



UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLÁS DE HIDALGO

FACULTAD DE BIOLOGÍA

PROGRAMA DE POSGRADO

SISTEMA DE APAREAMIENTO GENÉTICO DE *Stegastes acapulcoensis*
(POMACENTRIDAE) EN EL PACÍFICO CENTRAL DE MÉXICO.

Tesis que presenta:

ERICKA URBIOLA RANGEL

Como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
EN EL ÁREA DE ECOLOGÍA Y CONSERVACIÓN

Director de Tesis: Dr. Omar Chassin Noria.

MORELIA, MICHOACÁN. JULIO 2012.

ÍNDICE

RESUMEN GENERAL 4

SUMMARY 6

INTRODUCCIÓN GENERAL 8

Stegastes acapulcoensis (Fowler, 1944) 9

HIPÓTESIS 11

 Capítulo I 11

 Capítulo II 11

OBJETIVOS 11

 Objetivo general..... 11

 Objetivos particulares 12

CAPÍTULO I. CONECTIVIDAD GENÉTICA DE *Stegastes acapulcoensis*
(POMACENTRIDAE) EN EL PACÍFICO CENTRAL DE MÉXICO..... 13

 RESUMEN..... 13

 ABSTRACT..... 14

 REFERENCIAS 23

CAPÍTULO II. VARIACIÓN EN LA FRECUENCIA DE POLIGINIA ASOCIADA A LA
TALLA DE LOS MACHOS EN *Stegastes acapulcoensis*. 27

RESUMEN 27

ABSTRACT 28

INTRODUCCIÓN 29

MATERIALES Y MÉTODOS 35

RESULTADOS 38

 Datos ecológicos 38

 Análisis genético 39

 Relación entre variables 43

DISCUSIÓN 46

 Sistema de apareamiento genético 46

 " *Cuckoldry* "..... 49

Poliginia y talla en un gradiente latitudinal.....	54
CONCLUSIONES.....	58
LITERATURA CITADA.....	59
DISCUSIÓN GENERAL.....	66
PERSPECTIVAS.....	69
ANEXO I.....	71
ANEXO II.....	72

RESUMEN GENERAL

Los arrecifes marinos son de los ecosistemas con mayor diversidad biológica del planeta, en términos de número de especies y de interacciones biológicas. En estos ecosistemas, los representantes de la familia Pomacentridae incluyen algunas de las especies más conspicuas en términos de riqueza y abundancia. Dentro de esta familia los representantes del género *Stegastes* se distinguen por ser especies que en etapa adulta son herbívoros, territoriales y dependientes de un sustrato para su reproducción, en el cual los machos ejercen el cuidado parental. En este proyecto se analizaron dos componentes de *Stegastes acapulcoensis* a partir del uso de microsatélites.

Primero se analizó la diferenciación genética entre cuatro localidades del Pacífico oriental de México (distancia máxima 435 Km) con cuatro *loci* de microsatélites y estimadores clásicos de diferenciación genética obteniendo valores de $F_{ST} = 0.0017$ y $R_{ST} = 0.0279$. Con D_{EST} y métodos bayesianos se detectó nula o escasa diferenciación genética entre localidades. Estos resultados se explican dada la capacidad de dispersión de *S. acapulcoensis* durante su etapa de larva pelágica, que sigue el patrón de la Corriente del Oeste de México. Se sugiere que dada la conectividad genética de esta especie, es posible inferir que otras especies de peces demersales puedan presentar el mismo patrón de conectividad. Por lo tanto este trabajo se propone como una primera evidencia sobre la

necesidad de considerar como un continuo a siete áreas marinas prioritarias para la conservación de México incluidas en las localidades de muestreo.

Finalmente se definió el sistema de apareamiento genético de la especie a partir del análisis de 20 progenies de machos adultos territoriales que ofrecían cuidado parental. Esto se hizo para determinar el total de genotipos de los progenitores, infiriendo la frecuencia de maternidad múltiple en cada nido. El sistema de apareamiento que se presenta con mayor frecuencia en esta especie es la poliginia (70 %) con dos a seis hembras involucradas por nido. Se observa una relación positiva entre la talla de los machos y el éxito reproductivo en términos del tamaño de sus progenies y el número de hembras donadoras de huevos. De igual manera se observa una relación positiva entre la talla de los machos y la latitud. Se detecta en el análisis de las progenies evidencia genética de la existencia de tácticas de apareamiento alternativas en machos (cuckoldry) en baja frecuencia (10 %).

SUMMARY

Marine reefs are among the most biologically diverse ecosystems on the planet in terms of number of species and biological interactions. In these ecosystems representatives of the family Pomacentridae include some of the most conspicuous species in terms of richness and abundance. Within this family, the species of the genus *Stegastes* are distinguished by being herbivores, territorial and dependent on a substrate for breeding on adult life stage, in which males provide parental care. In this project we use molecular markers to analyze two components of *Stegastes acapulcoensis*. First, we analyzed the genetic differentiation among four localities in the eastern Pacific coast of Mexico (a maximum distance of 435 km among them) with four microsatellite *loci*. We obtained values of $F_{ST}= 0.0017$ and $R_{ST}= 0.0279$ indicating none genetic structure, similar results were obtained using new approaches such as D_{EST} and Bayesian methods. These results are explained due to the dispersal ability of *S. acapulcoensis* as pelagic larval stage, which follows the pattern of the West Mexican Current (WMC). Finally we suggested that given the genetic connectivity of this species it can be inferred that other demersal fish species may have the same pattern of connectivity. Seven marine areas considered as priority to conservation in Mexico should be kept together according with the evidence provided in this work.

Finally we defined the genetic mating system of *S. acapulcoensis* analyzing 20 progenies guarded by territorial adult males to determine frequency of multiple maternity. We deduce that the genetic mating system of *S. acapulcoensis* is monogamy (30 %) and polygyny (70 %) with two to six females involved per nest. There is a female preference for larger males, and a positive relationship between male size and latitude. We also found genetic evidence of alternative reproductive tactics (cuckoldry) in low frequency (10 %).

INTRODUCCIÓN GENERAL

Los arrecifes son uno de los ecosistemas marinos más importantes debido a que poseen una gran diversidad de seres vivos. Una de las familias de peces más abundantes dentro de estos ecosistemas es la familia Pomacentridae, que es de las más diversas dentro de los teleósteos marinos, sus representantes se distribuyen en zonas tropicales, subtropicales y templadas (Nelson, 1994). En el Pacífico Oriental se tienen registradas 22 especies que son endémicas de esta región. Los peces de esta familia tienen forma alargada y ovoide, están comprimidos lateralmente, poseen una sola aleta dorsal continua que varía desde ligeramente recortada a bifurcada o en forma de media luna. La mayoría se encuentran asociados a fondos rocosos de poca profundidad en donde frecuentemente, representan el grupo dominante, tanto en número como en diversidad (Allen y Robertson, 1998).

La coloración de esta familia, varía desde matices parduscos, gris y negro hasta combinaciones brillantes de color naranja, amarillo y azul neón. La mayoría son territoriales, particularmente las especies que se alimentan de algas como las del género *Stegastes*. La fertilización de los huevos es externa y eclosionan después de dos a siete días, las larvas son pelágicas durante periodos que varían de 10 a 50 días dependiendo de la especie. Posteriormente las crías se establecen en el fondo y adquieren la coloración de los juveniles, con una tasa de

crecimiento de 5 a 15 mm por mes, que se reduce gradualmente hasta llegar a la madurez (Allen y Robertson, 1998).

***Stegastes acapulcoensis* (Fowler, 1944)**

Esta especie objeto de estudio del presente proyecto, presenta en su estado juvenil, una coloración azul brillante con un ocelo prominente en la base de la aleta dorsal y una mancha negra ocelada en el borde dorsal del pedúnculo caudal. En su estado adulto presenta una coloración café, más claro en la cabeza y en la parte anterior del cuerpo con una franja blanca en el borde superior de la aleta pectoral y labio de color blanco (caracteres diagnósticos). Posee 12 espinas y 15 radios dorsales; 2 espinas y 13 radios anales; 20 ó 21 radios pectorales; 20 escamas en la línea lateral. Alcanza una longitud total de 18 cm (Allen y Robertson, 1998) y viven un poco más de 30 años (Meekan, *et al.* 2001). Se distribuyen en el Pacífico desde Baja California en México hasta Perú en un rango de profundidad de 2 a 16 m (Allen y Robertson, 1998; FishBase, 2010). A pesar de que la especie *S. acapulcoensis* es una de las más abundantes en el Pacífico central, se desconoce gran parte de su biología.

En este proyecto se analizaron dos componentes de la biología de esta especie, con el uso de marcadores moleculares. En el capítulo I se analizó la diversidad y diferenciación genética en cuatro localidades del Pacífico central de México. Éste capítulo fue sometido para su publicación como nota científica en la

revista Hidrobiológica y se encuentra en proceso de revisión. En el capítulo II, se definió el sistema de apareamiento genético, a partir del análisis de cuatro *loci* de microsatélites nucleares y se estableció la relación entre la frecuencia de poliginia, tamaño corporal y el éxito reproductivo. Este capítulo se someterá a publicación como artículo original.

HIPÓTESIS

Capítulo I

- Si las larvas pelágicas de *Stegastes acapulcoensis* son transportadas por las corrientes marinas distancias superiores a los 100 kilómetros, entonces se encontrará conectividad genética entre las poblaciones del Pacífico Central Mexicano.

Capítulo II

- Si la territorialidad desplegada por los machos de *Stegastes acapulcoensis* es efectiva, entonces se observará un solo genotipo paterno fertilizando una progenie.
- Si el tamaño de los machos es indicador de su capacidad para conservar un territorio y de ofrecer cuidado parental, entonces, se observará una relación positiva entre la talla del macho custodio, el tamaño del nido y número de progenitoras.

OBJETIVOS

Objetivo general

- Definir el sistema de apareamiento genético de *Stegastes acapulcoensis* (Pomacentridae) en el Pacífico central de México.

Objetivos particulares

- Estimar la diversidad y diferenciación genética de *Stegastes acapulcoensis* en el Pacífico central de México.
- Establecer la frecuencia de poliginia y poliandria de progenies de *Stegastes acapulcoensis* en el Pacífico central de México
- Establecer la relación entre tamaño de los machos progenitores con la frecuencia de poliginia y éxito reproductivo.

CAPÍTULO I. CONECTIVIDAD GENÉTICA DE *Stegastes acapulcoensis* (POMACENTRIDAE) EN EL PACÍFICO CENTRAL DE MÉXICO.

(Capítulo sometido para su publicación como nota científica en la revista Hidrobiológica).

Conectividad genética de *Stegastes acapulcoensis* (Pomacentridae) en el Pacífico central de México

Genetic connectivity of *Stegastes acapulcoensis* (Pomacentridae) on Mexican central Pacific

Conectividad genética de *Stegastes acapulcoensis*

Erica Urbiola-Rangel¹ y Omar Chassin-Noria^{1*}

¹Facultad de Biología, CMEB, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Av. Francisco J. Mújica S/N, Morelia Michoacán, México. 58030.

* Autor para correspondencia, e-mail: ochassin@umich.mx

RESUMEN.

La familia Pomacentridae incluye especies de peces que son abundantes en los sistemas arrecifales, como las incluidas en el género *Stegastes* con representantes que en etapa adulta son herbívoros, territoriales y dependientes de un substrato para su reproducción. En este estudio analizamos la conectividad genética de *Stegastes acapulcoensis* entre cuatro poblaciones del Pacífico mexicano, separadas por una distancia geográfica máxima de 435 km. Analizamos la diferenciación genética entre

las poblaciones con cuatro *loci* de microsatélites y estimadores F_{ST} y R_{ST} obteniendo valores pareados de $F_{ST} < 0.0025$ y $R_{ST} < 0.056$. De igual manera con D_{EST} y métodos bayesianos se detectó nula o escasa diferenciación genética entre las poblaciones. Estos resultados se explican dada la capacidad de dispersión de *S. acapulcoensis* en su etapa de larva pelágica, que sigue el patrón de la Corriente del Oeste de México. Finalmente sugerimos que dada la conectividad genética de esta especie se puede inferir que otras especies de peces demersales pueden presentar el mismo patrón de conectividad, por lo que proponemos este trabajo como una primera evidencia sobre la necesidad de que se unan siete áreas marinas prioritarias incluidas entre las localidades analizadas para la conservación de México.

