



UNIVERSIDAD DE SONORA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y
TECNOLÓGICAS

POSGRADO EN BIOCENCIAS

ANÁLISIS DE LA MADUREZ GONÁDICA DE LA DAMISELA DE LIMBAUGH (*Chromis limbaughi*) DEL GOLFO DE CALIFORNIA

TESIS

que para obtener el grado de:

MAESTRO EN BIOCENCIAS

presenta:

HUGO CAÑEDO ORIHUELA

Hermosillo, Sonora, México

11 de diciembre de 2018

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**



Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

DERECHOS DE AUTOR

El presente trabajo de tesis se presenta como uno de los requisitos parciales para la obtención del grado de **Maestro en Biociencias** de la Universidad de Sonora.

Se deposita en la biblioteca de Ciencias Biológicas y de la Salud para ponerla a disposición de los interesados. Se permiten citas breves del material contenido en la tesis sin permiso del autor, siempre y cuando se otorgue el crédito correspondiente. Para reproducir, o en su caso referirse a este documento en forma parcial o total, se deberá solicitar la autorización al Coordinador del Programa del Posgrado.

Bajo cualquier otra circunstancia se debe solicitar permiso directamente al autor.

Atentamente

Hugo Cañedo Orihuela

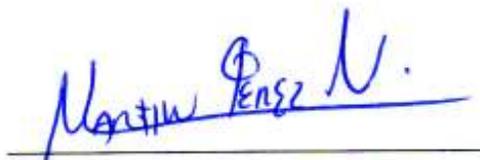
Autor

Dra. Nohemí Gámez Meza

Coordinadora del Programa de Maestría en Biociencias

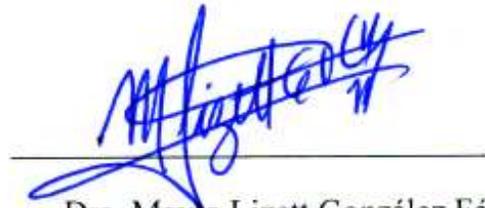
APROBACIÓN

Los miembros del Comité designado para revisar la tesis titulada ANÁLISIS DE LA MADUREZ GONÁDICA DE LA DAMISELA DE LIMBAUGH (*Chromis limbaughi*) DEL GOLFO DE CALIFORNIA presentada por el Biol. Hugo Cañedo Orihuela, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Maestro en Biociencias.



Dr. Martín Pérez Velázquez

Director



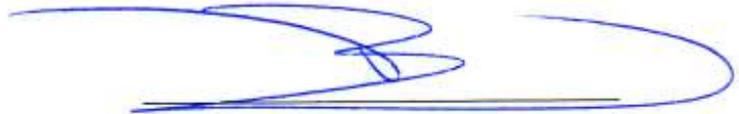
Dra. Mayra Lizett González Félix

Co-director



Dr. Gerardo Navarro García

Sinodal interno



Dra. Silvia Gómez Jiménez

Sinodal externo

DEDICATORIA

Esta tesis va dedicada a mis padres, que gracias a su apoyo he tenido oportunidad de alcanzar mis metas en los estudios. A mi hermana, por siempre apoyarme. A mis amigos por siempre estar a mi lado.

AGRADECIMIENTOS

A mis directores de tesis Dr. Martín Pérez Velázquez y Dra. Mayra Lizett González Félix por su apoyo y enseñanza durante este transcurso de tiempo.

A mis sinodales Dr. Gerardo Navarro García y Dra. Silvia Gómez Jiménez, por dedicar su tiempo para hacer posible este proceso tan importante en mi vida académica.

Al equipo de trabajo de la Unidad experimental Kino, por brindar su apoyo para poder realizar los muestreos pertenecientes a este estudio.

RESUMEN

La damisela de Limbaugh, *Chromis limbaughi*, especie endémica del Golfo de California, actualmente es explotada para el abastecimiento del mercado de la acuariofilia. Su reproducción en cautiverio pudiera aliviar la presión de pesca de la que es objeto, además de permitir la restitución de poblaciones naturales; sin embargo, no se han realizados estudios con este fin. Como pre-requisito para lograr la reproducción controlada de especies, es necesario obtener conocimientos sobre su biología reproductiva, tema de estudio del presente trabajo. Se realizaron muestreos estacionales de individuos de *C. limbaughi* durante las estaciones de primavera, verano, otoño e invierno, capturando 35, 16, 20 y 19 organismos, respectivamente. Los organismos fueron medidos, pesados, y sus gónadas fueron extirpadas para realizar análisis de composición proximal, del perfil cualitativo de ácidos grasos y análisis histológicos. Se determinó que *C. limbaughi* es una especie gonocorista, sin dimorfismo sexual, con comportamiento gregario y territorial, manteniendo refugios tales como cuevas rocosas. El análisis de características macroscópicas de las gónadas permitió identificar con cierto grado de precisión distintos estadios de madurez gonadal en hembras, pero no así en machos. El desarrollo gonadal en ambos sexos, evaluado en términos del índice gonadosomático (IGS), fue mayor en las estaciones de primavera y verano, y disminuyó notablemente en las estaciones de otoño e invierno. La composición proximal de las gónadas varió con la estación del año de manera significativa en cuanto a los contenidos de humedad, cenizas y proteína en machos, y en cuanto al contenido de cenizas en hembras, pero sin mostrar tendencias claras. En cuanto al perfil de ácidos grasos de las gónadas de ambos sexos, los constituyentes mayoritarios fueron, dentro de los ácidos grasos saturados, el ácido palmítico (16:0) y el ácido esteárico (18:0); dentro de los ácidos grasos monoinsaturados, el ácido oleico (18:1n-9); dentro de los ácidos grasos de la familia n-3, el ácido docosahexaenoico (20:5n-3) y el ácido eicosapentaenoico (22:6n-3), y dentro de los ácidos grasos de la familia n-6, el ácido araquidónico (20:4n-6). A partir de lo anterior, se concluye que *C. limbaughi* tiene una época reproductiva que abarca las estaciones de primavera y verano, y se extiende de mayo a septiembre.

ABSTRACT

The Limbaugh's damselfish, *Chromis limbaughi*, endemic to the Gulf of California, is one of the five most exploited species in this region for the aquarium trade. In spite that reproduction of this species in captivity not only would alleviate fishing pressure, but also it would support stock enhancement, studies aiming at its controlled reproduction have not been conducted. A first step towards achieving this goal is to generate knowledge of its reproductive biology. Therefore, this project investigated aspects of gonad maturity of Limbaugh's damselfish. Seasonal samplings of individuals were carried out in the waters adjacent to San Esteban Island, Gulf of California, during which 35, 16, 21 and, 19 organisms were caught in Spring, Summer, Autumn, and Winter, respectively. Fishes were weighed, measured, and their gonads were removed to perform proximate, fatty acid, and histological analyses. It was found that *C. limbaughi* is a gonocoristic, gregarious, territorial species without sexual dimorfism that inhabits rocky, sheltered areas. External, macroscopic characteristics allowed the identification of mature, but not immature, spent or regenerating gonads in females, and none of the gonad developmental stages in males. The gonadosomatic index was highest during the Spring and Summer samplings, the time of active reproduction, and decreased substantially in Autumn and Winter. The proximate composition of gonads varied significantly with time of sampling, but without clear trends. The gonad fatty acid profile in both sexes showed high proportions of polyunsaturated and highly unsaturated fatty acids, such as docosahexaenoic, eicosapentaenoic, and arachidonic acids, during Spring and Summer samplings, in maturing and ripe gonads, which decreased dramatically in later stages of development, observed in Autumn and Winter. The spawning season of *C. limbaughi* occurs in Spring and Summer, extending, at least, from May to September.

ÍNDICE GENERAL

	Página
APROBACIÓN	i
DEDICATORIA	ii
AGRADECIMIENTOS	iii
RESUMEN	iv
ABSTRACT	v
ÍNDICE DE FIGURAS	ix
ÍNDICE DE TABLAS	x
INTRODUCCIÓN	1
I. ANTECEDENTES	4
I.1. Acuariofilia marina.....	4
I.2. Familia Pomacentridae.....	4
I.3. Tipos de reproducción en la familia Pomacentridae.....	5
I.3.1. Especies gonocoristas.....	6
I.3.2. Hermafroditismo simultáneo.....	6
I.3.3. Hermafroditismo protógino.....	7
I.3.4. Hermafroditismo protándrico.....	7
I.4. <i>Chromis limbaughi</i>	7
I.4.1. Clasificación taxonómica y descripción de <i>Chromis limbaughi</i> ...	9
I.5. Factores ambientales y la reproducción en peces.....	10
I.5.1. Fotoperiodo.....	11
I.5.2. Temperatura.....	11
I.5.3. Salinidad.....	12
I.5.4. pH.....	12
I.6. Patrones reproductivos y desarrollo gonadal en peces.....	12
I.7. Caracterización de los estadios de desarrollo mediante técnicas histológicas	14
I.8. Composición de ácidos grasos de gónadas	17
II. HIPÓTESIS	18
III. OBJETIVOS	19
III.1. Objetivo general	19
III.2. Objetivos específicos	19
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	20
IV.1. Colecta de organismos	20
IV.2. Datos merísticos y biológicos.....	21

	Página
IV.2.1. Índice hepatosomático.....	22
IV.2.2. Índice gonadosmático.....	22
IV.2.3. Factor de condición.....	22
IV.3. Composición proximal de las gónadas.....	22
IV.3.1. Humedad.....	22
IV.3.2. Ceniza.....	23
IV.3.3. Proteína cruda.....	23
IV.3.4. Grasa cruda.....	24
IV.3.5. Perfil de ácidos grasos.....	24
IV.4. Análisis de la maduración gonadal mediante histología.....	24
IV.5. Talla de primera madurez sexual.....	25
IV.6. Análisis estadístico.....	26
V. RESULTADOS	27
V.1. Colecta de organismos.....	27
V.2. Proporción macho:hembra.....	28
V.3. Análisis de la maduración gonadal.....	28
V.3.1. Análisis histológico.....	28
V.3.1.1. Hembras.....	28
V.3.1.2. Machos.....	33
V.3.2. Análisis macroscópico.....	35
V.3.2.1. Hembras.....	36
V.3.2.2. Machos.....	39
V.4. Datos merísticos y biológicos.....	40
V.4.1. Longitud y peso.....	40
V.4.2. Índices gonadosomático, hepatosomático y factor de condición	41
V.5. Talla de primera madurez sexual.....	44
V.6. Composición proximal de las gónadas.....	44
V.6.1. Humedad.....	44
V.6.2. Cenizas.....	44
V.6.3. Proteína cruda.....	45
V.6.4. Grasa cruda.....	45
V.7. Perfil de ácidos grasos.....	45
VI. DISCUSIÓN	57
VI.1. Tipo de reproducción de <i>C. limbaughi</i>	57
VI.2. Análisis de la madurez gonadal.....	58
VI.2.1. Análisis histológico.....	58

	Página
VI.2.2. Análisis macroscópico.....	59
VI.3. Datos merísticos y biológicos.....	60
VI.3.1. Longitud y peso.....	60
VI.3.2. Índices biológicos.....	60
VI.3.2.1. Índice hepatosomático.....	60
VI.3.2.2. Índice gonadosomático.....	61
VI.3.2.3. Factor de condición.....	62
VI.4. Talla de primera madurez sexual	62
VI.5. Análisis proximal.....	63
VI.6. Perfil de ácidos grasos.....	64
VII. CONCLUSIONES	66
VIII. RECOMENDACIONES	68
IX. LITERATURA CITADA	69
ANEXO 1.....	75

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA		PÁGINA
1	Damisela de Limbaugh, <i>Chromis limbaughi</i> . Imagen de Gerald Allen (2006).	8
2	Distribución geográfica de la damisela de Limbaugh, <i>Chromis limbaughi</i> . Imagen obtenida de Google Earth.	9
3	Imagen descriptiva de la damisela de Limbaugh, <i>Chromis limbaughi</i> . Imagen de Fischer <i>et al.</i> (1995).	10
4	Zona de colecta de la damisela de Limbaugh, <i>Chromis limbaughi</i> . Imagen obtenida de Google Earth.	21
5	Corte histológico de gónada de una hembra de <i>Chromis limbaughi</i> en estadio de desarrollo, perteneciente al muestreo de primavera (Pg = Primordio gonadal, Vtg 1 = ovocito en fase vitelogénica 1, Vtg 2 = ovocito en fase vitelogénica 2).	29
6	Corte histológico de gónada de una hembra de <i>Chromis limbaughi</i> en estadio capaz de desovar, perteneciente al muestreo de verano (Vtg 3 = fase vitelogénica 3, Pg = Primordio gonadal).	30
7	Corte histológico de gónada de una hembra de <i>Chromis limbaughi</i> en estadio de regresión, perteneciente al muestreo de verano (Vtg 2 = fase vitelogénica 2, Pof= Foliculo post-ovulatorio, A = Células en estado de atresia).	31
8	Corte histológico de gónada de una hembra de <i>Chromis limbaughi</i> en estadio de regeneración, perteneciente al muestreo de otoño (Pg = Primordios gonadales, AC = Alveolos corticales).	32
9	Corte histológico de gónada de un macho de <i>Chromis limbaughi</i> en estadio de desarrollo, perteneciente al muestreo de primavera (Ep = Espermatocitos primarios, Sz = Espermatozoos).	34
10	Corte histológico de gónada de un macho de <i>Chromis limbaughi</i> en estadio capaz de liberar gametos, perteneciente al muestreo de verano (Ep = Espermatocitos primarios, Sz = Espermatozoos).	35
11	Corte histológico de gónada de un macho de <i>Chromis limbaughi</i> en estadio de regresión, perteneciente al muestreo de otoño (Ep = Espermatocitos primarios, Sz = Espermatozoos).	36
12	Corte histológico de gónada de un macho de <i>Chromis limbaughi</i> en estadio de regeneración, perteneciente al muestreo de invierno (Ep = Espermatocitos primarios, Tc = Tejido conjuntivo).	37
13	Gónada de hembra de <i>Chromis limbaughi</i> en estadio capaz de desovar.	38
14	Gónada de hembra de <i>Chromis limbaughi</i> en estadio de regresión	38
15	Gónada de hembra de <i>Chromis limbaughi</i> en estadio de regeneración.	39
16	Gónada de macho de <i>Chromis limbaughi</i> . No fue posible identificar el estadio de desarrollo a simple vista.	40

ÍNDICE DE TABLAS

TABLA		PÁGINA
1	Descripción macroscópica y microscópica de las fases del ciclo reproductivo de peces hembra, de acuerdo con Brown-Peterson <i>et al.</i> (2011). (CA = alveolo cortical, GVBD = Vesículas germinales; GVM = migración de la vesícula germinal; OM = Maduración de oocitos; PG: Crecimiento primario; POF = Complejo del folículo postovulatorio; Vtg 1 = vigelogénesis primaria; Vtg 2 Vigelogénesis secundaria; Vtg 3 = Vitelogénesis terciaria).	15
2	Descripción macroscópica y microscópica de las fases del ciclo reproductivo de peces macho, de acuerdo con Brown-Peterson <i>et al.</i> (2011). (GE = epitelio germinal; Sc1 = Espermatocito primario; Sc2 = Espermatocito secundario; Sg1 = espermatogonia primaria; Sg2 Espermatogonia secundaria; St = espermátida; Sz = espermatozoo).	16
3	Listado de los estadios de desarrollo gonadal encontrados en hembras de <i>Chromis limbaughi</i> capturadas durante las distintas estaciones del año.	32
4	Listado de los estadios de desarrollo gonadal encontrados en machos de <i>Chromis limbaughi</i> capturados durante las distintas estaciones del año.	37
5	Longitud total (LT), longitud furcal (LF), longitud estándar (LE) y peso corporal (PC) de <i>C. limbaughi</i> .	41
6	Comparación de los promedios de longitud y peso corporal entre sexos de <i>Chromis limbaughi</i> (LT = longitud total, LF = longitud furcal, LE = longitud estándar y PC = peso corporal).	41
7	Índices hepatosomático (IHS), gonadosomático (IGS) y factor de condición (K) de hembras, machos y organismos de sexo indiferenciado de <i>Chromis limbaughi</i> capturados durante de las distintas estaciones del año.	42
8	Índices hepatosomático (IHS), gonadosomático (IGS) y factor de condición (K) de hembras y machos de <i>Chromis limbaughi</i> capturados durante de las distintas estaciones del año, de acuerdo con el estadio de madurez gonadal.	43
9	Composición proximal de las gónadas de <i>C. limbaughi</i> en las distintas estaciones del año de acuerdo al sexo de los organismos.	45

TABLA		PÁGINA
10	Perfil de ácidos grasos de gónadas de hembras de <i>Chromis limbaughi</i> con gónadas en distintos estadios de desarrollo. Los valores son promedios (\pm error estándar) del % FAME identificados.	54
11	Perfil de ácidos grasos de gónadas de machos de <i>Chromis limbaughi</i> con gónadas en distintos estadios de desarrollo. Los valores son promedios (\pm error estándar) del % FAME identificados.	55
12	Perfil de ácidos grasos de gónadas de hembras de <i>Chromis limbaughi</i> en estadio de regeneración, pero capturadas en distinta estación del año. Los valores son promedios (\pm error estándar) del % FAME identificados.	56

INTRODUCCIÓN

La acuicultura es una actividad económica productiva que se ha mantenido en crecimiento durante las últimas décadas, enfocándose en la producción de organismos acuáticos para consumo humano (FAO, 2014). El crecimiento de esta actividad es consecuencia del aumento en la demanda de productos acuáticos por la creciente población mundial y la incapacidad de los medios naturales para abastecerlos (Edwards, 2015).

Durante el año 2012 la FAO (2014) reportó que la producción mundial total de la acuicultura fue de 90.4 millones de toneladas, de las cuales 66.6 millones de toneladas correspondieron a peces comestibles, 23.8 millones de toneladas a algas marinas y 24,400 toneladas correspondieron a productos no alimenticios como perlas, entre otros. Es de llamar la atención que en estos datos no se menciona la explotación de organismos acuáticos con fines de comercio en la acuariofilia. Sin embargo, existe una actividad bien establecida de explotación de organismos marinos y dulceacuícolas para este fin.

Acuariofilia es el término que se le ha otorgado al mantenimiento de peces, crustáceos, plantas, entre otros organismos acuáticos, bajo condiciones controladas con fines decorativos o de exposición. En consecuencia, los organismos utilizados en esta actividad son considerados ornamentales. Esta actividad se puede categorizar en acuariofilia de organismos dulceacuícolas y organismos marinos. Wabnitz *et al.* (2003), señalan que en el año 2000 entre 1.5 y 2 millones de personas en el mundo mantuvieron un acuario marino, creando una industria multimillonaria que genera anualmente entre 200 y 330 millones de dólares. De acuerdo con Lango-Reynoso *et al.* (2012), entre 1988 y 2003 fueron comercializadas aproximadamente 2,393 especies distintas de peces, corales e invertebrados, donde los mercados principales fueron E.U.A., la Unión Europea y Japón. De las especies mencionadas, 1,471 fueron peces, siendo gran cantidad de ellos pertenecientes a la familia Pomacentridae. Sin duda, la acuariofilia se ha convertido en una actividad económicamente rentable. En una comparación del precio por kilogramo de producto, el precio de peces marinos con fines alimenticios oscila entre \$6.00 y \$16.50 dólares/kg, mientras que el precio de un kilogramo de peces marinos en el mercado de acuariofilia alcanza

un valor de \$500.00 a \$1,800.00 dólares. Las especies más buscadas y con mayor valor comercial son aquellas con colores más vistosos y formas exóticas, haciendo que no cualquier pez pueda ser utilizado como pez ornamental.

Una problemática de la acuariofilia marina es su poca sustentabilidad, ya que, la inmensa mayoría de los organismos comercializados son silvestres, obtenidos de su medio natural, y tan solo el 2% de los peces marinos y el 1% de los corales son obtenidos mediante técnicas de acuicultura. En contraste, en la acuariofilia dulceacuícola más del 90% de los organismos son reproducidos en granjas (Lango-Reynoso *et al.*, 2012).

Las malas prácticas de captura y la sobreexplotación de especies marinas para acuariofilia es una problemática que motivó al Centro de Monitoreo de la Conservación del Ambiente (UNEP-WCMC, por sus siglas en inglés), junto con el Consejo de Acuarios Marinos (MAC, por sus siglas en inglés), entre otras asociaciones, a crear en el año 2000 la Base de Datos Global de Acuarios Marinos (GMD por sus siglas en inglés), solicitando información detallada de los exportadores e importadores mayoristas (Wabnitz *et al.*, 2003). Aun tomando en cuenta este esfuerzo por controlar el impacto ambiental de esta actividad, persisten la pesca y comercio ilegal, prácticas de pesca poco éticas y falta tanto de inspección como de regulación por parte de las autoridades, lo que no ha permitido que este pasatiempo pueda ser considerado sustentable (Lango-Reynoso *et al.*, 2012).

Adicionalmente, el comercio internacional no regulado de especies de ornato para acuarios ha generado la liberación accidental y el establecimiento de algunas de estas especies en áreas ajenas a su distribución natural, dañando la estructura de los ecosistemas en dichas regiones y desplazando especies nativas de estas zonas (Padilla & Williams, 2004).

En México, el Golfo de California ha sido una fuente de abastecimiento constante de especies exóticas con fines de acuariofilia, de donde se extraen aproximadamente 320 especies marinas, de las cuales 150 corresponden a peces entre las que destacan especies de la familia Pomacentridae (Lango-Reynoso *et al.*, 2012), siendo de gran importancia, por su volumen de captura, la damisela de Limbaugh, *Chromis limbaughi*.

Por su vistosa coloración, exclusiva distribución en el Golfo de California (Froese y Pauly, 2016), y particularmente, por su compatibilidad con gran cantidad de peces de ornato,

algo no muy común en damiselas, *C. limbaughi* es una especie altamente cotizada por acuariófilos coleccionistas, alcanzando un valor en tiendas en línea de entre \$34.95 y \$69.95 dólares, dependiendo de la talla del organismo, siendo una de las cinco especies mayormente explotadas en el Golfo de California (Gijón-Díaz *et al.*, 2017).

