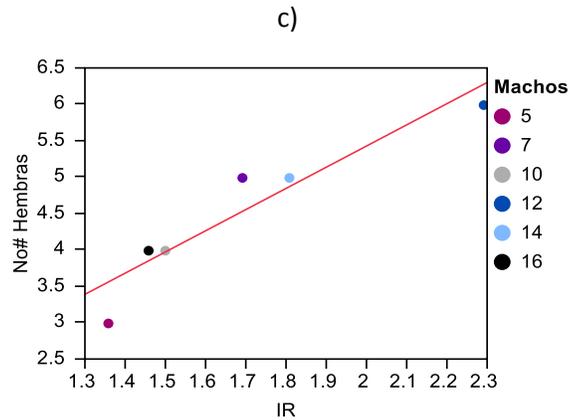


Figura 7. a) Análisis correlación Longitud total (LT) del macho – No. Hembras ($r^2=0.85$ $p<0.05$); b) Correlación No. Hembras – IGS ($r^2=0.92$ $p<0.05$); c) Correlación No. Hembras – IR ($r^2=0.88$ $p<0.05$). En colores los machos custodios de cada nido.

El éxito reproductivo (área del nido, densidad de huevos por cm^2 y número de huevos por nido) no mostró correlación con el éxito de apareamiento (No. Hembras), así mismo la Asimetría fluctuante (FA) no mostró correlación con el éxito de apareamiento (No. Hembras) ni con el tamaño del macho e IR. El éxito reproductivo no presentó relación alguna con el tamaño del macho, IGS, FA e IR.

DISCUSIÓN

Correlación de variables

El tamaño adulto de un pez juega un papel importante en la elección de pareja y, como se ha señalado en algunas especies influye en los sistemas reproductivos (Berglund *et al.*, 1988; Avise *et al.*, 2002; Mobley y Jones 2007; Rispoli y Wilson 2008). En el presente trabajo *A. troschellii* presentó un promedio de longitud total (LT) de 18.5cm (rango 16.7 a 20.2 cm), valor menor al reportado por Trujillo (2014) en Baja California, donde presenta un promedio de 19.50 cm de LT (rango 13.2 a 26.6 cm). Estas diferencias encontradas en cuanto al tamaño coinciden con la regla propuesta por Carl Bergmann; donde a mayor latitud (menor temperatura superficial del mar) los organismos presentan mayor talla y este patrón se mantiene en ambientes marinos, donde se toma la temperatura superficial del mar (Angilletta y Dunham, 2003; James, 1970; Ashton *et al.*, 2000; Urbiola-Rangel, 2012).

En el análisis del índice gonadosomático se reporta un promedio de 0.59%, valor menor al reportado por ejemplo en *Dascyllus aruanus*, que presenta un promedio de 0.64%, sin embargo, es mayor que lo reportado en *S. acapulcoensis* de 0.36%. (Valencia, 2014; Hernández, 2017). También dentro del género *Abudefduf*, se han reportado valores de IGS, tal es el caso de *A. sexfasciatus* donde se ha definido un promedio de 1.70% (Shadrin, 2007) valor mayor al de este trabajo y para la especie objetivo *A. troschellii*, se ha reportado un IGS promedio de 0.75% (Hernández, 2008), valor similar al encontrado en este estudio. En el presente trabajo se encontró un macho con un valor de IGS de 1.068%, esto podría atribuirse a un comportamiento reproductivo oportunista dentro de la actividad reproductiva de la especie, es decir, la presencia de machos satélites (macho pequeño con gónadas grandes, Fig. 4 a), caracterizados por tener un IGS dos veces mayor al promedio de un macho custodio (Mackiewicz *et al.*, 2002). Posiblemente este macho con gran IGS obtenga mayor éxito de apareamiento y reproductivo, con esta estrategia, como ya se ha visto en peces perciformes tal es el caso de *Lepomis marginatus* y *S. acapulcoensis* (Mackiewicz *et al.*, 2002; Hernández, 2017).

El análisis de Asimetría fluctuante (FA, por sus siglas en inglés) no mostró relación significativa con la talla del macho ni con las características del nido de este, esto podría deberse a varios factores principalmente a las estructuras anatómicas analizadas (distancia de la boca al preopérculo, distancia de la boca al opérculo y diámetro del ojo de ambos perfiles),

pertenecientes a la región cefálica de *A. troschellii*, lo cual podría estar explicando hábitos alimenticios de la especie, al ser esta la especie con la dieta más diversa del género (plancton, invertebrados bentónicos y algas en el arrecife) (Aguilar-Medrano, 2011). En el presente trabajo no se encontró correlación del éxito reproductivo (área del nido, densidad de huevos por cm² y número de huevos por nido) con la asimetría fluctuante.

Por otro lado, al asociar la talla de los machos al índice gonadosomático, se encontró que machos grandes poseen gónadas pequeñas y machos pequeños presentan gónadas proporcionalmente más grandes en comparación con su talla, como ya ha sido reportado en otros peces, por ejemplo, *Micrometrus minimus* (Warner, 1982) y *S. acapulcoensis* (Hernández, 2017). Sin embargo, una posible explicación a esta correlación es que cuando el pez es juvenil proporcionalmente las gónadas son más grandes en relación con el cuerpo, esto debido a que las gónadas crecen hasta un tamaño máximo y la talla corporal no, ya que en peces el crecimiento es indeterminado (Charnov y Berrigan, 1991) y como se ha sugerido en el Pacífico Oriental, algunos pomacéntridos pueden alcanzar hasta 32 años de edad (Robertson y Brothers, 1996). Con respecto a esta aseveración se ha señalado que en *Lepomis macrochirus*, los machos de entre 1-5 años de edad (sneakers) se caracterizan por ser pequeños y con un IGS alto, seguidos de los machos de talla media (satélites) que igualan la edad de las hembras y por último los machos que cuidan un nido (parentales) y que poseen un IGS menor y son de mayor talla y edad (Gross, 1982). En este estudio los machos pequeños de *A. troschellii* con un IGS superior no necesariamente implica que presenten una mayor producción de gametos, ya que las gónadas suelen alcanzar un tamaño máximo y no presentan significativa variación, siendo el soma el responsable de la mayor variación en los machos.

En el presente trabajo se reporta una relación negativa significativa entre el IGS y la asimetría fluctuante de los machos de *A. troschellii* (Fig. 4 d), los menos asimétricos presentaron gónadas proporcionalmente de mayor tamaño, a los cuales se les puede atribuir una edad menor y tomando en cuenta que en general son pocos los estudios que definan relaciones entre la asimetría y el sistema de apareamiento, esta es la primera aproximación para la especie *A. troschellii*, asociando de manera negativa al IGS, por lo que se puede concluir que la asimetría parece estar jugando un papel importante en la adecuación de la especie.

Por otra parte en cuanto a las características de los sitios de anidación, se encontró una clara asociación entre el tamaño del macho custodio e IGS con el IR (Fig. 4 a, b y c), es decir machos pequeños con un IGS superior están asociados a nidos con mayor complejidad espacio-topográfica, la cual podría deberse a las condiciones variables de los sitios de anidación y las oportunidades de establecer un territorio entre los machos reproductivos en la localidad de estudio, dada esta variación en las condiciones de los sitios de anidación, el optar por establecer un nido en un sitio más complejo puede estar confiriendo mayor facilidad de cuidado de la progenie y por tanto menor depredación. Es por tanto, que los machos pequeños tienen que tomar una estrategia reproductiva que les permita aumentar su éxito reproductivo al no ser capaces de conseguir un territorio (sitio de anidación) visible y atraer a las hembras para aparearse, tienen que anidar en un sitio con mayor complejidad espacio-topográfica donde haya menor competencia. Estrategia similar a lo que ocurre en algunos machos de *Lepomis: Centrarchidae*, que se convierten en reproductivos a temprana edad y se aparean al introducirse en los desoves y otros con retrasos de madurez sexual exhibiendo mayor agresividad (Gross, 1982).

