

Identificación del sistema de apareamiento de *Stegastes diencaeus*: Un análisis con microsatélites

Verónica Lizbeth González-Valdez¹, José Abraham Villa-Melchor¹, Luis Mendoza-Cuenca² y Omar Chassin-Noria¹✉

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

²Laboratorio de Ecología de la Conducta, Facultad de Biología, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Av. Francisco J. Mújica S/N, Morelia Michoacán, 58030. México.

Resumen

Definir el sistema de apareamiento y relaciones de parentesco de los organismos con reproducción sexual, es uno de los temas recurrentes en el estudio de la biología evolutiva. En décadas recientes, se han empleado marcadores moleculares para incrementar el conocimiento del sistema de apareamiento de los organismos y específicamente los microsatélites nucleares, secuencias de uno a diez nucleótidos repetidos en tándem, han sido seleccionados para estudiar la variación genética y determinar las relaciones de parentesco y pruebas de paternidad-maternidad. En este trabajo presentamos resultados del primer análisis molecular del sistema de apareamiento genético de *Stegastes diencaeus*, especie tropical, que se distribuye en el Atlántico occidental. Esta especie presenta un comportamiento altamente territorial, fecundación externa y desove sobre el sustrato, los machos ejecutan el cuidado parental desde el momento de la fertilización hasta la eclosión de las larvas pelágicas, realizando limpieza del nido, ventilación y protección de los huevos contra la depredación. En el presente trabajo analizamos tres nidos *S. diencaeus* colectados en Xpu-Ha, Quintana Roo con dos loci de microsatélites, detectando un sistema de apareamiento genético poliginico.

Palabras clave: *Microsatélites, Sistema de apareamiento genético, Poliginia, Stegastes.*

Abstract

Define the mating systems and parental relationships of organisms with sexual reproduction, is one of the recurring themes in the study of evolutionary biology. In recent decades, molecular markers have been used to increase the knowledge of mating systems, specifically, nuclear microsatellites, sequences of one to ten nucleotides repeated in tandem have been selected to study genetic variation to establish the genealogical relationships and paternity tests. In this work we present the first molecular analysis of genetic mating system of *Stegastes diencaeus*, a tropical species, of western Atlantic. This species show territorial behavior, external fecundation, and benthic spawn. Parental care (nest cleaning, ventilation and protection against predation) is performed by males, science fertilization of the eggs until the hatch of pelagic larva. We analyzed two loci of nuclear microsatellites from three nests of *S. diencaeus* collected in Xpu-Ha, Quintana Roo. We found polygynous genetic mating system.

Keywords: *Microsatellites, genetic mating system, polygyny, Stegastes*

Introducción

El sistema de apareamiento (SA) de una especie, se refiere al conjunto de estrategias empleadas en la obtención de apareamientos e involucra características como el número de apareamientos adquiridos, la manera en cómo se obtienen, así como la existencia y duración de lazos de pareja y el cuidado parental (Emlen y Oring, 1977).

Con respecto al número de parejas por temporada reproductiva, se han descrito tres tipos de sistemas de apareamiento: Monogamia, Poligamia y Promiscuidad (Krebs y Davies 1993). En la monogamia un macho se aparean con una sola hembra en cada temporada de reproducción. La poligamia se presenta cuando un individuo macho o hembra copula con varias parejas por evento reproductivo, si son los machos los que se aparean con más de una hembra, se denomina poliginia, mientras que si son las hembras las que se aparean con más de un macho se denomina como

poliandria.

Los SA pueden ser estudiados desde dos perspectivas, por una parte está la conducta reproductiva de los individuos parentales mediante observaciones directas y por otro el análisis genético de las progenies y parentales empleando marcadores moleculares. Se ha observado que estas perspectivas no siempre brindan descripciones congruentes. (Hugues, 1998; Griffith *et al.* 2002). En general se ha sugerido que el estudio de los SA a través de la conducta de los adultos, pueden subestimar o sobreestimar la contribución de las copulas extra pareja al éxito reproductivo de los individuos parentales, particularmente cuando su frecuencia es baja. En ese contexto, la descripción de los SA a través de técnicas moleculares permite detectar el éxito reproductivo de las copulas extra pareja, así como la frecuencia de ocurrencia de tácticas de apareamiento alternativas que pueden pasar desapercibidas en las evaluaciones conductuales de los SA (Hugues, 1998).

