

Maestría en Ciencias Marinas y Costeras
Universidad Nacional

 **REVMAR**
REVISTA CIENCIAS
MARINAS Y COSTERAS

ESJI Eurasian
Scientific
Journal
Index
www.ESJIndex.org



MIAR



DAIJ
www.daij.org
Directory of abstract indexing for Journals

 Dialnet

e-revist@s

latindex

PROCIMAR
Programa de Maestría
en Ciencias Marinas y Costeras



Rector: Alberto Salom Echeverría

Comité Editorial Revista Ciencias Marinas y Costeras**Director**

Luis A. Villalobos Chacón Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Costa Rica.

Editora

Nidya C. Nova Bustos Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Costa Rica.

Miembros Nacionales

Ricardo Jiménez Montealegre Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Costa Rica.
Luis M. Sierra Sierra Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Costa Rica.
Maurizio Protti Quesada Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Costa Rica.
Daniel A. Ballesterio Sakson Departamento de Física, Universidad Nacional, Costa Rica.
Jorge Cortés Núñez Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología (CIMAR), Universidad de Costa Rica.
Álvaro Morales Ramírez Centro de Investigación en Ciencias del Mar y Limnología (CIMAR), Universidad de Costa Rica.

Miembros Internacionales

Aida C. Hernández-Zanuy Instituto de Oceanología, Agencia de Medio Ambiente, CITMA, Cuba.
Pedro M. Alcolado Instituto de Oceanología, Agencia de Medio Ambiente, CITMA, Cuba.
Silvia Salas Márquez CINVESTAV-Mérida, México.
José L. Carballo Cenizo Instituto de Ciencias del Mar y Limnología (UNAM), México.
Gabriel Márquez Couturier Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, México.
Juan Antonio Baeza Universidad Católica del Norte de Chile, Coquimbo, Chile.
M. Soledad Fuentes Postdoctoral Associate, National Oceanic and Atmospheric Administration.
Carlos Jara Instituto de Zoología, "Ernst F. Kilián", Universidad Austral de Chile.
Anelio Aguayo-Lobo Instituto Antártico Chileno. INACH.
Georgina A. Rivera-Ingraham Alfred-Wegener-Institute for Polar and Marine Research, Bremerhaven, Alemania.
Galdy Hernández Zárate Instituto Tecnológico de Boca del Río, Boca del Río, Veracruz, México.
Jorge Eduardo Zamora Castro Instituto Tecnológico de Boca del Río, Boca del Río, Veracruz, México.
Allyse Ferrara Department of Biological Sciences, Nicholls State University.
Quenton Fontenot Department of Biological Sciences, Nicholls State University.
Esteban Fernando Félix Pico Instituto Politécnico Nacional, CICIMAR-IPN, México.
Francisco J. Ocampo Torres Oceanografía Física, CICESE, Ensenada, México.
Néstor Hernando Ocampo CECIMAR, Universidad Nacional de Colombia, Sede Caribe, Santa Marta, Colombia.
Julio Lamilla Gómez Instituto de Zoología, Universidad Austral de Chile.

Consejo Editorial de la Universidad Nacional

M.Sc. Marybel Soto Ramírez Presidenta, Consejo Editorial
M.I. Erick Álvarez Ramírez Director Programa de Publicaciones e Impresiones
Dra. Shirley Benavides Vindas Miembro académica
Dr. Daniel Rueda Araya Vicerrector de Investigación
M.L. Gabriel Baltodano Roman Miembro académico

Producción editorial: Alexandra Meléndez

578.77

R454r Revista Ciencias Marinas y Costeras / Maestría en Ciencias Marinas y Costeras y Escuela de Ciencias Biológicas. Heredia, C.R. : EUNA, 2009.
v.1: il. ; 25 cm.

ISSN 1659-455X
Semestral

1. BIOLOGÍA MARINA. 2. ECOLOGÍA EVOLUCIÓN.
3. OCEANOGRAFÍA. 4. RECURSOS MARINOS. 5.
GEOLOGÍA MARINA. 6. SEDIMENTOS MARINOS.
7. TAXONOMÍA. 8. BIOTECNOLOGÍA. 9.
CONSERVACIÓN DE LOS RECURSOS. I. Título.

Dirección postal para canje:**Revista Ciencias Marinas y Costeras**

Escuela de Ciencias Biológicas
Universidad Nacional

Apartado 86-3000, Heredia, Costa Rica.