Es bien sabido que la pesca creciente para abastecer la demanda de organismos ornamentales ha generado la disminución de poblaciones de peces y otras especies, al igual que el deterioro de arrecifes de coral (Wabnitz *et al.*, 2003). Lamentablemente, *C. limbaughi* no escapa a esta problemática, pues su abastecimiento para el mercado de acuarofilia proviene del medio natural en su totalidad, sin reproducirse en cautiverio hasta el momento. En respuesta, se ha propuesto el desarrollo de métodos de reproducción en cautiverio de especies marinas como un paso fundamental para lograr la sustentabilidad de estas actividades (Moretti *et al.*, 1999). En el caso de *C. limbaughi*, la implementación de estos métodos permitiría el desarrollo de una actividad económicamente rentable y responsable con el medio ambiente, reduciendo o eliminando por completo la presión de pesca de la que esta especie es objeto, además de permitir la restitución de sus poblaciones naturales mediante el repoblamiento. Para lograr lo anterior, es necesario generar conocimientos básicos sobre su biología reproductiva, abarcando aspectos tales como la caracterización de las fases de desarrollo de las gónadas, duración de la época reproductiva, talla de primera madurez sexual, además del análisis de aspectos esenciales de la composición bioquímica de las gónadas, por ejemplo análisis proximal y perfil de ácidos grasos, entre otros, siendo todas estas herramientas de gran utilidad para lograr su reproducción en cautiverio. Es así que el presente estudio generará información que impulsará futuras investigaciones de la reproducción de esta especie en cautiverio.

I. ANTECEDENTES

I.1. Acuariofilia marina

La acuariofilia marina, un pasatiempo cada vez más popular, ha tenido un incremento considerable durante los últimos años. En la década de los 90s se presentó un gran aumento de esta actividad debido a la creación de acuarios y equipos de mantenimiento, tales como unidades de filtración y desinfección de agua con precios accesibles, además de sales sintéticas que permiten la preparación de forma sencilla y rápida de agua marina con características ideales para los organismos marinos en zonas lejanas a cuerpos oceánicos, reduciendo el costo de mantenimiento de los acuarios. Lo anterior ha generado un aumento en la cantidad de personas que mantienen un acuario marino en sus hogares (Gijón-Díaz *et al.*, 2017).

I.2. Familia Pomacentridae

La familia Pomacentridae es un taxón que comprende más de 390 especies de peces marinos distribuidos en 27 géneros. Estas especies son conocidas comúnmente como peces payaso y damiselas (Grove *et al.*, 1985; Martínez-Torres *et al.*, 2014).

Las especies pertenecientes a la familia Pomacentridae pueden tener comportamiento gregario o ser solitarias. Las especies solitarias se caracterizan por tener un comportamiento altamente territorial, como los peces payaso pertenecientes al género *Amphiprion*. Algunas de estas especies presentan un comportamiento territorial agresivo durante toda su vida, mientras que, en otras, el comportamiento territorial se restringe a ciertos periodos, normalmente la época de reproducción (Hattori y Casadevall, 2016). En cuanto a las especies gregarias, éstas se mantienen en grupos de entre 10 y 50 individuos.

Las damiselas y peces payaso presentan dos estadios durante su ciclo de vida, uno como larva pelágica, permitiendo la dispersión a distancia, aunque existen algunas especies que no presentan una fase pelágica por ser relativamente sedentarias, y la segunda fase como organismo

juvenil o adulto, que generalmente se establece en un nicho donde encuentra refugio permanente, por ejemplo, arrecifes de coral, cuevas rocosas, etc.

I.3. Tipos de reproducción en la familia Pomacentridae

Entre los tipos de reproducción encontrados en la familia Pomacentridae, se reconocen especies tanto gonocoristas como hermafroditas. El gonocorismo es la forma de reproducción mayormente conocida, y es aquella en la que los organismos presentan un sexo diferenciado durante toda su vida, ya sea masculino o femenino. Por su parte, los organismos hermafroditas se caracterizan porque en el mismo individuo pueden encontrarse tanto gametos masculinos como femeninos (Fishelson, 1998).

Adicionalmente, dentro del comportamiento reproductivo social de las especies pertenecientes a la familia Pomacentridae pueden identificarse especies monógamas, polígamas y promiscuas (Hattori y Casadevall, 2016). Las especies monógamas se caracterizan por mantener una fuerte fidelidad con su pareja durante toda su vida y un alto territorialismo. Las especies polígamas se caracterizan por integrar cardúmenes pequeños, los cuales se integran por uno o dos machos que se reproducen con un determinado número de hembras que conforman el cardumen, siendo normalmente proporcionalmente inferior la cantidad de machos que de hembras. Las especies promiscuas son aquellas en las que uno o más machos se reproducen con una misma hembra (Fishelson, 1998).

En general, los huevos de las especies pertenecientes a la familia Pomacentridae son demersales, es decir, suelen estar adheridos a un sustrato, como pueden ser corales muertos, rocas, conchas de moluscos bivalvos, entre otros, y el macho suele resguardar los huevecillos (Hattori y Casadevall, 2016).

De acuerdo con la literatura, existen especies de peces que realizan desoves totales y desoves parciales. Los desovadores totales liberan la totalidad de ovocitos en un solo evento durante una determinada época reproductiva. Los ovocitos presentes en las gónadas de estas especies presentan cierta homogeneidad, ya que serán desovados simultáneamente (Holden y Raitt, 1972; Brown-Peterson, 2011, Lowerre-Barbieri *et al.*, 2011). En contraste, los

desovadores parciales se caracterizan por tener ovocitos en estadios de desarrollo distintos y su ovoposición es asincrónica (Lowerre-Barbieri *et al.*, 2011).

I.3.1. Especies gonocoristas

Las especies gonocoristas son aquellas que únicamente presentan un solo sexo bien definido, ya sea masculino o femenino, durante toda su vida. En algunas especies puede presentarse dimorfismo sexual, es decir, la presencia de caracteres externos que permiten reconocer hembras y machos con facilidad, pero en otras especies el dimorfismo sexual está ausente, dificultando el reconocimiento del sexo de los organismos a simple vista. En algunas especies, el abultamiento del vientre, ocasionado por el crecimiento de los ovarios al alcanzar la madurez gonadal, permite la identificación de hembras, pero esto no se cumple de forma general para todas las especies (Hattori y Casadevall, 2016; Fishelson 1998).

En general, las especies pertenecientes al género *Chromis* son reconocidas por ser especies gonocoristas y suelen presentar un comportamiento reproductivo promiscuo. Ante la ausencia de dimorfismo sexual en muchas de estas especies, se debe recurrir a métodos histológicos para identificar el sexo de los individuos (Hattori y Casadevall, 2016; Fishelson, 1998).

I.3.2. Hermafroditismo simultáneo

Los peces considerados hermafroditas simultáneos son aquellos que tienen la capacidad de producir células sexuales maduras tanto masculinas como femeninas simultáneamente, expulsándolas al exterior mediante conductos independientes. Normalmente, la fecundación es entre individuos distintos, evitando la autofecundación. Es pertinente señalar que en la familia Pomacentridae no se ha registrado la existencia de especies que presenten hermafroditismo simultáneo. Esta forma de reproducción es conocida en algunas especies de la familia Serranidae (Asho y Yoshikawa, 2003).

I.3.3. Hermafroditismo protógino

Alternativamente, otro tipo de hermafroditismo es el no simultáneo, es decir, aquel en el que un individuo puede presentar gónadas de un sexo en las primeras etapas de su ciclo de vida y cambiar al otro sexo en etapas más avanzadas, dependiendo de factores tales como la edad del organismo, la presión poblacional de acuerdo con la proporción hembra:macho, entre otros, que inducen el cambio de un sexo a otro (Asoh y Kasuya, 2003; Hattori y Casadevall, 2016; Fishelson, 1998). La primera de estas variantes es el hermafroditismo protógino, que se caracteriza porque el individuo inicia su vida reproductiva con sexo femenino. Conforme avanza en edad, el individuo cambia su sexo de hembra a macho. En la familia Pomacentridae este tipo de reproducción se conoce únicamente en especies del género *Dascyllus*. Por ser de edad más avanzada, puede observarse que los machos de estas especies presentan un tamaño superior al de las hembras. Así mismo, esta diferencia de tallas determina un comportamiento polígamo, en el que uno o dos machos mantienen un banco de hembras de menor tamaño (Asoh y Kasuya, 2002, Asoh *et al.*, 2001).

I.3.4. Hermafroditismo protándrico

La otra variante de hermafroditismo no simultáneo es el hermafroditismo protándrico, en el que los individuos inician su vida reproductiva como machos, para posteriormente, conforme avanzan en edad y talla, se transforman en hembras. Dentro de la familia Pomacentridae, las vistosas especies de peces payaso del género *Amphiprion* presentan este tipo de reproducción. Estas especies son siempre monógamas, manteniendo a su pareja durante toda su vida. Por consiguiente, en una pareja de peces payaso, la hembra puede identificarse fácilmente por presentar una talla superior a la del macho (Hattori y Casadevall, 2016).

I.4. *Chromis limbaughi*

La damisela de Limbaugh (Figura 1) es un pez marino subtropical no migratorio asociado a arrecifes rocosos. Presenta una coloración gris con puntos azules en la cabeza y de amarilla a blanca desde la aleta dorsal hasta la aleta caudal (Figura 1). Esta especie se distribuye exclusivamente en el Golfo de California (Figura 2) y presenta una longitud máxima de 10 cm.

Habita aguas de entre 4 y 75 m de profundidad en arrecifes rocosos, alimentándose principalmente de plancton. Son peces ovíparos y sus ovocitos son demersales, adhiriéndose al sustrato mientras los machos los resguardan y generan sobre ellos corrientes de agua para un buen intercambio de oxígeno (Froese & Pauly, 2016).



Figura 1. Damisela de Limbaugh, *Chromis limbaughi*. Imagen de Gerald Allen (2006).

La investigación sobre aspectos reproductivos de esta especie es prácticamente inexistente. Los pocos estudios que existen sobre esta especie están enfocados a la determinación de su distribución geográfica (Martínez-Torres *et al.*, 2014), y al registro de capturas, en vista de que es explotada comercialmente con fines de acuariofilia (Gijón-Díaz *et al.*, 2017), siendo una especie costosa por su restringida distribución, coloración atractiva y comportamiento pacífico.

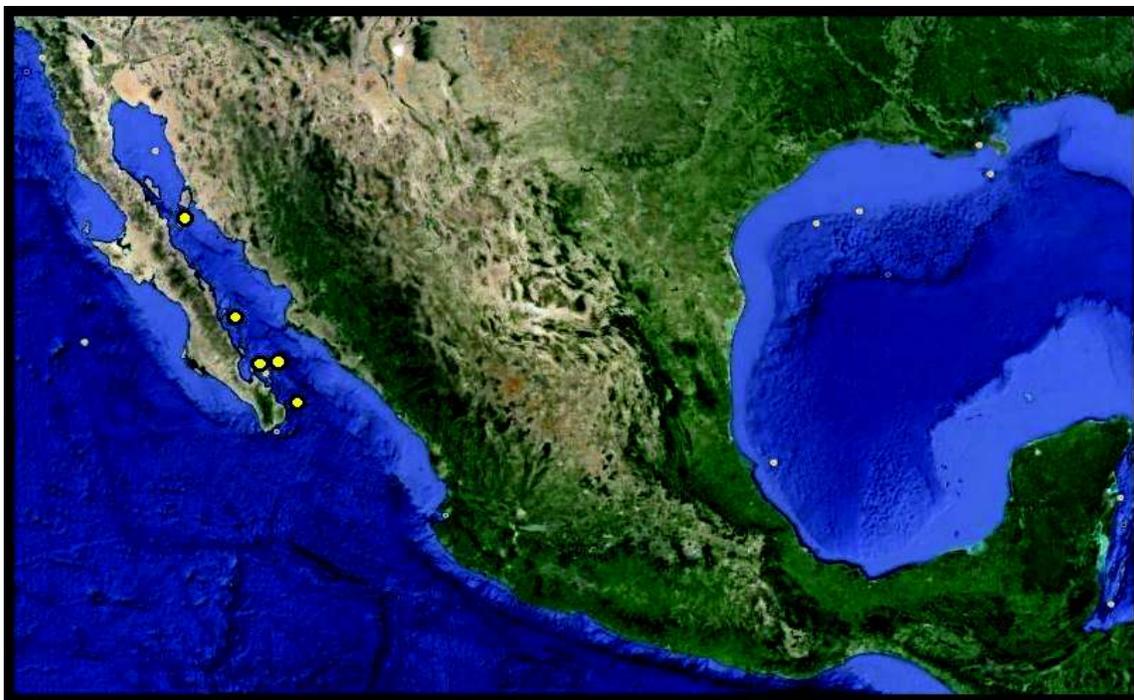


Figura 2. Distribución geográfica de la damisela de Limbaugh, *Chromis limbaughi*. Imagen obtenida de Google Earth.

I.4.1. Clasificación taxonómica y descripción de *Chromis limbaughi*

La clasificación taxonómica de *C. limbaughi* es la siguiente.

- Clase: Actinoterygii
 - Orden: Perciformes
 - Familia: Pomacentridae
 - Subfamilia: Pomacentrinae
 - Género: *Chromis*
 - Especie: *C. limbaughi*

La damisela de Limbaugh posee un cuerpo profundo. Entre las características más notables para la identificación taxonómica, pueden citarse las siguientes. La aleta dorsal contiene usualmente XIII espinas y de 11 a 12 radios blandos, 11 radios en la aleta anal y de 18

a 19 radios en las aletas pectorales. La línea lateral abarca de 15 a 18 escamas. De forma característica, puede apreciarse una mancha negra en la parte superior de la base de las aletas pectorales (Figura 3) (Greenfield y Woods, 1980; Chao, 1995).

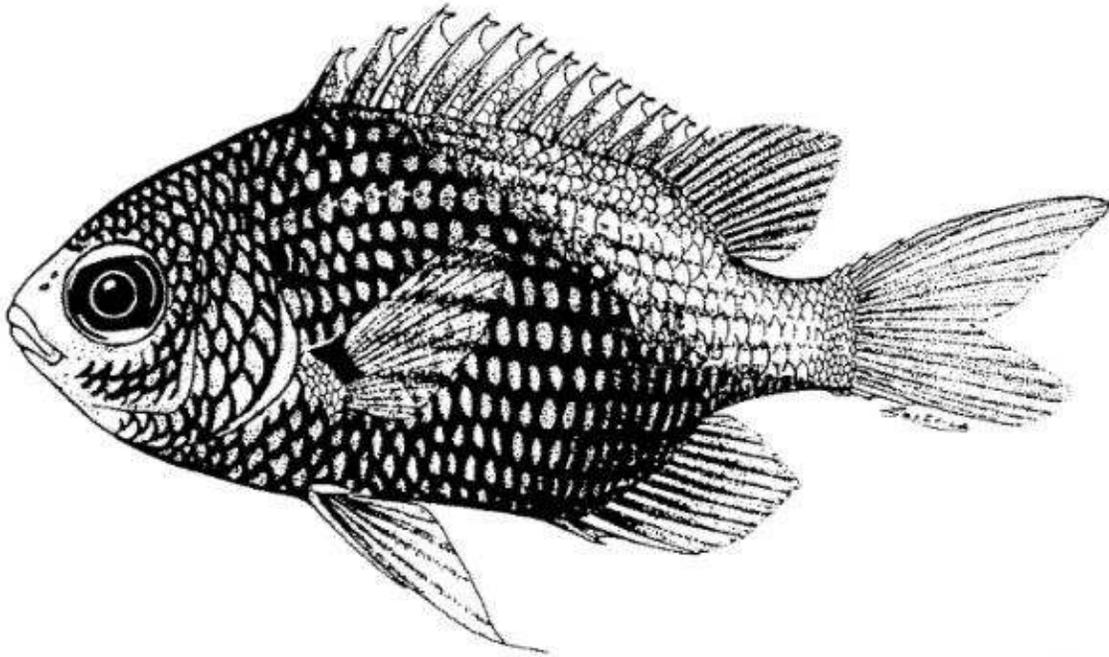


Figura 3. Imagen descriptiva de la damisela de Limbaugh, *Chromis limbaughi*. Imagen de Fischer *et al.* (1995).

I.5. Factores ambientales y la reproducción en peces

Los peces son organismos poiquilotermos (Rubio-Godoy, 2010) que se encuentran expuestos a distintos factores ambientales, teniendo estos un fuerte impacto sobre su crecimiento y reproducción. Los peces pueden ser catalogados como tropicales, subtropicales y templados de acuerdo a los requerimientos ambientales para su desarrollo y reproducción (Lam, 1983).

Se suelen realizar experimentos con distintas especies de peces en confinamiento con el fin de conocer factores ambientales que tengan una influencia significativa sobre el crecimiento y reproducción, entre los que destacan el fotoperiodo, la temperatura, la salinidad y el pH, con el fin de mejorar la producción de estas especies en cautiverio (Lam, 1983; Shin *et al.*, 2013).

Una base sólida para el establecimiento de intervalos de variación de interés de estos parámetros en estudios experimentales es emplear valores similares a los observados bajo las condiciones en que se encuentran los organismos en su medio natural. Los factores ambientales conocidos por tener un impacto decisivo sobre la maduración sexual y reproducción de peces se abordan a continuación.

I.5.1. Fotoperiodo

La variación en la cantidad de horas de luz y oscuridad, determinada por las estaciones del año, tiene efectos bien reconocidos sobre el ciclo circadiano y la reproducción de peces. Esta influencia es más notoria en especies de peces de aguas templadas, en las que la exposición a una progresivamente mayor cantidad de horas de iluminación, aunada a una mayor temperatura en las estaciones más cálidas (primavera-verano), estimula el eje hipotálamo-pituitaria-gónada (Lee *et al.*, 2017; Bapary *et al.*, 2009), induciendo el desarrollo gonádico y la reproducción (Lam, 1983). Debido a una mayor proximidad con el ecuador, las especies de aguas subtropicales están expuestas a variaciones de temperatura menores a las que se encuentran expuestas las especies de aguas templadas, de manera que los cambios estacionales en temperatura tienen un menor impacto sobre el medio ambiente; en estas especies el fotoperiodo es un factor importante para la reproducción (Lam *et al.*, 2017). En especies de la familia Pomacentridae, como *Abudefduf troschelii*, se presentan periodos reproductivos en un ciclo semilunar en Panamá, mientras que en México se observa una reproducción acíclica (Tyler y Stanton, 1995).

I.5.2. Temperatura

La temperatura es un factor que comúnmente se encuentra relacionado con el fotoperiodo, ya que una mayor exposición a horas de luz solar suele generar un aumento en la temperatura ambiental, por lo que en estudios de organismos silvestres es difícil diferenciar cuál de estos dos factores estimula preponderantemente la reproducción de los organismos (Estrada-Godínez *et al.*, 2014). No obstante, se reconoce ampliamente que la temperatura es el factor ambiental de mayor importancia en la regulación de la reproducción en peces (Shin *et al.*, 2013).

En experimentos con especies de peces como *Oryzias latipes*, *Lepomis gibbosus* y *Culaea inconstans*, entre otras, se ha observado que el fotoperiodo no estimula la reproducción si no existe una temperatura alta, siendo la combinación de la temperatura y el fotoperiodo esencial para inducir la reproducción. En numerosas especies, la temperatura presenta un efecto directo sobre la gametogénesis, estimulando la secreción de la gonadotropina y generando una respuesta de las gónadas a las hormonas estimulantes (Bapary, 2010; Lam, 1983).

En regiones tropicales, debido a la poca variación térmica del medio ambiente, las especies suelen presentar una reproducción constante durante todo el año (Lam, 1983).

I.5.3. Salinidad

La salinidad del medio ambiente es un factor capaz de inducir la reproducción y el desove en algunas especies de peces, principalmente en peces estuarino-dependientes, tales como *Totoaba mcdonaldi* y *Acanthopagrus butcheri*, entre otras. Se ha observado también que las reducciones abruptas en la salinidad ambiental pueden generar desoves en algunas especies de peces (Haddy y Pankhurst, 2006).

I.5.4. pH

El pH es un factor que normalmente está relacionado con las lluvias en aguas continentales, tales como las del río Amazonas. En especies dulceacuícolas como el tetra neón (*Paracheirodon innesi*) y el neón cardenal (*Paracheirodon axelrodi*), en época de lluvias, debido a la suspensión de materia orgánica por el arrastre generado por los flujos de agua, el pH se reduce y la turbidez del agua aumenta, siendo esto un importante estimulador del desove en estas especies (García-Cruz *et al.*, 2014; Kucharczyk *et al.*, 2010).

I.6. Patrones de la maduración y desarrollo gonadal en peces

La maduración y desarrollo de las gónadas en peces están altamente influenciados por factores ambientales. Estos estímulos son transformados en señales electroquímicas que, recibidas por el hipotálamo, le inducen a la producción del neuropéptido conocido como hormona liberadora

de gonadotropina (GnRH, por sus siglas en inglés). La GnRH entra en contacto con la glándula pituitaria estimulando aquí la síntesis y subsecuente secreción de dos tipos de hormonas glicoproteicas conocidas como gonadotropinas, la primera es la hormona folículo estimulante (FSH, por sus siglas en inglés, conocida también como GtH I) y la segunda es la hormona luteinizante (LH, por sus siglas en inglés, conocida también como GtH II). La glándula pituitaria libera las gonadotropinas al torrente sanguíneo y, eventualmente, alcanzan la gónada, en donde la GtH I promueve tanto la gametogénesis como la síntesis de esteroides sexuales, que da lugar a la producción de testosterona (Planas y Swanson, 2008). A través de un proceso de aromatización en su estructura molecular, la testosterona puede dar lugar al estradiol, el otro esteroide sexual (17β -estradiol o E_2). El hígado juega un papel importante durante este proceso, ya que, en función del aporte que recibe de estradiol, el hígado sintetiza vitelogenina, la principal proteína constituyente del vitelo de los ovocitos. El tejido hepático, entonces, libera la vitelogenina al torrente sanguíneo para ser transportada hasta la gónada, donde es absorbida e incorporada a los ovocitos a través de micropinocitosis. Por su parte, la segunda gonadotropina, GtH II, en respuesta a la secreción de andrógenos y progestinas, estimula la ovulación en hembras y la espermiación en machos (Nagahama, 1994; Mylonas y Zohar, 1998; Mylonas y Zohar, 2001; Zohar *et al.*, 2010). Como consecuencia de estos complejos procesos, es común observar un aumento considerable del índice gonadosomático (IGS), de forma concomitante con un decremento del índice hepatosomático (IHS). En algunos casos, estos índices pueden ser indicadores del estado reproductivo de algunas especies; sin embargo, su precisión es baja, siendo preferidas las técnicas histológicas para la revisión del estado de desarrollo de tejido gonadal (González y Oyarzún, 2002).