Para la descripción de los SA a través de métodos moleculares, los microsatélites representados por secuencias de entre dos a diez nucleótidos repetidos en tándem y con un patrón de herencia mendeliana, son la herramienta de primera elección para definir

✉ **Autor de correspondencia:** Omar Chassin-Noria. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Email: ochassin@umich.mx

tanto SA, como las relaciones de parentesco de las progenies.

El estudio de los SA en peces a través de análisis genéticos, es relevante debido al impacto ecológico y evolutivo que representa, al exponer aspectos como la asimetría en la contribución relativa de los individuos en la producción de prole, evidenciando no solo la variación en el éxito reproductivo de los individuos, sino la oportunidad e intensidad con que puede estar actuando la selección sexual, dentro de una población (DeWoody y Avise, 2001; Avise *et al.* 2002; Shuster y Wade, 2003). Es por ello, que el conocimiento de los SA es un componente clave en las evaluaciones de la población y es importante para la gestión y conservación de peces marinos, así como para estrategias de mantenimiento de poblaciones en cautiverio a largo plazo (Rowe y Hutchings, 2003).

En la actualidad se han desarrollado diversos trabajos para definir los sistemas de apareamiento en peces arrecifales (Helfman *et al.* 2009), detectando que dentro de los SA poligámicos, la poliginia, es particularmente común en especies con cuidado paternal de la prole, en donde los machos son altamente territoriales; siendo las hembras las que visitan los territorios custodiados por los machos para copular y ovipositar (Helfman *et al.* 2009).

El género *Stegastes*, ha sido un grupo modelo para estudios de territorialidad desde hace más de 50 años, las observaciones conductuales han evidenciado que varias hembras ovipositan en la prole de un solo macho, tanto en especies del Pacífico oriental como *Stegastes rectifraenum* (Hoelzer, 1992) y en especies del océano Atlántico como *Stegastes partitus* (Knapp y Warner, 1991).

El análisis del SA con técnicas moleculares en este género, solo se ha realizado con una especie del Pacífico Oriental Tropical. Urbiola en el 2012, definió el SA de *Stegastes acapulcoensis* utilizando cuatro locus de microsatélites nucleares, encontrando evidencia de poliginia con hasta seis hembras involucradas en la prole de un macho y una relación positiva entre el tamaño de los machos con el éxito reproductivo y la frecuencia de poliginia.

A la fecha, a pesar de que en el mar Caribe las especies del género *Stegastes* son conspicuas, no se han realizado análisis genéticos del SA de ningún representante de la familia Pomacentridae. El presente trabajo se desarrolló con *S. diencaeus*, una especie tropical, que se distribuye en el Atlántico occidental desde el sur de Florida a Venezuela. Esta especie habita arrecifes coralinos de 2 a 45 m de profundidad (Allen y Robertson, 1998) exhibe defensa territorial permanente, monopolizando cabezos de coral vivos, que utiliza como sitios de alimentación, refugio, ovoposición y apareamiento. Presenta fertilización externa con cuidado paternal, incluyendo limpieza del nido, ventilación y protección de la prole contra la depredación hasta la emergencia de las larvas, proceso que toma entre tres y siete días (Humann, 2002).

A pesar de que *S. diencaeus* es una especie abundante en todo el Sistema Arrecifal Mesoamericano, su sistema de apareamiento no ha sido descrito formalmente. Sin embargo, estudios de territorialidad y esfuerzo de defensa, realizados en múltiples especies del mismo género, sugieren que el sistema de apareamiento, es poliginia de defensa de recursos (Knapp y Warner, 1991; Hoelzer 1992).