Palabras clave: Microsatélites, Diversidad genética, Conectividad genética, *Stegastes*.

ABSTRACT

Pomacentridae family includes fish species that are abundant on coral reef systems, like the ones included on *Stegastes* genus with organisms that in adult stage are herbivore, territorial and dependent of a substrate for reproduction. We analyzed the genetic connectivity of *Stegastes acapulcoensis* between populations of the Mexican Pacific, separated for a maximum geographic distance of 435 km. We assess the genetic differentiation between four populations with four

microsatellite *loci*, having as a result paired values of $F_{ST} < 0.0025$ and $R_{ST} < 0.056$. Equally, with D_{EST} and Bayesian methods null or little genetic differentiation between populations was detected. These results are explained considering the dispersion capacity of *S. acapulcoensis* on its pelagic larva stage, which follows the pattern of West Mexican Current. Finally, we suggest that given the genetic connectivity of this species, it is possible to infer that other demersal fish species may present the same connectivity pattern, reason enough to propose this study as first evidence of the necessity of join seven priority marine areas into a unique continual area.

Key Words: Microsatellites, Genetic diversity, Genetic connectivity, Stegastes.

Los peces de la familia Pomacentridae, poseen dos fases de desarrollo, la primera es como larva pelágica, en dónde presentan el mayor potencial de dispersión y la segunda fase como adultos, en la que son relativamente sedentarios (Roberts 1997; Helfman *et al.* 2009). Este es el caso de *Stegastes acapulcoensis* (Fowler, 1944), especie herbívora territorial que depende de un sustrato para su reproducción. Esta especie se distribuye en el Pacífico desde Baja California en México hasta Perú en arrecifes rocosos a una profundidad de 2 a 16 m (Allen & Robertson, 1998).

S. acapulcoensis presenta fertilización externa, los machos ofrecen un sitio de anidación en donde, posterior al cortejo, las hembras depositan miles de huevos que posteriormente son fertilizados por el macho que brinda cuidado parental hasta la eclosión de las larvas (Allen & Robertson, 1998).

Con el análisis de diversos marcadores moleculares se ha estimado la diversidad y el grado de conectividad genética entre poblaciones de peces con fase larvaria de diversas familias (e.g. Pomacentridae, Acanthuridae, Gobiidae, Bleniidae, Labridae) en los cuales se ha detectado ausencia y presencia de conectividad genética (Doherty *et al.* 1995; Shulman & Bermingham 1995; Rhodes *et al.* 2003; Ospina-Guerrero *et al.* 2008) a diferentes escalas geográficas. En particular para el género *Stegastes* se han desarrollado algunos trabajos utilizando diferentes marcadores moleculares, en los cuales se ha reportado

variación en cuanto a la conectividad genética entre poblaciones (Shaklee, 1984; Ospina-Guerrero *et al.* 2008; Hepburn *et al.* 2009, Salas *et al.* 2009).

En este trabajo se analizó la diversidad y diferenciación genética en cuatro localidades del Pacífico central de México separadas por una distancia máxima de 435 km. Zihuatanejo, Guerrero (17° 38' 57.26" N, 101° 37' 16.56" O); Manzanillo, Colima (19° 5' 49.37" N, 104° 26' 13.36" O); Manzanillera, Michoacán (18° 21' 19.50" N, 103° 30' 48.68" O); Negritos, Jalisco (19° 31' 37.67" N, 105° 4' 57.81" O) (Figura 1). Se colectaron un total de 134 ejemplares, un promedio de 33.5 por localidad, con un rango de 30 a 36 individuos. De cada ejemplar se cortó un fragmento de la aleta pectoral derecha de aproximadamente 5 mm² que se conservó en etanol absoluto.

Se realizó la extracción de ADN siguiendo el protocolo propuesto por FitzSimmons (1997) y se amplificaron cuatro *loci* de microsatélites nucleares diseñados originalmente para *Stegastes partitus* (SpGATA-40, SpGATA-16, SpAAT-39 y SpTG-53; Williams *et al.* 2003; Thiessen & Heath, 2007) con las siguientes condiciones: 200 µM de dNTP's, 1.5 mM de MgCl₂, 0.5 µM de cada uno de los primers, 2 U de Taq polimerasa, 2.5 µL de buffer 10 X (100 Mm Tris, 500 mM KCl; pH 8) y de 20 a 200 ng de ADN. El programa de amplificación de los cuatro *loci* fue el siguiente: 94°C 1 min, seguido de 30 ciclos de 94°C 10 seg, 50°C 10 seg, 72°C 10 seg, y extensión final de 72°C por 2 min. Los oligonucleótidos seleccionados fueron marcados con fluoróforos del filtro G5 (Applied Biosystems).

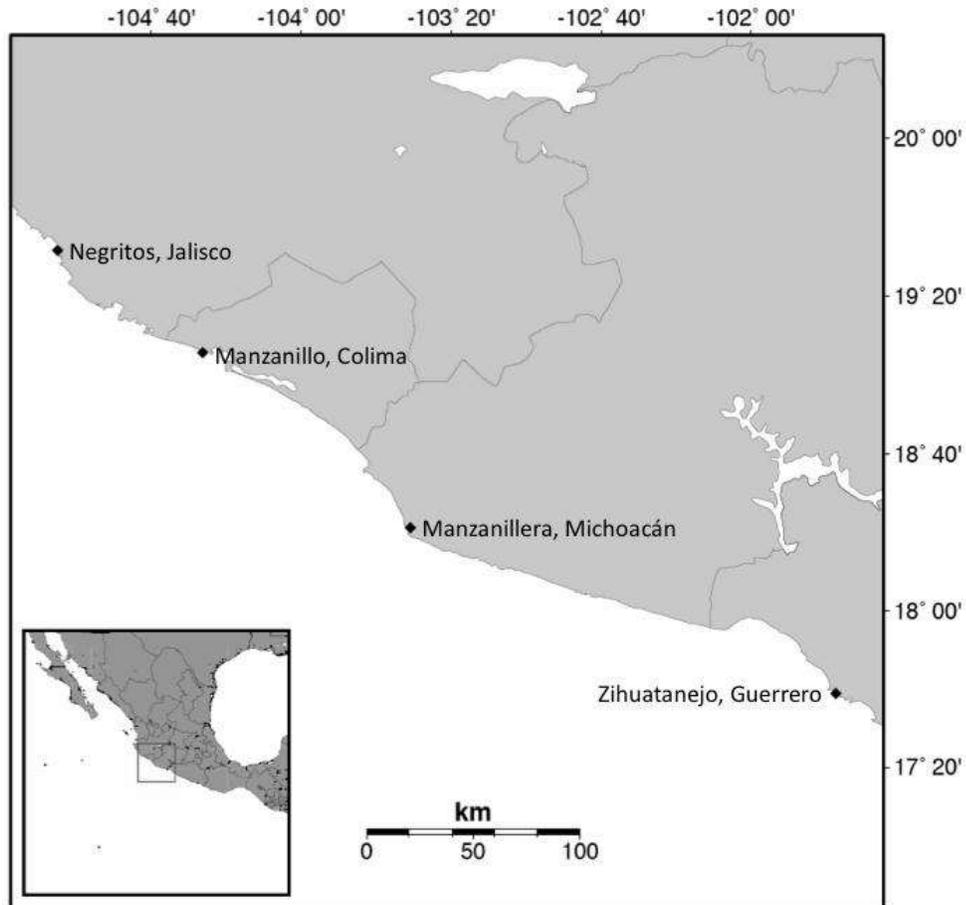


Figura 1. Localidades de colecta de ejemplares de *Stegastes acapulcoensis*.

La determinación de los genotipos se realizó mediante electroforesis capilar en un equipo automatizado (ABI 310, Applied Biosystems). La asignación de tamaño de los alelos se realizó con el software Peak Scanner v 1.0 (Applied Biosystems).

Para detectar la presencia de alelos nulos, dominancia de alelos pequeños y errores de genotipado se realizó un análisis en Micro-Checker v. 2.2.3 (Van Oosterhout *et al.* 2004). Se estimó la diversidad genética, se realizó una prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg así como de diferenciación genética utilizando los

estimadores F_{ST} y R_{ST} con GenAlEx v. 6.4 (Peakall & Smouse, 2006). Por su parte Jost (2008) ha demostrado que G_{ST} y sus similares, pueden, bajo condiciones de elevada heterocigosidad promedio dentro de subpoblaciones, subestimar la diferenciación genética, por eso se estimó también D_{EST} empleando SMOGD (Crawford, 2010). Finalmente se realizó un análisis bayesiano para detectar la asignación probabilística de los individuos a K poblaciones empleando STRUCTURE v. 2.3.1 (Pritchard *et al.* 2009) y la estrategia sugerida por Evanno *et al.* (2005) para detectar si $K > 1$.

Todos los *loci* utilizados fueron polimórficos con un promedio de 32.75 alelos y un rango de 25 a 49 alelos por *locus*. No se detectaron alelos nulos, dominancia de alelos pequeños ni errores de genotipado. Se obtuvieron altos valores de heterocigosis esperada para cada *locus* (rango 0.924-0.950), los cuatro *loci* analizados se observaron en equilibrio de Hardy-Weinberg.

Se obtuvieron valores promedio de $F_{ST} = 0.0017$ y $R_{ST} = 0.0279$ entre las cuatro localidades. Los valores pareados de diferenciación genética fueron bajos ($F_{ST} < 0.0025$ y $R_{ST} < 0.056$) y los valores de Nm son superiores a uno, lo que indica ausencia de estructura genética. Se obtuvo un valor promedio de $D_{EST} = 0.0482$ (rango 0-0.076), lo que refleja de nula a ligera diferenciación genética entre poblaciones siendo este resultado consistente con los estimadores clásicos de diferenciación. No se logró la detección de $K > 1$ probando un rango de K entre uno a 10 en STRUCTURE. Este resultado fue consistente con los otros

estimadores de diferenciación empleados, demuestra que existe conectividad genética entre los organismos de las cuatro localidades analizadas. Esto puede explicarse si consideramos que en varias especies incluyendo Pomacéntridos, se ha reportado conectividad genética, mediada por la dispersión en la etapa de larva pelágica (Doherty *et al.* 1995).

Específicamente en especies del género *Stegastes*, como *S. partitus* se ha detectado ausencia de conectividad genética ($F_{ST} > 0.4$) entre poblaciones separadas por 125 km, esto como resultado de la combinación de perturbaciones ambientales (marea roja) y meteoros atmosféricos (huracanes) que pueden formar barreras a la conectividad genética (Lacson *et al.* 1989).

Por su parte Hepburn *et al.* (2009) y Salas *et al.* (2010) reportan ausencia de estructura genética en distancias de 300 y hasta 1,100 km respectivamente ($F_{ST} = 0.003$), para *S. partitus*, explicando esta conectividad por el desplazamiento de las larvas que siguen las corrientes marinas. Los adultos de esta especie, al igual que *S. acapulcoensis*, establecen pequeños territorios realizando desplazamientos de pocos metros. En *S. partitus* se ha observado que las hembras son las que realizan desplazamientos más largos (máximo 10 m) con respecto a los machos, al buscar los territorios de machos para el desove (Knapp & Warner, 1991).

En general los trabajos hasta ahora realizados en diversas especies que presentan fase larvaria muestran conectividad genética (Doherty *et al.* 1995,

Shulman & Bermingham, 1995) y ésta es atribuida al movimiento de las larvas por las corrientes marinas que siguen patrones regulares, pero que pueden cambiar temporalmente el rumbo y ocasionar el traslado de especies a nuevos sitios (Meekan *et al.* 2001).

En México hay una corriente que fluye adyacente a la costa central del Pacífico, la Corriente del Oeste de México (COM), ésta inicia en el Golfo de Tehuantepec y va en dirección Norte hasta encontrarse con la Corriente de California (CC), ésta corriente cambia temporalmente de dirección hacia el sur en la primera mitad del año permitiendo que la CC se incorpore a la Corriente Ecuatorial del Norte (CEN) (Kessler, 2006).). En el presente estudio, la detección de conectividad genética entre los sitios de muestreo, se puede explicar por la acción de esta corriente sobre las larvas de *S. acapulcoensis* ya que originalmente son pelágicas, entre 19 y 23 días, y posteriormente se establecen como demersales (Wellington & Victor, 1989).