Telefax: (506)2277-3438. Tel: (506)2277-3480

Página Web: www.una.ac.cr/revmar

Correo electrónico: revmar@una.ac.cr

revciemarycos@gmail.com

CONTENIDO

Updated checklist of fishes at Cabo Pulmo reef, Gulf of California, Mexico Listado actualizado de peces del arrecife de Cabo Pulmo, Golfo de California, México <i>Arturo Ayala Bocos, Francisco Javier Fernández Rivera Melo y Héctor Reyes Bonilla</i>	9
Mass mortality of <i>Canthigaster rostrata</i> (Tetraodontiformes: Tetraodontidae) on the southern Costa Rican Caribbean coast Mortalidad masiva de <i>Canthigaster rostrata</i> (Tetraodontiformes: Tetraodontidae) en la costa del Caribe Sur de Costa Rica <i>Lilliana Piedra-Castro and Alexander Araya-Vargas</i>	31
Primer registro de albinismo en el bagre boca chica <i>Ariopsis felis</i> (Siluriformes: Ariidae) del sureste del Golfo de México First record of albinism in hardhead sea catfish <i>Ariopsis felis</i> (Siluriformes: Ariidae) from southeastern Gulf of Mexico <i>Luis A. Guerra-Jiménez y Raúl E. Lara-Mendoza</i>	39
Riqueza y distribución vertical de los moluscos del litoral rocoso de la provincia de Islay, Arequipa, al sur del Perú Mollusk richness and vertical distribution along the rocky shore of Islay, Arequipa, Southern Peru <i>Cristian A. Tejada-Pérez, Francisco Villasante, Cesar Luque-Fernández, Claudia L. Tejada-Begazo y Michael Espinoza</i>	47
Artículo de Revisión: La calidad espermática en peces y los métodos de evaluación Review article: Fish sperm quality and assessment methods <i>Juan C. López-Hernández, Adriana Osorio-Pérez, Salvador A. Jiménez-Félix, Salomón Páramo-Delgadillo, Gabriel Márquez-Couturier, George S. Yasui y Lenin Arias-Rodríguez</i>	67
Variación en la distribución del manatí antillano (<i>Trichechus manatus manatus</i>) en la costa sur de Puerto Rico a través de censos aéreos en helicóptero Variation in the distribution of the Antillean manatee (<i>Trichechus manatus manatus</i>) on the southern coast of Puerto Rico through helicopter aerial surveys <i>Antonio A. Mignucci-Giannoni, Chabeli Iglesias-Escabí, Raúl J. Rosario-Delestre, y Mayela Alsina-Guerrero</i>	97
Instrucciones a los autores	127

Presentación

La Universidad Nacional de Costa Rica tiene una trayectoria de casi 30 años en el campo de las Ciencias Marinas, elaborando documentos científicos, pero con limitadas opciones de proyección del conocimiento en el campo marino. En respuesta a la necesidad de ofrecer a los investigadores nacionales e internacionales un espacio de divulgación científica de alto nivel, de publicación anual y de amplia visión, surge la creación de la *Revista Ciencias Marinas y Costeras (REVMAR)*. El propósito de esta es incorporar publicaciones originales relacionadas con las ciencias marinas, tales como: biología, geología y ecología marina, evolución, sistemática y taxonomía de los organismos marinos, oceanografía, contaminación, pesquerías, maricultura, biotecnología marina, conservación y manejo integrado de los recursos marinos y costeros. La *REVMAR* se ofrecerá de forma impresa anualmente, con su correspondiente versión digital en su sitio web, elaborado convenientemente para esos efectos. La Revista cuenta con un Comité Editorial constituido por investigadores (as) de diferentes instituciones de América Latina, que tienen un gran prestigio intelectual en el campo de las ciencias marinas y costeras y son los (as) encargados (as) de velar por la calidad científica de los trabajos que se publiquen.

Updated checklist of fishes at Cabo Pulmo reef, Gulf of California, Mexico

Listado actualizado de peces del arrecife de Cabo Pulmo, Golfo de California, México

Arturo Ayala Bocos^{1*}, Francisco Javier Fernández Rivera Melo² y Héctor Reyes Bonilla³

ABSTRACT

Cabo Pulmo National Park is among the most successful protected areas in the Eastern Pacific Ocean and harbors the most northern coral reef in that region. The objective of this paper was to update the latest published checklist of fishes at the park. Over 500 censuses were conducted between 2004 and 2017. In addition, an extensive bibliographic review was conducted of records published on the local ichthyofauna from 2001 to 2017. As a result, 69 new records of reef fish species were added to the Cabo Pulmo reef checklist, corresponding to 24 orders, 35 families and 51 genera. With these additions, the current updated checklist consists of 302 species, corresponding to 194 genera, 74 families, and 24 orders.

Keywords: Taxonomic arrangement, Richness, Biomass, Distribution, Range.