Éxito de apareamiento

A partir de un análisis de probabilidad de exclusión de paternidad, se demostró que a partir de 3 loci se puede obtener mayor probabilidad de exclusión (0.998) para cada uno de ellos y en su conjunto (Anexo 4), valor altamente fiable en relación a lo reportado en otros peces donde se analizan genotipos a partir del uso de 2 hasta 6 loci (2 loci= 0.970 y 0.995, DeWoody *et al.*, 1998; DeWoody *et al.* 2000c; 3 loci= 0.940, 0.950 y 0.990, Jones *et al.*, 2001; Porter *et al.*, 2002; Mackiewicz *et al.*, 2002; Mackiewicz *et al.*, 2005; 4 loci=0.991, Mobley *et al.*, 2009; 5 loci= 0.990, Fiumera *et al.*, 2002; 6 loci =0.999, Liu *et al.*, 2012).

La maternidad múltiple es comúnmente observada en especies donde el macho realiza cuidado parental del nido (Taborsky *et al.*, 2008, Coleman y Jones, 2011), en este estudio se determinó un 100% de poliginia en los nidos analizados, valor semejante a lo reportado en otros trabajos en peces y algunos pomacéntridos en los que el sistema de apareamiento poligínico es el más común (Hoelzer, 1990; Wilson, 2009; Picciulin, *et al.*, 2012; Urbiola-Rangel, 2012; Mascolino *et al.*, 2016; Hernández, 2017). La estimación del número de progenitores nos definió una participación de tres a seis hembras involucradas en la fertilización de la progenie, valores

equiparables a los encontrados en el blenido *Scartella cristata* (rango 3 a 9, Mackiewicz *et al.*, 2005), en pomacéntridos como *S. acapulcoensis* (rango 4 a 6, Urbiola-Rangel, 2012; rango 4 a 7, Hernández, 2017) y *C. chromis* (rango 2 a 7, Mascolino *et al.*, 2016).

En cuanto a la contribución de gametos por hembra en la progenie de *A. troschellii*, se presentan porcentajes desde un 9.5% hasta con un 44% del total de embriones en un nido. Esta diferencia de contribuciones se ha observado en *S. diencaeus* (González-Valdez *et al.* 2013) y *S. acapulcoensis* (Urbiola-Rangel, 2012; Hernández, 2017) y puede deberse a la presencia o ausencia de características deseables por las hembras, ya que estas están limitadas por la cantidad de huevos que pueden producir y se espera que produzcan una fuerte selección sexual al elegir cuidadosamente al macho o sitio de anidación donde desovar, por lo tanto los machos con nidos que ya contienen embriones pueden ser favorecidos como se ha observado en otros peces perciformes (Hoelzer, 1990; Pruett-Jones, 1992; Dewoody *et al.*, 2000b; Brennan *et al.*, 2008).

En el presente trabajo las hembras de *A. troschellii* mostraron preferencia al desovar con machos de menor tamaño, contrario a lo reportado en *S. acapulcoensis* (Urbiola-Rangel, 2012; Hernández, 2017), sin embargo se ha reportado que las hembras de algunas especies de *Stegastes* optan además del tamaño por otras características (calidad de cortejo, agresividad, el número e intensidad de despliegues natatorios, entre otras variables) (Schmale, 1981; Knapp y Warner, 1991) mientras que otros peces prefieren características del sitio de desove (Wellington, 1982; Itzkowitz y Makie, 1986; Hoelzer, 1990; Karino y Nakazono, 1993; Mobley y Jones, 2009).

Por otra parte el mayor éxito de apareamiento es atribuible a los machos con un IGS alto, una explicación congruente a esta relación es la que se describe para *Gasterosteus aculeatus* (De Fraipont *et al.*, 1993) donde los machos jóvenes (pequeños) tienen más probabilidades de robar las fertilizaciones, mientras que los machos de mayor edad y talla son más propensos a establecer territorios, construir nidos y cuidar progenie, además de que los machos jóvenes produjeron más espermatozoides y con mayor movilidad que los machos mayores. Ambas estrategias, tanto cambiar de comportamiento reproductivo y la diferencia en la producción gamética de acuerdo a la edad y talla de los peces, pueden ser medidas alternativas para competir entre machos por territorios, como posiblemente sucedió en nuestro estudio, sin embargo, dada la poca variación en el peso de las gónadas no implica necesariamente alguna relación del IGS

con el éxito de apareamiento, ya que la mayor variación es atribuible al tamaño de los machos en este trabajo (Anexo 6, Fig. 13).

En el presente trabajo los machos custodiando un nido con mayor complejidad espacio-topográfica presentaron mayor éxito de apareamiento, por lo tanto esta complejidad en el sitio de anidación es una característica deseable por las hembras, lo que coincide con estudios anteriores en *S. acapulcoensis* (Wellington, 1982; Hernández, 2017) y difiere de lo presentado para *S. leucostictus* donde se reportó a partir de una inserción artificial de sitios de anidación, que los machos preferían sitios de anidación con menor complejidad (Itzkowitz y Makie, 1986), por lo tanto se puede inferir que una mayor protección contra la depredación de la puesta puede ser un beneficio que las hembras de *A. troschelii* prefieren al momento del apareamiento y no así para *S. leucostictus*, por lo que no hay un patrón claro de preferencia hacia las características del sitio de anidación de los pomacéntridos. Algunas ventajas de ovopositar en un sitio con menor complejidad espacio-topográfica podrían ser la mayor visibilidad para atraer a las hembras, mayor superficie de ovoposición y mayor ventilación de los embriones, sin embargo, la desventaja principal sería la potencial depredación que sufre un nido expuesto, en cambio al ovopositar en un sitio de anidación con mayor complejidad espacio-topográfica podría otorgar mayor protección a la progenie.

En este estudio, no hubo presencia de genotipos repetidos en los nidos, es decir, una o más hembras desovando en más de un nido, a diferencia de lo encontrado en *S. acapulcoensis* donde hay hasta dos hembras (Robledo-Ávila, 2011), por lo que se puede inferir para este trabajo que las hembras no están participando en la generación de más de una progenie en la población analizada, para confirmar esto se requeriría un diseño específico de muestreo ej. Nidos contiguos y marcados.

En el presente estudio el 90% de los nidos presentaron paternidad múltiple, específicamente poliandria, describiendo como se ha definido previamente (Guillen-Parra, 2018) TAA's en esta especie, con la participación de al menos un macho extra en la fecundación de la progenie. Los resultados de este estudio coinciden con lo encontrado para *Scartella cristata* donde se demuestra la contribución de más de un macho extra en la progenie de un nido (Mackiewicz *et al.*, 2005), así mismo con lo reportado para pomacéntridos como *C. chromis* por Mascolino *et al.* (2016) con la contribución de hasta siete machos extras en un mismo nido y principalmente

nuestros resultados coincidieron con lo reportado para *A. troschelii* (Guillen-Parra, 2018), donde se reporta la presencia de al menos tres machos extras en un solo nido.

En un nido analizado del presente estudio, el genotipo del macho custodio colectado no coincidió con el genotipo paterno encontrado en la progenie, esto podría deberse a que el macho que se colecto sea en realidad un macho ladrón de nido, dado que existe evidencia observacional en un nido de que este fue adoptado por otro macho después de la colecta o simplemente debido a error en la colecta del macho custodio.

Cabe señalar, que en dos estudios anteriores en *A. troschelii* (Hernández, 2008 y Guillen-Parra, 2018) se ha señalado evidencia de la formación de colonias reproductoras de gran tamaño, donde los nidos están muy cercanos entre sí, por lo que las posibles TAA's encontradas en nuestro estudio podrían ser reflejo del costo del formar colonias reproductoras y la distancia entre los nidos como se señala para *S. nigricans* (Karino y Nakazono, 1993; Tyler, 1995) y podría ser una estrategia similar a la descrita a partir de un análisis de comportamiento por Albrecht (1968) en *A. saxatilis*, donde la distancia entre los nidos es corta y algunos machos intrusos aprovechan para soltar esperma y lograr fecundar otras progenies de nidos cercanos, por lo tanto este comportamiento explicaría los resultados del presente trabajo. Robertson (1990), define una distancia de separación de los nidos de *A. troschelii* de entre 0.5-1 m dentro de la colonia, lo cual abre la posibilidad de que tal estrategia de formar grupos de anidación a menor distancia estaría proporcionando a la especie de estudio, una ventaja defensiva y de protección contra peces oófagos como labridos, pomacéntridos y pomacántidos (Montgomery, 1981; Lott, 1995; Trujillo *et al.*, 2008), siendo posible la existencia de un trade-off en la especie de estudio, es por tanto que el costo más importante de formar colonias reproductoras con nidos cercanos, es la existencia de una o más TAA (Albrecht, 1968; Karino y Nakazono, 1993; Tyler, 1995) y por otro lado el beneficio de protección ante depredación y mayor oportunidad de apareamiento que se obtiene al cohabitar en una colonia reproductora.