La determinación del nivel de conectividad genética de las poblaciones es útil para establecer un buen manejo y conservación de los ecosistemas marinos (Dibacco *et al.* 2006), permitiendo establecer áreas protegidas que mantengan procesos ecológicos como la dispersión. En México, se han identificado 70 regiones marinas prioritarias para la conservación (Arriaga-Cabrera *et al.* 1998), éstas fueron seleccionadas considerando criterios ambientales, económicos y de amenaza. Sin embargo, aún falta información para considerar concluido el proceso

que defina las prioridades de conservación. Por ejemplo, en el estado de Michoacán hay sólo dos regiones prioritarias las número 29 Maruata y Colola y la 30 Mexiquillo y Delta del Balsas. Ambas áreas están separadas por decenas de kilómetros (Arriaga-Cabrera *et al.* 1998), sin una razón aparente.

Dada la ausencia de diferenciación genética encontrada (en 435 km) atribuida al transporte de larvas de *S. acapulcoensis* por la COM y considerando que la especie de este estudio puede tener un patrón de conectividad común a otras especies demersales con características de historia de vida similares, proponemos que se debe considerar como una sola área prioritaria marina para conservación y manejo, todo el litoral comprendido, entre las zonas 25 (Mismaloya-Pta. Soledad en el estado de Jalisco) y 31 (Tlacoyunque en el estado de Guerrero) planteadas por Arriaga-Cabrera *et al.* (1998) para el Pacífico central de México.

AGRADECIMIENTOS

La primera autora recibió durante el desarrollo de este proyecto la beca CONACYT para estudios de posgrado con número de becario 239252. Este trabajo fue financiado en parte, por la Coordinación de la Investigación Científica de la UMSNH. Los autores agradecen el uso de Maptool (SEATURTLE.ORG) para generar el mapa de este trabajo.

REFERENCIAS

- Allen, G.R. & D.R. Robertson. 1998. *Peces del Pacífico oriental tropical*. CONABIO, Agrupación Sierra Madre y Cemex. Ciudad de México. 327 p.
- Arriaga-Cabrera, L., E. Vázquez-Domínguez, J. González-Cano, R. Jiménez-Rosenberg, E. Muñoz-López & V. Aguilar-Sierra (coordinadores). 1998. *Regiones Marinas Prioritarias de México*. Comisión Nacional para el Conocimiento y uso de la Biodiversidad. México.
- Crawford, N.G. 2010. SMOGD: software for the measurement of genetic diversity. *Molecular Ecology Resources* 10: 556–557.
- Dibacco, C., L.A. Levin & E. Sala. 2006. Connectivity in marine ecosystems: the importance of larval and spore dispersal. In: Crooks, K.R. & M. Sanjayan (Eds.). *Connectivity Conservation*. Cambridge University Press, pp.184-212.
- Doherty, P.J., S. Planes & P. Mather. 1995. Gene flow and larval duration in seven species of fish from the Great Barrier Reef. *Ecology* 76: 2373–2391.
- Evanno, G., S. Regnaut & J. Goudet. 2005. Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* 14: 2611-2620.
- FitzSimmons, N. 1997. Male marine turtles: gene flow, philopatry and mating systems of the green turtle *Chelonia mydas*. Tesis Doctoral. Universidad de Queensland, Australia. 241p.

- Helfman, G.S., B.B. Collette, D.E. Facey & B.W. Bowen. 2009. 2nd ed. The diversity of fishes: Biology, Evolution, and Ecology. Wiley-Blackwell, Oxford. 720 p.
- Hepburn, R.I., P.F. Sale, B. Dixon & D.D. Heath. 2009. Genetic structure of juvenile cohorts of bicolor damselfish (*Stegastes partitus*) along the Mesoamerican barrier reef: chaos through time. *Coral Reefs* 28: 277–288.
- Jost, L. 2008. G_{ST} and its relatives do not measure differentiation. *Molecular Ecology* 17: 4015–4026.
- Kessler, W.S. 2006. The circulation of the eastern tropical Pacific: A review. *Progress in Oceanography* 69: 181-217.
- Knapp, R.A. & S.S Warner. (1991). Male parental care and female choice in the bicolor damselfish, *Stegastes partitus*: bigger is not always better. *Animal Behavior* 41: 747–756.
- Lacson, J.M., V.M. Riccardi, S.W. Calhoun & D.C. Morizot. 1989. Genetic differentiation of bicolor damselfish (*Eupomacentrus partitus*) populations in the Florida Keys. *Marine Biology* 103: 445-451.
- Meekan, M.G., J. L. Ackerman & G. M. Wellington. 2001. Demography and age structures of coral reef damselfishes in the tropical eastern Pacific Ocean. *Marine Ecology Progress Series* 212: 223-232.
- Ospina-Guerrero, S.P., R.M Landinez-García, D.J. Rodríguez-Castro, R. Arango & E. Márquez. 2008. Conectividad genética de *Stegastes partitus* en el

- Caribe Sur evidenciada por análisis microsatélite. *Ciencias Marinas* 34: 155-163.
- Peakall, R. & P.E. Smouse. 2006. GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* 6: 288-295.
- Pritchard, J.K., X. Wen & D. Falush. 2009. Documentation for STRUCTURE software: Version 2.3. Chicago: University of Chicago.
- Salas, E., H. Molina-Ureña, R.P. Walter, & D.D. Heath, 2010. Local and regional genetic connectivity in a Caribbean coral reef fish. *Marine Biology* 157: 437–445.
- Shaklee, J.B. 1984. Genetic variation and population structure in the damselfish, *Stegastes fasciolatus*, throughout the Hawaiian archipelago. *Copeia* 3: 629-640.
- Shulman, M.J., & E. Bermingham. 1995. Early life histories, ocean currents, and the population genetics of Caribbean reef fishes. *Evolution* 49: 897-910.
- Roberts, C.M. 1997. Connectivity and management of Caribbean coral reefs. *Science* 278: 1454-1457.
- Rhodes, K.L., R.I. Lewis, R.W. Chapman & Y. Sadovy. 2003. Genetic structure of camouflage grouper, *Epinephelus polyphkadion* (Pisces: Serranidae), in the western central Pacific. *Marine Biology* 142: 771-776.

- Thiessen, R.J. & D.D. Heath. 2007. Characterization of one trinucleotide and six dinucleotide microsatellite markers in bicolor damselfish, *Stegastes partitus*, a common coral reef fish. *Conservation Genetics* 8: 983-985.
- Van Oosterhout, C., W.F. Hutchinson, D.P.M. Wills & P. Shipley. 2004. Micro-Checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* 4: 535-538.
- Wellington, G.M. & V.C. Victor. 1989. Planktonic larval duration of one hundred species of Pacific and Atlantic damselfishes (Pomacentridae). *Marine Biology* 101: 557-567.
- Williams, D.A., J. Purcell, C.R. Hughes & R.K. Cowen. 2003. Polymorphic microsatellite loci for population studies of the bicolor damselfish, *Stegastes partitus* (Pomacentridae). *Molecular Ecology Notes* 3: 547-549.

CAPÍTULO II. VARIACIÓN EN LA FRECUENCIA DE POLIGINIA ASOCIADA A LA TALLA DE LOS MACHOS EN *Stegastes acapulcoensis*.

RESUMEN

Las herramientas moleculares han permitido el estudio de patrones y procesos que es complicado estudiar con otros métodos, particularmente, la conectividad entre poblaciones, posición taxonómica y sistemas de apareamiento se pueden definir claramente con estas herramientas. En el presente trabajo se analizó el sistema de apareamiento genético de *Stegastes acapulcoensis* (Pomacentridae) con cuatro *loci* de microsatélites nucleares en el Pacífico central de México. En esta especie los machos son territoriales y preparan un substrato rocoso para recibir el desove de las hembras que ovipositan decenas de miles de huevos que se adhieren al substrato por medio de hilos adhesivos. Una vez establecido el nido, el macho exhibe cuidado parental para evitar la depredación de los huevos, hasta el momento de la eclosión de larvas. Se colectaron 20 nidos de machos adultos territoriales que ofrecían cuidado parental y a su progenie, para determinar los genotipos infiriendo la frecuencia de maternidad múltiple en estos. El sistema de apareamiento que se presenta con mayor frecuencia en esta especie es la poliginia con dos a seis hembras involucradas por nido. Los machos de mayor talla tienen mayor éxito reproductivo, custodian nidos más grandes, con mayor número

de huevos de mayor número de hembras. Se encontró evidencia de que en esta especie existen machos que presentan “cuckoldry” (poliandria) en baja frecuencia.

Palabras Clave: Sistema de apareamiento genético, selección sexual, cuckoldry, *Stegastes*.

ABSTRACT

Molecular tools have made possible the study of patterns and processes that are difficult to study with traditional methods. These tools have allowed the definition of genetic connectivity between populations, taxonomic status of species, forensic species identification and mating systems of several vertebrate species. In this study we analyzed the genetic mating system of *Stegastes acapulcoensis* (Pomacentridae) using four nuclear microsatellite *loci* in populations of the central Pacific of Mexico. In this species males are territorial and prepare a rocky substratum to receive thousands of eggs from females that are adhered by adhesives threads. Male provides parental care to eggs from predation until hatch. Here we analyze 20 progenies guarded by territorial adult males to determine frequency of multiple maternity. We deduce that the genetic mating system of *S. acapulcoensis* is monogamy (30%) and polygyny (70%) with two to six females involved per nest. There is a female preference for larger males, these males guard larger nests with a larger number of eggs from a larger number of females,

and the size of the male is positively related to latitude. We also found genetic evidence of cuckoldry (polyandry) in low frequency.

Key words: genetic mating system, sexual selection, cuckoldry, Stegastes.

INTRODUCCIÓN

Uno de los temas estudiados regularmente en biología evolutiva, son los sistemas de apareamiento, incluyendo los factores que determinan las causas y consecuencias de cada sistema. El término sistema de apareamiento de una población se refiere a las estrategias de comportamiento empleadas para la obtención de parejas (cómo se obtienen, cuántas se obtienen, así como características de los vínculos dentro de la pareja y del cuidado parental que brinda cada sexo) (Emlen y Oring, 1977).

Existen tres sistemas de apareamiento básicos: monogamia, poligamia y promiscuidad. En la monogamia un macho se aparea con una sola hembra en cada temporada de reproducción (monogamia secuencial) o de por vida, en este sistema generalmente ambos padres proveen el cuidado parental a las crías. La poligamia tiene dos variantes: poliginia y poliandria. La poliginia ocurre cuando un macho se aparea con más de una hembra en una temporada de reproducción, ya sea con varias hembras en un solo evento (poliginia simultánea) o en distintos eventos (poliginia secuencial). En este caso el cuidado parental es brindado usualmente por la hembra. La poliandria ocurre cuando una hembra se aparea con

más de un macho en una temporada de reproducción, ya sea de manera simultánea o secuencial, en este caso generalmente es el macho el que brinda el cuidado parental. En el sistema de apareamiento de promiscuidad machos y hembras se aparean con distintos individuos y cualquier sexo brinda cuidado parental (Krebs y Davies, 1993).

Se ha observado que en algunos peces donde la fertilización es externa, como en el género *Stegastes* (Pomacentridae), los machos seleccionan territorios que limpian para establecer su nido y despliegan comportamiento de cortejo con nado rápido y extensión de las aletas, para incitar a las hembras a depositar sus huevos sobre el substrato y fertilizarlos. Los machos otorgan cuidado parental a los huevos, que están adheridos al substrato por medio de hilos adhesivos (Allen y Robertson, 1998). Un nido de la especie *Stegastes acapulcoensis* contiene entre 12,716 a 91,858 huevos (de 155 a 211 huevos por cm²; Urbiola-Rangel datos no publicados).

Esta estrategia reproductiva propicia la competencia entre machos por oportunidades de apareamiento (Karino, 1995), mientras que las hembras pueden elegir con que macho copularán y la cantidad de huevos que depositarán (Knapp y Kovach, 1991). Los representantes de *S. acapulcoensis* son peces territoriales, los machos evitan que otros machos se acerquen al sitio de desove para evitar la fertilización y depredación de los huevos. Posterior al cortejo la hembra deposita

los huevos sobre el sustrato y el macho ofrece cuidado parental a estos evitando la depredación intra e inter específica (Smith y Wootton, 1995).