En el presente estudio, se definió el sistema de apareamiento

genético de *S. diencaeus* empleando dos loci de microsatélites nucleares en tres nidos, analizando la frecuencia de maternidad múltiple en la prole de los machos.

Materiales y Métodos

El estudio se llevó a cabo en la localidad Xpu-Ha, municipio de Solidaridad, Quintana Roo, (Lat. 20°28'15.11" N. Long. 87°15'30.57" O (Figura 1). Se colectaron 60 huevos fecundados en total de tres nidos de *S. diencaeus*, ubicados entre 10 y 15 metros de profundidad con ayuda de equipo SCUBA. Los huevos se transportaron a superficie y fueron colocados en un acuario portátil hasta su eclosión. Las larvas recién eclosionadas y una fracción de aleta pectoral derecha (5mm²) de cada ejemplar macho adulto, que custodiaba el nido, fueron almacenadas en viales con etanol absoluto. Las larvas o huevos con embrión (longitud inferior a un milímetro) fueron empleados para la obtención de ADN con el protocolo propuesto por FitzSimmons (1997). Del nido 1 se analizaron 19 larvas, del nido dos 20 y finalmente para el nido 3, 21 larvas. En estudios anteriores se ha determinado que con este tamaño de muestra es posible detectar la poliginia en progenies del género *Stegastes* y tener una aproximación del número de hembras y proporción de la prole que es donada por cada una de ellas (Urbiola, 2012). Realizar un análisis exhaustivo de las progenies de este género que son de varias decenas de miles de huevos es metodológicamente costoso y complicado incluso en un solo nido, ya que el número de huevos que lo componen varía de 10000 hasta 90000.

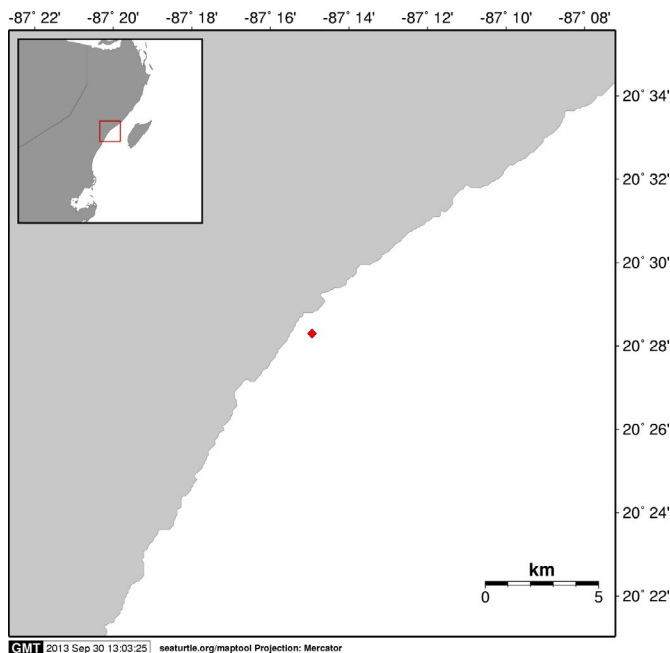


Figura 1. Localización del sitio de colecta de muestras, Xpu-Ha, municipio de Solidaridad, Quintana Roo.

La obtención de genotipos con microsatélites se realizó para cada nido con dos pares de oligonucleótidos diseñados originalmente para *S. partitus* (Williams *et al.* 2003; Thiessen y Heath, 2006). Para el nido 1 se utilizaron los oligonucleótidos SpGATA-40 y SpGATA-16; para el nido 2 y 3 los oligonucleótidos SpGATA-40 y SpAAT-39. La selección de oligonucleótidos se re-

alizó con base en la calidad de los productos de amplificación de cada nido. Las condiciones para la obtención de amplificaciones por PCR fueron: 200 μ M de dNTP's, 2 μ M MgCl₂, 0.5 μ M de cada oligonucleótido, 2 U de Taq polimerasa, 2.5 μ L 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 cada locus fue distinto. Para el locus SpGATA-40: 94 °C 3 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. Para el locus SpGATA-16: 94 °C 3 min, seguido de 35 ciclos de 94°C 1 min, 49 °C 1 min, 72°C 1 min y extensión final de 72°C por 2 min. Finalmente, para el locus SpAA-39 el programa fue: 94 °C 3 min, seguido de 35 ciclos de 94°C 1 min, 50 °C 1 min, 72°C 1 min y extensión final de 72°C por 2 min.