Éxito reproductivo

Respecto a la cantidad de huevos encontrada en este trabajo para *A. troschelii* se registra un promedio de 26,898 huevos por nido (rango 6,032-56,803), en un estudio anterior la fecundidad parcial registrada para las hembras es de 2,052 a 22,208 ovocitos/hembra (Ayala, 2012), por lo tanto, más de una hembra puede estar depositando sus huevos en un solo nido en el presente

trabajo. Además se reporta un nido con un valor máximo de 56,803 huevos, resultado menor que la observación de Foster en Panamá (1987b) de un máximo de 250,000 huevos por nido y por Trujillo en Baja California Sur (2014) donde un nido contiene hasta 89,288 huevos. Es importante puntualizar que en los estudios anteriores se sugiere una alta mortalidad desde el momento de la ovoposición, la cual podría deberse a canibalismo, depredación o ausencia de cuidado parental, esto también podría atribuirse a los resultados del presente trabajo, respecto a las cantidad de huevos registrada en los nidos, como lo reportado en *Gasterosteus aculeatus*, donde la proporción de huevos que muere es de 0 al 78.2% debido a la ausencia de cuidado del macho (Bakker *et al.*, 2006) y en pomacéntridos como en *S. rectifraenum* se atribuye la pérdida de huevos al canibalismo filial parcial del nido, donde un macho custodio puede consumir en promedio 5.0% del total de su progenie (Hoelzer, 1989).

Esta variación en la cantidad de huevos y el tamaño de los nidos encontrado para *A. troschellii*, podría depender de varios factores por ejemplo lo referido en *A. saxatilis*, donde se observó que la intensidad de cuidado parental aumentó con la edad de los huevos y se evidencia la existencia de mordidas (alimentación) las cuales disminuyeron con la edad de la progenie (Pacheco, 2015), por lo que se puede deducir que existe variación en el tamaño de los nidos en el proceso de su formación y esta depende de la calidad del cuidado parental y canibalismo.

Para *A. troschellii* Guillén-Parra (2018) ha reportado en Baja California Sur, que un nido experimenta cambios con una drástica variación en su área, triplica su tamaño del primer al segundo día y a partir de ese momento sufre reducción. Por lo tanto, se deduce que el tamaño de los nidos dependerá de la etapa de desarrollo en que se encuentren estos, del número de hembras que hayan desovado al momento de la colecta, del porcentaje de eclosión de larvas, de la posible tasa de canibalismo, pero sobre todo de la depredación de la progenie que sufre la especie, por lo cual esta técnica adquiere una mayor certeza al utilizarla como una estimación tanto del éxito de apareamiento del macho, como de la calidad de su cuidado parental. Estos factores podrían estar ocurriendo en nuestra población dada la variación en tamaño de los nidos y número de huevos contenidos en ellos y por lo tanto las variables con que se midió el éxito reproductivo: (área, densidad de huevos por cm² y número de huevos por nido) en este trabajo, así como la toma de muestras en un solo momento de la formación de los nidos, podrían no estar explicando de manera robusta el éxito reproductivo de esta especie y en consecuencia que no se

encontrara relación del éxito reproductivo de *A. troschelii* con ninguna de las variables intrínsecas del macho y las características del nido.

En el presente trabajo no se encontró correlación del éxito reproductivo (área del nido, densidad de huevos por cm² y número de huevos por nido) con el tamaño del macho custodio y el IGS, lo que no concuerda con el estudio de Trujillo (2014) donde se encontró una correlación positiva significativa entre el éxito reproductivo y el tamaño del macho de *A. troschelii*, no obstante, en el presente trabajo se corrobora que el tamaño no es la variable que mejor predice el éxito reproductivo de la especie.

El éxito reproductivo de *A. troschelii* podría estar influenciado por otras características externas como la presencia de huevos en el nido, pues esta reportado en otras especies de peces que las hembras prefieren desovar en nidos que ya contienen huevos recientes (Sikkel, 1989; Hoelzer, 1990; Karino y Nakazono, 1993; DeWoody *et al.*, 2000) ya que esto puede indicar buena calidad del macho custodio y por lo tanto menor depredación y mayor sobrevivencia de la progenie (Sikkel, 1988, Whoriskey y FitzGerald, 1994), lo cual también conlleva a evitar el canibalismo filial parcial que enfrentan los huevos jóvenes en un nido viejo, al preferir nidos con huevos recientes (De Martini, 1987; Sikkel, 1989; Reynolds y Jones, 1999).

Conforme avanzan los días en el nido de *A. troschelii*, la posible eclosión de larvas así como la tasa de depredación serán mayores, atribuyendo la mayor disminución del éxito reproductivo a cuestiones de depredación por parte de individuos conoespecíficos y heteroespecíficos (Guillén-Parra, 2018) o al canibalismo filial parcial o total, ya que se ha reportado que en especies hermanas como *A. sexfasciatus*, el canibalismo aumenta cuando hay una reducción de la progenie resguardada que implique mayor costo de cuidado parental y disminuye con la edad de la progenie, así mismo los machos aumentan el canibalismo cuando no hay la certeza de paternidad debido a la intrusión de otros machos (Manica, 2004), lo que podría ser el caso del presente trabajo, ya que un porcentaje de la progenie es proveniente de machos extras. Sin embargo, no se ha reportado ninguna observación sobre canibalismo en *A. troschelii*.

Bajo este contexto es necesario seguir analizando las variables tanto del macho como del territorio para así dilucidar sobre los posibles efectos de estas sobre el éxito de apareamiento y reproductivo, por lo que el presente trabajo muestra de manera puntual las características del

sistema reproductivo de *A. troschelii* y contribuye a informar sobre tales tendencias en poblaciones naturales de peces marinos, como lo es la familia Pomacentridae.

CONCLUSIONES

- I. *Abudefduf troschelii* en este estudio presenta un 100% de poliginia en los nidos analizados.
- II. La frecuencia de maternidad múltiple definió una participación de tres a seis hembras en la fertilización de la progenie, con una contribución de gametos por hembra de un 9.5% hasta un 44% del total de embriones en un nido.
- III. El 90% de los nidos presentaron poliandria con la participación de al menos un macho extra en la fecundación de la progenie.
- IV. Se encontró relación negativa del tamaño del macho con el IGS.
- V. Los machos de menor tamaño, con un IGS alto y con un nido con mayor complejidad espacio-topográfica presentaron mayor éxito de apareamiento.
- VI. El éxito reproductivo no mostró relación con el tamaño del macho y la complejidad espacio-topográfica del nido.

RECOMENDACIONES

Existen características intrínsecas de los machos como el índice gonadosomático (IGS), la asimetría fluctuante (FA), o posiblemente la coloración que podría estar indicando un efecto importante sobre el éxito reproductivo de los vertebrados, por lo que vale la pena profundizar en el estudio de estas variables.

El análisis completo de un número mayor de muestras, así como un estudio de desarrollo ontogénico de las progenies, generaría mayor robustez a las inferencias sobre el éxito de apareamiento y reproductivo de la especie. Es recomendable también la realización de estudios sobre la relación del tamaño con la edad de los organismos de *A. troschelii*.

Sería interesante seguir explorando softwares que pueden proporcionarnos el coeficiente de parentesco entre individuos utilizando varios algoritmos, por ejemplo: Ritland (1996) estimator, Lynch y Ritland (1999) estimator – Mean, y Queller-Goodnight (1989) estimator – Mean, los cuales están basados en la verosimilitud en relaciones entre organismos en escenarios hipotéticos de paternidad múltiple. Así mismo es aconsejable implementar el uso de otro software como Colony (Jones, 2010), el cual suele usarse para asignar parentesco, deduciendo el sistema de apareamiento (polígamo / monógamo) en las especies.