Con observaciones de conducta se ha detectado que en territorios de *Stegastes rectifraenum*, especie del océano Pacífico, hasta dos hembras distintas depositan huevos en un solo nido y éstas prefieren desovar en sitios donde ya hay huevos custodiados por un macho, dado que esto es un indicador de la calidad del mismo, disminuyendo la probabilidad de que sus huevos sean depredados (Hoelzer, 1992).

Para la especie *Stegastes partitus* del océano Atlántico se ha detectado, con observaciones de conducta, el desove de más de una hembra en un solo nido. De 461 desoves observados, en el 67 % desovó una sola hembra, en el 29 % dos hembras, en el 4 % tres hembras y en un solo caso (0.002 %) cuatro hembras. En cuanto a la elección de sitios para el desove las hembras prefieren depositar sus huevos con machos que desplieguen un cortejo más elaborado con un mayor número e intensidad de despliegues natatorios sin importar su talla. Es decir, las hembras seleccionan el cortejo sobre la talla del macho (Knapp y Warner, 1991).

Las observaciones de conducta en vertebrados han permitido avanzar en el conocimiento de los sistemas de apareamiento. Sin embargo, con el uso de marcadores moleculares se ha demostrado que el sistema de apareamiento definido a través de observaciones de la conducta que presentan los organismos, no necesariamente coincide con los resultados de los análisis genéticos (Hughes,

1998). En una revisión de 150 trabajos de aves en que se evaluó la frecuencia de paternidad múltiple con marcadores moleculares, se reporta que aproximadamente en el 90 % de las especies se presentan cópulas extra-pareja, a pesar de que en las observaciones directas de conducta, se sugería un comportamiento monógamo para las aves (Griffith *et al.* 2002).

Dada la situación anterior se hace la distinción entre el Sistema de Apareamiento Etológico (SAE) que se define con base en las interacciones observables (i.e. conducta) entre individuos y el Sistema de Apareamiento Genético (SAG) definido como las asociaciones establecidas con marcadores moleculares entre los individuos que participan en la generación de una progenie (Hughes, 1998). La diferencia entre los dos sistemas (SAE y SAG) se debe básicamente a que los periodos de observación directa de la conducta no son del 100 % del tiempo de los organismos y sólo se reportan los eventos más conspicuos dejando a los eventos de baja frecuencia sub muestreados o no considerados.

No se han realizado estudios de conducta ni genéticos sobre el sistema de apareamiento de *S. acapulcoensis*, especie modelo de este trabajo. Sin embargo, los antecedentes basados en observaciones conductuales de especies del mismo género (Knapp y Warner, 1991; Hoelzer, 1992) sugieren que el sistema de apareamiento presente en estos organismos puede ser poligámico.

Realizar observaciones directas en *S. acapulcoensis* para lograr definir su sistema de apareamiento resulta logísticamente complicado, debido a que se requieren periodos largos de inmersión y aún con el uso de videocámaras se pueden cubrir sólo algunas horas del día. Mientras que con pruebas de paternidad-maternidad basadas en herramientas moleculares, se puede definir con certidumbre el sistema de apareamiento genético de esta especie, así como inferir factores involucrados en la determinación del mismo (ej. densidad, tamaño corporal, tamaño de la progenie).

En los últimos años se han desarrollado varios trabajos de genética para definir relaciones de parentesco y sistemas de apareamiento en peces que presentan una gran diversidad reproductiva (Helfman *et al.* 2009). Existen estudios en especies de fecundación interna que han detectado paternidad múltiple (Reisser *et al.* 2009). También en especies territoriales de fecundación externa se ha reportado tanto maternidad (DeWoody *et al.* 1998; DeWoody *et al.* 2000d), como paternidad múltiple en peces marinos y dulceacuícolas (DeWoody *et al.* 2000b; Mackiewicz *et al.* 2005). Esto último como resultado de la Táctica de Apareamiento Alternativa (TAA) conocida como "cuckoldry" o engaño (Gross, 1979; Mackiewicz *et al.* 2005)

La paternidad múltiple detectada en progenies de especies territoriales como resultado de TAA, es debido a que el ser territorial y ejercer el cuidado parental requiere de un elevado gasto energético; y sólo los machos de mayor

tamaño y vigor son los que pueden competir por sitios de anidación. Los machos de menor tamaño y menos vigorosos desarrollan TAA como resultado de la presión selectiva, por ejemplo, éstos machos poseen gónadas más grandes, lo que les permite liberar una gran cantidad de esperma en sitios donde ocurre un apareamiento y de ésta manera lograr fertilizar algunos huevos (DeWoody *et al.* 2000b). El "cuckoldry" o engaño (Gross, 1979; Mackiewicz *et al.* 2005) permite en algunos casos la presencia de dos morfos de machos dentro de una población (Gross, 1979; Karino y Nakasono, 1993).

El estudio de los sistemas de apareamiento es relevante en biología evolutiva ya que éstos tienen impacto en procesos ecológicos y evolutivos, como el mantenimiento de la variación en las poblaciones, la exposición de los individuos a la depredación, la evolución de la territorialidad y la selección sexual (Awise *et al.* 2002).

En el presente estudio se definió el sistema de apareamiento genético presente en *Stegastes acapulcoensis* con cuatro *loci* de microsatélites nucleares y se analizó: La relación entre la talla del progenitor, con el éxito reproductivo, cuantificado en términos de número de huevos y número de parejas de los machos que custodian territorios y la relación entre la densidad por localidad en un gradiente latitudinal. Finalmente se discute la relación entre las variables analizadas que influyen en el sistema de apareamiento genético de esta especie presente en arrecifes rocosos del Pacífico oriental.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se colectaron 134 individuos adultos de *Stegastes acapulcoensis* de cuatro localidades del Pacífico central de México: Negritos, Jalisco (Jal) 19° 31' 37.67" N, 105° 4' 57.81" O; Manzanillo, Colima (Col) 19° 5' 49.37" N, 104° 26' 13.36" O; Manzanillera, Michoacán (Mich) 18° 21' 19.50" N, 103° 30' 48.68" O y Zihuatanejo, Guerrero (Gro) 17° 38' 57.26" N, 101° 37' 16.56" O (Figura 1). De cada localidad se colectaron con SCUBA y arpón manual un promedio de 33.5 individuos, (rango de 30 a 36 individuos), para estimar las frecuencias alélicas de cada localidad. En las cuatro localidades se estimó la densidad promedio de peces adultos en un área promedio de 187.5 m² (rango 100-250m²). Se identificaron progenies y de cada una de ellas se tomó una imagen de 8 megapíxeles con una referencia de tamaño para estimar el área de la progenie. De cada localidad se colectaron cinco progenies (i.e. puestas de huevos) y a su macho custodio, los huevos se transportaron y fueron mantenidos en un acuario portátil hasta su eclosión. Las larvas recién eclosionadas y una fracción de la aleta pectoral derecha (5 mm²) de cada ejemplar adulto fueron almacenadas en viales con etanol absoluto.

Se realizó la extracción de ADN con el protocolo de FitzSimmons (1997). Se utilizaron cuatro pares de oligonucleótidos diseñados para *Stegastes partitus* (SpGATA-40, SpGATA-16, SpAAT-39 y SpTG-53; Williams *et al.* 2003; Thiessen y Heath, 2006) marcados con fluoróforos del filtro G5 (Applied Biosystems) para obtener amplificaciones de PCR, con las siguientes concentraciones de reactivos:

200 μM de dNTP's, 1.5 mM de MgCl_2 , 0.5 μM de cada oligonucleótido, 2 U de Taq polimerasa, 2.5 μL de buffer 10 X (100 mM Tris, 500 mM KCl; pH 8) y de 20 a 200 ng de ADN. y el siguiente programa: 94°C 1 min seguido de 30 ciclos de 94°C 10 seg, 50°C 10 seg, 72°C 10 seg y extensión final de 72°C por 2 min. La determinación de los genotipos se realizó mediante electroforesis capilar en un equipo automatizado (ABI 310) utilizando como marcador interno LIZ-500 (Applied Biosystems). La asignación de tamaño de los alelos se realizó con el software Peak Scanner v. 1.0 (Applied Biosystems). Se realizó un análisis con el software Micro-Checker v. 2.2.3 (Van Oosterhout *et al.* 2004) para detectar la presencia de alelos nulos, dominancia de alelos pequeños y errores de genotipado.

Se estimó la distribución de frecuencias alélicas, heterocigosis esperada, observada y se realizó una prueba de equilibrio de Hardy-Weinberg con GenAlEx v. 6.4 (Peakall y Smouse, 2006). Se estimó el tamaño mínimo de muestra necesario para detectar la contribución del número de genotipos maternos y paternos con un experimento *in silico* realizado en MatLab con BROOD (DeWoody *et al.* 2000a).

La estimación del número de progenitores involucrados en la fertilización de la progenie y la capacidad para detectar maternidad múltiple se realizó con el software GERUD 2.0 (Jones, 2005).

Para determinar el éxito reproductivo de los machos en relación con su tamaño, se midió su longitud total (LT) y se calculó el área (cm^2) de la progenie de

cada macho con base en la fotografía tomada y procesada en ImageJ (Abramoff *et al.* 2004), se estimó la densidad promedio de huevos por cm² y con ambos datos se calculó el total de huevos por progenie. Se estimó la existencia de contribución diferencial de cada una de las hembras en las progenies analizadas, así como la presencia de diferencias significativas en el número de hembras por progenie entre localidades. Se estableció la relación entre la longitud total de los machos con el número de huevos por nido y la frecuencia de poliginia, así como también la relación entre la talla de individuos adultos por localidad y la latitud, con el software JMP versión 8 (SAS Institute, 2000).

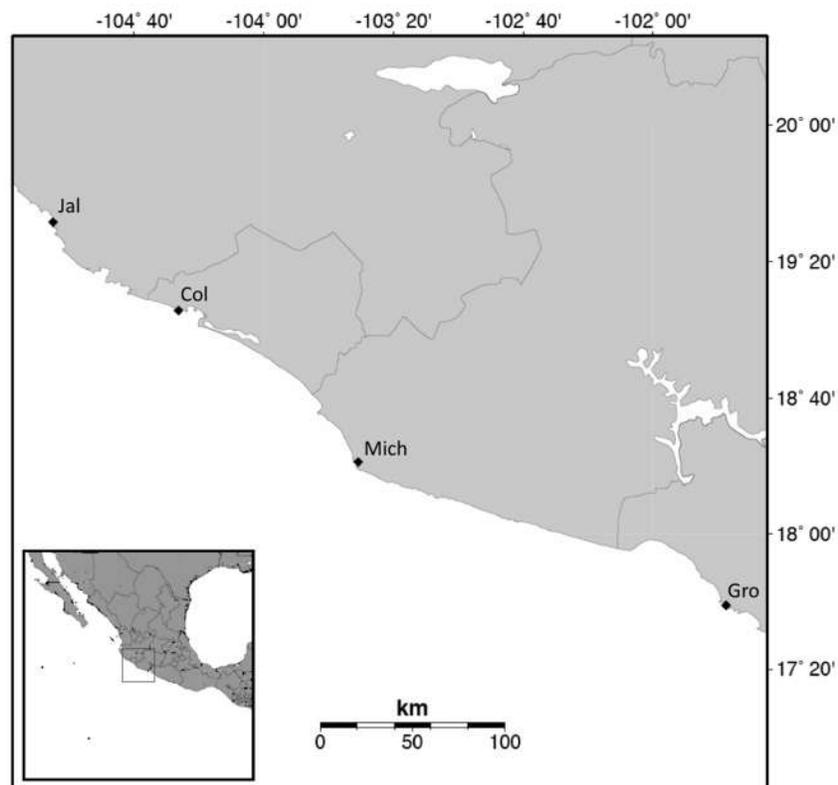


Figura 1. Localidades de colecta de ejemplares adultos y progenies de *Stegastes acapulcoensis* en el Pacífico central de México. Negritos, Jalisco (Jal); Manzanillo, Colima (Col); Manzanillera, Michoacán (Mich) y Zihuatanejo, Guerrero (Gro).

RESULTADOS

Datos ecológicos

Se encontraron diferencias significativas entre la densidad (individuos/m²) promedio de individuos adultos de cada localidad ($F = 45.87$; $P < 0.01$) (Figura 2).

Los promedios de sur a norte son: Zihuatanejo, Guerrero (Gro) con 0.2 individuos, Manzanillera, Michoacán (Mich) con 0.05, Manzanillo, Colima (Col) con 0.475 y Negritos, Jalisco (Jal) con 0.255.