Por la importancia del desarrollo de los gametos femeninos, cuya calidad es determinante para un adecuado desarrollo larval tras la fecundación, además de contribuir con el ácido desoxirribonucleico (ADN) mitocondrial del nuevo individuo, es conveniente revisar el proceso de desarrollo de los ovocitos en peces. El ovocito es la célula germinal individual que da origen a un huevo, que está conformado por un núcleo y ooplasma, delimitados por el oolema y la zona radiada. La granulosa, la teca y el epitelio superficial son tejidos que junto con el ovocito reciben el nombre de folículo (Tyler y Sumpter, 1996). La formación de los ovocitos es un proceso cíclico que da inicio en el epitelio del lumen del ovario. Durante su primera fase de desarrollo,

conocida como de crecimiento primario, los ovocitos presentan un núcleo muy grande. A medida que el ovocito crece, aumenta su tamaño y se forman nucléolos en la periferia. Cuando el ovocito inicia el proceso de maduración, hacen aparición los alvéolos corticales (CA, por sus siglas en inglés), que son vesículas situadas en la periferia del citoplasma. La vitelogénesis está marcada por la formación de gránulos de vitelo, los cuales al inicio presentan un tamaño reducido, pero aumentan su tamaño conforme la madurez avanza. Durante la vitelogénesis se pueden identificar tres fases, con base en el diámetro del ovocito, vitelogénesis 1, 2 y 3 (Vtg1, Vtg2 y Vtg3, respectivamente) siendo todas consideradas en crecimiento secundario (SG). Los ovocitos no ovulados, al igual que los folículos remanentes quedan en el tejido y son reabsorbidos mediante la atresia, siendo considerados ovocitos atrésicos y folículos postovulatorios (POF, por sus siglas en inglés) (Holden y Raitt, 1975).

I.7. Caracterización de los estadios de desarrollo gonadal mediante técnicas histológicas

Para ciertas especies de peces, el grado de madurez puede ser evaluado a través de características macroscópicas de las gónadas, tales como tamaño, color y consistencia, entre otras (Gluyas-Millán, 1994). Sin embargo, estas determinaciones suelen ser poco precisas y su utilidad, limitada, prefiriéndose el análisis histológico. La técnica histológica más ampliamente empleada para el análisis de la maduración gonadal consta de varias etapas. La primera es la fijación con agentes químicos que detienen procesos celulares sin modificar estructuras. Le sigue la deshidratación con una serie consecutiva de soluciones de etanol con concentraciones progresivamente mayores hasta alcanzar el grado anhidro. Enseguida, las muestras se sumergen en xileno, una sustancia que tiene la particularidad de poder mezclarse con alcohol y con parafina. Posteriormente, las muestras son embebidas en parafina, que penetra el tejido a nivel celular. Tras el proceso de enfriamiento se han formado bloques sólidos, listos para el proceso de corte en secciones delgadas utilizando un micrótopo. Montados en un portaobjetos, los cortes se tiñen con una combinación de hematoxilina y eosina, con lo que los componentes del núcleo celular generalmente se aprecian de color azul violáceo, mientras que las estructuras del citosol suelen apreciarse en tonos rosados (Geneser, 2000).

A través de la técnica previamente descrita, es posible observar de forma detallada aspectos celulares que permiten la identificación de las fases de desarrollo del tejido gonadal. En función de las especies estudiadas y los criterios establecidos por sus autores, existen diferentes caracterizaciones de los estadios de desarrollo gonadal en peces, que ha ocasionado una falta de homogeneidad tanto en la nomenclatura como en los criterios empleados para su descripción. Tomando esto en cuenta, Brown-Peterson y colaboradores (2011), tras una revisión exhaustiva de los trabajos hasta entonces disponibles, realizaron una estandarización de criterios y, sobre todo, de la terminología empleada para la descripción de las fases de desarrollo reproductivo en peces. Adoptada en el presente trabajo, esta terminología estandarizada no solamente elimina las ambigüedades existentes al intentar comparar estudios distintos, sino que permite una mejor comunicación entre científicos, académicos y personal dedicado al manejo de stocks de peces reproductores, tanto en el área de la acuicultura como de la acuariofilia. Con base en esta clasificación, las fases de desarrollo del ciclo reproductivo de peces se describen en la Tabla 1 para hembras y en la Tabla 2 para machos.

Tabla 1. Descripción macroscópica y microscópica de las fases del ciclo reproductivo de peces hembra, de acuerdo con Brown-Peterson *et al.* (2011). CA = alveolo cortical; GVBD = Vesículas germinales; GVM = migración de la vesícula germinal; OM = Maduración de oocitos; PG: Crecimiento primario; POF = Complejo del folículo postovulatorio; Vtg 1 = vitelogenénesis primaria; Vtg 2 Vitelogenénesis secundaria; Vtg 3 = Vitelogenénesis terciaria.

Estadio	Características histológicas y macroscópicas
Inmadura (Nunca desovada)	Ovarios pequeños. Vasos sanguíneos indistintos. Presencia solamente de oogonia y PG. No se encuentran células atrésicas ni haces musculares.
En Desarrollo (Los ovarios inician su desarrollo, pero no se encuentran listos para desovar)	Crecimiento de ovarios, vasos sanguíneos más distinguibles. Presencia de oocitos PG, CA, Vtg 1 y Vtg 2. No existe evidencia de POFs o Vtg 3. Algunas células atrésicas pueden presentarse.
Capaz de desovar (Tanto el desarrollo de las gónadas como fisiológicamente el pez se encuentran con posibilidad de desovar en este ciclo)	Ovarios grandes, vasos sanguíneos prominentes. Oocitos individuales visibles macroscópicamente. Oocitos Vtg 3 o POFs presente en organismos listos para desovar. Oocitos atrésicos, en vitelogenénesis y/o hidratados pueden presentarse. Pueden presentarse OM en estadios tempranos.

En regresión (cese del desove)	Ovarios flácidos, vasos sanguíneos prominentes. Oocitos atrésicos en cualquier estadio y POFs presentes. Algunos CA y/o oocitos en vitelogénesis (Vg1, Vtg2) presentes.
En regeneración (sexualmente madura, reproductivamente inactiva)	Ovarios pequeños, Vasos sanguíneos reducidos pero presentes. Presencia solo de oogonia y oocitos PG. Haces musculares, vasos sanguíneos alargados, pared ovárica gruesa y/o atresia gamma/delta o vieja, degeneración POFs puede presentarse.

Tabla 2. Descripción macroscópica y microscópica de las fases del ciclo reproductivo de peces macho, de acuerdo con Brown-Peterson *et al.* (2011). GE = epitelio germinal; Sc1 = Espermatocito primario; Sc2 = Espermatocito secundario; Sg1 = espermatogonia primaria; Sg2 Espermatogonia secundaria; St = espermátida; Sz = espermatozoo.

Estadio	Características histológicas y macroscópicas
Inmaduro (Nunca eyaculado)	Testículos pequeños. Solo Sg1 Presentes y no se observa lumen en los lóbulos.
En Desarrollo (Los testículos inician su crecimiento y desarrollo)	Testículos pequeños, pero fácilmente identificables. Espermatocistos evidentes a lo largo de los lóbulos. Sg2, Sc1, Sc2, St y Sz pueden presentarse en espermatocistos. Ausencia de Sz en el lumen de lobuloso o espermiductos. GE continuo.
Capaz de liberar gametos (Tanto el desarrollo de las gónadas como fisiológicamente el pez se encuentran con posibilidad de desovar en este ciclo)	Testículos grandes y firmes. Sz en lumen de lóbulos y/o espermiductos. Todos los estadios de espermatogénesis (Sg2, Sc, St, Sz) pueden presentarse. Espermatocistos en todo el testículo, espermatogénesis activa. GE puede ser continuo o discontinuo. Subfase desove activo (macroscópica): Libera esperma al presionar suavemente el abdomen. Subfases histológicas basadas en la estructura del GE: GE temprano: GE continuo en todos los lóbulos del testículo. GE medio: GE continuo en espermatocistos en la periferia testicular, GE discontinuo en lóbulos cercanos a conductos. GE tardío: GE discontinuo en todos los lóbulos de los testículos.
En regresión (cese de la eyaculación)	Testículos pequeños y flácidos, no se libera esperma al presionar el abdomen. Sz residuales presentes en el lumen de lóbulos y en espermiductos. Espermatocistos muy dispersos junto a la periferia conteniendo Sc2, St, Sz. Poco o nada activo.
En regeneración (sexualmente maduro, reproductivamente inactivo)	Testículos pequeños, a menudo filiformes. Sin espermatocistos. Luz del lóbulo a menudo no existente. Proliferación de espermatogonia en testículos. GE continuo. Pequeñas acumulaciones de Sz residual ocasionalmente presente en la luz de lóbulos y espermiductos.

I.8. Composición de ácidos grasos de gónadas

El almacenamiento de lípidos juega un papel muy importante en el desarrollo de las gónadas de peces, especialmente en hembras durante la fase de vitelogénesis y en machos durante la espermatogénesis (Sargent, 1995). Aunque existen distintos tipos de lípidos, se reconoce ampliamente que los ácidos grasos desempeñan un papel particularmente importante en la maduración de las gónadas (Luzzana *et al.*, 1996; Izquierdo *et al.*, 2001). Mientras que los ácidos grasos saturados y monoinsaturados son normalmente empleados como fuente de energía, los ácidos grasos poliinsaturados y altamente insaturados (respectivamente, PUFA y HUFA, por sus siglas en inglés) son preferentemente empleados para la formación de gametos (Chatzifotis *et al.*, 2004). Como ejemplos tenemos al ácido docosahexaenoico (22:6n-3, DHA, por sus siglas en inglés) y al ácido eicosapentaenoico (20:5n-3, EPA, por sus siglas en inglés), que se caracterizan por estar presentes en cantidades importantes en tejidos del sistema nervioso central durante el desarrollo larvario (Sargent *et al.*, 2002). Por su parte, el ácido araquidónico (20:4n-6, ARA, por sus siglas en inglés), junto con el EPA, son precursores de prostaglandinas, leucotrienos y tromboxanos, que son sustancias relevantes en procesos tales como la respuesta inflamatoria, la actividad cardiovascular y hematológica, así como la esteroidogénesis ovárica y testicular (Tocher *et al.*, 2003; Qari *et al.*, 2014). Con base en la relevancia que los ácidos grasos tienen en el proceso reproductivo de peces, es de interés analizar su distribución y abundancia relativa en gónadas de peces en reproducción.

II. HIPÓTESIS

La maduración gonadal en la damisela de Limbaugh (*C. limbaughi*) se ajusta a patrones progresivos de desarrollo en términos de sus cambios histológicos, composición proximal y perfil de ácidos grasos, similares a los observados en otras especies de peces marinos, especialmente en aquellas con las que guarda relación taxonómica.

III. OBJETIVOS

III.1. Objetivo general

Evaluar la madurez gonadal de la damisela de Limbaugh (*C. limbaughi*) en las distintas estaciones del año.

III.2. Objetivos específicos

III.2.1. Determinar las fases de desarrollo gonadal de *C. limbaughi*.

III.2.2. Determinar la composición proximal de las gónadas de *C. limbaughi*.

III.2.3. Determinar el perfil de ácidos grasos de las gónadas de *C. limbaughi*.

III.2.4. Determinar la talla de primera madurez sexual de *C. limbaughi*.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

IV.1. Colecta de organismos

Para la obtención de los organismos de la especie *C. limbaughi* se tramitó un permiso de colecta con fines de investigación científica (ANEXO 1) otorgado por la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT).

Los organismos fueron capturados en las aguas adyacentes a la Isla San Esteban, en el Golfo de California (Figura 4) utilizando una embarcación con motor fuera de borda. Los muestreos fueron realizados mediante buceo suministrando aire con un compresor y mangueras. La captura de los peces fue realizada con redes de cuchara a una profundidad de aproximadamente 15 metros, realizando mediciones de la temperatura en el sitio específico de captura, tomando una muestra de agua para el análisis posterior de la salinidad y el pH.

Una vez capturados los organismos, estos fueron sacrificados con una sobredosis de metanosulfonato de tricáina (MS-222, 300 mg/L), de acuerdo con las especificaciones técnicas para la producción, cuidado y uso de animales experimentales de la legislación mexicana (Norma Oficial Mexicana, 2001) y trasladados al Laboratorio de Nutrición Acuícola del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora (DICTUS) para realizar la medición y disección de los organismos.



Figura 4. Zona de colecta de la damisela de Limbaugh, *Chromis limbaughi*. Imagen obtenida de Google Earth.

IV.2. Datos merísticos y biológicos

Los organismos fueron medidos y pesados para calcular la longitud total, longitud furcal y longitud estándar, al igual que el peso total. Una vez realizadas estas mediciones, se procedió a la disección de los organismos, extirpando y pesando las gónadas y el hígado, con lo que se calcularon los índices descritos a continuación.

IV.2.1. Índice hepatosomático

El índice hepatosomático (IHS) describe la proporción relativa del peso del hígado con respecto al peso corporal mediante la siguiente fórmula:

$$\text{IHS} = (\text{Peso del hígado, g} \times 100) / \text{Peso corporal, g}$$

IV.2.2. Índice gonadosomático

De manera similar al IHS, el índice gonadosomático (IGS) describe la proporción relativa del peso de la gónada con respecto al peso corporal mediante la siguiente fórmula:

$$\text{IGS} = (\text{Peso de la gónada, g} \times 100) / \text{Peso corporal, g}$$

IV.2.3. Factor de condición

El factor de condición (K), establecido por Ricker (1975), es una estimación del grado de robustez de un individuo y es descrito por la siguiente fórmula:

$$K = (\text{Peso corporal húmedo, g} \times 100) / \text{Longitud total}^3, \text{ cm}$$

IV.3. Composición proximal de las gónadas

La gónada fue dividida en dos porciones para análisis posteriores. Una de las porciones fue utilizada para la determinación de la composición proximal mediante los métodos establecidos por la AOAC (2005).

IV.3.1. Humedad

El cálculo del porcentaje de humedad de las gónadas fue determinado mediante el método 930.15 de la AOAC (2005). Se utilizaron muestras con un peso lo más cercano posible a 1 g de tejido, que se colocaron en crisoles previamente pesados. Las muestras se secaron en un horno (Marca Precision, Modelo 51221126, Winchester, Virginia, USA) durante 6 horas a una temperatura de 100°C. Una vez secos se determinó el peso del crisol con la muestra seca. Se

restó el peso del crisol al peso del crisol + muestra seca y por diferencia de peso se calculó el porcentaje de humedad de la muestra:

$$\% \text{ Humedad} = ((W2 - W3) \times 100) / W2 - W1$$

Donde:

W1 = peso del crisol

W2 = Peso del crisol + muestra húmeda

W3= Peso del crisol + muestra seca

IV.3.2. Cenizas

Se determinó el porcentaje de cenizas en el tejido gonadal de acuerdo al método 942.05 establecido por la AOAC (2005). Una muestra lo más cercana posible a 1 gramo se incineró en una mufla (Maeca Barnstead Thermolyne 62700, Modelo F62735, Dubuque, Iowa, EUA) a 550°C durante 6 horas. Una vez realizada la incineración, se calculó el porcentaje de la ceniza en la muestra mediante la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Cenizas} = ((W3 - W1) \times 100) / W2 - W1$$

Donde:

W1 = peso del crisol

W2 = Peso del crisol + muestra húmeda

W3= Peso del crisol + cenizas

IV.3.3. Proteína cruda

El porcentaje de proteína cruda (PC) se determinó mediante el método 968.06 de la AOAC (2005) con un equipo de combustión Dumas (Marca VELP® Científica, Modelo NDA 702, Usmate, Italia), el cual utiliza un analizador de nitrógeno y, tras la multiplicación del contenido de nitrógeno por el factor 6.25, se obtiene el porcentaje de PC de la muestra.

IV.3.4. Grasa cruda

Para el análisis de grasa cruda (GC) se realizó la extracción de lípidos mediante el método de Folch *et al.* (1957), utilizando como solventes cloroformo:metanol (2:1), homogenizando la muestra, filtrándola y aforándola a un volumen de 30 ml. De esta cantidad de extracto, se tomó una alícuota de 5 ml que se colocó en un tubo de ensaye previamente pesado. Enseguida, el solvente se evaporó utilizando un baño María y nitrógeno superficial para evitar la oxidación de los lípidos por contacto con el oxígeno. Una vez evaporado el solvente, se pesaron los tubos con grasa para calcular el porcentaje de grasa cruda por diferencia de peso.

IV.4. Perfil de ácidos grasos

Una vez realizada la determinación de grasa cruda, el resto de la alícuota, consistente de 25 ml de extracto, se utilizó para la determinación del perfil de ácidos grasos, que se saponificaron y metilaron con trifluoruro de boro. Una vez metilados y saponificados, los ácidos grasos en forma de metil-ésteres (FAME, por sus siglas en inglés), fueron resuspendidos en hexano grado HPLC a una concentración de 50 mg/ml y colocados en un vial ámbar de 2 ml, que se almacenó en ultracongelación hasta el momento de su inyección en un cromatógrafo de gases. Para ello, se inyectaron 2 µl de muestra en un equipo Varian (Modelo 3800, Walnut Creek, California, EUA) con una columna capilar de sílice de 30 m x 0.25 mm con un detector de ionización de flama (FID, por sus siglas en inglés). La identificación de ácidos grasos se realizó comparando sus tiempos de retención con estándares conocidos y se expresaron como % FAME identificados.

IV.4. Análisis de la maduración gonadal mediante histología

Inmediatamente después de su disección, una segunda sección de tejido gonadal de cada organismo colectado fue sumergida en solución de Davidson durante 24 h y luego transvasada a etanol 70%. Le sigue la deshidratación con una serie consecutiva de soluciones de etanol con concentraciones progresivamente mayores hasta alcanzar el grado anhidro. Enseguida, las muestras se sumergen en xileno, una sustancia que tiene la particularidad de poder mezclarse con alcohol y con parafina. Posteriormente, las muestras son embebidas en parafina, que penetra el tejido a nivel celular. Tras el proceso de enfriamiento se han formado bloques sólidos, listos

para el proceso de corte en secciones con un grosor de 5µm utilizando un micrótomo. Montados en un portaobjetos, los cortes se tiñen con una combinación de hematoxilina y eosina (Humason, 1979), con lo que los componentes del núcleo celular generalmente se aprecian de color azul violáceo, mientras que las estructuras del citosol suelen apreciarse en tonos rosados

IV.5. Talla de primera madurez sexual

La talla de primera madurez sexual se estimó, para machos y hembras por separado, de acuerdo con el método de Udupa (1986), en el que se agrupa a los organismos en clases de talla, con intervalos de clase iguales, en relación a su estadio de maduración respectivo. En este método, los datos de clases de talla son sometidos a transformación logarítmica base 10, y empleados en la fórmula:

M (talla de primera madurez sexual) = antilog m , donde

$$m = xk + X/2 - (X \sum pi),$$

con límites de confianza de 95% de confiabilidad determinados por

$$\text{antilog}_{10} m \pm 1.96 \times \sqrt{(X^2 \times \sum (pi - qi)/(ni-1))}, \text{ donde}$$

xk es el \log_{10} del valor intermedio de la clase de talla en la que el 100% de los organismos tienen gónadas maduras,

X es el promedio del \log_{10} de los incrementos del valor intermedio entre una clase de talla y la inmediata anterior,

$pi = ri/ni$, donde ri es el número de peces con gónadas maduras en la clase de talla i , y ni es el número total de peces en la clase de talla i , finalmente,

$$qi \text{ es } 1 - pi.$$

IV.6. Análisis estadístico

Se aplicó análisis de varianza (ANDEVA) de una vía, con un nivel de significancia de $P \leq 0.05$, para comparar los datos merísticos (longitud total, longitud furcal, longitud estándar) y biológicos (peso corporal, índice gonadosomático, índice hepatosomático y factor de condición), análisis proximal y perfil de ácidos grasos de gónadas. En caso de detectarse diferencias significativas, se utilizó la prueba de Tukey para separar promedios. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software Statistical Analysis System (SAS Institute, 2002-2012 Software Release 9.4, Cary, NC, USA).

V. RESULTADOS

V.1. Colecta de organismos

El primer muestreo se realizó en el mes de septiembre del año 2017, correspondiendo a la estación de verano, en el que fueron capturados un total de 16 organismos, de los cuales 6 fueron hembras y 7 fueron machos, mientras que 3 individuos, por su pequeña talla, no presentaron gónadas visibles durante su disección y, por lo tanto, de estos organismos no fue posible obtener muestras de gónada. Estos organismos son referidos en lo sucesivo como indiferenciados. Durante estas inmersiones, a una profundidad de aproximadamente 15 m, la temperatura del agua fue de 27°C, la salinidad de 36‰ y el pH de 7.3.

El segundo muestreo, correspondiente a la estación de otoño, se llevó a cabo en el mes de noviembre del año 2017, en el que se capturaron un total de 20 organismos, de los cuales 8 fueron hembras, 7 fueron machos y 5 de sexo indiferenciado. Los organismos de este muestreo también fueron obtenidos a una profundidad de aproximadamente 15 m, registrando valores de temperatura, salinidad y pH de 20°C, 37‰ y 7.8, respectivamente.

El muestreo de la estación de invierno se realizó durante el mes de febrero del año 2018, en el que se capturaron 19 organismos, siendo 5 de ellos hembras, 10 machos y 4 organismos de sexo indiferenciado. Estos organismos fueron capturados a una profundidad de aproximadamente 12 m, en donde la temperatura, salinidad y pH del agua fueron de 14°C, 36.5‰ y 7.7, respectivamente.

El último muestreo, correspondiente a la estación de primavera se llevó a cabo en el mes de mayo del año 2018. Se capturó un total de 35 organismos, de los cuales 20 fueron hembras, 14 fueron machos y 1 individuo presentó sexo indiferenciado. La profundidad de captura fue de aproximadamente 15 m, encontrándose valores de temperatura de 21°C, salinidad de 36‰ y pH de 8.1.

V.2. Proporción macho:hembra

Se observaron variaciones en la proporción de peces macho y peces hembra capturados en las diferentes estaciones del año. En el muestreo de primavera se encontró una proporción macho:hembra de 0.7:1. En el verano, esta proporción correspondió a 1.2:1. Durante el muestreo de otoño la proporción fue de 0.9:1 y en la estación de invierno se encontró una proporción de 2:1. Reuniendo la totalidad de datos de las cuatro estaciones de muestreo, el promedio global de la proporción macho:hembra fue de 1.2:1.

V.3. Análisis de la maduración gonadal

V.3.1. Análisis histológico

Mediante la aplicación de la técnica de fijación, deshidratación, inclusión en parafina, corte, tinción con hematoxilina-eosina y fijación con resina, se obtuvieron láminas de calidad para su observación en el microscopio óptico que permitieron identificar distintos estadios de maduración gonadal de los peces que, de acuerdo con la nomenclatura de Brown-Peterson *et al.* (2011), incluyeron para ambos sexos los estadios denominados en desarrollo, capaz de desovar, en regresión y en regeneración, como se describe a continuación.