RESUMEN

El Parque Nacional Cabo Pulmo está entre las áreas protegidas más exitosas del Océano Pacífico Oriental, y alberga el arrecife coralino más septentrional de la región. El objetivo de este trabajo fue actualizar el último listado publicado de peces presentes en el parque. Se realizaron observaciones de especímenes en más de 500 inmersiones, los censos fueron llevados a cabo entre 2004 y 2017, adicionalmente, se obtuvieron registros de una extensa revisión bibliográfica acerca de la ictiofauna local publicados entre 2001 y 2017. Aquí se agregan 69 nuevos registros de especies de peces arrecifales presentes en el arrecife de Cabo Pulmo, estos corresponden a 24 órdenes, 35 familias y 51 géneros. Con estas adiciones, el listado actual consiste en 302 especies, correspondientes a 194 géneros, 74 familias y 24 órdenes.

Palabras clave: Arreglo taxonómico, riqueza, biomasa, distribución, rango.

- 1 Ecosistemas y Conservación: Proazul Terrestre A. C. Héroes de Independencia 2440, CP 23000, La Paz, B. C. S., México.
- 2 Comunidad y Biodiversidad A. C. Isla del Peruano 215, Lomas de Miramar, CP 85448, Guaymas, Sonora, México.
- 3 Universidad Autónoma de Baja California Sur. Departamento de Ciencias Marinas y Costeras. Carretera al sur km 5.5., Col. El Mezquitito. CP 23080. La Paz, B. C. S., México. artbocos@gmail.com*

Recibido: 20 septiembre 2017

Corregido: 12 enero 2018

Aceptado: 22 enero 2018

DOI: <http://dx.doi.org/10.15359/revmar.10-1.1>

Rev. Mar. Cost. ESSN 1659-407X. Vol. 10 (1): 9-29, Enero-Junio 2018.



Licencia Creative Commons
Atribución-No-Comercial
Compartir Igual 4.0 Costa Rica

INTRODUCTION

Cabo Pulmo National Park (23° 30' N, 109° 30' W), located in the southeastern coast of the Baja California Peninsula (Fig. 1), is the most northern reef with presence of coral patches in the eastern Pacific Ocean (Brusca & Thomson, 1975). Because of the involvement of local communities and the support of the local and federal government, academic institutions and nongovernmental organizations, the status of the park is excellent, to the point that Cabo Pulmo has been recognized as one of the healthiest marine areas in the world, and among the most relevant sites for conservation in the western coast of Mexico (Aburto-Oropeza *et al.* 2011; Reyes-Bonilla *et al.* 2014; Enochs & Glynn, 2017). For those reasons, in 1995 the Mexican reef was declared a national park: Parque Nacional Cabo Pulmo (www.conanp.gob.mx), and research in the area has improved noticeably in quality and quantity.

Species inventories in the area are adequate, as listings for algae (Mateo-Cid *et al.* 2000), reef corals, gorgonians (Reyes-Bonilla *et al.* 1997), polychaetes, (Bastida-Zavala, 1995), arthropods (García-Madriral & Bastida-Zavala, 1999), echinoderms (Cintra-Buenrostro *et al.* 1998) and fishes are available. In the latter case, Villarreal-Cavazos *et al.* (2000) published a

thorough checklist prepared from visual observations and literature available to that date. Later, Alvarez-Filip *et al.* (2006), Reyes-Bonilla and Alvarez-Filip (2008), Saldívar-Lucio and Reyes-Bonilla (2011), Aburto-Oropeza *et al.* (2011), as well as the park administration (Anonymous, 2006) presented data and mentioned the occurrence of diverse fish species in the reef; however, all of them were already included in the 2000 compilation. Notwithstanding, thanks to continuous visits to the reef to monitor the reef fish community condition, a number of sightings of other species have been accumulating to the point that a new revision was needed. For that reason, the objective of this paper is to update the known checklist of fishes present at Cabo Pulmo National Park, based on confirmed observations of specimens in the area.

MATERIALS AND METHODS

The authors have visited the locality yearly since 2004 as part of a continuous monitoring program of the marine assemblages. Records of fishes were made by divers using three techniques: roving searches, belt transects of 20 x 5 m in size (100 m² each), and stationary point counts in observation cylinders with a radius of 5 m (78.5 m² total area). Over 500 censuses were conducted between 2004 and 2017