LITERATURA CITADA

- Acero, P.A. 1978. Anotaciones ecológicas y sistemáticas sobre los peces de la familia Pomacentridae en el Caribe Colombiano. Anuales del Instituto de Investigaciones Marinas. Punta Betón. 10: 249-259pp.
- Aguilar-Medrano, R., Frédérich, B., De Luna, E. y Balart, E. F. 2011. Patterns of morphological evolution of the cephalic region in damselfishes (Perciformes: Pomacentridae) of the Eastern Pacific. *Biological Journal of the Linnean Society*. 102, 593–613.
- Aguilar-Medrano, R y Barber, P. H. 2015. Ecomorphological diversification in reef fish of the genus *Abudefduf* (Perciformes, Pomacentridae). *Zoomorphology*. DOI 10.1007/s00435-015-0291-6
- Albrecht, H. 1968. Behaviour of four species of Atlantic damselfishes from Columbia, South America, (*Abudefduf saxatiles*, *A. taurus*, *Chromis multilineata*, *C. cyanea*; Pisces, Pomacentridae). *Institute of Marine Science*. 969: 662-676.
- Allen, G.R., 1991. Damselfishes of the world. Mergus Publishers, Melle, Germany. 271 p.
- Alonzo, S.H. y Warner, R 1999. A trade-off generated by sexual conflict: Mediterranean wrasse males refuse present mates to increase future success. *Behav. Ecol.*, 10(1):105-111.
- Andrew, R. L., Bernatchez, L., Bonin, A., Buerkle, C. A., Carstens, B. C., Emerson, B. C., Garant, D., Giraud, T., Kane, N. C., Rogers, S. M., Slate, J., Smith, H., Sork, V. L., Stone, G. N., Vines, T. H., Waits, L., Widmer, A. y Rieseberg, L. H. 2013. A road map for molecular ecology. *Molecular Ecology*. 22, 2605–2626.
- Angilletta, Jr, M. J., y Dunham, A. E. 2003. The temperature-size rule in ectotherms: simple evolutionary explanations may not be general. *The American Naturalist*, 162(3), 332-342.
- Arriaga-Cabrera, L., Vázquez-Domínguez, E., González, C. J., Jiménez R. R., Muñoz L. E. y Aguilar, S. V. coordinadores. 1998. Regiones marinas prioritarias de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad. México.
- Ashton, K. G., Tracy, M. C. y Queiroz, A. 2000. Is Bergmann's rule valid for mammals? *American Naturalist*. 156:390–415.

- Avise, J. C., Jones, A. G., Walker D., DeWoody, J. A., Dakin, B., Fiomera, A., Fletcher D., Mackiewicz M., Pearse D., Porter B. y Wilkins, D. 2002. Genetic mating systems and reproductive natural histories of fishes: Lessons for ecology and evolution. *Annual Review Genetic*. 36: 19-45.
- Ayala, J. A. 2012. Elementos de dinámica poblacional para el manejo de peces damisela del Golfo de California, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma De Baja California Sur. Área del conocimiento de Ciencias del Mar. Departamento académico de Biología Marina.
- Bakker, T. C., Mazzi, D. y Kraak, S. B. 2006. Broods of attractive three-spined stickleback males require greater parental care. *Journal of Fish Biology*, 69, 1164-1177.
- Berglund, A., Rosenqvist, G. y Svensson, I. 1988. Multiple matings and paternal brood care in the pipefish *Syngnathus typhle*. *Oikos*, 51, 184–188.
- Bergmann, C. 1847. Ueber die Verhältnisse der pattern? *Warmeökonomie der Thiere zu ihrer Grosse*. *Gottinger studien*, 3, 595–708.
- Brennan, B. J., Flaxman, S. M. y Alonzo, S. H. 2008. Female alternative reproductive behaviors: the effect of female group size on mate assessment and copying. *Journal of Theoretical Biology* 253, 561–569.
- Calsbeek, R. y Sinervo, B. 2008. En: *Alternative reproductive tactics: An integrative approach* (Oliveira, R. F., Taborsky, M. y H. J. Brockmann). Cambridge University Press. EUA. 507pp.
- Caley, M. J. 1995. Community dynamics of tropical reef fishes: Local patterns between latitudes. *Mar. Ecol.* 129: 17- 18.
- Carvalho, M. C., Streiff, R., Guillemaud, T., Afonso, P., Santos, R. S. y Cancela, M. L. 2000. Isolation and characterization of polymorphic microsatellite markers in *Abudefduf luridus* (Pisces: Pomacentridae). *Molecular Ecology*. 9: 993-1011.
- Ceccarelli, D. M., Jones, G. P. y McCook, L.J. 2011. Interactions between herbivorous fish guilds and their influence on algal succession on a coastal coral reef. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 399: 60–67.
- Charnov, E. L., y Berrigan, D. 1991. Evolution of life history parameters in animals with indeterminate growth, particularly fish. *Evolutionary Ecology*, 5(1), 63-68.

- Coleman, S. W. y Jones, A. G. 2011. Patterns of multiple paternity and maternity in fishes. *Biological Journal of the Linnean Society* 103, 735–760.
- Cote, I. M. y Hunte, W. 1989. Male and female mate choice in the redlip blenny: why bigger is better. *Animal Behavior*. 38, 78-88.
- Czerniejewski, P. y Filipiak, J. 2002. Fecundity assessment of vendace, *Coregonus albula* L. from six lakes in Polish western Pomerania. Poland. *Acta Ichthyol. Piscat.* 32(1): 71-82 pp.
- De Boer, B. A. 1981. Influence of population density on territorial, courting, and spawning behaviour of male *Chromis cyanea*. *Behaviour* 77:99-120.
- De Fraipont, M., FitzGerald, G.J. y Guderley, H. 1993. Age-related differences in reproductive tactics in the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*, *Anim. Behav.* 46, 961–968
- Dewoody, J. A., Dewoody, D. D., Fiumera, A. C y Avise, J. C. 2000. 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.
- Díaz-Pulido, G. 1997. Informe nacional sobre el estado de la biodiversidad en Colombia, ecosistemas marinos y costeros. Programa de Biodiversidad y Ecosistemas Marinos. Instituto de investigaciones Marinas y Costeras- INVEMAR. 214pp.
- Dubinsky, Z. y Stambler, N. 2011. *Coral Reefs: An Ecosystem in Transition*. 1era edition. New York. Springer, pp. 552.
- Emlen, S. T. y Oring, L. W. 1977. Ecology, Sexual Selection, and the Evolution of Mating Systems. *Science*. 197: 215-223 pp.
- Excoffier, L., Laval, G. y Schneider, S. 2005. Arlequin ver. 3.1: An integrated software package for population genetics data analysis. *Evolutionary Bioinformatics Online*. 1: 47-50.
- FishBase.us/summary/*Abudefduf-troschellii*. Fecha de consulta (20 de Noviembre de 2015)

- Fischer, W., Krupp, F., Schneider, W., Sommer, C., Carpenter, K. E. y Niem, V. H. 1995. Guía FAO para la identificación de especies para los fines de pesca. Pacífico-oriental Volumen III. Vertebrados- Parte 2. Roma, FAO. Vol. III: 1201-1813 p.
- Fishelson, L. 1970. Behaviour and ecology of a population of *Abudefduf saxatilis* (Pomacentridae, Teleostei) at Eilat (Red Sea). *Animal Behaviour*, 18, 225-237.
- FitzSimmons, N. 1997. Male marine turtles: gene flow, philopatry and mating systems of the green turtle *Chelonia mydas* (Tesis Doctoral). Australia: Universidad de Queensland. 241pp.
- Fiumera, A. C., Porter, B. A., Grossman, G. D. y Avise, J. C. 2002. Intensive genetic assessment of the mating system and reproductive success in a semi-closed population of the mottled sculpin, *Cottus bairdi*. *Molecular Ecology* 11, 2367-2377.
- Foreyt, J., Howell, C. y Villegas, V. 2010. Analysis of the territorial behaviors and responses to nest disturbances of *Abudefduf troschelii* (Panamic sergeant major). Independent Research Projects Tropical Marine Biology Class Summer 2010, La Paz, México.
- Foster, S. A. 1987a. Acquisition of a defended resource: a benefit of group foraging for the neotropical wrasse, *Thalassoma lucasanum*. *Environmental Biology of Fishes* 19: 215-222.
- Foster, S. A. 1987b. Diel and lunar patterns of reproduction in the Caribbean and Pacific sergeant major damselfishes *Abudefduf saxatilis* and *Abudefduf troschelii*. *Marine Biology*. 95,333-343. Springer-Varlag.
- Foster, S. A. 1989. The implications of divergence in spatial nesting patterns in the geminate Caribbean and Pacific sergeant major damselfishes. *Animal Behaviour* 37:465-476.
- Goodisman, M. A. D. 2007. A theoretical analysis of variation in multiple mating in social insects. *Sociobiology* Vol. 49. No. 3.
- Goulet, D. 1998. Spawning success in the damselfish *Amblyglyphidodon leucogaster*: the influence of eggs in the nest. *Animal Behaviour*, 55, 651-664
- González-Sansón, G., C. Aguilar, J. Angulo y C. González. 1997. Variación espacial y estacional de la ictiofauna en un arrecife de coral costero de la región noroccidental de Cuba. II. Diversidad. *Rev. Invest. Mar.* 18(3): 233-241.