V.3.1.1. Hembras

El muestreo de primavera se caracterizó porque la gran mayoría de las hembras capturadas, alrededor de 95%, presentó gónadas en desarrollo, *i.e.*, gónadas en franca progresión hacia la maduración, pero no listas aún para la reproducción, que típicamente contienen células en fase vitelogénica 1 y 2 (Vtg 1 y 2, respectivamente) (Figura 5). En esta estación de muestreo, únicamente un individuo presentó gónadas capaces de desovar.

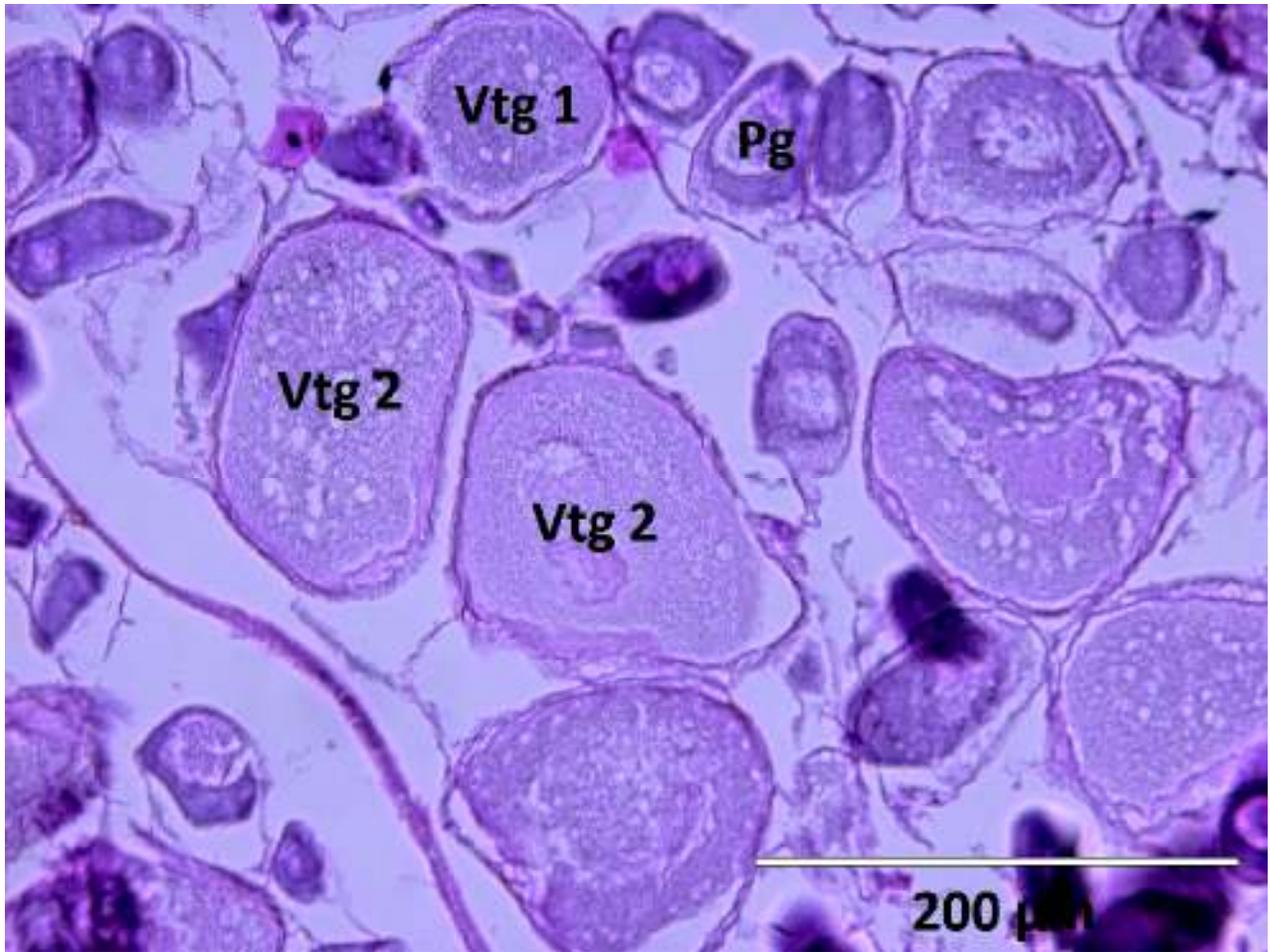


Figura 5. Corte histológico de gónada de una hembra de *Chromis limbaughi* en estadio de desarrollo, perteneciente al muestreo de primavera (Pg = Primordio gonadal, Vtg 1 = ovocito en fase vitelogénica 1, Vtg 2 = ovocito en fase vitelogénica 2).

Hubo un cambio notable en el muestreo correspondiente a la estación de verano, en la que el 50% de las hembras tuvieron gónadas capaces de desovar, cuyas características más sobresalientes son la presencia de células de tamaño superior a los 240 μm , con una gran acumulación de gránulos grandes de vitelo (fase vitelogénica 3, Vtg 3), y en menor proporción, la presencia de primordios gonadales y células en estado de atresia (Figura 6). Las gónadas del 50% restante de las hembras se encontraron en estadio de regresión, caracterizadas por presentar una menor proporción de células en fase vitelogénica 3, gran cantidad de folículos postovulatorios (Pof, por sus siglas en ingles), células en estado de atresia y primordios gonadales en poca proporción (Figura 7).

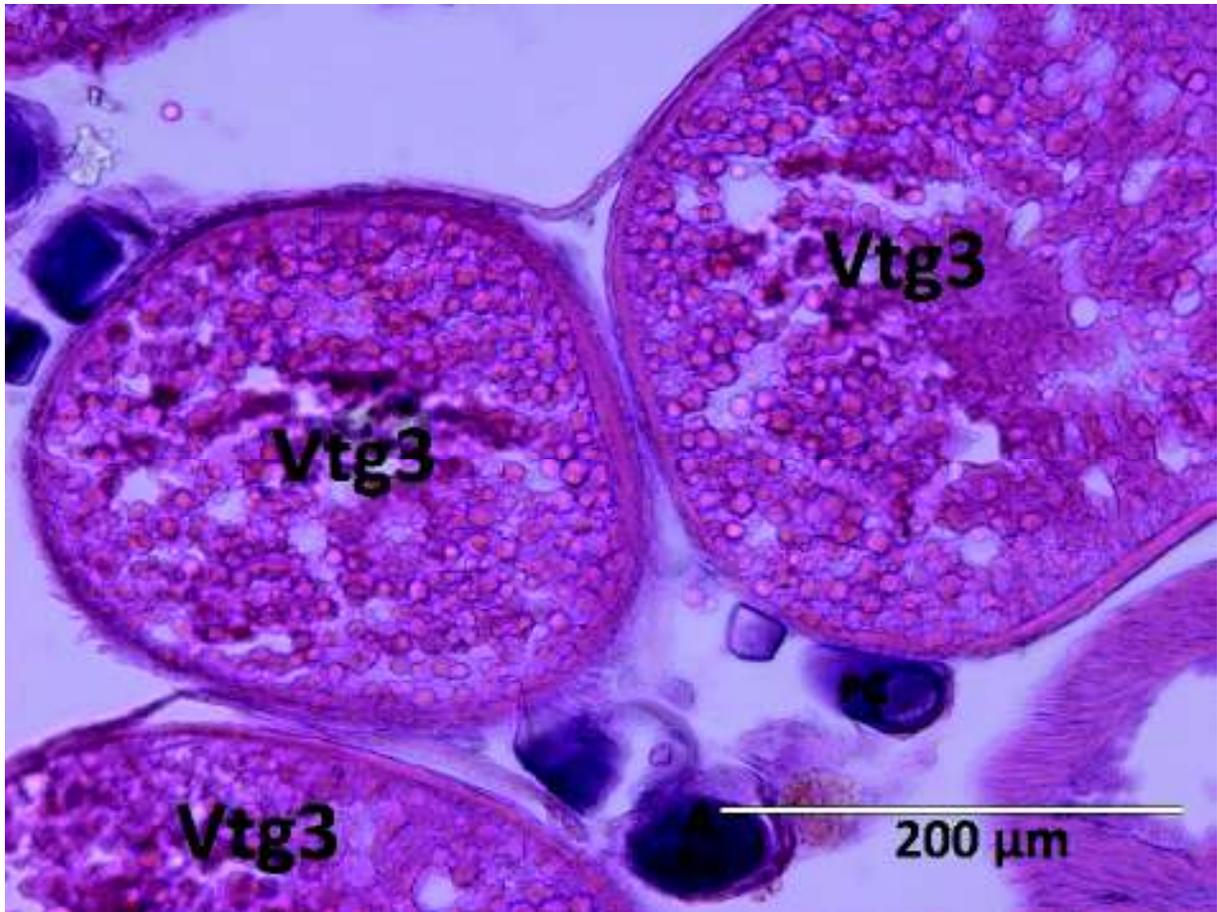


Figura 6. Corte histológico de gónada de una hembra de *Chromis limbaughi* en estadio capaz de desovar, perteneciente al muestreo de verano (Vtg 3 = fase vitelogénica 3, Pg = Primordio gonadal).

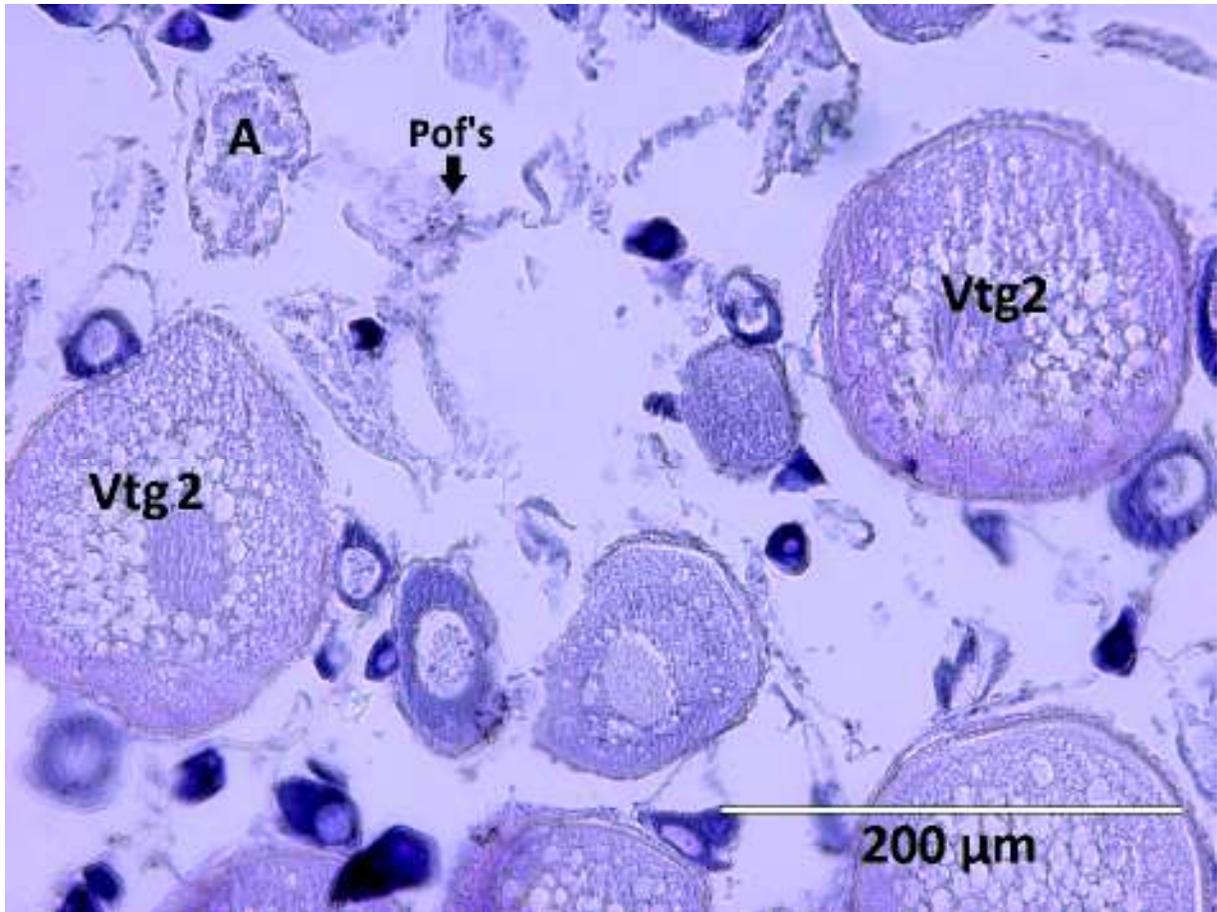


Figura 7. Corte histológico de gónada de una hembra de *Chromis limbaughi* en estadio de regresión, perteneciente al muestreo de verano (Vtg 2 = fase vitelogénica 2, Pof = Folículo post-ovulatorio, A = Células en estado de atresia).

En la estación de otoño, las gónadas de la totalidad de las hembras capturadas fueron encontradas en estadio de regeneración, que se distinguen por presentar, principalmente, primordios gonadales, alveolos corticales, residuos de folículos postovulatorios que no han sido totalmente reabsorbidos y pequeñas cantidades células en estado de atresia (Figura 8).

El muestreo correspondiente a la estación de invierno fue muy similar al de otoño, en cuanto a que la totalidad de las hembras capturadas presentó gónadas en estadio de regeneración, aunque con ligeras diferencias como son mayor contigüidad entre los primordios gonadales y los alveolos corticales, ligeramente menor proporción de folículos postovulatorios y células en estado de atresia, así como mayor cantidad de tejido conjuntivo.

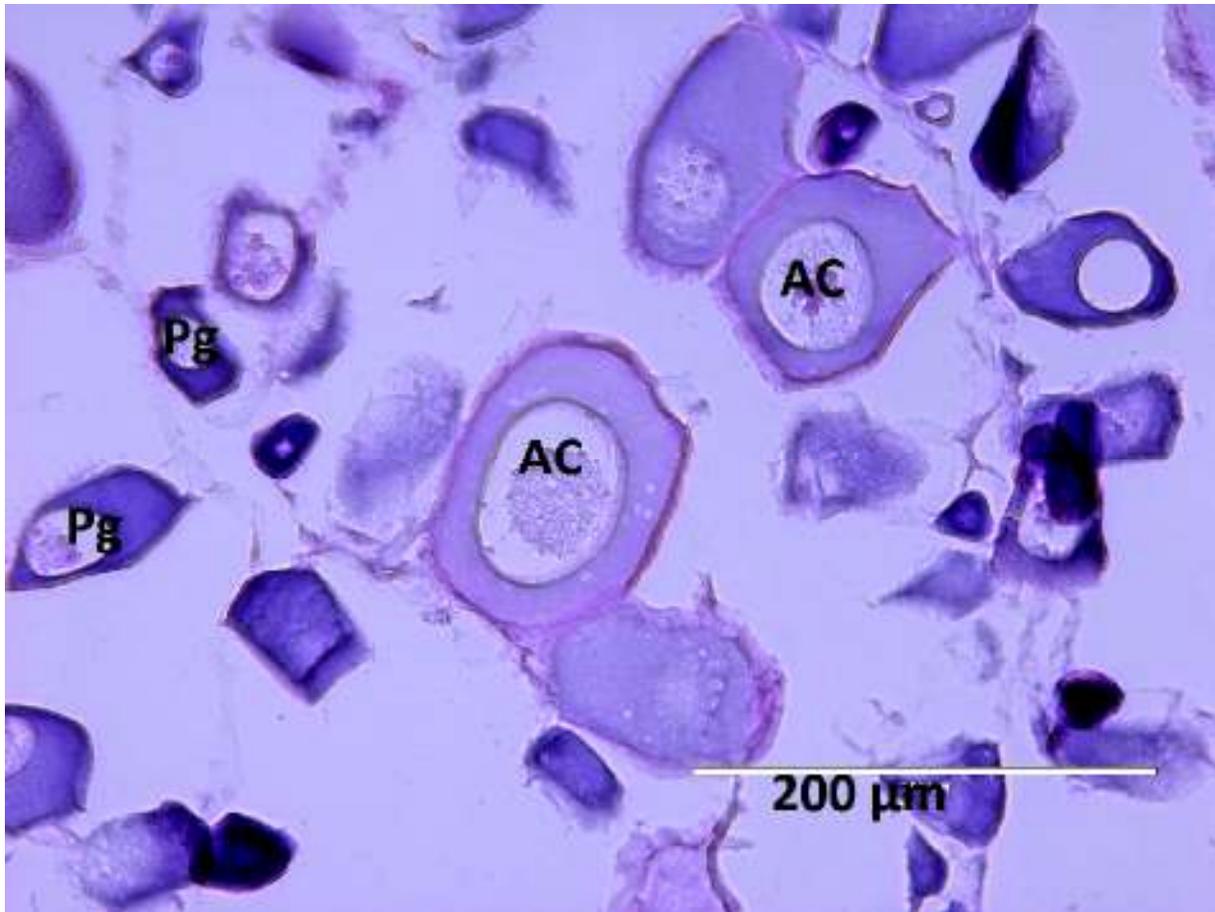


Figura 8. Corte histológico de gónada de una hembra de *Chromis limbaughi* en estadio de regeneración, perteneciente al muestreo de otoño (Pg = Primordios gonadales, AC = Alveolos corticales).

La Tabla 3 resume la cantidad de organismos capturados a lo largo de los cuatro muestreos realizados y sus fases de desarrollo gonadal correspondientes.

Tabla 3. Listado de los estadios de desarrollo gonadal encontrados en hembras de *Chromis limbaughi* capturadas durante las distintas estaciones del año.

Muestreo	Estadio				Total de organismos
	En desarrollo	Capaz de desovar	En regresión	En regeneración	
Primavera	19	1	0	0	20
Verano	0	3	3	0	6
Otoño	0	0	0	8	8
Invierno	0	0	0	5	5

V.3.1.2. Machos

En el muestreo de primavera, más del 90% de los machos capturados presentaron gónadas en estadio de maduración en desarrollo (no listas aún para la reproducción), pudiendo observarse en ellas espermatoцитos primarios en gran proporción y aglomeraciones de espermatozoos, en menor proporción (Figura 9). En este muestreo fue encontrado un único individuo con gónadas en estadio de regeneración.

En la estación de verano, alrededor del 70% de los organismos presentaron gónadas capaces de liberar gametos, observándose grandes cantidades de espermatozoos y mínimas proporciones de espermatoцитos primarios (Figura 10). El 30% restante de organismos tuvieron gónadas en estadio de regresión.

En el muestreo de otoño, se encontraron gónadas en estadio de regresión en aproximadamente 60% de los organismos capturados, en los que se aprecia la predominancia de espermatoцитos primarios, residuales de espermatozoos y grandes espacios de lumen vacíos (Figura 11). En el 40% restante de los organismos se encontraron gónadas en estadio de regeneración, que se distinguen por tener una gran proporción de tejido conjuntivo y primordios gonadales en menores proporciones (Figura 12).

En el muestreo de invierno, la totalidad de organismos capturados presentó gónadas en estadio de regeneración.

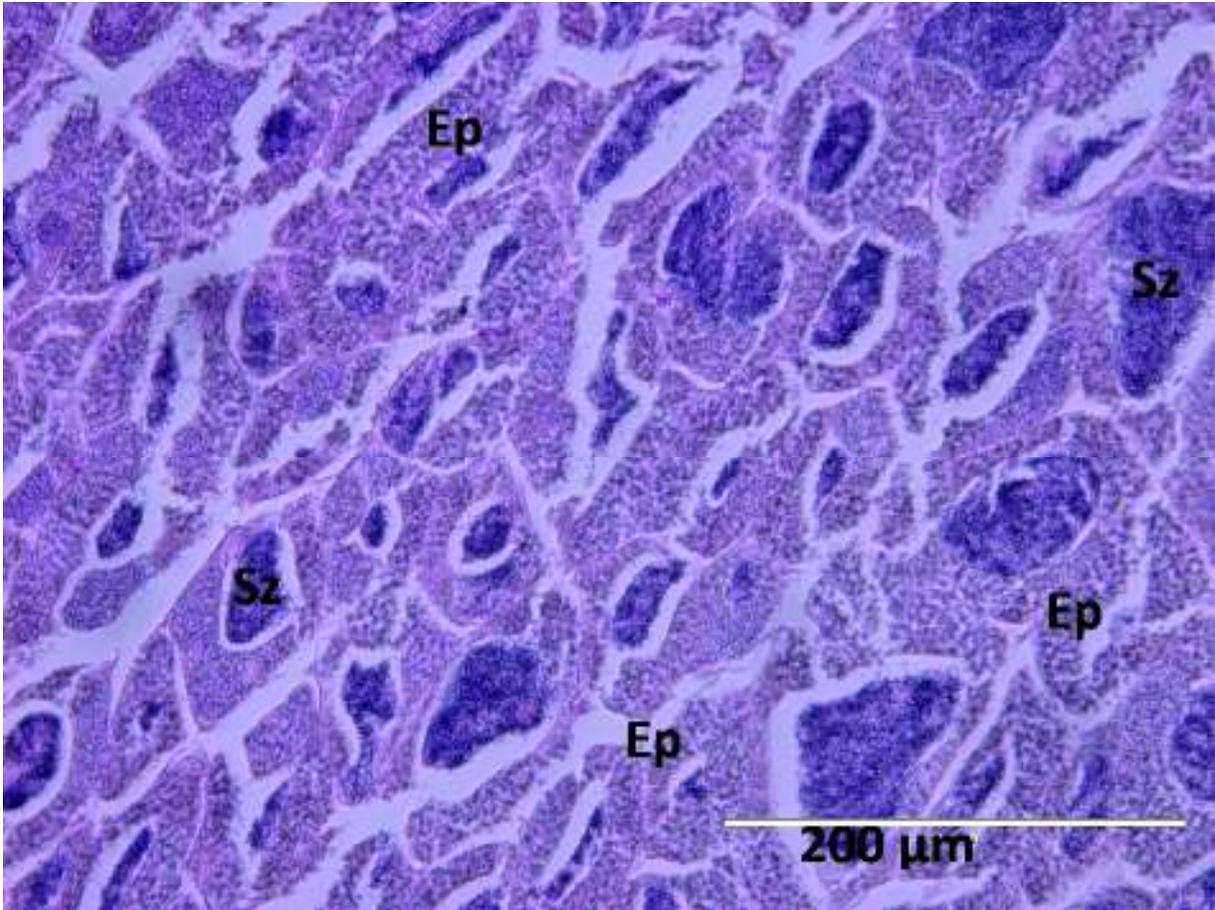


Figura 9. Corte histológico de gónada de un macho de *Chromis limbaughi* en estadio de desarrollo, perteneciente al muestreo de primavera (Ep = Espermatocitos primarios, Sz = Espermatozoos).