La determinación de los genotipos se realizó mediante la electroforesis capilar en un equipo automatizado (ABI 310) utilizando como marcador interno LIZ-500 (Applied Biosystems). La asignación de los alelos se determinó con el software Peak Scanner v. 1.0. La estimación del número de progenitores involucrados en la fertilización de la progenie se realizó con el software GERUD 2.0 (Jones, 2005).

Resultados

Para los tres nidos evaluados (Nido 1=19, Nido 2=21, Nido 3=22) se determinó el tamaño y número de alelos para cada locus (Tabla 1). Los resultados encontrados presentan ligeras variaciones en el rango de tamaño comparado con *S. partitus*, especie base para el diseño de los oligonucleótidos, antes mencionados.

La probabilidad de exclusión de maternidad múltiple (Jones, 2005) de cada uno de los locus empleados es mayor a 0.89 y la combinación de los loci es igual a 0.998 valor que representa la capacidad del sistema para establecer con certidumbre maternidad múltiple de *S. diencaeus*.

La reconstrucción de los genotipos maternos en Gerud 2.0 (Jones, 2005) se realizó considerando los patrones de herencia mendeliana. Para la determinación del sistema de apareamiento, se analizaron de 19 a 21 huevos de cada nido. En los tres nidos se encontró evidencia de la oviposición de más de una hembra (Figura 2), sin embargo, solo se detectaron diferencias significativas en la contribución relativa de cada hembra en los nidos

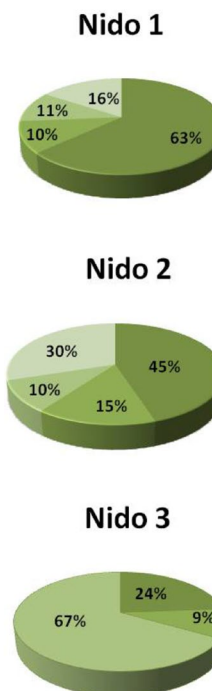


Figura 2. Porcentaje de la progenie por nido que corresponde a cada una de las hembras donadoras de gametos.

Locus	<i>S. partitus</i> (Williams et al.2003)		<i>S. diencaeus</i> Presente trabajo	
	Tamaño (pb).	No. alelos (no. individuos)	Tamaño (pb).	No. alelos (no. individuos)
SpGATA40	116-295	39(48)	138-225	20(65)
SpAA39	149-210	41(47)	132-216	10(43)
SpGATA16	96-267	39(48)	128-216	6(22)

Tabla 1. Rangos de tamaños y número de alelos reportados para *S. partitus* (Williams et al. 2003) en comparación con el presente trabajo.

Locus	Nido 1			Nido 2			Nido 3		
	SpGATA40	SpGATA16	% (n)	SpGATA40	SpAA39	% (n)	SpGATA40	SpAA39	% (n)
Macho	158/182	216/128		173/193	173/188		153/177	156/179	
Hembra 1	158/178	164/132	63.1 -12	201/201	173/155	45 -9	201/149	179/153	66.6 -14
Hembra 2	166/152	164/132	15.7 -3	169/165	188/176	30 -6	225/217	132/141	23.8 -5
Hembra 3	190/166	152/152	10.6 -2	201/201	176/215	15 -3	225/217	156/153	9.5 -2
Hembra 4	142/138	132/144	10.6 -2	197/209	173/173	10 -2			

Tabla 2. Genotipos encontrados en las progenies evaluadas, porcentaje (%) y número de larvas ovipositados (n) de cada hembra en los nidos analizados.

de dos machos. En el Nido 2, las cuatro hembras donadoras de gametos no contribuyen en proporciones significativamente diferentes (Nido 2, X^2 6; $P > 0.05$) mientras que, en el Nido 1 y 3, las hembras, contribuyen en proporciones significativamente diferentes a la progenie, (X^2 14.89; $P < 0.05$ y X^2 11.143; $P < 0.05$ respectivamente) existiendo para el Nido 1, cuatro hembras y para el nido 3 tres hembras, siendo notable que en cada nido, hay una hembra que dona más del 60% de los gametos.