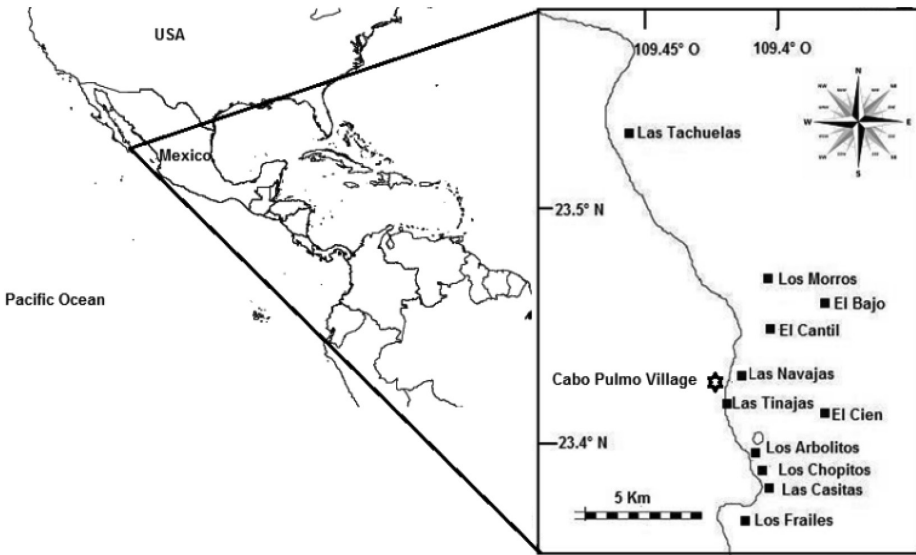


Fig. 1. Cabo Pulmo National Park and dive sites location where visual census were conducted

Fig. 1. Localización del Parque Nacional Cabo Pulmo y de los sitios principales donde se realizaron censos visuales de peces

using transects and cylinders and approximately 200 used roving searches. In addition to the field information, references on the local fish fauna published from 2001 to 2017 were reviewed (21 papers in total); citations were searched using the following databases: Web of Science, Aquatic and Science Fisheries Abstracts, Scopus, and Google Scholar, and Robertson and Allen (2015).

All records not included in the previous checklist by Villarre-

al-Cavazos *et al.* (2000) were tabulated; their nomenclature, taxonomic validity and current classification into higher taxa were confirmed by consulting the Catalog of Fishes of the California Academy of Sciences (Eschmeyer *et al.* 2017) and the Shorefishes of the Tropical Eastern Pacific Online Information System (Robertson & Allen, 2015). A final listing was generated representing additions to the previous knowledge.

RESULTS

As indicated in Table 1, there are 69 new confirmed records of fish species present at Cabo Pulmo reef obtained from 2001 to 2017, corresponding to 24 orders, 35 families and 51 genera. These taxa do not share similar characteristics: they belong to many dissimilar taxonomic groups, are very different sizes, and reside in different locations, either in the reef, the surrounding sandy areas or in the water column. Another important result is the

taxonomic change of 34 species previously reported by Villarreal-Cavazos *et al.* (2000) (Table 2). Table 2 also includes amendments as taxonomists have placed a number of species of the listing by Villarreal-Cavazos *et al.* (2000) in different families or orders after the year 2000. Finally, there was a major taxonomic change: the classes used by Villarreal-Cavazos *et al.* (2000), such as Chondrichthyes and Osteichthyes, are now respectively named Elasmobranchii and Actinopterygii (Eschmeyer *et al.* 2017).

Table 1. Systematic list of fish species reported or observed at Cabo Pulmo reef, Gulf of California, Mexico. Reference number 1 corresponds to 69 new records obtained between 2001 and 2017 from museums/collections, databases, bibliographic references and field observations, and number 2 corresponds to species previously listed by Villarreal-Cavazos *et al.* (2000)

Cuadro 1. Lista sistemática de especies de peces reportadas u observadas en el arrecife Cabo Pulmo, Golfo de California, México. El número de referencia 1 corresponde a 69 nuevos registros obtenidos entre 2001 y 2017 de museos / colecciones, bases de datos, referencias bibliográficas y observaciones de campo, y el número 2 a especies listadas anteriormente por Villarreal-Cavazos *et al.* (2000)

Phylum Chordata	Reference
Class Elasmobranchii	
Order Orectolobiformes	
Family Rhincodontidae	
<i>Rhincodon typus</i> Smith, 1828	2
Family Ginglymostomatidae	
<i>Ginglymostoma cirratum</i> (Bonnaterre, 1788)	1
Order Lamniformes	
Family Alopiidae	
<i>Alopias vulpinus</i> Bonnaterre, 1788	2
Family Lamnidae	