La Tabla 4 resume la cantidad de machos capturados a lo largo de los cuatro muestreos realizados y sus fases de desarrollo gonadal correspondientes.

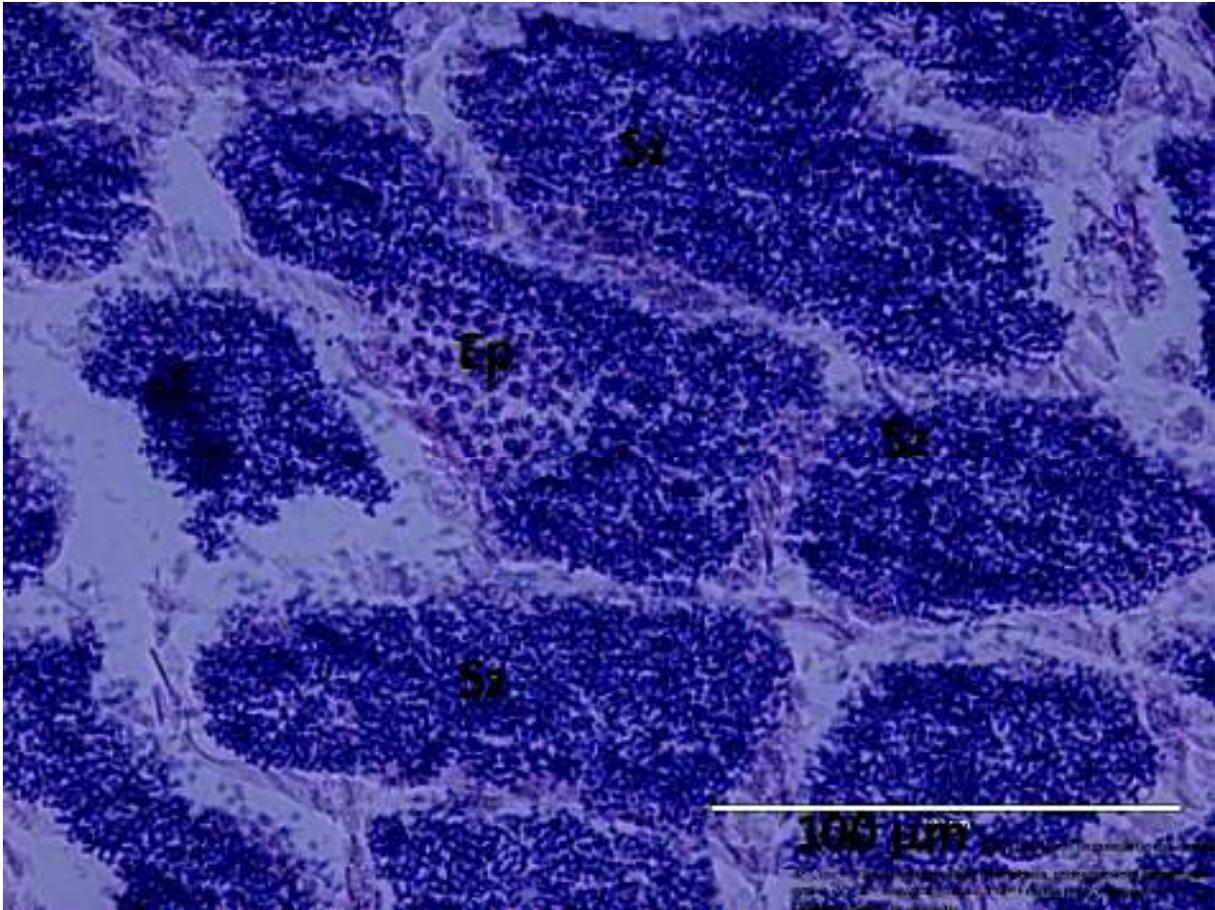


Figura 10. Corte histológico de gónada de un macho de *Chromis limbaughi* en estadio capaz de liberar gametos, perteneciente al muestreo de verano (Ep = Espermatocitos primarios, Sz = Espermatozoos).’

V.3.2. Análisis macroscópico

A través del análisis macroscópico de las gónadas, en el que se reconocen ciertas características observables a simple vista en el tejido, tales como el tamaño, coloración, presencia o ausencia de vasos sanguíneos, textura y consistencia, fue posible la identificación de solamente algunos estadios de madurez gonadal de los organismos.

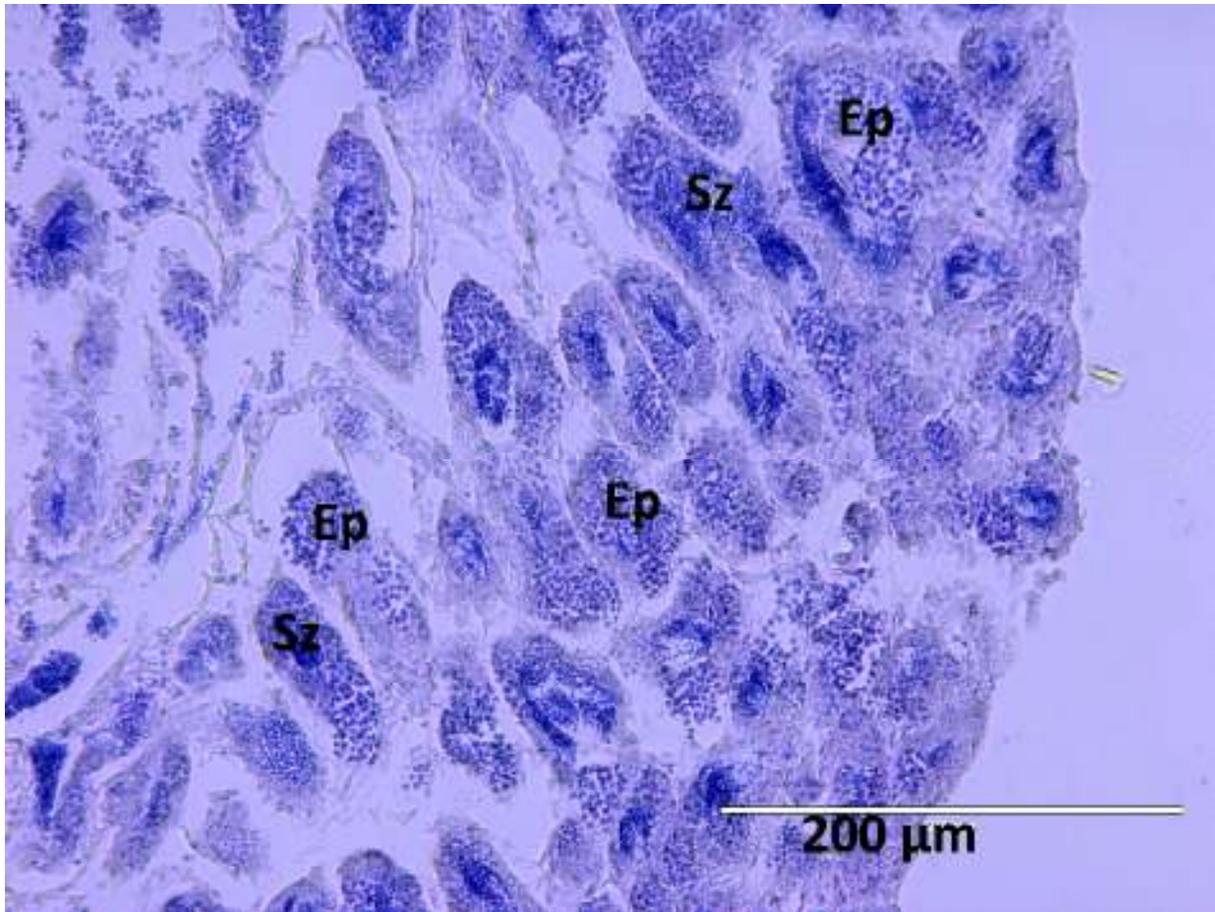


Figura 11. Corte histológico de gónada de un macho de *Chromis limbaughi* en estadio de regresión, perteneciente al muestreo de otoño (Ep = Espermatocitos primarios, Sz = Espermatozoos).

V.3.2.1. Hembras

Las hembras con gónadas capaces de desovar mostraron gónadas de relativamente gran tamaño, coloración anaranjada, textura turgente y granulosa y vasos sanguíneos prominentes (Figura 13), existiendo una buena correspondencia entre éste y el resultado del análisis histológico. Las gónadas en estadio de regresión presentaron una coloración anaranjada translúcida, tamaño reducido, vasos sanguíneos prominentes y textura flácida (Figura 14). Las gónadas en estadio de regeneración mostraron un color blanquecino translúcido, tamaño reducido, vasos sanguíneos reducidos y textura gelatinosa (Figura 15).

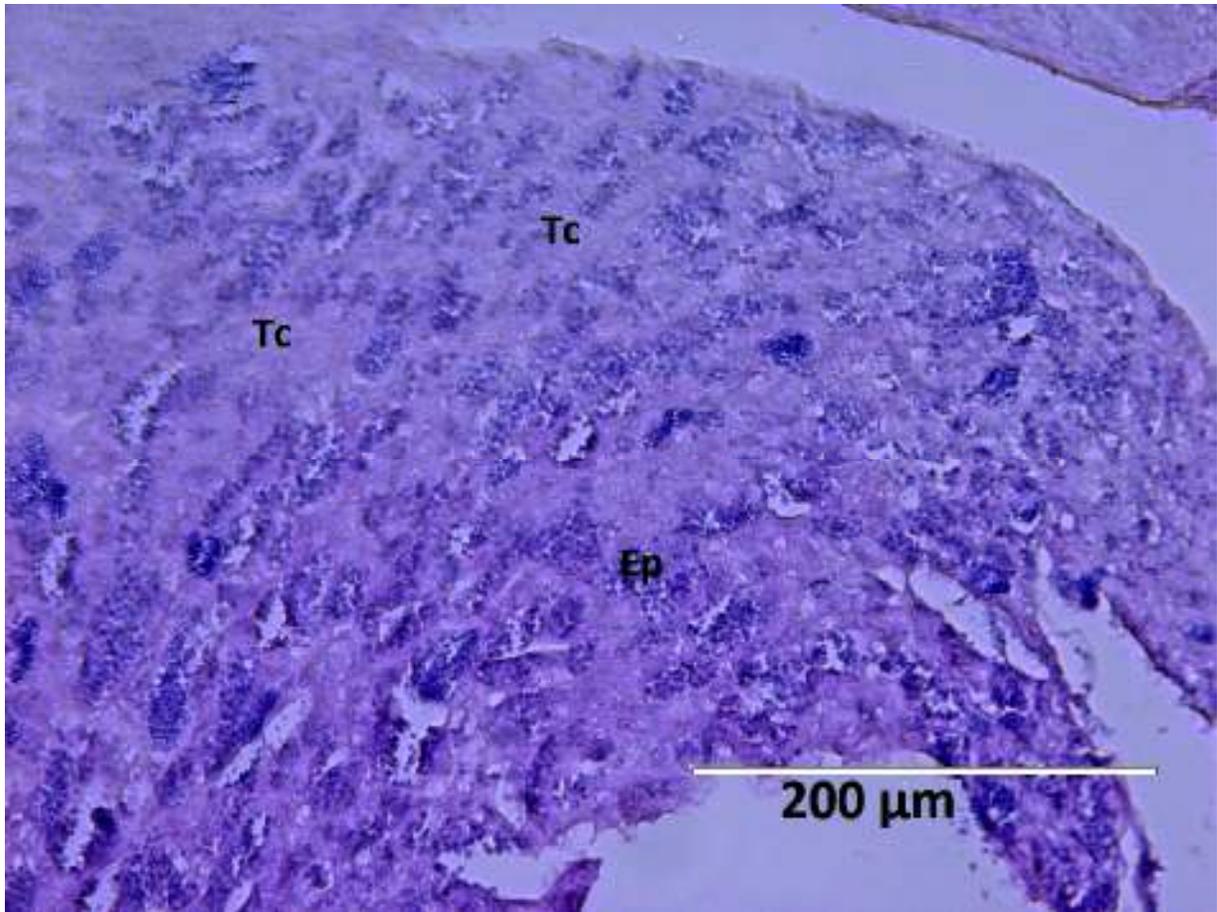


Figura 12. Corte histológico de gónada de un macho de *Chromis limbaughi* en estadio de regeneración, perteneciente al muestreo de invierno (Ep = Espermatocitos primarios, Tc = Tejido conjuntivo).

Tabla 4. Listado de los estadios de desarrollo gonadal encontrados en machos de *Chromis limbaughi* capturados durante las distintas estaciones del año.

Muestreo	Estadio				Total de organismos
	En desarrollo	Capaz de desovar	En regresión	En regeneración	
Primavera	13	0	0	1	14
Verano	0	5	2	0	7
Otoño	0	0	3	4	7
Invierno	0	0	0	10	10

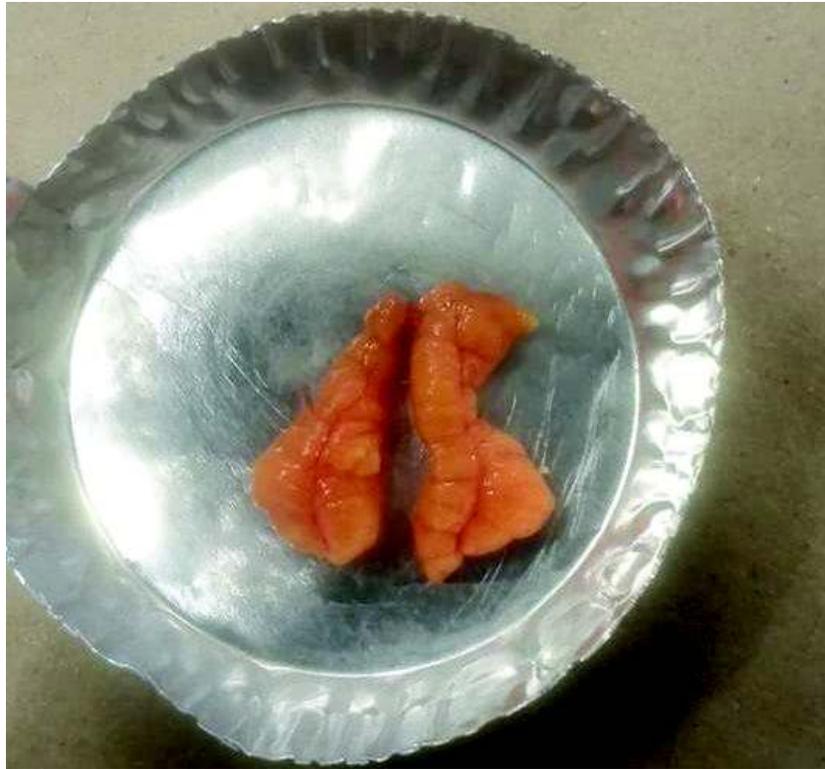


Figura 13. Gónada de hembra de *Chromis limbaughi* en estadio capaz de desovar.



Figura 14. Gónada de hembra de *Chromis limbaughi* en estadio de regresión.



Figura 15. Gónada de hembra de *Chromis limbaughi* en estadio de regeneración.

V.3.2.2. Machos

La identificación de estadios de madurez gonadal en machos mediante características macroscópicas presentó gran dificultad. En machos con gónadas identificadas como capaces de desovar mediante el análisis histológico, éstas eran de relativamente mayor tamaño, con vascularización notoria y textura gomosa. Sin embargo, un patrón similar puede observarse también en gónadas de machos en otros estadios de desarrollo, cuya apariencia general se muestra en la Figura 16. Por ello, el establecimiento de los estadios de desarrollo mediante características macroscópicas resultó muy incierto.



Figura 16. Gónada de macho de *Chromis limbaughi*. No fue posible identificar el estadio de desarrollo a simple vista.

V.4. Datos merísticos y biológicos

V.4.1. Longitud y peso

La Tabla 5 presenta los valores mínimo y máximo de la longitud total (LT), longitud furcal (LF), longitud estándar (LE) y peso corporal de la totalidad de peces capturados a lo largo de los cuatro muestreos estacionales, con machos y hembras por separado, así como aquellos organismos que, por su pequeña talla, no presentaron gónadas visibles durante su disección, siendo catalogados como indiferenciados. Con el fin de evaluar posibles diferencias de peso y talla entre sexos, se aplicó Análisis de Varianza (ANDEVA) a los datos de LT, LF, LE y peso corporal de machos y hembras, sin encontrarse diferencias estadísticas para ninguno de estos parámetros (Tabla 6).

Tabla 5. Longitud total (LT), longitud furcal (LF), longitud estándar (LE) y peso corporal (PC) de *C. limbaughi*.

	LT (cm)		LF (cm)		LE (cm)		PC (g)	
	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	Mín.	Máx.
Machos	6.4	13.8	5.9	11.9	4.6	10.5	5.2	48.79
Hembras	7.2	12.7	6.9	11.7	5.8	9.8	6.99	45.82
Indiferenciados	3.8	6.2	3.3	5.5	2.8	4.6	0.85	4.39

Tabla 6. Comparación de los promedios de longitud y peso corporal entre sexos de *Chromis limbaughi* (LT = longitud total, LF = longitud furcal, LE = longitud estándar y PC = peso corporal).

	Sexo		ANDEVA ($Pr > F$)
	Hembras	Machos	
LT (cm)	10.17 ± 0.22	10.10 ± 0.28	0.8452
LF (cm)	9.25 ± 0.20	9.17 ± 0.26	0.8226
LE (cm)	7.73 ± 1.03	7.65 ± 0.22	0.6919
PC (g)	22.54 ± 1.45	22.01 ± 1.70	0.8126

Los valores mostrados son promedios globales ± error estándar de los organismos capturados durante todos los muestreos.

V.4.2. Índices gonadosomático, hepatosomático y factor de condición

Los índices gonadosomático, hepatosomático y el factor de condición se calcularon por estación de muestreo para machos y hembras, así como para peces de sexo indiferenciado. Tanto para hembras como para machos, se observaron diferencias estadísticas del índice gonadosomático, encontrándose mayores valores en las estaciones de primavera y verano, y menores en otoño e invierno (Tabla 7). Así mismo, se detectaron diferencias significativas en el índice mático para ambos sexos, en el que el menor valor correspondió a la estación de primavera, pero sin existir un patrón claro de este índice en las demás estaciones (Tabla 7). En cuanto al factor de condición, se observaron diferencias únicamente en machos, en los que el valor correspondiente a organismos capturados en primavera fue significativamente mayor al de los organismos de las

demás estaciones (Tabla 7). En peces de sexo indiferenciado, no se detectaron diferencias significativas en el índice hepatosomático, ni tampoco en el factor de condición (Tabla 7).

Adicionalmente, utilizando el estadio de madurez gonadal como criterio, se agruparon y compararon los índices gonadosomático, hepatosomático y factor de condición de machos y hembras capturados a lo largo de los cuatro muestreos estacionales. Tanto en machos como en hembras, los mayores valores del índice gonadosomático correspondieron a los estadios denominados en desarrollo y capaz de desovar, siendo menores en los estadios de regresión y regeneración (Tabla 8). En las determinaciones del índice hepatosomático, el mayor valor se observó en organismos con gónadas en desarrollo, tanto en machos como en hembras, que disminuyó numéricamente en estadios de desarrollo subsecuentes. El factor de condición en machos fue significativamente mayor en peces con gónadas es estadio de desarrollo, con respecto a todos los demás estadios. En hembras no se observaron diferencias estadísticas en este parámetro (Tabla 8).

Tabla 7. Índices hepatosomático (IHS), gonadosomático (IGS) y factor de condición (K) de hembras, machos y organismos de sexo indiferenciado de *Chromis limbaughi* capturados durante de las distintas estaciones del año.

Estación	Hembras		
	IHS	IGS	K
Primavera	1.61 ^a ± 0.09	1.93 ^a ± 0.26	2.08 ± 0.05
Verano	0.88 ^b ± 0.09	1.84 ^{ab} ± 0.53	1.87 ± 0.10
Otoño	0.73 ^b ± 0.10	0.65 ^b ± 0.02	2.03 ± 0.08
Invierno	1.02 ^b ± 0.07	0.75 ^{ab} ± 0.07	2.03 ± 0.10
ANDEVA	<.0001	0.0068	0.3362
Estación	Machos		
	IHS	IGS	K
Primavera	1.49 ^a ± 0.31	1.42 ^a ± 0.16	2.11 ^a ± 0.04
Verano	0.71 ^c ± 0.08	0.84 ^{ab} ± 0.22	1.82 ^b ± 0.05
Otoño	1.00 ^{bc} ± 0.16	0.16 ^b ± 0.22	1.83 ^b ± 0.05
Invierno	1.25 ^{ba} ± 0.17	0.25 ^b ± 0.18	1.95 ^b ± 0.05
ANDEVA	0.0008	<.0001	0.0002
Estación	Indiferenciados		
	IHS	IGS	K
Primavera	1.90	*	1.68

Verano	1.75 ± 0.30	*	1.46 ± 0.10
Otoño	2.40 ± 0.70	*	1.60 ± 0.06
Invierno	1.72 ± 0.31	*	1.76 ± 0.12
ANDEVA	0.5693	*	0.1533

Los valores mostrados son promedios ± error estándar de los organismos durante las distintas estaciones del año. Los promedios con superíndices distintos en una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$). * Sin gónada diferenciada.

Tabla 8 Índices hepatosomático (IHS), gonadosomático (IGS) y factor de condición (K) de hembras y machos de *Chromis limbaughi* capturados durante de las distintas estaciones del año, de acuerdo con el estadio de madurez gonadal.