En los tres nidos se identificó únicamente el genotipo del macho custodio y 100% de poliginia con la contribución de entre tres y hasta cuatro hembras por nido (Tabla 2)

Discusión

En este trabajo se observa que el 100% de las progenies analizadas presentan poliginia. Este resultado es consistente con lo reportado en otros trabajos, en donde se ha observado que el SA más común en peces de fertilización externa es la este (DeWoody *et al.* 1998; De Woody *et al.* 2000; Jones *et al.* 2001).

Teóricamente se sugiere que el SA y la intensidad de la selección sexual dependen 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, al igual que en otras especies del género *Stegastes*, (Urbiola, 2012) en *S. diencaeus*, se observa una inversión parcial de roles, dado que los machos brindan el cuidado parental sin que se presente un dimorfismo sexual aparente.

En esta inversión de roles, el macho es quien invierte mayor tiempo y energía cuidando la progenie de la depredación desde la fecundación hasta la eclosión, por lo que es relevante considerar, que aun cuando el éxito reproductivo de los machos podría incrementarse al aumentar el número parejas con las que copula, esto genera también un mayor gasto energético para el macho (Krebs y Davies 1993; Martínez *et al.* 2000).

Itzkowitz y Haley (1999), sugieren que las hembras de *S. leucostictus* presentan una defensa o agresividad menos intensa de su territorio, con respecto a los machos y este dimorfismo sexual de conducta, se utiliza para sexar a los individuos de especies de este género que no presentan dimorfismo sexual fenotípico. Es posible, por lo tanto, en *S. diencaeus* exista dimorfismo sexual conductual (despliegues natatorios, agresividad) o de otro tipo (señales químicas) que no sean detectados a simple vista (Solís, 2012).

Sullivan (1994) sugiere que el número de parejas de un individuo puede verse influenciado por los costos y beneficios que esto puede tener y la elección de las mismas es resultado de la calidad potencial de la pareja. En el caso de *S. diencaeus*, al aumentar el número de hembras que depositan huevos en un territorio se incrementa el tamaño área del nido por el aumento en el número de huevos, así como potencialmente, el periodo del cuidado paterno si las hembras ovipositan en días diferentes. Esa situación demanda un mayor gasto de tiempo y energía, generando una disyuntiva entre el beneficio obtenido por el macho al fecundar huevos de varias hembras con el incremento del gasto de energía derivado de la custodia de nidos de mayor tamaño, lo que podría afectar la adecuación de del individuo. En un escenario así, se espera que exista un proceso de selección del macho también

hacia la hembra, que permita maximizar la diversidad genética de su progenie sin exceder un umbral de área a custodiar que resulte energéticamente contraproducente. Este proceso de selección de las hembras por parte de los machos dada la inversión de roles entre machos y hembra, con respecto al cuidado parental, ha sido documentado, especialmente en especies de la familia Syngnathidae (Helfman *et al.* 2009). Para demostrar este proceso de selección sería deseable realizar un estudio que conjunte observaciones de conducta de apareamiento y el análisis genético del SA en *S. diencaeus*.

Las poblaciones que presentan SA polígamos, pueden ver afectado su tamaño efectivo de población dado que se sabe que al presentarse sistemas de apareamiento poligámicos con variación en el éxito reproductivo de los individuos, el tamaño efectivo de población es menor, con respecto a poblaciones de organismos con sistemas de apareamiento monógamo (Karl, 2008). Sin embargo, en *S. diencaeus*, el efecto de esta reducción en el tamaño efectivo de población, es marginal dado el gran tamaño poblacionales de esta especie.