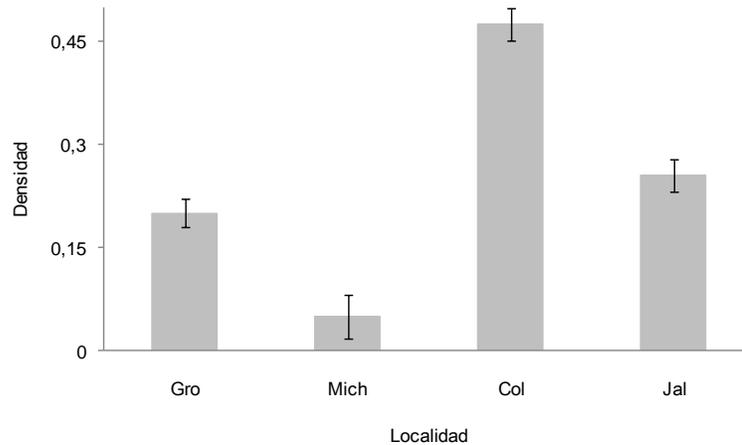


Figura 2. Densidades promedio (individuos/ m²) de individuos adultos en las cuatro localidades de colecta. Las letras representan a los grupos significativamente distintos (A, B y C) ($F = 45.87$ $P < 0.01$).

Se colectaron 20 nidos en total, cinco de cada localidad, de los cuales 17 fueron nidos sencillos y 3 compuestos. Un nido compuesto está integrado por distintos grupos de huevos adheridos a distintas rocas (de dos a tres) separadas con una distancia máxima entre éstas de 10 cm que constituyen una misma

progenie custodiada por un solo macho. Los nidos sencillos se limitan a un solo grupo de huevos adheridos a una sola roca custodiada por un macho.

El área de los 20 nidos colectados varía de entre 69.11 y 499.23 cm². La densidad promedio de huevos por cm² es de 184 con un rango de 155 a 211 huevos.

Análisis genético

Con la información obtenida del área y densidad de huevos por cm² se infiere que una progenie de *Stegastes acapulcoensis* está compuesta por 12,716 a 91,858 huevos, lo que imposibilita hacer un análisis genético exhaustivo de las progenies. Dada esta situación se realizaron experimentos *in silico* en BROOD para estimar el tamaño de muestra mínimo necesario para detectar maternidad múltiple siguiendo la estrategia planteada por DeWoody *et al.* (2000a) para el análisis de progenies numerosas (>100 crías). Se detectó que con un tamaño de muestra de 35 (n) larvas se pueden detectar con certidumbre, la contribución de hasta cinco genotipos maternos en una progenie. Mientras que para detectar todos los alelos presentes (n*) en la progenie se necesita un tamaño de muestra de 39 larvas.

No se detectó la presencia de alelos nulos, dominancia de alelos pequeños, errores de genotipado y los cuatro *loci* analizados se encuentran en equilibrio de Hardy-Weinberg. La probabilidad de exclusión de maternidad (Jones, 2005) de

cada uno de los *loci* empleados es superior a 0.87 y la combinación de los cuatro *loci* da un valor de 0.999. La reconstrucción de los genotipos maternos en Gerud 2.0 se obtuvieron considerando los patrones de herencia mendeliana y las frecuencias alélicas de la población. Para la determinación del sistema de apareamiento se analizaron 39 larvas en promedio de cada progenie (rango 27 a 101 larvas).

En la primera localidad de Sur a Norte, Zihuatanejo, Guerrero (Gro), se analizaron cinco nidos sencillos. En los nidos número uno, dos, tres y cuatro se detectó el genotipo de un solo macho (custodio) y el genotipo de una a cinco hembras, contribuyendo en distintos porcentajes en la progenie. En el nido cinco que recibió huevos de cinco hembras se detectó el genotipo de un segundo macho diferente al custodio, fertilizando el 3 % de la progenie, esto, evidencia la existencia de la Táctica de Apareamiento Alternativa "cuckoldry" o engaño (ver en la Figura 3 marcado en negro para el nido 5), los alelos maternos de éste 3 % de la progenie, corresponden a la madre número dos (de abajo hacia arriba) que contribuyó con 26 % del total de la progenie (Figura 3).

En la Figura 3 cada barra corresponde a un nido o a un grupo de huevos de un nido compuesto y cada parte de cada barra (gris o blanca) corresponde a la progenie de una hembra distinta. No se detectó el genotipo de una misma hembra en progenies de distintos machos ni dentro ni entre localidades.

En los cinco nidos analizados de la Manzanillera, Michoacán (Mich), uno es compuesto, integrado por dos secciones distintas (6a y 6b). En todas las progenies analizadas se detectó sólo el genotipo del macho custodio y de una a tres hembras por progenie (Figura 3).

En Manzanillo, Colima (Col) se detectó en los cinco nidos analizados el genotipo de una y hasta tres hembras por progenie. En esta localidad el nido 11 está integrado por dos secciones distintas (11a y 11b), contribuyendo cada una de las madres en distintos porcentajes en las progenies. En todos los nidos analizados de esta localidad se detectó sólo el genotipo paterno del macho custodio (Figura 3).

En cuatro de los cinco nidos analizados de la localidad más norteña, Negritos, Jalisco (Jal) se detectó sólo el genotipo del macho custodio y de cuatro a seis hembras que contribuyen en distintas proporciones en las progenies. El nido 16 es un nido compuesto que está integrado por tres secciones distintas (16a, 16b y 16c). En una de las secciones de este nido (16a) se detectó el genotipo de un segundo macho diferente al custodio en el 16 % de las larvas analizadas (marcado en negro), los alelos maternos de ésta sección corresponden a una hembra distinta de las dos encontradas en cada una de las secciones b y c, es decir se detectaron cinco hembras en total para este nido (Figura 3).

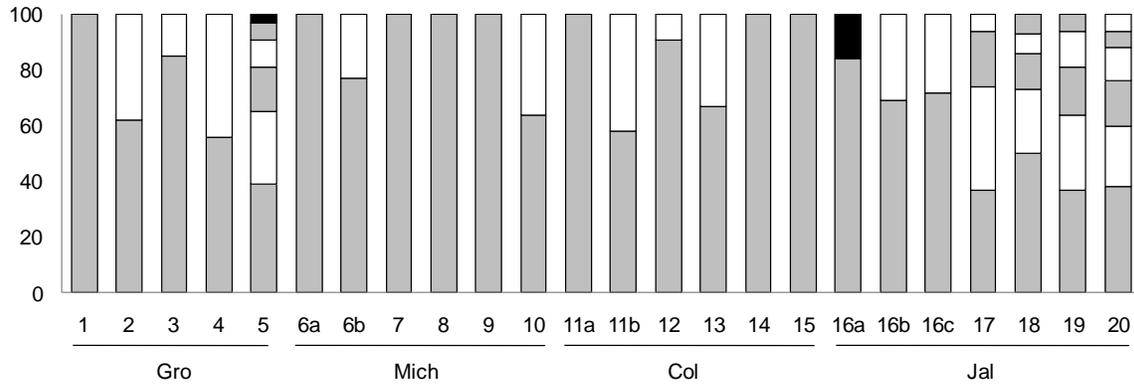


Figura 3. Porcentaje de contribución de cada hembra en las cuatro localidades de colecta, las divisiones de las barras (en gris y blanco) corresponden a la progenie de las distintas hembras. En negro se observa el porcentaje de cuckoldry. Los números representan a cada uno de los nidos. Las letras corresponden a las distintas secciones de los nidos compuestos.

En resumen para las cuatro localidades y 20 nidos, en seis de las progenies analizadas (30 %) se detectó monogamia y en 14 progenies (70 %) se detectó poliginia, con dos y hasta seis hembras. En dos nidos (10 %) se detectó poliandria (cuckoldry) para dos hembras distintas.

En 12 de 14 nidos en dónde existe más de una hembra por progenie, se detectó que cada una de ellas contribuye en proporciones significativamente diferentes ($\chi^2: P < 0.05$), sólo en los nidos dos y cuatro las dos hembras donadoras de gametos contribuyen en proporciones no significativamente diferentes ($\chi^2: P > 0.05$).

Con respecto al número de hembras por nido, se observan diferencias significativas entre localidades ($F = 11.47 P < 0.01$). La localidad con mayor éxito de apareamiento para los machos es Negritos, Jalisco con cinco hembras en promedio por nido, las localidades con menor número son Zihuatanejo, Guerrero

con 2.4, la Manzanillera, Michoacán con 1.6 y Manzanillo, Colima con 1.8 hembras en promedio por nido, sin que haya diferencias significativas en el número de hembras por nido entre estas últimas tres localidades (Figura 4).

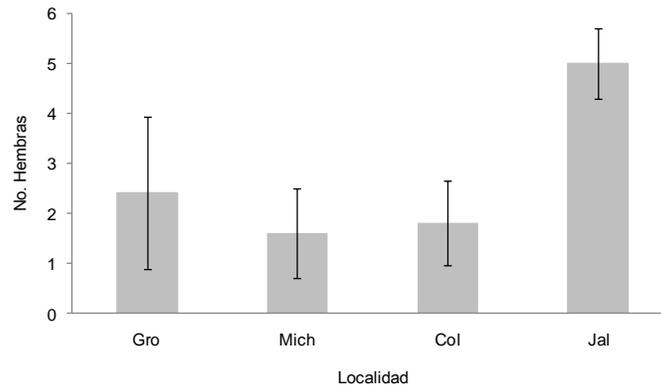


Figura 4. Número de hembras promedio por nido de cada una de las localidades analizadas. Las letras representan a los grupos significativamente distintos (A y B) ($F = 11.47$ $P < 0.01$).

Relación entre variables

Se observó relación positiva entre la longitud total del macho (LT) y el tamaño de la progenie expresada como número de huevos ($r^2 = 0.21$, $P < 0.05$), de igual manera existe relación positiva entre la longitud total del macho y el número de hembras por nido ($r^2 = 0.724$, $P < 0.01$) (Figura 5).

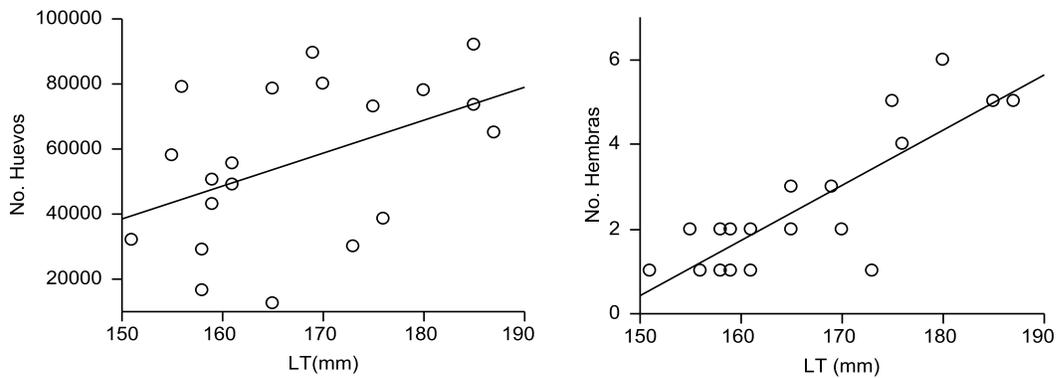


Figura 5. Relación entre la longitud total (LT) de los machos con número total de huevos por progenie ($r^2 = 0.21$, $P < 0.05$) (izquierda) y número de hembras por nido ($r^2 = 0.724$, $P < 0.01$) (derecha).

Se identificó una relación positiva entre el éxito de apareamiento (número de hembras por nido) y el éxito reproductivo (número de huevos) ($r^2 = 0.297$, $P < 0.05$) (Figura 6). Se observa que los machos de mayor tamaño custodian nidos de mayor tamaño (con mayor número de huevos) y estos contienen huevos de un mayor número de hembras. Los machos de mayor talla custodian progenies hasta 4.5 veces más grandes que los de menor talla.