Hembras			
Estadio	IHS	IGS	K
En maduración	1.66 ^a ± 0.09	1.97 ^a ± 0.27	2.09 ± 0.07
Capaz de desovar	0.98 ^b ± 0.12	2.53 ^a ± 0.60	1.90 ± 0.09
Regresión	0.85 ^b ± 0.15	1.04 ^{ab} ± 0.54	1.90 ± 0.06
Regeneración	0.87 ^b ± 0.08	0.71 ^b ± 0.03	2.03 ± 0.04
ANDEVA	0.0001	0.0004	0.3565
Machos			
Estadio	IHS	IGS	K
En maduración	1.51 ^a ± 0.08	1.47 ^a ± 0.23	2.10 ^a ± 0.04
Capaz de liberar gametos	0.65 ^b ± 0.09	1.11 ^a ± 0.14	1.87 ^{bc} ± 0.04
Regresión	1.14 ^{ab} ± 0.16	0.16 ^b ± 0.01	1.71 ^c ± 0.07
Regeneración	1.11 ^{ab} ± 0.13	0.25 ^b ± 0.07	1.95 ^b ± 0.04
ANDEVA	0.0019	0.0001	0.0001

Los valores mostrados son promedios ± error estándar de los organismos durante sus distintos estadios de madurez. Los promedios con superíndices distintos en una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

V.5. Talla de primera madurez sexual

La estimación de la talla de primera madurez sexual en *C. limbaughi* fue de 7.90 cm para machos, con límites de confianza (95%) inferior de 7.05 cm de superior de 8.85 cm, mientras que en hembras fue de 7.59 cm, con límites de confianza inferior de 6.82 cm de superior de 8.44 cm.

V.6. Composición proximal de las gónadas

Se realizó la determinación de la composición proximal de las gónadas de machos y hembras durante los cuatro muestreos estacionales, excepto para peces machos capturados en la estación de invierno, en los que no fue posible realizar dicho análisis. Como podrá recordarse, el procedimiento general tras la disección de gónadas fue asignar una porción de éstas para el análisis histológico y otra para el análisis proximal y de perfil de pacidos grasos. En este caso, debido a su reducido tamaño, el volumen de las gónadas de machos fue insuficiente para la realización de todos los análisis, por lo que se decidió asignar la cantidad de gónada disponible para el análisis histológico.

V.6.1. Humedad

El porcentaje de humedad en gónadas de machos capturados en las estaciones de verano y otoño fue estadísticamente menor a la registrada en la estación de primavera (Tabla 9). No se detectaron diferencias en el porcentaje de humedad en gónadas de hembras en las distintas estaciones del año.

V.6.2. Cenizas

El contenido porcentual de cenizas en gónadas de machos fue significativamente mayor durante la estación de verano, con respecto aquellas de peces capturados en otoño y primavera. En hembras, el mayor porcentaje del contenido de cenizas correspondió al muestreo de verano, significativamente superior que el de aquellas capturadas en otoño y primavera, pero no que el de hembras capturadas en invierno (Tabla 9).

V.6.3. Proteína cruda

El porcentaje de proteína cruda en gónadas de machos capturados en las estaciones de verano y otoño fue estadísticamente superior a la registrada en la estación de primavera (Tabla 9). No se detectaron diferencias en el porcentaje de proteína cruda en gónadas de hembras durante las distintas estaciones del año.

V.6.4. Grasa cruda

No se detectaron diferencias significativas en el contenido porcentual de grasa cruda en hembras ($P = 0.5360$) y machos ($P = 0.1287$) muestreados a lo largo de las cuatro estaciones del año (Tabla 9).

V.7. Perfil de ácidos grasos

Se realizó la determinación del perfil de ácidos grasos de gónadas de hembras y machos de *C. limbaughi* durante las cuatro estaciones del año. La única excepción fue, nuevamente, la determinación en gónadas de machos en la estación de invierno. Como se explicó anteriormente en los resultados de análisis proximal, las pequeñas cantidades de tejido gonadal disponibles para machos, insuficientes para todos los análisis en dicha estación, se asignaron al análisis histológico.

Tabla 9. Composición proximal de las gónadas de *C. limbaughi* en las distintas estaciones del año de acuerdo al sexo de los organismos.

Machos				
Estación	% Humedad	% Cenizas	% Proteína	% Grasa
Primavera	80.38 ^a ± 0.29	1.94 ^b ± 0.08	15.71 ^b ± 0.34	4.37 ± 0.90
Verano	70.17 ^b ± 0.44	3.84 ^a ± 0.13	19.76 ^a ± 0.48	6.20 ± 0.90
Otoño	70.05 ^b ± 0.53	1.49 ^b ± 0.16	21.63 ^a ± 0.67	7.40 ± 0.90
ANDEVA	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.1287

Hembras				
Primavera	69.67 ± 1.27	1.74 ^b ± 0.07	21.84 ± 0.82	7.49 ± 0.66
Verano	66.37 ± 4.65	3.78 ^a ± 0.90	22.87 ± 1.54	8.54 ± 1.19
Otoño	69.34 ± 0.63	1.48 ^b ± 0.21	21.50 ± 0.93	8.50 ± 1.87
Invierno	69.35 ± 0.67	2.94 ^{ab} ± 0.57	21.87 ± 0.46	6.02 ± 1.48
ANDEVA	0.7914	0.0112	0.8645	0.5360

Los valores mostrados son promedios ± error estándar de los organismos durante sus distintos estadios de madurez. Los promedios con superíndices distintos en una misma columna indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

La Tabla 10 muestra el perfil de ácidos grasos de gónadas de hembras, de acuerdo con los cuatro estadios de desarrollo gonadal identificados en ellas: 1) en desarrollo, 2) capaz de desovar, 3) en regresión y 4) en regeneración. De estos resultados destaca, en primer término, que en todos los estadios de madurez los constituyentes mayoritarios fueron, dentro de los ácidos grasos saturados, el ácido palmítico (16:0) y el ácido esteárico (18:0); dentro de los ácidos grasos monoinsaturados, el ácido oleico (18:1n-9); dentro de los ácidos grasos de la familia n-3, el DHA y EPA, y dentro de los ácidos grasos de la familia n-6, el ARA. Se detectaron diferencias significativas en las proporciones de los ácidos grasos linoleico (18:2n-6) y linolénico (18:3n-3), aunque éstos no son componentes mayoritarios, sino hallados en pequeñas proporciones. Dentro de los constituyentes mayoritarios, se observaron diferencias significativas en las proporciones de los ácidos grasos EPA, ARA y ácido esteárico, pero sin existir tendencias claras (Tabla 10). Se realizó un agrupamiento de los porcentajes de ácidos grasos similares entre sí: ácidos grasos saturados, ácidos grasos monoinsaturados, PUFA + HUFA, ácidos grasos de la familia n-3 (Tot n-3) y de la familia n-6 (Tot n-6). Tampoco se observaron diferencias estadísticas en los porcentajes de estos grupos (Tabla 10).

Con respecto al perfil de ácidos grasos de gónadas de machos, es pertinente recordar que, en estos organismos, debido a la ausencia de tejido gonádico disponible para su análisis en la estación de invierno, el perfil de ácidos grasos se determinó solamente en gónadas con tres estadios de desarrollo: 1) en desarrollo, 2) capaz de liberar gametos, y 3) en regresión. No obstante, se observó con claridad el mismo patrón de distribución relativa de ácidos grasos

reportado en hembras, en términos de que los ácidos grasos más abundantes en todos los estadios de desarrollo fueron 16:0, 18:0, 18:1n-9, DHA, EPA y ARA (Tabla 11). Se detectaron diferencias significativas en todos los ácidos grasos individuales identificados, con excepción del ácido docosapentaenoico (22:5n-3). Al igual que en hembras, las diferencias estadísticas observadas no siguieron patrones definidos, mostrando grandes variaciones de un estadio a otro (Tabla 11). No se detectaron diferencias estadísticas en los grupos ácidos grasos, con excepción de los ácidos grasos de la familia n-3 (Tabla 11).

Para peces capturados en distintas estaciones del año, pero con gónadas en el mismo estadio de desarrollo, y en función de la disponibilidad de dichos datos, se realizó un ejercicio comparativo adicional del perfil de ácidos grasos. En él, se contrastó el perfil de ácidos grasos de hembras con gónadas en estadio de regeneración, disponibles en los muestreos de otoño e invierno. Un rasgo característico común a las gónadas en ambos muestreos fue nuevamente la presencia, como componentes mayoritarios, de los ácidos grasos 16:0, 18:0, 18:1n-9, DHA, EPA y ARA (Tabla 12). Se detectaron diferencias estadísticas en las proporciones de los ácidos grasos 18:0, 18:2n-6, 18:3n-3, ARA y EPA, siendo mayores, para todos los casos, en el muestreo de invierno. No obstante estas diferencias halladas en ácidos grasos individuales, no se detectaron diferencias estadísticas en ninguno de los grupos de ácidos grasos (Tabla 12).

Tabla 10. Perfil de ácidos grasos de gónadas de hembras de *Chromis limbaughi* con gónadas en distintos estadios de desarrollo. Los valores son promedios (\pm error estándar) del % FAME identificados.

Estadio	En desarrollo	Capaz de desovar	En regresión	En regeneración	ANDEVA
14:0	5.14 \pm 0.20	5.04 \pm 0.65	3.90 \pm 0.78	4.21 \pm 0.48	0.1363
14:1	2.05 \pm 0.17	1.63 \pm 0.46	1.62 \pm 0.30	1.46 \pm 0.18	0.2086
16:0	21.00 \pm 1.84	31.00 \pm 9.63	24.83 \pm 2.75	24.63 \pm 1.76	0.2552
18:0	6.04 ^b \pm 0.16	6.37 ^{ab} \pm 0.79	10.66 ^{ab} \pm 1.59	11.72 ^a \pm 2.36	0.0050
18:1n-9	10.98 \pm 0.57	9.03 \pm 1.70	12.21 \pm 2.69	7.42 \pm 1.73	0.0860
18:2n-6	0.81 ^b \pm 0.09	1.23 ^b \pm 0.20	2.51 ^a \pm 1.00	1.58 ^{ab} \pm 0.38	0.0077
18:3n-3	1.75 ^a \pm 0.25	1.10 ^{ab} \pm 0.37	0.95 ^{ab} \pm 0.39	0.59 ^b \pm 0.19	0.0266
20:4n-6	6.59 ^a \pm 0.98	1.90 ^{ab} \pm 1.90	0.00 ^b \pm 0.00	3.70 ^{ab} \pm 0.51	0.0344
20:5n-3	6.89 ^a \pm 0.50	3.62 ^{ab} \pm 1.94	2.18 ^b \pm 0.51	4.41 ^{ab} \pm 1.01	0.0154
22:5n-3	4.06 \pm 0.45	3.63 \pm 0.49	5.76 \pm 3.20	2.57 \pm 0.34	0.1044
22:6n-3	15.11 \pm 0.95	13.63 \pm 2.27	10.09 \pm 1.24	17.60 \pm 2.66	0.2965
Saturados	34.01 \pm 1.72	43.58 \pm 8.90	40.32 \pm 2.20	39.17 \pm 2.44	0.1890
Monoinsaturados	15.40 \pm 0.58	12.17 \pm 1.86	15.37 \pm 2.04	15.32 \pm 2.21	0.5603
PUFA + HUFA	50.59 \pm 1.42	44.25 \pm 7.09	44.31 \pm 4.24	45.51 \pm 4.39	0.4153
Total n-3	33.46 \pm 1.29	30.30 \pm 4.74	29.87 \pm 4.28	30.64 \pm 3.55	0.7304
Total n-6	10.56 \pm 1.16	7.63 \pm 1.78	8.58 \pm 0.03	10.07 \pm 1.19	0.6558
n-3/n-6	3.43 \pm 0.34	4.27 \pm 0.53	3.48 \pm 0.51	3.06 \pm 0.15	0.3649

Los promedios con superíndices distintos en un mismo renglón indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Tabla 11. Perfil de ácidos grasos de gónadas de machos de *Chromis limbaughi* con gónadas en distintos estadios de desarrollo. Los valores son promedios (\pm error estándar) del % FAME identificados.

Estadio	En desarrollo	Capaz de desovar	En regresión	En regeneración	ANDEVA
14:0	5.49 ^a \pm 0.09	1.45 ^c \pm 0.22	5.26 ^a \pm 1.36	3.38 ^b \pm 0.06	<0.0001
14:1	2.18 ^{ab} \pm 0.08	0.89 ^c \pm 0.05	2.71 ^a \pm 0.78	1.49 ^{bc} \pm 0.42	0.0004
16:0	17.46 ^c \pm 0.48	21.93 ^a \pm 0.86	20.97 ^{ab} \pm 1.62	18.68 ^{bc} \pm 1.57	0.0017
18:0	7.58 ^b \pm 0.34	9.53 ^{ab} \pm 0.32	10.25 ^a \pm 1.35	9.70 ^a \pm 0.85	0.0070
18:1n-9	9.78 ^a \pm 0.42	9.36 ^a \pm 1.00	2.08 ^b \pm 0.25	2.17 ^b \pm 0.13	<0.0001
18:2n-6	1.04 ^a \pm 0.12	1.15 ^a \pm 0.12	0.32 ^b \pm 0.11	0.42 ^b \pm 0.00	0.0072
18:3n-3	2.40 ^a \pm 0.21	0.33 ^b \pm 0.15	0.09 ^b \pm 0.09	0.19 ^b \pm 0.19	<0.0001
20:4n-6	9.69 ^a \pm 1.19	0.00 ^b \pm 0.00	0.00 ^b \pm 0.00	0.00 ^b \pm 0.0	<0.0001
20:5n-3	7.22 ^a \pm 0.41	2.04 ^b \pm 0.41	0.87 ^b \pm 0.29	1.64 ^b \pm 0.68	<0.0001
22:5n-3	6.05 \pm 0.53	4.93 \pm 1.31	2.50 \pm 0.29	3.32 \pm 0.78	0.0529
22:6n-3	11.89 ^b \pm 0.89	14.05 ^b \pm 1.14	14.88 ^b \pm 1.99	24.24 ^a \pm 1.98	0.0005
Saturados	32.68 \pm 0.59	34.31 \pm 0.91	36.86 \pm 3.33	31.91 \pm 0.72	0.1092
Monoinsaturados	14.18 \pm 0.57	10.91 \pm 1.15	13.22 \pm 2.05	11.58 \pm 0.43	0.0772
PUFA + HUFA	53.14 \pm 1.11	54.78 \pm 0.77	49.92 \pm 5.36	56.53 \pm 0.29	0.3567
Total n-3	32.69 ^b \pm 0.89	38.77 ^a \pm 0.72	27.34 ^c \pm 3.87	40.63 ^a \pm 0.25	0.0003
Total n-6	14.47 \pm 1.15	12.92 \pm 0.50	16.63 \pm 4.84	11.25 \pm 0.28	0.4973
n-3/n-6	2.48 \pm 0.28	3.03 \pm 0.17	1.86 \pm 0.43	3.62 \pm 0.07	0.1100

Los promedios con superíndices distintos en un mismo renglón indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

Tabla 12. Perfil de ácidos grasos de gónadas de hembras de *Chromis limbaughi* en estado de regeneración, pero capturadas en distinta estación del año. Los valores son promedios (\pm error estándar) del % FAME identificados.

Estación	Otoño	Invierno	ANDEVA
14:0	3.76 \pm 0.33	4.56 \pm 0.83	0.4411
14:1	1.39 \pm 0.38	1.51 \pm 0.18	0.7701
16:0	24.17 \pm 3.61	25.00 \pm 1.82	0.8317
18:0	14.59 \pm 5.30	9.42 \pm 0.46	0.3060
18:1n-9	2.18 ^b \pm 0.25	11.61 ^a \pm 0.93	<0.0001
18:2n-6	0.42 ^b \pm 0.11	2.51 ^a \pm 0.20	<0.0001
18:3n-3	0.43 \pm 0.43	0.71 \pm 0.07	0.4900
20:4n-6	0.00 ^b \pm 0.00	3.70 ^a \pm 0.51	0.0004
20:5n-3	1.55 ^b \pm 0.40	6.69 ^a \pm 0.79	0.0011
22:5n-3	2.44 \pm 0.81	2.67 \pm 0.13	0.7587
22:6n-3	17.90 \pm 5.08	17.37 \pm 3.15	0.9279
Saturados	38.14 \pm 4.40	40.00 \pm 3.08	0.7312
Monoinsaturados	16.87 \pm 5.16	14.09 \pm 0.94	0.5690
PUFA + HUFA	45.00 \pm 9.55	45.91 \pm 3.84	0.9256
Total n-3	30.45 \pm 7.29	30.79 \pm 3.67	0.9661
Total n-6	10.48 \pm 2.58	9.74 \pm 1.01	0.7792
n-3/n-6	2.95 \pm 0.25	3.15 \pm 0.19	0.5227

Los promedios con superíndices distintos en un mismo renglón indican diferencias significativas ($P < 0.05$).

VI. DISCUSIÓN

VI.1. Tipo de reproducción de *C. limbaughi*

El primer aspecto sobresaliente que ha sido posible inferir en el presente estudio, es el tipo de reproducción de la damisela de Limbaugh, *C. limbaughi*. La proporción macho:hembra, cercana a 1, en combinación con el hecho de que no existen diferencias estadísticas de talla entre sexos, y que entre los peces de mayor talla pueden encontrarse indistintamente tanto machos como hembras, sin presentar dimorfismo sexual, son un indicativo contundente de que *C. limbaughi* se ajusta a un tipo de reproducción gonocorista. Adicionalmente, en el análisis histológico de gónadas nunca existió evidencia de la presencia de gametos masculinos y femeninos en un mismo individuo. Estas características son consistentes con las de otras especies pertenecientes al género *Chromis*, todas ellas reportadas como especies gonocoristas (Frédérich y Parmentier, 2016). Ejemplos de ellas son la damisela *Chromis notata*, en la que se mantienen relaciones hembra-macho de 1.3-1 (Kim et al., 2016), muy cercanas a las observadas en este estudio, y la especie *Chromis chromis*, que no muestra diferencia de tallas entre sexos (Dulcic y Kraljevic, 1994).

Por otra parte, las características de gonocorismo arriba descritas distan de aquellas observadas en especies de damiselas hermafroditas. Por ejemplo, en el hermafroditismo protógino existe una clara diferencia de talla entre sexos, siendo los machos notablemente más grandes que las hembras, como en algunas especies de la familia Pomacentridae pertenecientes al género *Dascyllus* (Asho y Yoshikawa, 2003, Hattori y Casadeval, 2016). En el hermafroditismo protándrico, la diferencia de tallas es inversa, *i.e.*, las hembras son más grandes que los machos, siendo este tipo de reproducción conocido únicamente en organismos pertenecientes al género *Amphiprion* y *Premnas* (Hattori y Casadeval, 2016).

En términos de su sistema de apareamiento, entre las especies de damiselas se ha descrito la ocurrencia de poligamia, formación de grupos durante la reproducción, en diversas especies

de damiselas. Dentro de las especies polígamas se reconocen dos grupos principales, especies poligínicas y especies promiscuas. Las primeras son aquellas caracterizadas por la formación de harems, grupos en los que uno o dos machos y numerosas hembras ocupan un nicho específico muy restringido. Este comportamiento normalmente da origen a una mayor proporción de hembras que de machos en su estructura poblacional (Fishelson, 1998). A este respecto, cabe mencionar que durante las inmersiones realizadas en el presente estudio no se observó la formación de harems, lo que, en conjunto con la proporción macho:hembra encontrada (cercana a 1), no sugiere la ocurrencia de poligamia poligínica en *C. limbaughi*. El segundo grupo de especies que presentan poligamia es conocido como especies promiscuas, en las que las hembras realizan el desove con la participación de varios machos (Fishelson, 1998). A pesar de que durante las capturas del presente estudio no se realizaron observaciones del apareamiento o de aspectos específicos del comportamiento reproductivo (excepto por la ausencia de harems), el cúmulo de características observadas en *C. limbaughi*, e.g., paridad de tallas, gonocorismo, proporción macho:hembra cercana a 1 y ausencia de harems, sugieren que el sistema de apareamiento de esta especie es polígamo promiscuo.

VI.2. Análisis de la madurez gonadal

VI.2.1. Análisis histológico

El análisis de los estadios de madurez gonadal mediante la técnica histológica reveló claras tendencias en función de las estaciones del año. En primavera, se observó una gran predominancia de hembras (95%) y machos (más del 90%) con gónadas catalogadas como en desarrollo, es decir, en la fase preparatoria previa inmediata a la reproducción, pero también se observaron hembras maduras, con gónadas capaces de desovar, lo que sugiere que existe actividad reproductiva desde esta estación del año. En verano, el 50% de las hembras se encontraba en fase capaz de desovar y el 50% ya había realizado el desove, en tanto que la totalidad de los machos tuvieron gónadas capaces de la reproducción, indicando que en el verano es la estación en la que se lleva a cabo la mayor actividad reproductiva de esta especie. El cese en la actividad reproductiva fue muy evidente a partir del otoño, estación en la que la totalidad

de las hembras presentó gónadas en estadio de regeneración, en tanto que en machos solamente se observaron los estadios de regresión y regeneración, siendo la suspensión de la actividad reproductiva aún más marcada en invierno, estación en la que se observó solamente el estadio de regeneración en la totalidad de hembras y machos. A partir de estos estudios, es posible concluir que la época reproductiva de *C. limbaughi* ocurre en las estaciones de primavera y verano, abarcando al menos los meses de mayo a septiembre. Este periodo reproductivo es similar al de otras especies de damiselas de la familia Pomacentridae del Golfo de California que también habitan arrecifes rocosos, tales como *Stegastes rectifraenum*, *Microspathodon dorsalis* y *A. troschellii*, para las que se han reportado épocas reproductivas durante los meses de marzo-octubre, abril-octubre y abril-octubre, respectivamente (Hernández-Olalde, 2008). Así mismo, se han reportado épocas reproductivas similares para otras damiselas del género *Chromis*, pero que habitan otras regiones geográficas (Hattori y Casadevall, 2016), así como para otros peces no pomacéntridos, como lo son algunas especies de pargos, meros y jureles (Echeverría, 1987; Sala *et al.*, 2003).

Un aspecto adicional a resaltar en los resultados del análisis histológico en el presente estudio es la presencia de células en distintas fases vitelogénicas en las gónadas de hembras, sugiriendo que no todos los gametos alcanzan de manera sincrónica un mismo grado de madurez. Este patrón de heterogeneidad es indicativo de especies cuyos desoves son parciales, es decir, aquellas que expulsan o desovan una parte de los gametos contenidos en la gónada y, por lo tanto, pueden ovipositar más de una vez a lo largo de una estación reproductiva (Brown-Peterson, 2011). De este modo, los análisis histológicos del presente estudio indican que la damisela de Limbaugh, *C. limbaughi*, es un desovador parcial.

VI.2.2. Análisis macroscópico

Únicamente en el caso de hembras con gónadas listas para el desove existió una correspondencia entre el análisis histológico y el análisis macroscópico, en el que pudo observarse que este tipo de gónadas, de relativamente mayor tamaño, ocupan una mayor proporción de la cavidad abdominal, tienen coloración anaranjada, textura turgente y granulosa y vasos sanguíneos prominentes (Figura 13). Sin embargo, la identificación de estadios de maduración posteriores

en hembras, así como todos los estadios de maduración en machos, utilizando únicamente características macroscópicas, resultó muy incierta, por lo que es necesario recurrir a análisis histológicos.