La presencia de un SA poligínico puede ofrecer algunas ventajas con respecto a la monogamia. Específicamente la diversidad genética de la progenie de un macho se incrementa de manera positiva con el número de progenitoras involucrados en la misma (Martínez *et al.* 2000) y las poblaciones con alta diversidad genética presentan una mayor plasticidad evolutiva (Allendorf *et al.* 2008).

El SA poligínico encontrado puede deberse a que aun, con el cuidado parental ejercido por el macho, el riesgo de la depredación de huevos no se elimina completamente y al ser las progenies resultado de la donación de gametos por varias hembras, se minimiza el riesgo de la depredación entre las hembras donadoras de gametos. Se ha reportado en algunas especies de peces, que una de las características que eligen las hembras para desovar en un determinado sitio, es que existan ya huevos de otra hembra, custodiados por un macho, ya que esto es un indicador de calidad del territorio y de la habilidad del macho custodio para disminuir el riesgo de depredación de los huevos (Itzkowitz, 1985).

En el caso del estudio genético del SA de *S. acapulcoensis*, se encontró que el 10% de las 20 progenies analizadas, presentaban más de un macho por progenie (Urbiola, 2012), esto evidenció la ocurrencia de Tácticas de Apareamiento Alternativas (TAA) específicamente “cuckoldry” o engaño (sensu Taborsky, 1994). Las TAA son comunes en sistemas de apareamiento donde se presenta una gran variación del éxito reproductivo de los machos por la elección de las hembras y aunque no ha sido observada directamente, se puede inferir que algunos machos distintos al que custodia una progenie logran fecundar algunos huevos (DeWoody y Avise, 2001). Dada la baja frecuencia de las TAA observada en *S. acapulcoensis* es posible que esta táctica también se presente en *S. diencaeus*, sin embargo, aunque no se detectó en este estudio, no se excluye la posibilidad de que existan este tipo de tácticas pero con frecuencias más bajas. Si al hacer un estudio exhaustivo de un nido sigue sin detectarse poliandria, sería un reflejo de la capacidad de los machos para custodiar sus progenies de la fertilización por otros machos.

En este primer análisis del SA de *S. diencaeus* detectamos un 100% de poliginia. En el futuro será de gran interés determi-

nar si este SA presenta variación temporal y espacial, debido a distintas condiciones ambientales (temperatura, productividad primaria) y ecológicas (abundancia, proporción sexual) como ha sido reportado para otras especies (Wilson, 2009). Además de realizar un trabajo en el que se obtengan análisis de conducta, para determinar si el éxito reproductivo que los machos presentan, tiene relación con factores morfológicos, conductuales o de calidad de territorios y esto funcione como un factor limitante para la obtención de diversas hembras. Además de determinar, si existe un proceso de selección del macho hacia la hembra, y en caso de presentarse, si existe relación con el incremento del gasto de energía, derivado de la custodia de nidos de mayor tamaño o simplemente la selección ocurre por la calidad en términos morfológicos que la hembra pueda presentar.

Agradecimientos

Al programa de Verano de Investigación Nicolaita (programa 2013) de la UMSNH en el que la primera autora realizó este proyecto de investigación. A Bahía Divers de Xpu-Ha Quintana Roo México, por las facilidades otorgadas en la logística de colecta de muestras. A seaturtle.org por el uso de MAPTOOL para la realización del mapa.