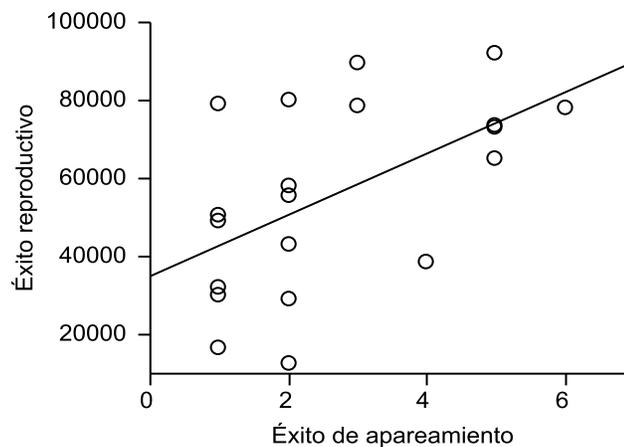


Figura 6. Relación entre éxito de apareamiento y éxito reproductivo ($r^2 = 0.297$, $P < 0.05$).

Se comprobó que existen diferencias significativas en las tallas promedio de los individuos adultos entre las cuatro localidades de colecta ($F = 44.33$ $P < 0.01$) y existe una relación positiva entre la latitud y el tamaño promedio de los adultos de la población ($r^2 = 0.339$, $P < 0.01$) (Figura 7). Negritos, Jalisco (Jal) es la localidad con peces de mayor talla y se encuentra a mayor latitud, con un promedio de 185.88 mm, seguido por Manzanillo, Colima (Col) con 169.22 mm y la Manzanillera, Michoacán (Mich) con un promedio de 172.02 mm, finalmente la localidad ubicada a menor latitud Zihuatanejo, Guerrero (Gro) con una talla promedio de 163.53 mm.

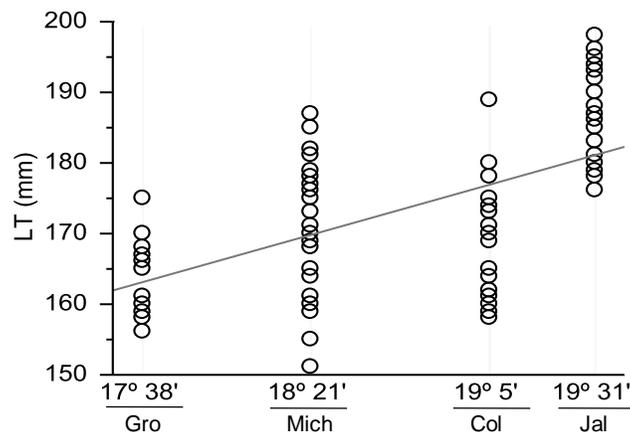


Figura 7. Relación entre latitud y longitud total (LT) de los individuos adultos de las cuatro localidades de colecta ($r^2 = 0.339$, $P < 0.01$).

Finalmente no se detectó relación entre la densidad de individuos y el número promedio de hembras por nido en las cuatro localidades estudiadas ($r^2 = 0.002$, $P > 0.05$).

DISCUSIÓN

Sistema de apareamiento genético

En este trabajo en el 30 % de las progenies analizadas se detectó monogamia y en el 70 % poliginia. Este resultado es consistente con lo reportado en otros trabajos, ya que el sistema de apareamiento genético más común en peces de fertilización externa es la poliginia (DeWoody *et al.* 1998; DeWoody *et al.* 2000c; Jones *et al.* 2001; Mackiewicz *et al.* 2005), en los casos en donde se ha observado monogamia, ésta se encuentra en bajo porcentaje, del 6 al 26 % (DeWoody *et al.* 2000b Jones *et al.* 2001; Fiumera *et al.* 2002; Mackiewicz *et al.* 2002) y en algunas especies no se ha detectado monogamia (Mackiewicz *et al.* 2005; DeWoody *et al.* 1998).

El sistema de apareamiento y la intensidad de la selección sexual dependen en gran parte de la inversión de cada sexo en el apareamiento y en el cuidado parental, generalmente las hembras invierten más en este último y los machos más en esfuerzo reproductivo (Krebs y Davies, 1993). Sin embargo en *Stegastes acapulcoensis* se observa una inversión parcial de roles de los machos ya que son éstos los que brindan exclusivamente el cuidado parental sin que se presente dimorfismo sexual fenotípico, situación que es común en especies monógamas. En este escenario, se podría esperar que los machos fueran selectivos, sin embargo no hay evidencia de esto y en otras especies de *Stegastes* se reporta

que son las hembras las que seleccionan distintas características del macho y del sitio de desove antes de depositar sus huevos (Hoelzer, 1990, Knapp y Warner, 1991, Karino y Nakazono, 1993).

En este trabajo, se encontró una relación positiva entre la longitud total del macho y el número de huevos por nido ($r^2 = 0.21$, $P < 0.05$) (Figura 5) en los 20 nidos analizados. Este mismo patrón también se encontró en un trabajo de conducta en 14 nidos analizados en el centro del Golfo de California para la especie *S. rectifraenum* en donde los machos más grandes tienen un mayor número de huevos con respecto a los pequeños ($r^2 = 0.722$, $P < 0.001$) (Hoelzer, 1990).

Las hembras de *S. rectifraenum* evalúan el tamaño del macho y la calidad del nido en términos de espacios que posean algas rojas filamentosas, ya que permiten una mejor adhesión de los huevos y que éstos estén libres de pequeños invertebrados que pueden actuar como depredadores. Los machos preparan el sitio para el desove, seleccionan las algas necesarias y alejan a los depredadores. Se ha observado que los machos de mayor talla son los que eligen mejores sitios de anidación, son más agresivos y proveen mejor protección a los huevos, por lo tanto son los que tienen mayor éxito reproductivo (Hoelzer, 1990).

Sin embargo, no en todas las especies las hembras eligen tamaño. En *S. nigricans* las hembras seleccionan a machos que realizan mayor número de despliegues natatorios, “dips” (Karino y Nakazono, 1993) y de igual manera en *S.*

partitus los machos con mayor éxito reproductivo (con mayor número de huevos) son los que realizan mayor número de despliegues natatorios “dips” ($r^2 = 0.68$, $P < 0.001$) (Knapp y Warner, 1991).

Se ha reportado en algunas especies de peces que una de las características que también eligen las hembras para desovar en un determinado sitio es que en este ya existan huevos custodiados por el macho, ya que esto les indica que el macho es un buen custodio y al compartir su progenie con la de otras hembras disminuye el riesgo por depredación de sus huevos. A través de estudios de conducta se ha comprobado que esto ocurre en varias especies como *Lepomis punctatus* (Centrarchidae) (DeWoody *et al.* 2000b), *S. rectifraenum* (Hoelzer, 1990) y *S. nigricans* (Karino y Nakazano, 1993).

En el pomacentrido *Hypsypops rubicundus* también se ha observado que el mayor porcentaje de hembras desova en sitios donde ya existen huevos, pero que sean poco maduros debido a que los machos brindan un mejor cuidado parental a estos, además de esto los machos ejercen canibalismo filial y prefieren comer huevos de los primeros estadios, de manera que si una hembra deposita sus huevos en un sitio donde existan huevos cercanos a la eclosión, la probabilidad de que sus huevos sean comidos por el macho es mayor (Sikkel, 1988).

En las progenies analizadas en este trabajo se encontraron diferentes porcentajes de contribución de cada hembra en un nido (χ^2 : $P < 0.05$) y aunque no se observaron desoves, es posible deducir la secuencia de desove en algunos

casos en los que hay diferentes etapas de desarrollo de los huevos. Por ejemplo el nido 11 es un nido compuesto que consta de dos partes, una pequeña (85.31 cm²) (11a) (Figura 3) con embriones maduros en los cuales se observa el ojo en color plateado (Hoelzer, 1992) y una parte grande (401.62 cm²) (11b) (Figura 3) con embriones inmaduros que se observan de color gris (Hoelzer, 1992). En este nido se tiene la certidumbre de que la primera hembra que depositó huevos solo dejó un pequeño porcentaje, esto probablemente debido a que decidió no arriesgar toda su progenie con un macho que no mostraba señales de ser un buen custodio.

"Cuckoldry"

En dos de las progenies analizadas (10 %) se detectó el genotipo de dos machos en una sola progenie. En el nido 5, el 3 % de la progenie analizada no comparte genotipo con el macho custodio. El nido 16 compuesto por tres grupos de huevos, el genotipo del segundo macho (no custodio) se encontró en el 16 % de la progenie de una hembra de una de las partes (16a) (Figura 3). Esto como resultado de engaño o "cuckoldry", una de las principales Tácticas de Apareamiento Alternativas (TAA) documentadas con base en análisis genéticos en peces (DeWoody y Avise, 2001; Taborsky, 2001).

El presente trabajo es el primer reporte de la existencia de una TAA en una especie de la familia Pomacentridae en la que no se presenta o es marginal el dimorfismo sexual fenotípico y en la que, a diferencia de los ejemplos clásicos de

TAA como en *Thalassoma bifasciatum* (Taborsky, 1994), no se detectan morfos claramente diferenciables en los machos.

La existencia de TAA se explica dado que los organismos compiten entre sí por distintos recursos para poder reproducirse, y como resultado de la preferencia de las hembras por ciertas características como color, tamaño, cortejo o calidad de nido, se da la competencia entre machos para lograr tener acceso a cópulas y los organismos no favorecidos o no seleccionados por las hembras pueden mantenerse presentes en la población usando TAA (Taborsky, 1994).

En este trabajo se encontró que los machos de mayor tamaño son los que consiguen mayor número de desoves ($r^2 = 0.724$, $P < 0.01$), bajo esta presión de selección, se puede inferir que los machos pequeños pueden desarrollar TAA como una manera de tener éxito reproductivo diferente de cero dado que en peces territoriales que dependen de un sustrato para el desove (rocas, conchas) se da la competencia por éste recurso y en general los machos de mayor talla son los que pueden monopolizar sitios de anidación de mayor calidad (Sikkel, 1988; Hoelzer, 1990).

Los factores que pueden influir en la existencia de la TAA de "cuckoldry" en *S. acapulcoensis* son: (1) existencia de variación fenotípica (en dónde hay selección de un fenotipo específico por parte de las hembras), (2) fertilización externa (competencia espermática entre machos con diferentes fenotipos) y (3)

cuidado parental (representa un alto costo para peces pequeños) (Taborsky, 2001).

Se ha observado que en especies con variación en el tamaño de los machos, como salmones y cíclidos, los machos de menor tamaño poseen gónadas más grandes con respecto a su tamaño corporal. Estos machos pequeños no pueden competir por sitios de anidación con los machos de mayor talla, así que invierten más energía en producción de gametos. Esto les permite liberar una gran cantidad de espermatozoides en los nidos en donde está ocurriendo un apareamiento, y de esta manera logran fertilizar algunos huevos. (Taborsky, 1998; Taborsky, 2001).

En estudios genéticos en peces de fertilización externa se ha detectado "cuckoldry" en porcentajes muy altos. En el blénido *Scartella cristata* se encontró en el 82 % de las progenies analizadas que hasta un poco más del 12 % de una progenie no comparte genotipo con el macho custodio (Mackiewicz *et al.* 2005). De igual manera en la especie *Lepomis macrochirus* se detectó esta TAA en donde un macho que engaña puede fertilizar hasta el 30 % de una progenie. Cabe mencionar que en estas especies los machos que engañan son más pequeños y menos coloridos que los machos que custodian nidos (Colbourne *et al.* 1996).

En el cíclido *Lamprologus callipterus* se observó que en localidades con baja densidad de sitios de anidación (conchas de caracoles) se presenta mayor frecuencia de "cuckoldry", sin embargo en localidades en donde la distribución de

sitios de anidación es homogénea no se presenta esta TAA. Por lo que los sitios de anidación disponibles también son un factor importante en la presencia de TAA y aunque en este trabajo no se estimaron densidades de sitios de anidación es una variable importante para analizar en un futuro. Aquí se estimaron densidades poblacionales y se encontraron diferencias significativas (Figura 2). Sin embargo, ésta no se relaciona con el nivel de "cuckoldry" encontrado entre localidades. Dada la baja frecuencia de "cuckoldry" encontrado es complicado definir con qué variables se asocia este proceso.