- 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.
- Guillen-Parra, M. A. 2018. Éxito reproductivo de *Abudefduf troschelii* (Perciformes: Pomacentridae): una aproximación molecular y de comportamiento. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. U. M. S. N. H.
- Grove, J. S., Gerzon, D., Saa, M. D. y C. Strang. 1986. Distribución y ecología de la familia Pomacentridae (Pisces) en las Islas Galápagos. *Revista de Biología Tropical*. 34 (1):127-140.
- Helfman, G. S., Collete, B. B., Facey D. E. y Bowen, B. W. 2009. The diversity of fishes. Biology, evolution and ecology. 2nd Ed. Wiley-Blackwell, West Sussex, UK.
- Hernández, L. 2008. Ecología Reproductiva de Peces de Arrecife Rocosos en el Suroeste del Golfo de California, México. Tesis de Doctorado. IPNCICIMAR. 184 p.
- Hernández-Bahena, A. Y. 2017. Variación del éxito de apareamiento y reproductivo de *Stegastes acapulcoensis* en temporadas contrastantes. Tesis de Maestría. Facultad de Biología. U. M. S. N. H.
- Hoelzer, G. A. 1989. Sexual selection and reproductive behavior in the Cortez damselfish, *Stegastes rectifraenum*. Ph.D. thesis, University of Arizona, Tucson.
- Hoelzer, G. A. 1990. Male-male competition and female choice in the Cortez damselfish, *Stegastes rectifraenum*. *Animal Behavior*.40: 339-349.
- Hughes C. 1998. Integrating molecular techniques with field methods in studies of social behavior: a revolution results. *Ecology*, 79, 383-399.
- Itzkowitz, M., y Makie, D. 1986. Habitat structure and reproductive success in the beaugregory damselfish. *Journal of experimental marine biology and ecology*, 97(3), 305-312.
- Itzkowitz, M. 1991. Habitat selection and subsequent reproductive success in the beaugregory damselfish. *Environmental biology of fishes*, 30(3), 287-293.
- James, F. C. 1970. Geographic size variation in birds and its relationship to climate. *Ecology* 51:365–390.

- Jones A. G. y Avise, J. C. 1997. Polygynandry in the dusky pipefish *Syngnathus floridae* revealed by microsatellite DNA markers. *Evolution*, 51, 1611–1622.
- Jones, A. G. 2001. GERUD 1.0. A computer program for the reconstruction of parental genotypes from progeny arrays using multilocus DNA data. *Molecular Ecology Notes*. 1: 215-218.
- Juárez, H. L. G. 2005. Estructura de la comunidad de peces en la Bahía Maguey, Huatulco, Oaxaca. Tesis de licenciatura. Iztapalapa. D.F: UAM.
- Karino, K. y Nakazono, A. 1993. Reproductive behavior of the territorial herbivore *Stegastes nigricans* (Pisces: Pomacentridae) in relation to colony formation. *Journal of the Ethology*, 11, 99-110.
- Kaschner, K., Ready, J. S., Agbayani, E., Rius, J., Kesner-Reyes, K., Eastwood, P. D., South A. B., Kullander, S. O., Ress, T., Close, C. H., Watson, R., Pauly, D. y Froese, R. 2007. Aquamaps: predicted range maps for aquatic for species. Reviewed distribution maps for *Abudefduf troschelii* (Panamic sergeant major), with modelled year 2100 native range map based on IPCC A2 emissions scenario. www.aquamaps.org, version of Aug. 2013. Web. Accessed 25 Jul. 2016.
- Knapp, R. A., Sikkel, P. C., Vredenburg, V. T. 1995. Age of clutches in nests and the within-nest spawning-site preferences of three damselfish species (Pomacentridae). *Copeia* 1995:78–88.
- Knapp, R. A., Warner, R. R. 1991. Male parental care and female choice in the bicolor damselfish, *Stegastes partitus*: bigger is not always better. *Anim Behav* 41:747–756.
- Kodric-Brown, A. 1990. Mechanisms of sexual selection: insights from fishes. *Annales Zoologici Fennici*, 27, 87-100.
- Koshio, C. Muraji, M., Tatsuta, H., Kudo, Si. 2007. Sexual selection in a moth: effect of symmetry on male mating success in the wild. *Behavioral Ecology* 18:571-578.
- Krebs, J. R. y Davies, N. B. 1993. An introduction to behavioural ecology. Third edition. Blackwell Scientific Publications, London.
- Leung, B. y Forbes, M. R. 1996. Fluctuating asymmetry in relation to stress and fitness: effects of trait type as revealed by meta-analysis. *Ecoscience* 3:400-413.

- Leese, J. M., Sneksner, J. L., Ganim, A. e Itzkowitz, M. 2009. Assessment and decision making in a Caribbean damselfish: nest-site quality influences prioritization of courtship and brood defence. *Biol Lett.* 2009:188–190.
- Lindström, K. 1988. Male-male competition for nest sites in the sand goby, *Pomatoschistus minutus*. *Oikos*, 53, 67-73.
- Mackiewicz, M., Fletcher, D. E., Wilkins, S. D., DeWoody, J. A. y Avise, J. C. 2002. A genetic assessment of parentage in a natural population of dollar sunfish (*Lepomis marginatus*) based on microsatellite markers. *Molecular Ecology*. 11, 1877–1883
- Mackiewicz, M., B. A. Porter, E. E. Dakin y Avise, J. C. 2005. Cuckoldry rates in the Molly Miller (*Scartella cristata*; Blenniidae), a hole nesting marine fish with alternative reproductive tactics. *Marine Biology*. 148: 213-221.
- Manica, A. 2002. Alternative strategies for a father with a small brood: mate, cannibalise or care. *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 51(4), 319-323.
- Manica, A. 2004. Parental fish change their cannibalistic behaviour in response to the cost-to-benefit ratio of parental care. *Animal Behaviour*. 67: 1015-1021.
- Manica, A. 2010. Female scissortail sergeants (Pisces: Pomacentridae) use test eggs to choose good fathers. *Animal Behaviour*. 79: 237-242.
- Maruska, K. P., K. S. Boyle, L. R. Dewan y T. C. Tricas. 2007. Sound production and spectral hearing sensitivity in the Hawaiian sergeant damselfish, *Abudefduf abdominalis*. *The Journal of Experimental Biology*. 210: 3990-4004.
- Mascolino, S., C. Benvenuto, C. Gubili, C. Sacchi, B. Boufana y S. Mariani. 2016. The ART of mating: alternative reproductive tactics and mating success in a nest-guarding fish. *Journal of Fish Biology*. 89: 2643-2657.
- Meekan, M. G., Ackerman, G. L. y Wellington, G. M. 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 Jones, A. G. 2007. Geographical variation in the mating system of the dusky pipefish (*Syngnathus floridae*). *Molecular Ecology*, 16, 2596–2606.
- Mobley, K. B. y Jones, A. G. 2009. Environmental, demographic, and genetic mating system variation among five geographically distinct dusky pipefish (*Syngnathus floridae*) populations. *Molecular Ecology*. 18: 213-221.
- Molina, W. F., Shibatta, O. A. y Galetti-Jr. P. M. 2006. Multivariate morphological analyses in continental and island populations of *Abudefduf saxatilis* (Linnaeus) (Pomacentridae, Perciformes) of Western Atlantic. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences* 1 (2): 49-56
- Nakano, K., Takemura, A., Nakamura, S., Nakano, Y. y Iwama, G. K. 2004. Changes in the cellular and organismal stress responses of the subtropical fish, the Indo-Pacific sergeant *Abudefduf vaigiensis*, due to the 1997–1998 El Niño/Southern Oscillation. *Environmental Biology of Fishes* 70: 321–329.
- Neff, B. 2008. Alternative mating tactics and mate choice for good genes or good care. En: *Alternative reproductive tactics: An integrative approach* (Oliveira, R. F., M. Taborsky y H. J. Brockmann). Cambridge University Press. EUA. 507pp.
- Nelson, J. S. 1994. *Fishes of the World*. John Willey y Sons Inc, New York.
- Ortiz, S. A. 2005. *Los arrecifes de coral*. Aixa Rodríguez Ed. Sea Grant. Universidad de Puerto Rico.
- Pacheco, G. F. J. 2015. *Cuidado parental en el pez Abudefduf saxatilis en el atlántico mexicano*. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.
- Peakall, R y P. E. Smouse. 2012. GenAlex 6.5: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research – an update. *Bioinformatics*. 28: 2537-2539.
- Peterson, M. S. y Ross, S. T. 1991. Dinámica de peces litorales y decápodos a lo largo de un gradiente de estuario de río-costera. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*. Volume 33, Issue 5, pp 467-483.
- Picciulin, M., Verginellab, L., Spotob y Ferreroa, M. A. 2012. Colonial nesting and the importance of the brood size in male parasitic reproduction of the Mediterranean damselfish *Chromis chromis* (Pisces: Pomacentridae). *Environmental Biology of Fishes*, 70(1), 23-30.