VI.3. Datos merísticos y biológicos

VI.3.1. Longitud y peso

Las tallas mínimas y máximas de individuos de *C. limbaughi* capturados a lo largo de las cuatro estaciones del año, en términos de longitud total, de 6.4 y 13.8 cm, respectivamente, para machos, y de 7.2 y 12.7 cm, respectivamente, para hembras, son congruentes con reportes previos de talla para esta especie, que oscilan entre 1.05 y 11.33 cm (Balart *et al.*, 2006). Un hallazgo interesante del presente estudio es la longitud estándar máxima de 10.5 cm, encontrada en machos, que supera la talla máxima reportada anteriormente, de 10.0 cm, para esta especie (Fischer *et al.*, 1995).

Por otra parte, los datos de longitud y peso encontrados en el presente estudio posicionan a *C. limbaughi* como una especie de talla mediana entre las damiselas del mismo género. Por ejemplo, *Chromis fieldi* tiene una talla menor que oscila entre 1.50 y 5.70 cm de longitud estándar (Randall y DiBattista, 2013), mientras que los individuos de la especie *Chromis crusma* son más grandes, con longitudes totales entre 1.44 y 24.50 cm (Pequeño *et al.*, 2004).

VI.3.2. Índices biológicos

VI.3.2.1. Índice hepatosomático

El índice hepatosomático de machos y hembras tuvo sus mayores valores en el muestreo de primavera, momento en las gónadas de ambos sexos, en su amplia mayoría, se encontraban en el estadio denominado en desarrollo, es decir, en una fase de activa síntesis, preparatoria a la maduración. Este hallazgo concuerda con el papel que este órgano desempeña no solamente en la acumulación de energía bajo la forma de lípidos, sino en la formación de vitelo (González y Oyarzún, 2002). La disminución significativa observada en el IHS de peces de ambos sexos hacia el muestreo de verano es explicada por la transición del estadio en desarrollo al estadio

maduro, en el que la reproducción se lleva a cabo (Qasim, Vitale *et al.*, 2006; McMillan, 2007; Craig *et al.*, 2000). En hembras, el hígado cesa su actividad sintética en la producción de vitelo y reduce su tamaño, mientras que, en machos, el drástico decremento del IHS puede atribuirse al esfuerzo realizado durante la fecundación y al cuidado de los huevos, ya que típicamente, las especies pertenecientes a la familia Pomacentridae proveen cuidados parentales durante la incubación, creando, con sus aletas pectorales corrientes de agua suaves y constantes sobre los huevos para oxigenarlos (Ridley, 1978, Hattroi *et al.*, 2016). De hecho, se ha reportado que, durante esta etapa, en algunas especies del género *Chromis*, los peces pueden reducir su ingesta alimenticia hasta un 85% (Robertson, *et al.*, 1990; Gladstone, 2007).

La relativa recuperación en los niveles del IHS observadas en ambos sexos en otoño e invierno puede explicarse, en primer lugar, por la supresión de procesos reproductivos que demandan alto consumo de energía (Hilder y Pankurst, 2003). Y aunado a esto, por la ocurrencia de surgencias en el Golfo de California durante los meses fríos, que traen consigo de aguas ricas en nutrientes que promueven la productividad primaria de la región y, por consiguiente, crean una mayor disponibilidad de alimento, (Valdéz-Holguín y Lara-Lara, 1987), permitiendo la recuperación de las reservas hepáticas.

VI.3.2.2. Índice gonadosomático

El desarrollo gonadal en ambos sexos, evaluado en términos del índice gonadosomático (IGS), fue mayor en las estaciones de primavera y verano, en las que se observaron gónadas maduras y evidencia de actividad reproductiva. En cambio, el IGS disminuyó notablemente en las estaciones de otoño e invierno, en las que no se observaron indicios de actividad reproductiva.

La variación estacional del índice gonadosomático correspondió de manera muy cercana con las evaluaciones de madurez gonadal, mostrando en ambos sexos un notorio incremento en el tamaño del tejido gonádico durante el estadio catalogado como en desarrollo durante la primavera. Esto es resultado de activa vitelogénesis encaminada a una completa maduración en hembras (Valdebenito *et al.* 2011), y de espermatogénesis en machos, proceso proliferativo durante el cual se producen espermatozoides haploides provenientes de espermatogonias (Rey-Vázquez, 2012). Como resultado de estos procesos, el IGS alcanzó su máximo nivel en el verano

en ambos sexos, momento de plena madurez en el que se lleva a cabo la reproducción, un fenómeno que ha sido observado también en la damisela sargento, *Abudefduf saxatilis* (Bessa, et al., 2007). El IGS disminuyó notablemente en las estaciones de otoño e invierno, en las que no se observaron indicios de actividad reproductiva. En hembras, esto es resultado de la expulsión de los ovocitos y la reabsorción de células residuales y folículos postovulatorios, y en machos, de la expulsión de espermatozoos durante la fecundación y la posterior reabsorción de espermatozoos residuales (Duclic y Kraljevic, 1943).

V.3.2.3. Factor de condición

En algunas especies de peces marinos teleósteos, los cambios estacionales en el factor de condición están relacionados con la maduración gonadal (Qasim, 1973). Por ejemplo, para el pez escorpión del Golfo de California, *Scorpaena mystes*, es posible identificar estadios de madurez avanzada utilizando como índice el factor de condición, que aumenta notablemente durante el verano como resultado del incremento en el tamaño del tejido gonadal (Jakes-Cota *et al.*, 2017). Este fenómeno es de gran utilidad en especies de peces para las que esta relación se cumple, pues permite evaluar la madurez gonadal evitando el sacrificio de organismos. En el caso de *C. limbaughi*, no se detectaron diferencias en el factor de condición de hembras en las distintas estaciones del año, ni al agruparse por estadio de desarrollo. En machos, a pesar de que se detectaron diferencias significativas en este parámetro, éstas no siguieron un patrón definido, observándose, por ejemplo, que los valores de K no fueron más altos en el verano, como era de esperarse, sino en la primavera, y que se registraron valores altos de K también en el invierno. Por lo anterior, el factor de condición no representa un índice adecuado para estimar la madurez gonadal en *C. limbaughi*.

VI.4. Talla de primera madurez sexual

La estimación de la talla de primera madurez sexual en *C. limbaughi* fue de 7.90 cm para machos y de 7.59 cm para hembras. Este parámetro es de importancia especialmente en especies explotadas con fines de alimentación, ya que ayuda a establecer una talla mínima de captura, permitiendo una explotación más racional y sustentable (FAO, 2005). *C. limbaughi* presenta

una coloración más intensa y atractiva durante sus fases juveniles, siendo esta la librea preferida en el comercio de acuariofilia. Sus colores palidecen y se tornan menos brillantes a medida que alcanza mayor talla. En consecuencia, a partir de los hallazgos del presente estudio, es evidente que los peces sexualmente inmaduros son precisamente el blanco de la pesca comercial con fines de acuariofilia, lo que puede poner en riesgo sus poblaciones naturales, ya que impide el reclutamiento de los organismos jóvenes a la población adulta. Esto pone de manifiesto la importancia de desarrollar técnicas de reproducción de esta especie en cautiverio, para lo cual la talla de primera madurez sexual aquí descrita será de gran utilidad práctica.

VI.5. Análisis proximal

La composición proximal de las gónadas varió con la estación del año de manera significativa, respecto a los contenidos de humedad, cenizas y proteína en machos, y al contenido de cenizas en hembras, pero sin mostrar tendencias claras. Dentro de las características que parecen seguir un patrón con sentido biológico, puede señalarse el mayor contenido de cenizas en gónadas de peces de ambos sexos muestreados en verano, siendo este valor significativamente mayor que aquellos registrados en primavera y otoño en machos, y significativamente mayor que aquellos registrados en primavera y otoño, pero no en invierno, en hembras. El mayor contenido de cenizas registrado en verano puede explicarse en términos de la activa movilización de nutrientes a este tejido durante la maduración gonadal, incluyendo minerales (Chandrasekhara-Rao y Krishnan, 2011).

El porcentaje de humedad en gónadas de hembras no varió significativamente con la estación del año, de forma similar a los reportado para el mero, *Epinephelus diacanthus*, especie cuyos ovarios no muestran diferencias significativas durante los estadios de desarrollo correspondientes a inmaduro, en desarrollo y capaz de desovar (Chandrasekhara-Rao y Krishnan, 2011).

La grasa y proteína cruda, principales constituyentes del vitelo, son objeto de activa síntesis y movilización hacia las gónadas durante la maduración, provocando un aumento en su volumen (Chandrasekhara-Rao y Krishnan, 2011). En este sentido, se esperaba observar dicha tendencia en las gónadas de *C. limbaughi*, particularmente en los meses de mayor actividad

reproductiva, primavera y verano. Sin embargo, no se observaron variaciones estacionales significativas de grasa o proteína cruda en hembras, ni de grasa cruda en machos, y las diferencias estadísticas observadas únicamente en el contenido de proteína cruda en machos no siguió una tendencia clara. A partir de estos resultados, es aparente que el contenido proximal de gónadas de *C. limbaughi* no se ajusta a lo observado en otras especies de peces marinos (Wiegand, 1996).

VI.6. Perfil de ácidos grasos

Los ácidos grasos son moléculas que desempeñan un papel fundamental en los organismos, encontrándose como componentes estructurales de triglicéridos, fosfolípidos, lipoproteínas y esteroides (Vance y Vance, 2008). Por su bien conocido papel como el macronutriente con mayor contenido calórico (Laham, 2002), son utilizadas como reserva energética en los ovocitos de peces y otros organismos (Chandrasekhara-Rao y Krishnan, 2011). En ovocitos, las principales reservas energéticas están conformadas por lipoproteínas, que están constituidas principalmente por lípidos polares. Por su carácter polar hidrofóbico, los ácidos grasos deben ser transportados en un conglomerado de lípidos y apolipoproteínas de carácter anfipático. Estas lipoproteínas se componen principalmente de fosfatidilcolina y fosfatidiletanolamina (Wiegand, 1996), que son fosfolípidos compuestos principalmente de ácido palmítico o esteárico y ácidos grasos de cadena larga, entre los que destacan los ácidos grasos poliinsaturados y altamente insaturados (Vance y Vance, 2008).

Tanto en machos como en hembras, existen dos aspectos principales a destacar en el perfil de ácidos grasos de gónadas de *C. limbaughi*. En primer lugar, los constituyentes mayoritarios fueron, dentro de los ácidos grasos saturados, el ácido palmítico (16:0) y el ácido esteárico (18:0); dentro de los ácidos grasos monoinsaturados, el ácido oleico (18:1n-9); dentro de los ácidos grasos de la familia n-3, el DHA y EPA, y dentro de los ácidos grasos de la familia n-6, el ARA. La mayor abundancia relativa de estos ácidos grasos ha sido reportada también para otras especies de la misma región geográfica, como el pez ángel rey, *Holacanthus passer* (Urquidez-Bejarano *et al.*, 2016) y muy probablemente refleja el perfil nutricional del alimento

disponible para los peces a través de las cadenas tróficas de esta región, y/o la retención selectiva de estos ácidos grasos en dicho tejido (González-Félix *et al.*, 2002; D'Abramo y Sheen, 1993).

Como resultado de la activa síntesis de nutrientes durante la maduración gonadal, las concentraciones de ácidos grasos suelen acumularse en gónadas maduras, para después disminuir considerablemente tras los eventos reproductivos, como se ha reportado para muchas especies de peces como el pez ángel rey, *H. passer* y otras (Piironen y Hyvarinen, 1983; Chandrasekhara-Rao y Krishnan, 2011; Urquidez-Bejaran *et al.*, 2016). Este fenómeno no parece cumplirse para *C. limbaughi*, ya que las proporciones relativas de muchos de los ácidos grasos individuales, incluyendo aquellos mayoritarios, tuvieron diferencias estadísticas, pero sin existir tendencias claras. Al agruparlos, estas diferencias ya no fueron detectadas. Es razonable asumir que los perfiles de ácidos grasos detectados son reflejo de las cadenas tróficas de las que se sirve *C. limbaughi*, como se ha reportado para otras especies (Sushchik *et al.*, 2017).

VII. CONCLUSIONES

- Se determinó que la damisela de Limbaugh, *Chromis limbaughi*, es una especie gonocorista, sin dimorfismo sexual, con comportamiento gregario y territorial, que habita refugios tales como cuevas rocosas.
- Con base en el análisis histológico de gónadas, se determinó que *C. limbaughi* tiene una época reproductiva durante las estaciones de primavera y verano, abarcando por lo menos los meses de mayo a septiembre.
- Los análisis histológicos del presente estudio indican que la damisela de Limbaugh, *C. limbaughi*, es un desovador parcial.
- El análisis de características macroscópicas de las gónadas, tales como tamaño, color, consistencia, etc., permitió identificar con cierto grado de precisión gónadas maduras (capaces de desovar) en hembras, pero no gónadas en otros estadios de desarrollo, y tampoco en ninguno de los estadios de desarrollo gonadal en machos.
- La talla de primera madurez sexual en *C. limbaughi* fue de 7.90 cm para machos, con límites de confianza (95%) inferior de 7.05 cm de superior de 8.85 cm, mientras que en hembras fue de 7.59 cm, con límites de confianza inferior de 6.82 cm de superior de 8.44 cm.
- Se reporta una nueva talla máxima de la damisela de Limbaugh, *C. limbaughi*, con una longitud estándar de 10.5 cm, que supera la talla máxima reportada anteriormente para esta especie, de 10.0 cm.
- El índice gonadosomático fue mayor en las estaciones de primavera y verano, en las que se observaron gónadas maduras y evidencia de actividad reproductiva. En cambio, disminuyó notablemente en las estaciones de otoño e invierno, en las que no hay actividad reproductiva.

- El índice hepatosomático de machos y hembras tuvo sus mayores valores en el muestreo de primavera, momento en las gónadas de ambos sexos, en su amplia mayoría, se encuentran en fase de activa síntesis, preparatoria a la maduración.
- El factor de condición no representa un índice adecuado para estimar la madurez gonadal en *C. limbaughi*.
- La composición proximal de las gónadas varió con la estación del año de manera significativa en cuanto a los contenidos de humedad, cenizas y proteína en machos, y en cuanto al contenido de cenizas en hembras, pero sin mostrar tendencias claras.
- En el perfil de ácidos grasos de las gónadas de ambos sexos, los constituyentes mayoritarios fueron, dentro de los ácidos grasos saturados, el ácido palmítico (16:0) y el ácido esteárico (18:0); dentro de los ácidos grasos monoinsaturados, el ácido oleico (18:1n-9); dentro de los ácidos grasos de la familia n-3, el DHA y EPA, y dentro de los ácidos grasos de la familia n-6, el ARA.

VIII. RECOMENDACIONES

- Para el manejo de la especie en cautiverio con fines de reproducción, se recomienda mantener a los organismos entre 20 y 27°C, así como en fotoperiodos entre 12.4 y 13.5 horas luz, rango similar al encontrado en la región de San Esteban durante las estaciones de primavera y verano.
- Con el fin de puntualizar aún más la época reproductiva, se recomienda realizar un futuro estudio anual con muestreos mensuales, o abarcando los meses de inicio de primavera (marzo) y hasta el otoño (octubre).
- Se recomienda realizar estudios observacionales sobre el comportamiento reproductivo de la especie en el medio natural.

IX. LITERATURA CITADA

- Angelescu, V., F. S. Gneri y A. Nani. 1958. La merluza del mar argentino (Biología y Taxonomía). Hidrografía Naval. Buenos Aires, Argentina.
- Asoh, K., T. Yoshikawa y M. Kasuya. 2001. Gonadal development and non-functional protogyny in coral-reef damselfish, *Dascyllus albisella* Gill. *Journal of Fish Biology* 58:1601-1616. doi: 10.1111/j.1095-8649.2001.tb02315.x
- Asoh, K. y K. Maiko. 2002. Gonadal development and mode of sexuality in a coral-reef damselfish, *Dascyllus trimaculatus*. *Journal of Zoology, London* 256:301-309.
- Asoh, K. y Y. Tomoko. 2003. Gonadal development and an indication of functional protogyny in the Indian Damselfish (*Dascyllus carneus*). doi: 10.1017/S0952836902000341
- AOAC. 2005. Official Methods of Analysis. Association of Official Analytical Chemists, Arlington, VA, USA.
- Balart, E. F., A. González-Cabello, R. C. Romero-Ponce, A. Zayas-Alvarez, M. Calderón-Parra, L. Campos-Dávila y L. T. Findely. 2006. Length-weight relationship of cryptic reef fishes from the southwestern Gulf of California México. *Journals of Applied Ichthyology* 22:316-318. doi:10.1111/j.1439-0426.2006.00670
- Bapary, M. A. J., P. Fainulelei y A. Takemura. 2009. Environmental control of gonadal development in the tropical damselfish *Chrysiptera cyanea*. *Marine Biology Research* 5:462-469. doi:10.1080/17451000802644722
- Bapary, M. A. J. y A. Takemura. 2010. Effect of temperature and photoperiod on the reproductive condition and performance of a tropical damselfish *Chrysiptera cyanea* during different phases of the reproductive season. *Fisheries Science* 76:769-776. doi: 10.1007/s12562-010-0272-0
- Bessa, E., J. Ferraz-Dias y A. M. De Souza. 2007. Rare data on a rocky fish reproductive biology: Sex ratio, length of first maturation and spawning period of *Abudefduf saxatilis* (Linnaeus, 1758) with notes on *Stegastes variabilis* spawning period (Perciformes: Pomacentridae) in Sao Paulo, Brazil. *Brazilian Journal of Oceanography* 55(3):199-206. doi: 10.1590/S1679-87592007000300004
- Breder, C. M. y D. E. Rosen. 1966. Modes of reproduction in fishes. T.F.H. Publications, Neptune City, New Jersey.
- Brown-Peterson, N. J., D. M. Wyanski, F. Saborido-Rey, B. J. Macewicz y S. K. Lowerre-Barbieri. 2011. A Standardized Terminology for Describing Reproductive

- Development in Fishes. Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science 3:52-70. doi: 10.1080/19425120.2011.555724
- Castelló-Orivay, F. 2013. Piscicultura Marina en Latinoamérica. Univesitat de Barcelona. Barcelona, España.
- Chandrasekhara-Rao, A., y L. Krishnan. 2011. Biochemical composition and changes in biological índices associated with maturation of the ovary in the spiny cheek grouper *Epinephelus diacanthus* (Valenciennes, 1828). Indian Journal of Fisheries 58(2):45-52.
- Chatzifotis, S., P. Muje, M. Pavlidis, J. Agren, M. Paalavuo y H. Molsa. 2004. Evolution of tissue composition and serum metabolites during gonadal development in the common dentex (*Dentex dentex*). Aquaculture 236:557-573. doi: 10.1016/j.aquaculture.2003.12.004
- D'Abramo, L.R. y S. S. Sheen, 1993. Polyunsaturated fatty acid nutrition in juvenile freshwater prawn *Macrobrachium rosenbergii*. Aquaculture 115: 63-86. doi:10.1016/0044-8486(93)90359-7
- Delbare, D., P. Lavens, y P. Sorgeloos. 1995. Clownfish as a reference model for nutritional experiments and determination of egg/larval quality. Fish & Shellfish Larviculture Symposium 24: 22-25. Lavens, P., E. Jaspers y E. Roelants. Larvi 1995. European Aquaculture Society.
- Dulcic, J. y M. Kraljevicdd. 1995. Age, growth and mortality of damselfish (*Chromis chromis* L.) in the eastern middle Adriatic. Fisheries research 22:255-264. doi: 10.1016/0165-7836(94)00318-Q
- Edwards, P. 2015. Aquaculture environment interactions: Past, present and likely future trends. Aquaculture 447:2-14. doi: 10.1016/j.aquaculture.2015.02.001
- FAO. 2005. Guía del administrador pesquero. Cochrane, K.L. Roma, Italia.
- FAO, 2014. The State of World Fisheries and Aquaculture 2014. FAO Fisheries and Aquaculture Department, Roma, Italia.
- Fischer, W., F. Krupp, W. Schneider, C. Sommer, K.E. Carpenter y V. H. Niem. 1995. Guía FAO para la identificación de especies para los fines de la pesca. Pacífico-centro oriental. Volumen III. Vertebrados (2). Roma Italia.
- Fishelson, L. 1998. Behaviour, socio-ecology and sexuality in damselfishes (Pomacentridae). Italian Journal of Zoology 65:387-398. doi: 10.1080/11250009809386853
- Folch, J., M. Lees y G. H. Sloane. 1957. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. Journal of Biological Chemistry 1:497-509.
- Frédérich, B. y E. Parmentier. 2016. Biology of Damselfishes. CRC Press. New York, USA.
- García-Crúz, E. L., K. T. Peña-Osorio, E. Gómez-Ramírez y H. Hurtado-Giraldo. 2014. Efecto del pH sobre la proporción oocitaria de *Paracheirodon axelrodi*, en cautiverio. Orinoquia 18(2):25-37.
- Gaviño de la Torre, G., C. Juárez-López, H. y H. Figueroa-Tapia. 1972. Técnicas biológicas selectas de laboratorio y de campo. Limusa. D.F., México.