En estudios de conducta de algunas especies de la familia Pomacentridae se han observado distintos comportamientos de machos que podrían generar "cuckoldry", sin embargo, no hay estudios genéticos que lo demuestren. En *Chromis chromis*, que no presenta dimorfismo intra- ni inter-sexual al igual que *S. acapulcoensis*, se ha reportado variación en la conducta de los machos asociada a su reproducción. Se observan: (1) machos exitosos con un territorio, (2) machos con territorio que no consiguen desoves de hembras y (3) machos sin territorio. Los machos de los casos 2 y 3 despliegan un comportamiento que emula al de las hembras y se acercan al territorio de los machos exitosos para tratar de fertilizar algunos huevos. En esta especie, las hembras prefieren desovar con machos que ya están custodiando huevos (Picciulin *et al.* 2004) al igual que en otras especies del género *Stegastes* (Hoelzer, 1990; Karino y Nakazano, 1993).

En *S. acapulcoensis* durante el trabajo de campo de este estudio no se observaron comportamientos reproductivos y no existe literatura publicada, por lo que no hay evidencia de que existan diferentes comportamientos de machos en esta especie.

En la especie *Stegastes nigricans*, durante la temporada de reproducción, machos y hembras adquieren coloraciones distintas, los machos adquieren una coloración oscura y las hembras una clara. Sin embargo, algunos machos no se tornan oscuros, y se observan parecidos a las hembras. Los machos claros no logran conseguir desoves de hembras, debido a que éstas prefieren desovar con machos de tonalidad oscura (Karino y Nakasono, 1993).

Los machos claros (no exitosos) imitan el comportamiento de hembras para “engañar” a los machos exitosos (oscuros) y de esta manera acercarse a los huevos y liberar esperma sobre ellos. Frente a esta estrategia reproductiva, los machos exitosos no permiten el desove simultáneo, sólo permiten que una hembra desove a la vez en su territorio, como una manera de prevenir que los machos no exitosos se acerquen y logren fecundar algunos de los huevos mientras que una hembra desova. Se reporta que muy pocas veces los machos no exitosos logran acercarse a los huevos para poder fertilizarlos, en cuanto el macho exitoso percibe que el otro macho no es una hembra porque no deposita huevos lo aleja inmediatamente de su territorio (Karino y Nakasono, 1993).

Este tipo de comportamiento también podría ocurrir en *S. acapulcoensis*, sin embargo aún no se ha observado si durante la reproducción cambia la coloración de los individuos o si existen diferencias en tamaño entre los machos que custodian nidos y los que no lo hacen. Durante el trabajo de campo de éste estudio se observó variación en la coloración de los individuos, unos muy claros de la cabeza y otros más oscuros. Sin embargo, en este momento no es posible asociar esta variación a diferencias en el estatus reproductivo de los individuos, pero es una característica que sería interesante analizar en estudios futuros.

El análisis genético realizado, nos da una imagen precisa del sistema de apareamiento, sin embargo para obtener información sobre el fenotipo de los machos es necesario hacer observaciones de conducta.

Poliginia y talla en un gradiente latitudinal.

Existen varios factores que intervienen en el sistema de apareamiento de una especie como son la proporción sexual, la disponibilidad de recursos y la densidad. Algunos autores han mencionado que en localidades con mayor densidad de peces existe mayor frecuencia de paternidad o maternidad múltiple (Taborski, 1998; Kokko y Rankin, 2006). Una de las hipótesis que se ha planteado como respuesta a esto, es que por ejemplo en *Hypsypops rubicundus* (Pomacentridae), las hembras eligen preferentemente sitios de anidación en

donde hay mayor densidad porque las posibilidades de elección de pareja, también aumentan (Sikkel, 1988).

En una especie de pez pipa (*Syngnatus floridae*) se ha observado que las hembras prefieren depositar sus huevos en las bolsas ventrales de machos que se encuentran en sitios con mayor densidad de pasto marino. En estos sitios se observa mayor densidad de individuos, ya que en estos espacios son menos visibles ante depredadores y se encuentra una mayor cantidad de organismos que forman parte de su dieta como crustáceos (Mobley y Jones, 2009).

En este trabajo se encontraron diferencias significativas en la densidad promedio de individuos adultos en cada localidad (Figura 2), sin embargo ésta no se relaciona con el éxito reproductivo de los machos expresado como número de parejas y número de huevos en su progenie, ni tampoco se relaciona con la poliginia y la frecuencia de "cuckoldry".

La frecuencia de poliginia observada entre localidades se relaciona positivamente con la talla de los machos (Figura 5) y la talla de los adultos se relaciona positivamente con la latitud (Figura 7). Sugiriendo una relación del tamaño corporal y frecuencia de maternidad múltiple con la latitud (ver resumen de datos por sitio en Anexo I). En los sitios analizados en este trabajo de mayor y menor latitud existe una diferencia de 1.54° C en las temperaturas promedio. La localidad con mayor latitud Negritos, Jalisco (Jal) tiene una temperatura promedio de 26.74° C, Manzanillo, Colima (Col) 27.31° C, la Manzanillera, Michoacán (Mich)

28.05° C y la de menor latitud Zihuatanejo, Guerrero (Gro) con 28.28° C (<http://es.surf-forecast.com>) (ver datos completos en Anexo 2). Existe una relación negativa en la temperatura promedio con respecto a la latitud, a mayor latitud menor temperatura ($r^2 = 0.15$, $P=0.006$).

Una posible explicación al patrón encontrado es que podrían seguir la regla de Bergmann (1847) la cual establece que la selección favorece el desarrollo de individuos de mayor tamaño a menores temperaturas debido a que éstos tienen un área de superficie expuesta a baja temperatura, menor en proporción a su volumen. Aunque esta regla fue descrita para organismos endotermos, experimentos realizados en laboratorio han confirmado que diferentes grupos de organismos ectotermos (animales, plantas, protistas y bacterias) también siguen esta regla (Atkinson y Sibly, 1997). En particular para peces también se han hecho experimentos en laboratorio en donde se observó que se logra una mayor talla cuando se mantiene a los ejemplares a menor temperatura. Esto debido a que la tasa de crecimiento es más rápida a mayor temperatura y se alcanza la talla promedio de un adulto (es decir llegan a la asíntota) antes que los individuos que se mantienen a menor temperatura, éstos tienen una tasa de crecimiento lenta y alcanzan la asíntota posteriormente (Angilletta y Dunham, 2003).

Este mismo patrón de mayor talla a mayor latitud fue encontrado en la especie *Syngnathus leptorhynchus* ($r^2 = 0.28$; $P= 0.02$). En esta especie el cuidado parental lo ejercen los machos, incubando los huevos en una bolsa ventral,

también se encontró una relación positiva en cuanto al número de cópulas ($r^2 = 0.26$, $P = 0.009$) y número de huevos (en machos y hembras) ($r^2 = 0.62$, $P < 0.001$) con la latitud. El autor concluye que la poliginia es necesaria para maximizar el éxito reproductivo de los machos, dado que éstos son más grandes a mayor latitud y poseen una bolsa ventral más grande, necesitan conseguir el desove de más hembras para lograr llenar la bolsa y así conseguir el mayor número de huevos posible (Wilson, 2009).

Otro aspecto que influye en la maternidad múltiple a mayor latitud y menor temperatura es el tiempo de incubación de los huevos. Se ha observado, en la especie *Signathus typhle*, que en lugares más fríos el tiempo de incubación de los huevos aumenta de 35 a 58 días con un descenso en temperatura de sólo 5° C, al invertir más tiempo en el cuidado de los huevos disminuye el potencial reproductivo en machos y una opción para contrarrestar esto es que reciben huevos de un mayor número de hembras (Ahnesjö, 1995).

En *Stegastes acapulcoensis* se puede inferir que esté ocurriendo algo similar. Es decir, que los machos de mayor tamaño que se encuentran a mayor latitud y menor temperatura cuiden más tiempo a los huevos que los machos más pequeños que se encuentran a menor latitud y dado que éstos últimos pueden volver a recibir el desove de nuevas hembras en un periodo de tiempo menor, dada la mayor velocidad de eclosión de los embriones, los machos grandes reciben el desove de un mayor número de hembras para maximizar su éxito

reproductivo y de ésta manera contrarrestar el tiempo invertido en el cuidado de los huevos. O bien dado que el periodo de incubación es mayor, la receptividad de los machos también aumenta, por lo tanto, mientras este periodo sea más largo un macho puede recibir un mayor número de desoves de hembras.

CONCLUSIONES

El estudio de la evolución de los sistemas de apareamiento es un tema que ha ido creciendo, sin embargo, a pesar de que los representantes de la familia Pomacentridae son conspicuos en ambientes arrecifales e incluso existen oligonucléotidos diseñados para algunas especies, no existen estudios sobre su Sistema de Apareamiento Genético. Este es el primer trabajo en el cuál se define el SAG y se aporta información importante hasta antes desconocida *Stegastes acapulcoensis*.

El sistema de apareamiento genético que se presenta con mayor frecuencia en *S. acapulcoensis* es la poliginia con dos a seis hembras involucradas por nido. Los machos de mayor talla tienen mayor éxito reproductivo, custodian nidos más grandes, con mayor número de huevos de mayor número de hembras y existe una relación positiva entre la talla y la latitud. Se encontró evidencia de que en esta especie existen machos que presentan TAA, el "cuckoldry" en baja frecuencia.

LITERATURA CITADA

Abramoff MD, Magalhaes PJ, Ram SJ (2004) Image Processing with ImageJ.

Biophotonics International, **11**, 36-42.

Ahnesjö I (1995) Temperature affects male and female potential reproductive rates

differently in the sex-role reversed pipefish, *Syngnathus typhle*. *Behavioral*

Ecology, **6**, 229–233.

Allen GR (1975) *Damselfishes of the south seas*. TFH Publications Inc, Hong

Kong.

Allen GR, Robertson, DR (1998) *Peces del Pacífico oriental tropical*. Conabio,

Agrupación Sierra Madre y Cemex, Ciudad de México.

Angilletta MJ, Dunham AE (2003) The temperature-size rule in ectotherms: simple

evolutionary explanations may not be general. *The American Naturalist*,

162, 332–342.

Atkinson D, Sibly RM (1997). Why are organisms usually bigger in colder

environments? making sense of a life history puzzle. *Trends in Ecology and*

Evolution, **12**, 235–239.

Avise JC, Jones AG, Walker D, Dewoody JA (2002) Genetic mating systems and

reproductive natural histories of fishes: lessons for ecology and evolution.

Annual Review of Genetics, **36**, 19-45.

DeWoody JA, Avise JC (2001) Genetic perspectives on the Natural History of Fish Mating Systems. *The Journal of Heredity*, **92**, 167-172.

DeWoody JA, DeWoody YD, Fiumera AC, Avise JC (2000a) On the number of reproductives contributing to a half-sib progeny array. *Genetical Research Cambridge*, **75**, 95-105.

DeWoody JA, Fletcher DE, Mackiewicz SD, Wilkins SD, Avise JC (2000b) The genetic mating system of spotted sunfish (*Lepomis punctatus*): mate numbers and the influence of male reproductive parasites. *Molecular Ecology*, **9**, 2119–2128.

DeWoody JA, Fletcher DE, Wilkins SD, Avise JC (2000c) Parentage and nest guarding in the tessellated darter (*Etheostoma olmstedii*) assayed by microsatellite markers (Perciformes: Percidae). *Copeia*, **3**, 740–747.

DeWoody JA, Fletcher DE, Wilkins SD, Nelson WS, Avise JC (1998) Molecular genetic dissection of spawning, parentage and reproductive tactics in a population of redbreast sunfish *Lepomis auritus*. *Evolution*, **52**, 1802–1810.

DeWoody JA, Walker D, Avise JC (2000d) Genetic parentage in large half-sib clutches: theoretical estimates and empirical appraisals. *Genetics*, **154**, 1907–1912.

FitzSimmons N (1997) *Male marine turtles: gene flow, philopatry and mating systems of the green turtle Chelonia mydas*. PhD Thesis, University of Queensland, Australia.

- Fiumera AC, Porter BA, Grossman GD, Avise JC (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.
- Griffith SC, Owens IP, Thuman KA (2002) Extra pair paternity in birds: a review of interspecific variation and adaptive function. *Molecular Ecology*, **11**, 2195–2212.
- Helfman GS , Collette BB, Facey DE, Bowen BW (2009) *The Diversity of Fishes. Biology, Evolution and Ecology*. Second edition. Wiley-Blackwell, New Jersey.
- Hepburn RI, Sale PF, Dixon B, Heath DD (2009) Genetic structure of juvenile cohorts of bicolor damselfish (*Stegastes partitus*) along the Mesoamerican barrier reef: chaos through time. *Coral Reefs*, **28**, 277–288.
- Hoelzer GA (1990) Male – Male competition and a female choice in the Cortez damselfish *Stegastes rectifraenum*. *Animal Behaviour*, **40**, 339 - 349.
- Hoelzer GA (1992) The ecology and evolution of partial-clutch cannibalism by paternal Cortez damselfish. *Oikos*, **65**, 113-120.
- Hughes C (1998) Integrating molecular techniques with field methods in studies of social behavior: a revolution results. *Ecology*, **79**, 383-399.