	<i>Isurus oxyrinchus</i> Rafinesque, 1810	1
Order Carcharhiniformes		
	Family Carcharhinidae	
	<i>Carcharhinus albimarginatus</i> (Rüppell, 1837)	1
	<i>Carcharhinus falciformis</i> (Müller and Henle, 1839)	1
	<i>Carcharhinus galapagensis</i> (Snodgrass and Heller, 1905)	1
	<i>Carcharhinus limbatus</i> (Valenciennes, 1839)	2
	<i>Carcharhinus leucas</i> (Valenciennes, 1839)	1
	<i>Carcharhinus longimanus</i> (Poey, 1861)	1
	<i>Galeocerdo cuvier</i> (Péron and Lesueur, 1822)	1
	<i>Negaprion brevirostris</i> (Poey, 1868)	2
	<i>Triaenodon obesus</i> (Rüppell, 1837)	1
	Family Sphyrnidae	
	<i>Sphyrna lewini</i> (Griffith and Smith, 1834)	1
	<i>Sphyrna zygaena</i> (Linnaeus, 1758)	1
	Family Triakidae	
	<i>Mustelus lunulatus</i> Jordan and Gilbert, 1882	1
Order Torpediniformes		
	Family Narcinidae	
	<i>Diplobatis ommata</i> (Jordan and Gilbert, 1890)	2
	<i>Narcine entemedor</i> Jordan and Starks, 1895	2
Order Rhinopristiformes		
	Family Rhinobatidae	
	<i>Pseudobatos productus</i> (Ayes, 1854)	1
	Family Trygonorrhinidae	
	<i>Zapteryx exasperata</i> (Jordan and Gilbert, 1880)	1
Order Myliobatiformes		
	Family Aetobatidae	
	<i>Aetobatus laticeps</i> (Gill, 1865)	2
	Family Dasyatidae	
	<i>Hypanus dipterurus</i> (Jordan and Gilbert, 1880)	2
	<i>Hypanus longus</i> (Garman, 1880)	2
	Family Gymnuridae	
	<i>Gymnura marmorata</i> (Cooper, 1864)	1
	Family Myliobatidae	
	<i>Myliobatis longirostris</i> Applegate and Fitch, 1964	2
	<i>Myliobatis californica</i> Gill, 1865	1
	Family Mobulidae	

	<i>Mobula birostris</i> (Walbaurn, 1792)	2
	<i>Mobula mobular</i> (Bonnaterre, 1788).	1
	<i>Mobula munkiana</i> Notarbartolo-di-Sciara, 1987	1
	<i>Mobula tarapacana</i> (Philippi, 1892)	1
	<i>Mobula thurstoni</i> (Lloyd, 1908)	1
	Family Rhinopteridae	
	<i>Rhinoptera steindachneri</i> Evermann and Jenkins, 1892	1
	Family Urotrygonidae	
	<i>Urobatis concentricus</i> Osburn and Nichols, 1916	2
	<i>Urobatis halleri</i> (Cooper, 1863)	1
	<i>Urobatis maculatus</i> Garman, 1913	2
Class Actinopteri		
Order Elopiformes		
	Family Elopidae	
	<i>Elops affinis</i> Regan, 1909	1
Order Anguilliformes		
	Family Muraenidae	
	<i>Anarchias galapagensis</i> (Seale, 1940)	2
	<i>Echidna nebulosa</i> (Ahl, 1789)	2
	<i>Echidna nocturna</i> (Cope, 1972)	2
	<i>Enchelycore octaviana</i> (Myers and Wade, 1941)	2
	<i>Gymnomuraena zebra</i> (Shaw, 1797)	2
	<i>Gymnothorax castaneus</i> (Jordan and Gilbert, 1882)	2
	<i>Gymnothorax dovii</i> (Günther, 1870)	1
	<i>Gymnothorax panamensis</i> (Steindachner, 1876)	2
	<i>Muraena clepsydra</i> Gilbert, 1898	1
	<i>Muraena lentiginosa</i> Jenyns, 1892	2
	<i>Uropterygius macrocephalus</i> (Bleeker, 1865)	2
	<i>Uropterygius polystictus</i> Myers and Wade, 1941	2
	Family Ophichthidae	
	<i>Callechelys eristigma</i> McCosker and Rosenblatt, 1972	2
	<i>Ichthyapus selachops</i> (Jordan and Gilbert, 1882)	2
	<i>Myrichthys maculosus</i> (Cuvier, 1817)	2
	<i>Myrichthys tigrinus</i> Girard, 1859	2
	<i>Paraetharchus pacificus</i> (Osburn and Nichols, 1916)	2
	<i>Phaenomonas pinnata</i> Myers and Wade, 1941	2
	<i>Quassiremus nothochir</i> (Gilbert, 1890)	2
	<i>Scytalichthys miurus</i> (Jordan and Gilbert, 1882)	2