- Gijón-Díaz, D., H. Reyes-Bonilla, T. P. Guerrero-cha y F. J. Fernández-Rivera Melo. 2017. Potencial económico de la captura de peces de ornato bajo protección federal en México. *Revista de Biología Tropical* 65:195-210.
- Gluyas-Millán, M.G. 1994. Reproducción, edad y talla de primera madurez de la macarela *Scomber japonicus* (Houttuyn 1872) en Bahía Vizcaíno. *Ciencias Marinas* 20(3):409-419.
- Gladstone, W. 2007. Temporal patterns of spawning and hatching in a spawning aggregation of the temperate reef fish *Chromis hypsilepis* (Pomacentridae). *Marine Biology* 151:1143-1152. doi: 10.1007/s00227-006-0555-2.
- González-Félix, M. L., A. L. Lawrence, D. M. Gatlin III y M. Perez-Velazquez. 2002. Growth, survival and fatty acid composition of juvenile *Litopenaeus vannamei* fed different oils in the presence and absence of phospholipids. *Aquaculture* 205:325-343. doi: 10.1016/S0044-8486(01)00684-6
- González, P. y C. Oyarzún. 2002. Variabilidad de índices biológicos en *Pinguipes chilensis* Valenciennes 1833 (Perciformes, Pinguipedidae): Estarán realmente correlacionados? *Gayana* 66(2):249-253. doi: 10.4067/S0717-65382002000200023
- Greenfield, D. W. y L. P. Woods. 1980. Review of the Deep-bodied Species of *Chromis* (Pisces: Pomacentridae) from the Eastern Pacific, with Descriptions of Three New Species. *Copeia* 4:626-641.
- Groove, J. S., D. Gerzon, M. D. Saa y C. Strang. 1986. Distribución y ecología de la familia Pomacentridae (Pisces) en las Islas Galápagos. *Revista de Biología Tropical* 34:127-140.
- Haddy, J. A. y N. W. Pankhurst. 2000. The effects of salinity on reproductive development, plasma steroid levels, fertilization and egg survival in black bream *Acanthopargus butcheri*. *Aquaculture* 188:115-131. doi: 10.1016/S0044-8486(00)00326-4
- Hattori, A. y M. Casadevall. 2016. Sex Change Strategies and Group Structure of Damselfishes. 55-82 En: B. Frédérick y E. Parmentier (Eds). *Biology of Damselfishes*. CRC Press. New York, USA.
- Henderson, R. J. y S. M. Almatar. 1989. Seasonal changes in the lipid composition of herring (*Clupea harengus*) in relation to gonad maturation. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom* 69:323-334. doi: 10.1017/S0025315400029441
- Hernández-Olalde, L. 2008. Ecología reproductiva de peces de arrecife rocoso del suroeste del Golfo de California. Tesis Doctoral. Instituto Politecnico Nacional. 173.
- Hilder, M. I. y N. W. Pankhurst. 2003. Evidence that temperature change cues reproductive development in the spiny damselfish, *Acanthochromis polycanthus*. *Environmental Biology of Fishes* 66:187-196. doi: 10.1023/A:1023601729203
- Holden M. J. y D. F.S. Raitt. 1975. *Manual de Ciencia Pesquera*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma, Italia.
- Humason, L.G., 1979. *Animal Tissue Techniques*, 4th edition. W.H. Freeman and Company, San Francisco.

- Jakes-Cota, U., A. Tripp-Valdez y F. O. López-Fuerte. 2017. Length-weight relationship and relative condition factor of the Stone Scorpionfish *Scorpaena mystes* in the central area of the Gulf of California, México. *Hidrobiológica* 27(1):127-129.
- Kim, H. J., J. H. Na y C.-W. Oh. 2016. Age and growth of damselfish *Chromis notata* (Temminck y Schlegel, 1843), Jesu Islando, Korea. *Journal of Applied Ichthyology*. doi: 10.1111/jai.13137
- Kokokiris, L., B. Mourot, F. Le Menn, M. Kentouri, y A. Fostier. 2000. Endocrine changes during the annual reproductive cycle of the red porgy, *Pagrus pagrus* (Teleostei, Sparidae). *Fish Physiology and Biochemistry* 23:1–11. doi: 10.1023/A:10078828
- Kucharczyk, D., K. Targonska, D. Zarski, S. Krejszeff, K. Kupren, M. J. Luczynski y A. Szczerbowski. 2010. The Reproduction of Neon Tetra *Paracheirodon innesi* (Myers, 1936) under Controlled Conditions. *Polish Journal of Natural Sciences* 25(1):81-92. doi: 10.2478/v10020-010-0006-x
- Lam, T. J. 1983. Environmental Influences on Gonadal Activity in Fish. *Fish Physiology* 9:65-116. doi: 10.1016/S1546-5098(08)60302-7
- Lango-Reynoso, F., M.C. Chávez, J.E. Zamora-Castro, G. Hernández-Zárate, M.A. Ramírez-Barragán y E. Solís-Morán. 2012. La acuariofilia de especies ornamentales marinas: un mercado de retos y oportunidades. *Latin American Journal of Aquatic Research* 40:12-21. doi: 10.4067/S0718-560X2012000100002
- Latham, M.C. 2002, *Nutrición humana en el mundo en desarrollo*. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Roma. <http://www.fao.org/docrep/006/w0073s/w0073s00.htm>
- Lee, C. H., Y. J. Park y Y. D. Lee. 2017. Effects of photoperiod manipulation on gonadal activity of the damselfish, *Chromis notata*. *Development & Reproduction* 21(2):223-228. doi: 10.12717/DR.2017.21.2.223
- Lowerre-Barbieri, S. K., K. Ganas, F. Saborido-Rey, H. Murua y J. R. Hunter. 2011. Reproductive timing in marine fishes: variability, temporal scales, and methods. *Marine and Coastal Fisheries: Dynamics, Management, and Ecosystem Science* 3:71-91. doi: 10.1080/19425120.2011.556932
- Martínez-Torres, M., H. Reyes-Bonilla, F. J. Fernández-Rivera Melo, I. Sánchez-Alcántara, O. T. González-Cuellar y C. D. Morales-Portillo. 2014. Range extension of the blue and yellow damselfish *Chromis limbaughi* (Pomacentridae) to the norther Gulf of California, México. *Marine Biodiversity Records* 7:1-5. doi: 10.1017/S1755267214000281
- Moretti, A., M. P. Fernandez-Criado, G. Cittolin, y R. Guidastri. 2009. *Manual on hatchery production of seabass and gilthead seabream*. FAO, Roma, Italia, 151 pp.
- Mozsár, A., G. Boros, P. Sály, L. Antal y S. A. Nagy. 2014. A Relationship between Fulton's condition factor and proximate body composition in three freshwater fish species. *Journal of Applied Ichthyology* 31(2):315-320. doi: 10.1111/jai.12658

- Padilla, D. K. y S. L. Williams. 2004. Beyond ballast water: aquarium and ornamental trades as sources of invasive species in aquatic ecosystems. *Frontiers in Ecology and the Environment* 2:131-138. doi: 10.1890/1540-9295(2004)002[0131:BBWAAO]2.0.CO:2
- Pequeño, G., L. Vargas y A. Riedemann. 2005. La castañeta *Chromis crusma* (Valenciennes, 1833) en la costa de Valdivia, con comentarios sobre el género *Chromis* Cuvier, 1814, en aguas chilenas (Osteichthyes: Pomacentridae). *Investigacion Marina Valparaiso* 33(1):101-107. doi: 10.4067/S0717-71782005000100007
- Planas, J. V. y P. Swanson. 2008. Physiological function of gonadotropins in fish. 37-66. M. J. Rocha, A. Arukwe y B. G. Kapoor. *Fish reproduction*. Science Published, Enfield, New Hampshire.
- Pirronen, J. y H. Hyvarinen. 1983. Composition of the milt of some teleost fishes. *Journal of Fish Biology* 22:351-361. doi: 10.1111/j.1095-8649.1983.tb04757.x
- Qari, S., S. Moharram, y S. Alowaidi. 2014. Fatty acids in female's gonads of the Red Sea fish *Rhabdosargus sarba* during the spawning season. *Journal of Coastal Life Medicine* 2(5):411-415. doi: 10.12980/JCLM.2.201414J21
- Qasim, S. Z. 1973. An appraisal of the studies on maturation and spawning in marine teleosts from the Indian waters. *Indian Journal of Fisheries* 20(1):164-181.
- Randall, J. E. y J. D. DiBattista. 2013. A new species of damselfish (Pomacentridae) from the Indian Ocean. *Aqua, International Journal of Ichthyology* 19: 1-21. DOI:
- Reyes-Bonilla, H., M. D. Herrero-Pérezrul y F. J. Fernández-Rivera Melo. Aspectos económicos de recursos pesqueros no tradicionales, residentes en zonas arrecifales del Golfo de California. Cap. 11: 245-264 pp. José I. Urciaga García, Luis F. Beltran Morales y Daniel Luch Belda. 2009. *Recursos marinos y servicios ambientales en el desarrollo regional*. Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste. 347 pp.
- Rey-Vázquez, G. 2012. Espermatogénesis, ciclo reproductivo anual y parámetros hematológicos de *Cichlasoma dimerus* (Telostei, Perciformes). Efecto de la exposición a 2-tert-octilfenol. Tesis doctoral. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Exactas y Naturales 145pp.
- Rideout, R. M., G. A. Rose y M. P. M. Burton. 2005. Skipped spawning in female iteroparous fishes. *Fish and Fisheries*. 6:50-72
- Robertson, D.R., C.W. Petersen y J.D. Brawn. 1990. Lunar reproductive cycles of benthic-brooding reef fishes: reflections of larval biology or adult biology?. *Ecol. Monogr.* 60:311-329. doi: 10.2307/1943060
- Rubio-Godoy, Miguel. 2010. Inmunología de los peces óseos: revisión. *Revista de Ciencias Pecuarias* 1:47-57.
- Sala, E., O. Aburto-Oropeza, G. Paredes y G. Thompson. 2003. Spawning aggregations and reproductive behavior of reef fishes in the Gulf of California. *Bulletin of Marine Science*. 72:103-121.

- Shin, H. S., N. N. Kim, Y. J. Choi, H. R. Habibi, J. W. Kim y C. Y. Choi. 2013. Light-emitting diode spectral sensitivity relationship with reproductive parameters and ovarian maturation in yellowtail damselfish, *Chrysiptera parasema*. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology 127:108-113. doi: 10.1016/j.jphotobiol.2013.07.026
- Sushchik, N. N., Rudchenko, A. E., y M. I. Gladysheva. 2017. Effect of season and trophic level on fatty acid composition and content of four commercial fish species from Krasnoyarsk Reservoir (Siberia, Russia). Fisheries Research 187:178-187.
- Tyler, William A., Frank G. Stanton. 1995. Potential Influence of Food Abundance on Spawning Patterns in a Damselfish *Abudefduf abdominalis*. Bulletin of Marine Science 57:610, 623.
- Tyler, P. y J. P. Sumpter. 1996. Oocyte growth and development in teleosts. Reviews in Fish Biology and Fisheries 6:287-318. doi: 10.1007/BF0012258
- Ricker, W.E. (1975) Computation and interpretation of biological statistics of fish populations. B Fish Res Board Can 191:1-382.
- Udupa, K.S. 1986. Statistical method of estimating the size at first maturity in fishes. Fishbyte, The World Fish Center, Vol. 4(2):8-10.
- Urquidez-Bejarano, P., M. Perez-Velazquez, M.L. González-Félix y R. Castro-Longoria. 2016. Fatty acid and proximate composition of wild male and female king angelfish (*Holacanthus passer*) gonads during the ripe and spent developmental stages. Animal reproduction 13(4):820-829. doi: 10.21451/1984-3143-AR836
- Valdebenito, I. (2008) Terapias hormonales utilizadas en el control artificial de la madurez sexual en peces de cultivo: una revisión. Archivos de Medicina Veterinaria 40:115-123.
- Valdéz-Holguín, J. E. y J. R. Lara-Lara. 1987. Productividad primaria en el Golfo de California Efectos del evento el niño 1982-1983. Ciencias Marinas 13:34-50. doi: 10.7773/cm.v13i2.533
- Vance, D. E. y J. E. Vance. 2008. Phospholipid biosynthesis in eukaryotes. Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes 5:213-244. doi: 10.1016/B978-044453219-0.50010-6
- Wabnitz, C., M. Taylor, E. Green y T. Razak. 2003. From ocean to aquarium: the global trade in marine ornamental species. UNEP World Conservation Monitoring Centre. Cambridge, UK.
- Wiegand, M. D. 1996. Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. Reviews in Fish Biology and Fisheries 6:259-286. doi: 10.1007/BF0012258
- Wyllie-Echeverria, Tina. 1987. Thirty-four species of California rockfishes: Maturity and seasonality of reproduction. Fishery bulletin 86(2):229-250
- Wiegand, M.D. 1996. Composition, accumulation and utilization of yolk lipids in teleost fish. Reviews in Fish Biology and Fisheries 6:259-286.
- Zohar, Y., J. Muñoz-Cueto, A. Elizur y O. Kah. 2010. Neuroendocrinology of reproduction in teleost fish. General and Comparative Endocrinology. 165:438-455.

ANEXO 1

SEMARNAT SECRETARÍA DE MEDIO AMBIENTE Y RECURSOS NATURALES		SUBSECRETARÍA DE GESTIÓN PARA LA PROTECCIÓN AMBIENTAL DIRECCIÓN GENERAL DE VIDA SILVESTRE Oficio N° SGPA/DGVS/ 06436 /17
Ciudad de México, a 02 de agosto de 2017		
"2017, AÑO DEL CENTENARIO DE LA PROMULGACIÓN DE LA CONSTITUCIÓN POLÍTICA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS"		
DR. MARTÍN PÉREZ VELÁZQUEZ PROFESOR INVESTIGADOR DEL DEPARTAMENTO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS Y TECNOLÓGICAS UNIVERSIDAD DE SONORA - UNIDAD REGIONAL CENTRO PASEO VISTA DEL LAGO No. 19 COL. VISTA DEL LAGO HERMOSILLO, SONORA C.P. 83247-MÉXICO TEL. 01 (662) 310 3068, E-MAIL: mperezv@dictus.uson.mx		
<p>En atención a la solicitud de licencia de colecta científica o con propósitos de enseñanza en materia de vida silvestre, recibida en esta Dirección General el 07 de febrero de 2017, a la cual se le asignó la bitácora 09/K5-0513/03/17 y considerando que ha dado cumplimiento a los requisitos establecidos para efectuar investigación y colecta científica de flora y fauna silvestres en territorio mexicano y con fundamento en el Artículo 32 Bis fracciones I, III, XXII, XXXIX de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; Artículo 19 fracción XXV y 32 fracción VI, XVIII, XXI, XXIV del Reglamento Interior de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, publicado en el Diario Oficial de la Federación el 26 de noviembre de 2012; 79, 80 fracción I, 82, 83 y 87 párrafo cuarto de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente; Artículos 9º. Fracción XII, 97 y 98 de la Ley General de Vida Silvestre; 12, 123 Fracción IV y 126 del Reglamento de la Ley General de Vida Silvestre; Artículo 85, Artículo 88, fracciones I y II, Artículo 105, fracciones II y III del Reglamento de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente en Materia de Áreas Naturales Protegidas (ANP's); las disposiciones relativas de la Norma Oficial Mexicana NOM-126-SEMARNAT-2000, por la que se establecen las especificaciones para la realización de actividades de colecta científica de material biológico de especies de flora y fauna silvestres y otros recursos biológicos en el territorio nacional; la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo, y al oficio No. F00/DRNOyAGC/351/17 de fecha 22 de junio de 2017, emitido por la Dirección Regional Noroeste y Alto Golfo de California; la Dirección General de Vida Silvestre autoriza la licencia de colecta científica o con propósitos de enseñanza en materia de vida silvestre, por proyecto, para desarrollar las siguientes actividades inherentes al proyecto de investigación denominado "Análisis de la madurez gonádica de la damisela de Limbaugh (<i>Chromis limbaughii</i>) del Golfo de California":</p>		
<ul style="list-style-type: none">• Colecta de hasta cuarenta (40) ejemplares de peces de la especie "damisela azul y amarillo, castañeta mexicana" <i>Chromis limbaughii</i> en una proporción de 20 hembras		
Página 1 de 4 Ejemplar Nacional No. 222, Calles Anahuac, Dirección Miguel Alemán, C.P. 11120, Ciudad de México. Tel. (55) 9490 0300 - 111810 0000 2411 www.semarnat.gob.mx		



y 20 machos por localidad de colecta por un periodo de un año; para realizar en laboratorio análisis sanguíneos, análisis histológicos, bioquímicos en gónadas y estudios de reproducción.

Las actividades de colecta se llevarán a cabo en las siguientes localidades: **1) isla El Dátil o isla Turner en las coordenadas geográficas 28°42'53.08"N' (latitud) y 112°17'12.20"O (longitud) y 2) isla San Esteban en las coordenadas geográficas 28°42'6"N (latitud) y 112°34'29"O (longitud), Golfo de California, estado de Sonora, dentro del polígono que conforman el APFF Islas del Golfo de California.** La presente autorización tendrá una vigencia de **un (01) año** a partir de la emisión de la misma.

La presente se expide con el aval de la Universidad de Sonora, Unidad Regional Centro, con la colaboración de La Dra. Mayra Lizett González Félix y el Biól. Hugo Cañedo Orihuela, **debiendo sujetarse obligatoriamente el titular y los colaboradores a las siguientes condiciones:**

1.- Deberá cumplir con las disposiciones Administrativa, Fiscales y de Sanidad exigibles por las autoridades competentes en la Materia, sean Federales, Estatales ó Municipales, así como con las disposiciones establecidas en la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente y su Reglamento en Materia de Áreas Naturales Protegidas y demás disposiciones legales aplicables.

2.- Obligatoriamente y previo al inicio de las actividades de campo deberá realizar ante la CONANP el trámite CNANP-00-007 "Aviso para realizar actividades de investigación con colecta o manipulación de ejemplares de flora y fauna silvestre en ANP", deberá contactar al Director(a) o encargado(a) del APFF Islas del Golfo de California, lo anterior para coordinar con anticipación suficiente las actividades de campo con el ANP, presentar su programa de actividades, lista de participantes y fechas en que pretende ingresar al Parque; asimismo se le indicará la forma en que deberá realizar las actividades y se le informará cuales son las actividades prohibidas en el ANP, de igual forma se le asignará el personal del ANP que lo acompañará durante los trabajos de campo y deberá acatar lo establecido en los programas de manejo de las ANP y sus reglas administrativas, ubicar específicamente los sitios de colecta, proporcionar un programa e itinerario de actividades y el registro de la estancia de los investigadores, el responsable del proyecto de investigación, deberá contar con la anuencia de los dueños o poseedores de los terrenos, además de la autorización correspondiente.

3.- En la realización del proyecto propuesto, se responsabilizará al titular de la investigación de cualquier impacto significativo que resulte sobre las poblaciones de la flora o fauna silvestre y sus hábitats, por lo que deberá considerar el riesgo de perturbación del ecosistema, antes de su ejecución y no llevarlo a cabo si existe algún riesgo.

4.- El titular y colaboradores deberán portar durante los trabajos de campo algún distintivo de la institución a la que pertenecen, de igual manera las embarcaciones utilizadas deberán



portar un banderín que contenga la leyenda "INVESTIGACIÓN EN PROCESO", lo anterior con el objeto de que se identifique por el personal de la PROFEPA como por prestadores de servicio, pescadores, Marina, etc; evitando así denuncias e interpretaciones erróneas.

5.- Previo al inicio de las actividades de campo, deberá enviar obligatoriamente por escrito y utilizando cualquier medio su programa de trabajo a las Delegaciones Federales de la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales en el estado de **Sonora** 01 (662) 259 2708, enviando copia del mismo a la Dirección General de Vida Silvestre. De igual manera, al término de dichas actividades lo notificará a esas Delegaciones Federales, enviándole un reporte detallado por escrito.

6.- La totalidad del material colectado deberá destinarse exclusivamente a los fines específicos del proyecto, objeto de la presente autorización. Con base al Capítulo IV, Artículo 98 de la Ley General de Vida Silvestre, los ejemplares serán depositados en las instalaciones del Departamento de Investigaciones Científicas y Tecnológicas de la Universidad de Sonora para realizar análisis histológicos y composición bioquímica en gónadas, y análisis de la concentración de esteroides sexuales en plasma, y el titular de la autorización, asume la responsabilidad de remitir a esta Dirección General, copia de la(s) constancia(s) de(los) depósito(s) debidamente firmado(s), especificando la cantidad del material depositado.

7.- Con base al Capítulo IV, Artículo 98 de la Ley General de Vida Silvestre y 126 del Reglamento de la Ley General de Vida Silvestre, el responsable del proyecto deberá someter a la consideración de la Dirección General de Vida Silvestre, en un plazo no mayor de 30 (TREINTA) días de concluida la vigencia de la presente, un informe que describa **detalladamente** las actividades realizadas, los resultados obtenidos, la problemática del área trabajada, las potenciales alternativas de solución y -en su oportunidad-, la(s) publicación(es) y sobre tiros producto de la investigación.

8.- Queda estrictamente **prohibido** efectuar cualquier aprovechamiento de las especies de flora y fauna silvestres, cualquiera que sea su estatus, excepto lo aquí autorizado, así como realizar actividades en áreas naturales protegidas de México, sean Estatales o Federales, sin previa autorización.

9.- De acuerdo al Artículo 87 de la Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente y al Capítulo IV, Artículo 97 de la Ley General de Vida Silvestre, esta autorización no ampara el aprovechamiento de los especímenes colectados para fines comerciales, ni de utilización en biotecnología.

Se recomienda que durante sus actividades de campo, en el caso de encontrar ejemplares de especies listadas en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, se notifique de ello (la especie, ubicación geográfica y la fecha) a esta Dirección General, en el informe de actividades antes mencionado.



La presente autorización es personal e intransferible y habrá de mostrarse a las Autoridades Federales, Estatales y Municipales cuantas veces lo soliciten.

El incumplimiento de las condiciones aquí establecidas, dará origen a la instauración de un procedimiento administrativo ante la autoridad competente, para proceder a la cancelación de la autorización y a la aplicación de la legislación correspondiente, según sea el caso.

Notifíquese la presente resolución al DR. MARTÍN PÉREZ VELÁZQUEZ, en su carácter de PROFESOR INVESTIGADOR DE LA UNIVERSIDAD DE SONORA, por alguno de los medios legales previstos por el artículo 35 y demás relativos y aplicables de la Ley Federal de Procedimiento Administrativo.

**ATENTAMENTE
EL DIRECTOR GENERAL**

LIC. JOSÉ LUIS PEDRO FUNES IZAGUIRRE

"Por un uso eficiente del papel, las copias de conocimiento de este asunto son remitidas vía electrónica"

- C.c.p. C. Joel González Moreno - Director General de Inspección de Vida Silvestre, Recursos Marinos y Ecosistemas Costeros, PROFEPA - e-mail: vida_silvestre@semarnat.gob.mx
- C. Gustavo Adolfo Chauvin Iberrri - Delegado Federal de la SEMARNAT en el Estado de Sonora - e-mail: gduval@sonora.semarnat.gob.mx
- C. Jorge Carlos Flores Monge, Delegado de la PROFEPA en el estado de Sonora - e-mail: jcflores@proffepa.gob.mx
- C. Miguel Ángel Espinosa Luna - Coordinador de Asesores de la Subsecretaría de Gestión para la Protección Ambiental - e-mail: coordinacion.sgpa@semarnat.gob.mx
- Subdirección de Comercio Nacional-Internacional y Otros Aprovechamientos.

Archivo (09/K5-0513/03/17, DGVS-02140/E705, DGVS-03501/E3702, SON/2017-0000253)
cascar/colecta científica/proyecto: Martín Pérez (pez-damasc) SUNMS (02-08-17)