- Jones AG (2005) GERUD 2.0: a computer program for the reconstruction of parental genotypes from half-sib progeny arrays with known or unknown parents. *Molecular Ecology Notes*, **5**, 708-711.
- Jones AG, Walker D, Lindström K, Kvarnemo C, Avise JC (2001) Surprising similarity of sneaking rates and genetic mating patterns in two populations of the sand goby experiencing disparate sexual selection regimes. *Molecular Ecology* **10**, 461-469.
- Karino K (1995) Male – male competition and female mate choice through courtship display in the territorial damselfish *Stegastes nigricans*. *Ethology*, **100**, 126–138.
- Karino K, Nakazono A (1993) Reproductive behavior of the territorial herbivore *Stegastes nigricans* (Pisces: Pomacentridae) in relation to colony formation. *Journal of Ethology*, **11**, 99–110.
- Knapp RA, Kovach JT (1991) Courtship as an honest indicator of male parental quality in the bicolor damselfish, *Stegastes partitus*. *Behavioral Ecology*, **2**, 295–300.
- Knapp RA, Warner SS (1991) Male parental care and female choice in the bicolor damselfish, *Stegastes partitus*: bigger is not always better. *Animal Behavior*, **41**, 747–756.

- Kokko H, Rankin DJ (2006) Lonely hearts or sex in the city? Density-dependent effects in mating systems. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, **361**, 319-334.
- Krebs JR, Davies NB (1993). *An introduction to behavioural ecology*. Third edition. Blackwell Scientific Publications, London.
- Mackiewicz M, Fletcher DE, Wilkins SD, DeWoody JA, Avise JC (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, Porter BA, Dakin EE, Avise JC (2005) Cuckoldry rates in the Molly Miller (*Scartella cristata*; Blenniidae), a hole nesting marine fish with alternative reproductive tactics. *Marine Biology*, **148**, 213–221.
- Mobley KB, Jones AG (2009) Environmental, demographic, and genetic mating system variation among five geographically distinct dusky pipefish (*Syngnathus floridae*) populations. *Molecular Ecology*, **18**, 1476-1490.
- Nelson JS (1994) *Fishes of the World*. John Willey y Sons Inc, New York.
- Peakall R, Smouse PE (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes*, **6**, 288-295.
- Picciulin M, Verginella L, Spoto M, Ferrero EA (2004) 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**, 23–30.
- Reisser CM, Beldade R, Bernardi G (2009) Multiple paternity and competition in sympatric congeneric reef fishes, *Embiotoca jacksoni* and *E. lateralis*. *Molecular ecology*, **18**, 1504-1510.
- SAS Institute (2000) JMP software package, Version 8, SAS Institute, Cary, NC.
- Sikkel PC (1988) Factors influencing spawning site choice by female Garibaldi, *Hypsypops rubicundus* (Pisces: Pomacentridae). *Copeia*, **3**, 710-718.
- Smith C, Wootton RJ (1995) The costs of parental care in teleost fishes. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, **5**, 7–22.
- Taborsky M (1994) Sneakers, satellites and helpers: parasitic and cooperative behavior in fish reproduction. *Advances in the Study of Behavior*, **23**, 91-100.
- 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. *The Journal of Heredity*, **92**, 100-110.
- Thiessen RJ, Heath DD (2007) Characterization of one trinucleotide and six dinucleotide microsatellite markers in bicolor damselfish, *Stegastes partitus*, a common coral reef fish. *Conservation Genetics*, **8**, 983-985.

Van Oosterhout C, Hutchinson WF, Wills DPM, Shipley P (2004). Micro-Checker: software for identifying and correcting genotyping errors in microsatellite data. *Molecular Ecology Notes* **4**, 535-538.

Williams DA, Purcell J, Hughes CR, Cowen RK (2003) Polymorphic microsatellite loci for population studies of the bicolor damselfish, *Stegastes partitus* (Pomacentridae). *Molecular Ecology Notes*, **3**, 547-549.

Wilson AB (2009) Fecundity selection predicts Bergmann's Rule in syngnathid fishes. *Molecular Ecology*, **18**, 1263-1272.

DISCUSIÓN GENERAL

La familia Pomacentridae es una de las más diversas y conspicuas en los arrecifes marinos, a pesar de esto aún se desconoce gran parte de su biología. En este trabajo se analizó la diversidad y diferenciación genética de *Stegastes acapulcoensis* en cuatro localidades en el Pacífico central de México y es el primer reporte que demuestra poliginia y poliandria con datos moleculares en una especie de pomacéntrido.

Se observó una diversidad genética alta (rango 0.924-0.950) y no existe evidencia de estructura genética con estimadores clásicos ($F_{ST} = 0.0017$ y $R_{ST} = 0.0279$), D_{EST} (0.0482) y análisis bayesiano ($K = 1$). La conectividad genética encontrada en *S. acapulcoensis* en el Pacífico central de México es debida a que esta especie presenta una etapa de larva pelágica que varía de 19 a 23 días (Wellington y Victor, 1989) y durante este tiempo las larvas son transportadas por la Corriente del Oeste de México (COM).

En general los trabajos hasta ahora realizados en diversas especies que presentan fase larvaria muestran conectividad genética y ésta es atribuida al movimiento de las larvas por las corrientes marinas que siguen patrones regulares (Doherty *et al.* 1995; Shulman y Bermingham, 1995; Ospina-Guerrero *et al.* 2008; Hepburn *et al.* 2009; Salas *et al.* 2009), pero que pueden cambiar temporalmente el rumbo y ocasionar el traslado de especies a nuevos sitios (Meekan *et al.* 2001).

Determinar el nivel de conectividad de las poblaciones es útil para establecer un buen manejo y conservación de los ecosistemas marinos (Dibacco *et al.* 2006), permitiendo establecer áreas protegidas que incluyan procesos ecológicos como la dispersión.

Por otro lado el estudio de los sistemas de apareamiento es relevante en biología evolutiva ya que éstos tienen impacto en procesos ecológicos y evolutivos, como el mantenimiento de la variación en las poblaciones, la exposición de los individuos a la depredación, la evolución de la territorialidad y la selección sexual (Awise *et al.* 2002).

En este trabajo se encontró que el sistema de apareamiento que se presenta con mayor frecuencia en *S. acapulcoensis* es la poliginia (70 %). Las hembras seleccionan a los machos de mayor talla y son éstos los que tienen mayor éxito reproductivo (mayor número de apareamientos y mayor número de huevos por nido).

Se ha reportado en otras especies de *Stegastes* que los machos más grandes son más agresivos, proveen mejores sitios de anidación y brindan mejor cuidado parental (Hoelzer, 1990). Los machos compiten entre sí por recursos y apareamientos, al existir distintos fenotipos y preferencia de hembras por ciertas características se da la competencia entre machos. Como resultado de la selección de ciertas características, los que no son seleccionados desarrollan TAA, en este caso "cuckoldry". Una de las características que favorecen la

presencia de TAA es la fertilización externa. Se ha observado que individuos pequeños desarrollan gónadas más grandes y producen mayor cantidad de gametos. En cíclidos y salmonidos se ha observado que los gametos de individuos pequeños tienen mayor movilidad y es de ésta manera es como pueden llegar a fertilizar algunos huevos (Taborsky, 1998, Taborsky, 2001).

En este trabajo se encontró una relación positiva entre la talla de los individuos adultos y la latitud. Una posible explicación al patrón encontrado es que podrían seguir la regla de Bergmann (1847). Experimentos realizados en laboratorio han confirmado que diferentes grupos de organismos ectotermos (animales, plantas, protistas y bacterias) también siguen esta regla (Atkinson y Sibly, 1997).

Se ha observado que el tiempo de incubación de los huevos aumenta a menores temperaturas (Ahnesjö, 1995). Entonces los machos de mayor tamaño que se encuentran a mayor latitud y menor temperatura cuidan más tiempo a los huevos, y dado que vuelven a recibir nuevos desoves en un periodo mayor, reciben el desove de un mayor número de hembras para maximizar su éxito reproductivo y de ésta manera contrarrestar el tiempo invertido en el cuidado de los huevos. O bien dado que el periodo de incubación es mayor, la receptividad de los machos también aumenta, por lo tanto, mientras este periodo sea más largo un macho puede recibir un mayor número de desoves de hembras.

PERSPECTIVAS

A pesar de que en este trabajo y en muchos otros se han encontrado patrones de éxito en los individuos, como resultado de selección sexual, Gowaty y Hubbell (2009) desarrollan el teorema Switch Point Theorem (SPT por sus siglas en inglés) en el cual plantean que la variación en el éxito de los individuos, es resultado de factores estocásticos demográficos, como: la probabilidad de sobrevivencia del individuo, la probabilidad de encuentros (con parejas), periodo de latencia, número de parejas potenciales en la población y la distribución de la adecuación conferida con el apareamiento entre dos individuos específicos de la población. Cada una de estas variables puede tener un valor distinto y esto es lo que al final hace que los individuos sean más o menos selectivos, sin que el éxito reproductivo de los organismos dependa de características genéticas.

Aunque es posible que la variación en la poliandria sea resultado de las variables consideradas en el modelo (SPT) planteado por Gowaty y Hubbell (2009) resulta empíricamente muy complicado cuantificar cada una de las variables en condiciones de vida libre para *Stegastes acapulcoensis*. Sin embargo se podrían hacer algunas predicciones al respecto utilizando el modelo a partir del uso de una sola de las variables, por ejemplo conociendo la proporción sexual en la población se podría estimar el número de parejas potenciales en la población, e incluso la

probabilidad de encuentros de una pareja y a partir de esto predecir si los individuos son más o menos selectivos.

En otro contexto aún quedan varias cuestiones que analizar, por ejemplo observar si existen distintos morfos de machos y evaluar si existen diferencias en tamaño de gónadas entre éstos, observar si existe cambio de coloración de los individuos durante el cortejo y analizar las posibles causas o variables asociadas a la existencia de Tácticas de Apareamiento Alternativas (“cuckoldry”) como la densidad de sitios de anidación.

ANEXO I

Tabla 1. Resumen de datos de cada localidad analizada en el Pacífico central de México.

Datos	Gro	Mich	Col	Jal
No. Nidos compuestos	0	1	1	1
No. Nidos sencillos	5	4	4	4
No. Hembras promedio por nido	2.4	1.6	1.8	5
No. Nidos con contribución de n hembras en proporciones iguales	2	0	0	0
No. Nidos con contribución de n hembras en proporciones desiguales	2	2	3	5
No. Nidos con una hembra	1	3	2	0
No. Nidos con "cuckoldry"	1	0	0	1
Talla de adultos promedio (mm)	163.53	172.03	169.23	185.87
Densidad adultos promedio/m ²	0.2	0.05	0.47	0.25
Área de nidos promedio (cm ²) (mínima-máxima)	303.88 (154.7-429.58)	291.76 (275.6-425.9)	248.17 (69.11-86.93)	377.19 (209.3-499.23)
Temperatura promedio (1984-2011)	28.28°C	28.05°C	27.31°C	26.74°C

ANEXO II

Tabla 2. Datos de temperatura (°C) promedio mensual desde 1984. (Fuente: <http://es.surf-forecast.com>).

Mes	Gro	Mich	Col	Jal
Enero	27.77	27.22	26.11	25
Febrero	27.22	27.22	26.11	25
Marzo	27.22	26.11	25	23.8
Abril	27.22	26.11	25	23.8
Mayo	27.77	27.77	27.22	26.11
Junio	28.88	28.88	27.77	27.77
Julio	28.88	28.88	28.88	28.88
Agosto	30	30	28.88	28.88
Septiembre	28.88	28.88	28.88	28.88
Octubre	28.88	28.88	28.88	28.88
Noviembre	28.88	28.88	27.77	27.77
Diciembre	27.77	27.77	27.22	26.11
Promedio	28.28	28.05	27.31	26.74