	Family Congridae	
	<i>Gorgasia punctata</i> Meek and Hildebrand, 1923	2
	<i>Heteroconger digueti</i> (Pellegrin, 1923)	2
	<i>Paraconger californiensis</i> Kanazawa, 1961	1
Order Clupeiformes		
	Family Clupeidae	
	<i>Harengula thrissina</i> (Jordan and Gilbert, 1882)	2
Order Aulopiformes		
	Family Synodontidae	
	<i>Synodus lacertinus</i> Gilbert, 1890	2
Order Ophidiiformes		
	Family Ophidiidae	
	<i>Ophidion iris</i> Breder, 1926	2
	Family Bythidae	
	<i>Grammonus diagrammus</i> (Heller and Snodgras, 1903)	2
Order Lophiiformes		
	Family Antennariidae	
	<i>Antennarius sanguineus</i> Gill, 1863	2
	<i>Antennatus strigatus</i> (Gill, 1863)	2
Order Gobiesociformes		
	Family Gobiesocidae	
	<i>Arcos erythroptus</i> (Jordan and Gilbert, 1882)	2
	<i>Gobiesox adustus</i> Jordan and Gilbert, 1882	2
	<i>Gobiesox pinniger</i> Gilbert, 1890	2
	<i>Tomicodon boehlkei</i> Briggs, 1955	2
	<i>Tomicodon eos</i> (Jordan and Gilbert, 1882)	2
	<i>Tomicodon myersi</i> Briggs, 1955	2
	<i>Tomicodon zebra</i> (Jordan and Gilbert, 1882)	2
Order Gonorynchiformes		
	Family Chanidae	
	<i>Chanos chanos</i> (Forsskål, 1775)	1
Order Beloniformes		
	Family Hemiramphidae	
	<i>Hemiramphus saltator</i> Gilbert and Starks, 1904	2
	Family Belonidae	
	<i>Ablennes hians</i> (Valenciennes, 1846)	1
	<i>Platybelone argulus</i> (Lesueur, 1821)	2
	<i>Strongylura exilis</i> (Girard, 1854)	1

	<i>Tylosurus pacificus</i> (Steindachner, 1876)	2
	Family Exocoetidae	
	<i>Exocoetus volitans</i> Linnaeus, 1758	1
Order Atheriniformes		
	Family Atherinopsidae	
	<i>Atherinella eriarcha</i> (Jordan and Gilbert, 1882)	2
Order Holocentriformes		
	Family Holocentridae	
	<i>Myripristis leiognathos</i> Valenciennes, 1846	2
	<i>Sargocentron suborbitalis</i> (Gill, 1863)	2
Order Bleniiformes		
	Family Blenniidae	
	<i>Entomacrodus chiostictus</i> (Jordan and Gilbert, 1883)	2
	<i>Hypsoblennius brevipinnis</i> (Günther, 1861)	2
	<i>Hypsoblennius gentilis</i> (Girard, 1854)	2
	<i>Ophioblennius steindaehneri</i> Jordan and Evermann, 1898	2
	<i>Plagiotremus azaleus</i> (Jordan and Bollman, 1890)	2
	Family Chaenopsidae	
	<i>Acanthemblemaria crockeri</i> Beebe and Tee-Van, 1938	2
	<i>Acanthemblemaria macrospilus</i> Brock, 1940	2
	<i>Chaenopsis alepidota</i> (Gilbert, 1890)	2
	<i>Chaenopsis coheni</i> Bohlke, 1957	2
	<i>Cirriemblemaria lucasana</i> (Stephens, 1963)	2
	<i>Coralliozetus angelicus</i> (Böhlke and Mead, 1957)	2
	<i>Coralliozetus micropes</i> (Beebe and Tee-Van, 1938)	2
	<i>Coralliozetus rosenblatti</i> Stephens, 1963	2
	<i>Ekemblemaria myersi</i> Stephens, 1963	2
	<i>Emblemaria hypacanthus</i> (Jenkins and Evermann, 1889)	2
	<i>Emblemaria walkeri</i> Stephens, 1963	2
	<i>Protemblemaria bicirris</i> (Hildebrand, 1946)	2
	<i>Stathmonotus sinuscalifornici</i> (Chabanaud, 1942)	2
	Family Labrisomidae	
	<i>Labrisomus multiporosus</i> Hubbs, 1953	2
	<i>Labrisomus striatus</i> Hubbs, 1953	2
	<i>Labrisomus xanti</i> Gill, 1860	2
	<i>Malacoctenus ebisui</i> Springer, 1959	1
	<i>Malacoctenus hubbsi</i> Springer, 1959	2