- Piña-Espallargas, R. 2005. La Pesquería de especies marinas con fines de ornato en México. El Parque Marino de Loreto. B. C. S. Tesis de maestría, CICIMAR-IPN.
- Piñeros, V. J., Rios-Cardenas, O., Gutierrez-Rodriguez, C. y Mendoza-Cuenca, L. 2015. Morphological differentiation in the damselfish *Abudefduf saxatilis* along the Mexican Atlantic coast is associated with environmental factors and high connectivity. *Evolutionary Biology*. Volume 42, Issue 2, pp 235-249.
- Porter, B. A., Fiumera, A. C. y Avise, J. C. 2002. Egg mimicry and allopaternal care: two mate-attracting tactics by which nesting striped darter (*Etheostoma virgatum*) males enhance reproductive success. *Behav. Ecol. Sociobiol.* 51:350–359.
- Pruett-Jones, S. 1992. Independent versus non independent mate choice: do females copy each other? *The American Naturalist* 140, 1000–1009.
- Rispoli, V. F. y Wilson, A. B. 2008. Sexual size dimorphism predicts the frequency of multiple mating in the sex-role reversed pipefish *Syngnathus typhle*. *Journal of Evolutionary Biology*, 21, 30–38.
- Robertson, D. R., Petersen, C. W. y Brawn, J. D. 1990. Lunar reproductive cycles of benthic brooding reef fishes: reflections of larval-biology of adult-biology? *Ecol. Monogr.* 60: 311-329.
- Robertson D.R. y E.B. Brothers. 1996. Age and growth in Caribbean damselfishes. Abstracts: 8th Int. Coral Reef Symp. 167.
- Robledo-Ávila, L. A. 2015. Evaluación de la variación estacional, en la frecuencia de maternidad múltiple de *Stegastes acapulcoensis* (Pomacentridae). Tesis de Maestría. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Mich. México.
- Rohwer, S. 1978. Parent cannibalism of offspring and egg raiding as a courtship strategy. *The American Naturalist*. 112(984): 429-440.
- Ruiz, M. J. R. 2008. Efecto de la densidad de competidores en la agresividad de *Abudefduf luridus* (Pisces: Pomacentridae). *Anales Universitarios de Etología*, 2:77-81.
- Saborido-Rey, F. 2008. Ecología de la reproducción y potencial reproductivo en las poblaciones de peces marinos. Instituto de Investigaciones Marinas (CSIC). Universidad de Vigo, España.

- Sasal, P y Pampoulie, C. 2000. Asymmetry, reproductive success and parasitism of *Pomatoschistus microps* in a French lagoon. *Journal of Fish Biology*. Volume 57. 2. 382-390.
- Schmale, M. C. 1981. Sexual selection and reproductive success in males of the bicolor damselfish, *Eupomacentrus partitus* (Pisces: Pomacentridae). *Animal Behaviour*, 29(4), 1172-1184.
- Schneider, C. A., W. S. Rasband y K. W. Eliceiri. 2012. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature methods*. 9(7): 671-675.
- Shadrin, A. M., y Emel'yanova, N. G. 2007. Embryonic-larval development and some data on the reproductive biology of *Abudefduf sexfasciatus* (Pomacentridae: Perciformes). *Journal of Ichthyology*, 47(1), 67-80.
- Sikkel P. 1989. Egg presence and developmental stage influence spawning-site choice by female Garibaldi. *Animal Behaviour*. 38, 447-456.
- Souza, L. D. L., Chellappa, S., y Gurgel, H. D. C. 2007. Reproductive biology of the damselfish, *Stegastes fuscus* Cuvier, in the coastal rocky reefs of northeastern Brazil. *Revista Brasileira de Zoologia*, 24(2), 419-425.
- Sunobe, T., Ohta, T., y Nakazono, A. 1995. Mating system and spawning cycle in the blenny, *Istiblennius enosimae*, at Kagoshima, Japan. *Environmental biology of fishes*, 43(2), 195-199.
- Stringwell, R., Lock, A., Stutchbury, C. J., Baggett, E., Taylor, J., Gough, P. J., y Garcia de Leaniz, C. 2014. Maladaptation and phenotypic mismatch in hatchery-reared Atlantic salmon *Salmo salar* released in the wild. *Journal of fish biology*, 85(6), 1927-1945.
- Taborsky, M. 1998. Sperm competition in fish: 'bourgeois' males and parasitic spawning. *Trends in Ecology and Evolution*, 13, 222-227.
- Taborsky, M. 2001. The evolution of bourgeois, parasitic, and cooperative reproductive behaviors in fishes. *Journal of Heredity*, 92, 100-110.
- Taborsky, M., R. F. Oliveira y H. J. Brockmann. 2008. The evolution of alternative reproductive tactics: concepts and questions. En: *Alternative reproductive tactics: An integrative approach* (Oliveira, R. F., M. Taborsky y H. J. Brockmann). Cambridge University Press. EUA. 507pp.

- Tamada, K. 2008. Estimate of mating pattern of a paternal nest brooder goby of *Rhinogobius*, using egg density in the nest. *Ichthyological Research*, 55(2), 191-197.
- Takegaki, T. y Nakazono, A. 1999. Responses of the egg-tending gobiid fish *Valenciennea longipinnis* to the fluctuation of dissolved oxygen in the burrow. *Bulletin of Marine Science*, 65(3), pp.815-823.
- Thomson, D. A., Findley, L. T. y Kerstitch, A. N. 2000. Reef fishes of the Sea of Cortez. University of Texas, Texas, USA.
- Tofts, A. M. S., Johnson, D. W. y Carter, A. J. R. 2016. Strong nonlinear selection against fluctuating asymmetry in wild populations of a marine fish. *Evolution*, 70: 2899–2908. doi:10.1111/evo.13092
- Transviña, C. A. 2002. La circulación costera del Pacífico tropical oriental, con énfasis en la Alberca Cálida mexicana. Colección Dialogo entre pares, Consejo Nacional de Acreditación. Bogotá, Colombia. 20 pp.
- Trippel, E.A. 2003. Estimation of male reproductive success of marine fishes. *J. North. Atl. Fish. Sci.*, 33:81-113.
- Trujillo, G. M. 2014. Estimación del éxito reproductivo en machos de *Abudefduf troschelii* (Gill, 1862) en Playa La Sorpresa, La Paz, Baja California Sur. Tesis de Licenciatura. Benemerita Universidad Autónoma de Puebla.
- Tyler III, W. A., y Stanton, F. 1995. Potential influence of food abundance on spawning patterns in a damselfish, *Abudefduf abdominalis*. *Bulletin of Marine Science*, 57(3), 610-623.
- Uglen, I., I. Mayer & G. Rosenqvist. 2002. Variation in Plasma Steroids and Reproductive Traits in Dimorphic Males of Corkwing Wrasse (*Symphodus melops* L.). *Horm. Behav.* 41:396-404.
- Uller, T. y Olsson, M. 2008. Multiple paternity in reptiles: patterns and processes. *Molecular Ecology*, 17: 2566-2580.
- Urbiola-Rangel, E. 2012. Capítulo II. Variación en la frecuencia de poliginia asociada a la talla de los machos en *Stegastes acapulcoensis*. Tesis de Maestría. Morelia (Mich.) México: CMEB.