Referencias

- Allen G, Robertson D.** 1998. Peces del Pacífico oriental tropical. *Conabio, Agrupación Sierra Madre y Cemex. México.* pp. 327.
- Allendorf F, England P, Luikart G, Ritchie P, Ryman N.** 2008. Genetic effects of harvest on wild animal populations. *Trends in Ecology & Evolution.* 23: 327–337.
- Allendorf W, Luikart G.** 2007. Conservation and the Genetics of populations. *Blackwell Scientific Publication. London.*
- Avise JC, Jones A, Walker D, DeWoody JA.** 2002. Genetic mating systems and reproductive natural histories of fishes: lessons for ecology and evolution. *Annual Review Genetic.* 36:19–45.
- 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, Avise JC.** 2001. Genetic perspectives on the natural history of fish mating systems. *The Journal of Heredity.* 92:167–172.
- DeWoody JA, Fletcher DE, Mackiewicz SD, Avise JC.** 2000. The genetic mating system of spotted sunfish (*Lepomis punctatus*): mate numbers and the influence of male reproductive parasites. *Molecular Ecology.* 9: 2119-2128.
- Emlen ST, Oring LW.** 1977. Ecology, Sexual selection, and the evolution of mating systems. *Science.* 19: 215-223
- FitzSimmons N.** 1997. Male marine turtles: gene flow, philopatry and mating systems of green turtle *Chelonia mydas.* *Tesis doctoral. Universidad de Queensland, Australia.* pp 241.
- Griffith SC, Owens IP, Thuman KA.** 2002. Extra pair paternity in birds: a review of interspecific variation and adaptive function. *Molecular Ecology.* 11: 2195-2012.
- Helfman GS, Collette BB, Facey DE, Bowen BW.** 2009. The diversity of fishes: Biology, Evolution and Ecology. *Oxford.* 720 pp.
- Holzer 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.
- Humann P, Deloach N.** 2004. Reef fish identification. *New World Publications, Inc. E.U.A.* 481 pp.
- Itzkowitz M.** 1985. Aspects of the population dynamics and reproductive success in the permanently territorial beaugregory damselfish. *Marine Behavior & Physiology.* 12: 57.69.
- Itzkowitz M, Haley H.** 1999. Are males with more attractive resources more selective in their mate preferences? *A test in a polygynous species.* *Behavioral Ecology* 10: 366-371.
- 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, Kvanemo 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.
- Karl S.** 2008. The effect of multiple paternity on the genetically effective size of a population. *Molecular Ecology.* 17: 3973-7
- Knapp RA, Warner S.** 1991. Male parental care and female choice in the bicolor damselfish, *Stegastes partitus*: bigger is not always better. *Animal Behaviour.* 41: 747-756.
- Krebs JR, Davies NB.** 1993. An introduction to behavioural ecology. *Third edition. Blackwell Scientific Publications. London.*
- Martinez JL, Moran P, Pérez J, De Gaudemar B, Beall E, García E.** 2000. Multiple paternity increases effective size of southern Atlantic salmo populations. *Molecular Ecology.* 9: 293-298.
- Rowe S, Hutchings J.** 2003. Mating systems and the conservation of commercially exploited marine fish. *Trends in Ecology & Evolution.* 18: 567–572.
- Shuster SM, Wade JM.** 2003. Mating Systems and Strategies. *Princeton University. Princeton, New Jersey.*
- Solís M.** 2012. Conducta territorial y reconocimiento interespecífico en *Stegastes planifrons.* *Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.*
- Sullivan MS.** 1994. Mate choice an information gather process under time constraint: implications for behavior and signal design. *Animal Behaviour.* 34: 914-927.
- Taborsky M.** 1994. Sneakers, satellites and helpers: parasitic and cooperative behavior in fish reproduction. *Advances in the Study of Behavior.* 23: 91-100.
- Thiessen RJ, Heath D.** 2006. Characterization of one trinucleotide and six dinucleotide microsatellite markers in bicolor damselfish, *Stegastes partitus* a common coral reef fish. *Conservation Genetics.* 983-985.
- Urbiola R.** 2012. Sistema de apareamiento genético de *Stegastes acapulcoensis* (POMACENTRIDAE) en el Pacífico central de México. *Tesis de maestría. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Michoacán, México.* 53 p.
- Williams, D, Purcell J, Hughes, Cowen R.** 2003. Polymorphic microsatellite loci for population studies of the bicolor damselfish, *Stegastes partitus*.

gastes partitus (Pomacentridae). *Molecular Ecology Notes*. 3: 547-549.