	<i>Malacoctenus margaritae</i> (Fowler, 1944)	2
	<i>Malacoctenus tetranemus</i> (Cope, 1877)	2
	<i>Malacoctenus zaca</i> e Springer, 1959	2
	<i>Malacoctenus zonifer</i> (Jordan and Gilbert, 1882)	1
	<i>Paraclinus beebei</i> Hubbs, 1952	2
	<i>Paraclinus mexicanus</i> (Gilbert, 1904)	2
	<i>Paraclinus sini</i> Hubbs, 1952	2
	<i>Paraclinus lanygnathus</i> Rosenblatt and Parr, 1969	2
	<i>Starksia spinipenis</i> (Al-Uthman, 1960)	2
	<i>Xenomedeia rhodopyga</i> Rosenblatt and Taylor, 1971	2
Order Syngathiformes		
	Family Fistularidae	
	<i>Fistularia commersonii</i> Rüppell, 1835	2
	Family Syngnathidae	
	<i>Cosmocampus arctus</i> (Jenkins and Evermann, 1889)	2
	<i>Doryrhamphus excisus</i> Kaup, 1856	2
	<i>Hippocampus ingens</i> Girard, 1858	2
Order Gobiiformes		
	Family Gobiidae	
	<i>Aruma histrio</i> (Jordan, 1884)	2
	<i>Barbulifer mexicanus</i> Hoese and Larson, 1985	2
	<i>Barbulifer pantherinus</i> (Pellegrin, 1901)	2
	<i>Bathygobius ramosus</i> Ginsburg, 1947	2
	<i>Chriolepis zebra</i> Ginsburg, 1938	2
	<i>Coryphopterus urospilus</i> Ginsburg, 1938	2
	<i>Tigrigobius digueti</i> (Pellegrin, 1901)	2
	<i>Tigrigobius puncticulatus</i> (Ginsburg, 1938)	2
	<i>Gobiosoma chiquita</i> (Jenkins and Evermann, 1889)	2
	<i>Gobiosoma nudum</i> (Meek and Hildebrand, 1928)	2
	<i>Gobulus crescentalis</i> (Gilbert, 1892)	2
	<i>Gymneleotris seminudus</i> (Günther, 1864)	2
	<i>Lythrypnus dalli</i> (Gilbert, 1890)	2
	<i>Lythrypnus pulchellus</i> Ginsburg, 1939	2
Order Scorpaeniformes		
	Family Scorpaenidae	
	<i>Scorpaena mystes</i> Jordan and Starks, 1895	2
	<i>Scorpaena histrio</i> Jenyns, 1840	1

	<i>Scorpaenodes xyris</i> (Jordan and Gilbert, 1882)	2
	Family Triglidae	
	<i>Bellator loxias</i> Jordan and Gilbert, 1896	2
Order Perciformes		
	Family Serranidae	
	<i>Alphestes immaculatus</i> Breder, 1936	2
	<i>Alphestes multiguttatus</i> (Günther, 1867)	1
	<i>Dermatolepis dermatolepis</i> (Boulenger, 1895)	2
	<i>Cephalopholis panamensis</i> (Steindachner, 1876)	2
	<i>Epinephelus analogus</i> Gill, 1864	2
	<i>Epinephelus quinquefasciatus</i> (Bocourt, 1868)	2
	<i>Epinephelus labriformis</i> (Jenyns, 1843)	2
	<i>Hemanthias peruanus</i> (Steindachner, 1874)	2
	<i>Hyporthodus acanthistius</i> (Gilbert, 1892)	2
	<i>Mycteroperca jordani</i> (Jenkins and Evermann, 1889)	2
	<i>Mycteroperca prionura</i> Rosenblatt and Zahuranec, 1967	2
	<i>Mycteroperca rosacea</i> (Streets, 1877)	2
	<i>Mycteroperca xenarcha</i> Jordan, 1888	2
	<i>Paranthias colonus</i> Valenciennes, 1855	2
	<i>Paralabrax maculatofasciatus</i> (Steindachner, 1868)	1
	<i>Pseudogramma thaumasium</i> (Gilbert, 1900)	2
	<i>Rypticus bicolor</i> Valenciennes, 1846	2
	<i>Rypticus nigripinnis</i> Gill, 1861	2
	<i>Serranus psittacinus</i> Valenciennes, 1855	2
	Family Priacanthidae	
	<i>Cookeolus japonicus</i> (Cuvier, 1829)	1
	<i>Heteropriacanthus cruentatus</i> (Lacepede, 1801)	1
	Family Opistognathidae	
	<i>Opistognathus fossoris</i> Bussing and Lavenberg, 2003	1
	<i>Opistognathus punctatus</i> Peters, 1869	1
	<i>Opistognathus rosenblatti</i> Allen and Robertson, 1991	1
	<i>Opistognathus scops</i> (Jenkins and evermann, 1899)	2
	Family Apogonidae	
	<i>Apogon atricaudus</i> Jordan and McGregor, 1898	1
	<i>Apogon pacificus</i> (Herre, 1935)	1
	<i>Apogon retrosella</i> Gill, 1863	2
	Family Malacanthiidae	
	<i>Caulolatilus affinis</i> Gill, 1865	2