- Valencia M.O. 2014. Aspectos reproductivos y dinámica poblacional de la damisela *Stegastes acapulcoensis* (Fowler, 1944) (Actinopterygii: Pomacentridae) de la bahía La Entrega, Oaxaca, México. Tesis de Maestría. Oaxaca, México.
- Van Valen, L. 1962. A Study of fluctuating asymmetry. *Evolution* 16:125-142.
- Vishalakshi, C. y Singh, B. 2008. Mating success is not correlated with fluctuating asymmetry in *Drosophila ananassae*. *Current Science* 94:375-381.
- Warner, R. R. y Harlan, R. K. 1982. Sperm competition and sperm storage as determinants of sexual size dimorphism in the dwarf surfperch, *Micrometrus minimus*, *Evolution* 36, 44-55
- Wellington, G. M. 1982. Depth zonation of corals in the Gulf of Panama: control and facilitation by resident reef fishes. *Ecological Monographs*. 52(3):223-241.
- Westneat, D. F., Fredrick, P. C. y Haven, R. 1987. The use of genetic markers to estimate the frequency of successful alternative reproductive tactics. *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 21: 35-4.
- Whoriskey, F. G., y FitzGerald, G. J. 1994. Ecology of the threespine stickleback on the breeding grounds. *The evolutionary biology of the threespine stickleback*, 188-206.
- Wickler, W. 1962. Egg-dummies as natural releasers in mouth breeding cichlids. *Nature* 194:1092–1093.
- Wickler, W. 1997. Sexually selected genital adornment and sperm packaging in species of *Oreochromis* (Teleostei: Cichlidae). *Copeia*: 188–190.
- Wilkinson, C. R. y Buddemeier, R. W. 1994. Global climate change and coral reefs: implications for people and reefs. UNEP-IOC-ASPEI-IUCN, 144pp.

ANEXOS

ANEXO 1



Figura 8. Macho *A. troschelii* y sus gónadas.

ANEXO 2

Asignación de las regiones medidas para el análisis de Asimetría fluctuante:

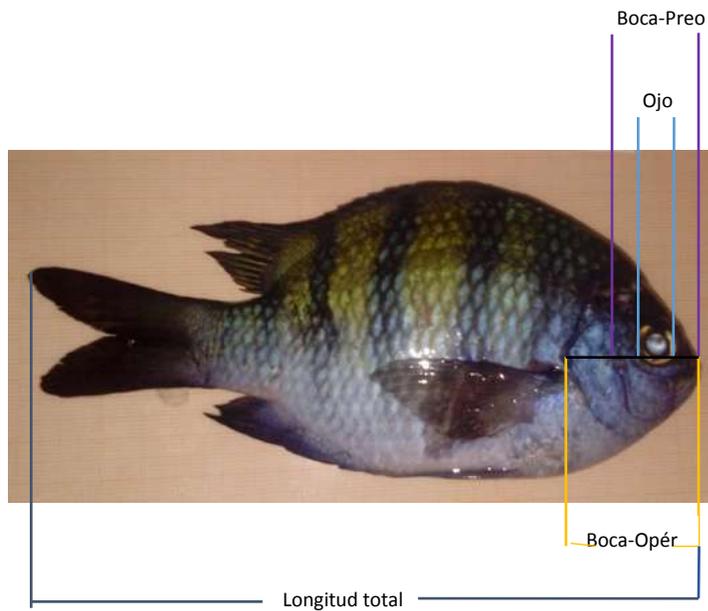


Figura 9. Medidas tomadas a cada macho de *A. troschelii*; Longitud estándar, distancia boca-preopérculo, distancia boca-opérculo y diámetro del ojo

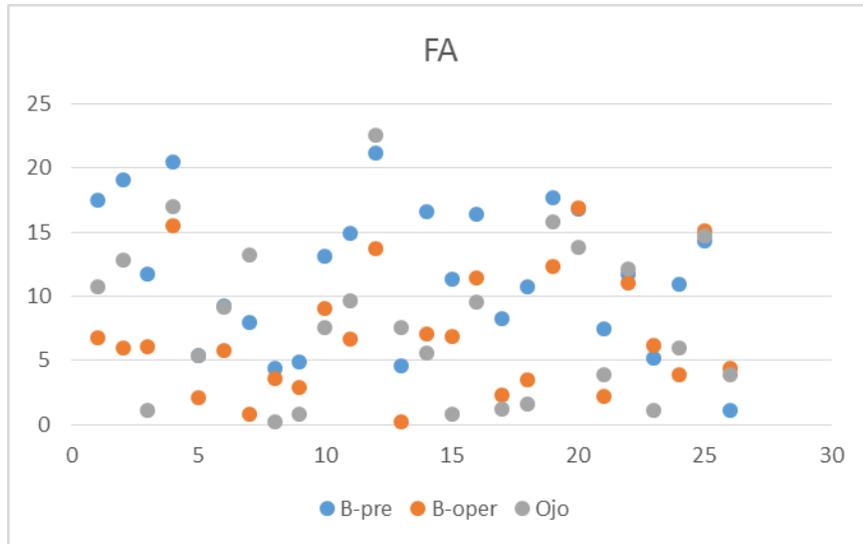


Figura 10. Grafica del análisis de Asimetría fluctuante, puntos azules; distancia boca-preopérculo, puntos rojos; distancia boca-opérculo y puntos grises; diámetro del ojo.

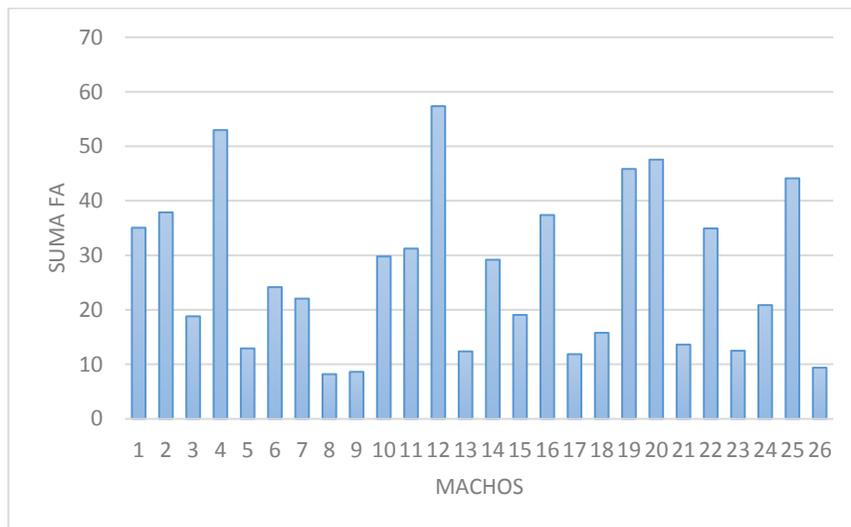


Figura 11. Suma de la asimetría fluctuante de las tres regiones homologas de todos los machos

ANEXO 3

Tabla 3. Machos de *A. troschelii* con las variables analizadas

Machos	LT	LE	PG	PT	IGS	FA	Área	# Huevos	Densidad	IR
1	18.3	14.0	0.44	109.20	0.407	35.06	353	16072	45.5	1.43
2	19.5	14.5	0.57	122.39	0.465	37.88	259	23107	89.2	1.20
3	17.3	14.1	0.98	97.67	1.015	18.81	206	33625	163.2	2.07
4	17.6	13.2	0.88	83.28	1.068	8.62	950	56804	59.8	2.19
5	19.8	14.9	0.17	120.30	0.143	52.97	336	11434	34.0	1.36
6	19.7	14.5	0.65	109.84	0.594	24.16	227	16210	71.4	1.34
7	18.2	13.7	0.71	108.16	0.656	12.93	160	6032	37.7	1.69
8	19.5	14.8	0.34	116.50	0.290	29.80	470	26898	87.5	1.36
9	18.3	14.3	0.41	100.01	0.412	31.24	322	36682	113.9	1.32
10	20.1	15.4	0.34	117.00	0.290	57.36	240	26898	87.5	1.50
11	20.2	15.0	0.45	108.18	0.420	12.38	368	36511	99.2	1.54
12	16.7	12.7	0.95	99.60	0.963	37.39	519	24533	102.2	2.29
13	17.1	13.1	0.95	99.50	0.963	19.07	216	24300	112.5	2.06
14	18.0	13.9	0.84	111.30	0.757	29.19	661	29409	122.0	1.81
15	18.1	13.8	0.59	113.64	0.524	21.86	280	28000	100.0	1.66
16	19.7	14.8	0.45	115.44	0.395	15.78	241	26898	87.5	1.46
17	17.1	13.4	0.70	101.99	0.690	45.84	645	26898	87.5	2.06
18	18.4	14.5	0.76	106.09	0.722	27.55	455	33853	74.4	1.79
19	18.1	14.7	0.55	117.50	0.467	33.62	402	26898	87.5	1.87
*20	20.2	14.8	0.46	110.20	0.414	8.20	-	-	-	-
*21	19.0	14.5	0.63	111.90	0.566	22.10	-	-	-	-
*22	18.5	13.6	0.78	101.38	0.775	34.90	-	-	-	-
*23	18.8	13.8	0.63	111.10	0.566	12.50	-	-	-	-
*24	18.1	13.8	0.63	112.24	0.564	20.90	-	-	-	-
*25	18.6	13.7	0.68	119.14	0.574	44.10	-	-	-	-
*26	16.8	13.2	0.84	93.77	0.907	9.40	-	-	-	-
Prom.	18.4	14.0	0.63	108.36	0.600	26.70	385	26898	87.5	1.71

LT: Longitud total (cm), LE: Longitud estándar (cm), P.G: Peso gónadas (gr), P.T: Peso total (gr), IGS: Índice gonadosomático, FA: Asimetría fluctuante, Área: Área del nido (cm²), # Huevos: Huevos por nido, Densidad: No. de huevos por cm², IR: Índice de rugosidad, *: Machos no asociados a nido, -: Sin datos.

ANEXO 4

Análisis de probabilidad de exclusión de maternidad múltiple, que nos permite decidir el número de loci a utilizar:

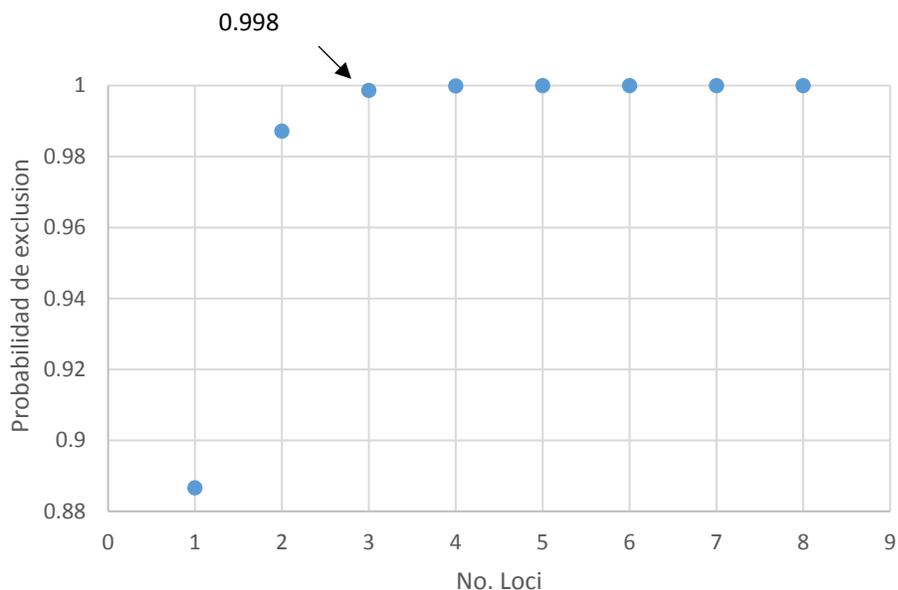


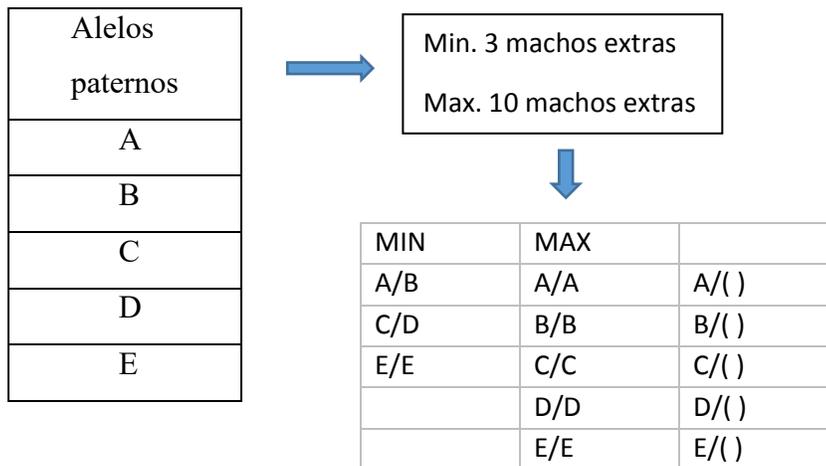
Figura 12. Representación gráfica de la probabilidad de exclusión

ANEXO 5

Pasos para identificar genotipos externos de machos extras en nidos con genotipo paterno conocido:

1. Agrupar los genotipos que coincidan con al menos un alelo en cada locus con el genotipo paterno del macho custodio.
2. En caso de no contar con el genotipo paterno de la progenie, el análisis de GERUD 2.0 (Jones, 2001) determina el genotipo paterno compatible con esa progenie.
3. Realizar formato de entrada GERUD 2.0 (Jones, 2001) y obtener los genotipos maternos involucrados.
4. Comparar los genotipos maternos con el resto de la progenie que no se sometió al previo análisis.

5. Revisar cada locus y verificar si corresponde el genotipo con al menos un alelo materno y de ser así el otro alelo debe ser de otro macho, no del custodio.
6. Confirmar nuestros datos con las frecuencias alélicas de ese grupo de muestras.
7. En caso de que ninguno de los alelos corresponda con algún genotipo materno ya definido, se trata de otra hembra involucrada, por lo tanto inferir cuál de los dos alelos es materno y cual paterno
8. Definir el mínimo y máximo de machos extras que se pueden formar dados los alelos encontrados:



9. Analizar con que hembras se está apareando ese macho extra y referir si comparte hembras con el macho custodio, pero dados los alelos encontrados y la incertidumbre al no conocer si se trate de genotipos homogéneos o heterogéneos se dificulta este punto.

ANEXO 6

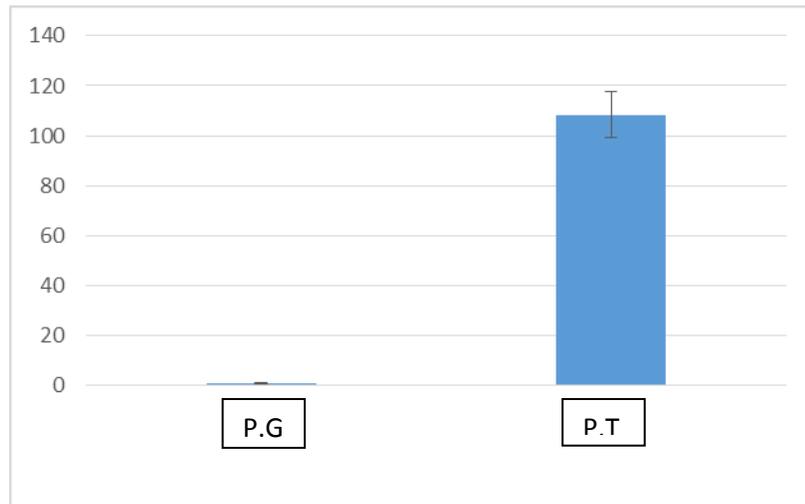


Fig. 13. Variación en el peso de las gónadas (1) en comparación con el peso total (2) de *A. troschelii*.