<i>Caulolatilus princeps</i> (Jenyns, 1842)	2
Family Echeneidae	
<i>Remora remora</i> (Linnaeus, 1758)	1
Family Carangidae	
<i>Alectis ciliaris</i> (Bloch, 1788)	2
<i>Caranx caballus</i> Günther, 1868	2
<i>Caranx caninus</i> Günther, 1867	1
<i>Caranx lugubris</i> Poey, 1860	2
<i>Caranx otrynter</i> (Jordan and Gilbert, 1883)	2
<i>Caranx sexfasciatus</i> Quoy and Gaimard, 1825	1
<i>Decapterus macarellus</i> (Cuvier, 1833)	1
<i>Gnathanodon speciosus</i> Forsskål, 1775	2
<i>Elagatis bipinnulata</i> (Quoy and Gaimard, 1825)	1
<i>Selar crumenophthalmus</i> (Bloch, 1793)	2
<i>Selene brevoorti</i> (Gill, 1863)	2
<i>Seriola lalandi</i> Valenciennes, 1833	1
<i>Seriola rivoliana</i> Valenciennes, 1833	1
<i>Trachinotus rhodopus</i> Gill, 1863	2
Family Coryphaenidae	
<i>Coryphaena hippurus</i> Linnaeus, 1758	2
Family Lutjanidae	
<i>Hoplopagrus guentheri</i> Gill, 1862	2
<i>Lutjanus aratus</i> (Günther, 1864)	1
<i>Lutjanus argentiventris</i> (Peters, 1869)	2
<i>Lutjanus colorado</i> Jordan and Gilbert, 1882	2
<i>Lutjanus guttatus</i> (Steindachner, 1869)	2
<i>Lutjanus novemfasciatus</i> Gill, 1862	2
<i>Lutjanus peru</i> (Nichols and Murphy, 1922)	1
<i>Lutjanus inermis</i> (Peters, 1869)	1
<i>Lutjanus viridis</i> (Valenciennes, 1845)	2
Family Haemulidae	
<i>Anisotremus davidsonii</i> (Steindachner, 1875)	2
<i>Anisotremus interruptus</i> (Gill, 1862)	2
<i>Anisotremus taeniatus</i> Gill, 1861	2
<i>Haemulon flaviguttatum</i> Gill, 1863	2
<i>Haemulon maculicauda</i> (Gill, 1862)	1
<i>Haemulon scudderii</i> Gill, 1862	1

<i>Haemulon sexfasciatum</i> Gill, 1863	2
<i>Haemulon steindachneri</i> (Jordan and Gilbert, 1882)	1
<i>Microlepidotus inornatus</i> Gill, 1862	2
Family Sparidae	
<i>Calamus brachysomus</i> (Lockington, 1880)	2
Family Scianidae	
<i>Pareques</i> sp. a	2
<i>Umbrina dorsalis</i> Gill, 1862	2
<i>Umbrina roncador</i> Jordan and Gilbert, 1881	2
<i>Umbrina xanti</i> Gill, 1862	2
Family Mullidae	
<i>Mulloidichthys dentatus</i> (Gill, 1863)	2
<i>Mulloidichthys vanicolensis</i> (Valenciennes, 1831)	1
Family Kyphosidae	
<i>Girella simplicidens</i> Osburn and Nichols, 1916	2
<i>Kyphosus azurea</i> (Jenkins and Evermann, 1889)	2
<i>Kyphosus vaigiensis</i> (Quoy and Gaimard, 1825)	2
<i>Kyphosus elegans</i> (Peters, 1869)	2
<i>Kyphosus ocyurus</i> (Jordan and Gilbert, 1882)	1
Family Ephippidae	
<i>Chaetodipterus zonatus</i> (Girard, 1858)	2
Family Chaetodontidae	
<i>Chaetodon humeralis</i> Günther, 1860	2
<i>Forcipiger flavissimus</i> Jordan and McGregor 1898	2
<i>Johnrandallia nigrirostris</i> (Gill, 1862)	2
<i>Prognathodes falcifer</i> (Hubbs and Rehnitz, 1958)	2
Family Pomacanthidae	
<i>Holacanthus clarionensis</i> Gilbert, 1890	2
<i>Holacanthus passer</i> Valenciennes, 1846	2
<i>Pomacanthus zonipectus</i> (Gill 1862)	2
Family Pomacentridae	
<i>Abudefduf declivifrons</i> (Gill, 1862)	2
<i>Abudefduf troschelii</i> (Gill, 1862)	2
<i>Chromis alta</i> Greenfield and Woods, 1980	2
<i>Chromis atrilobata</i> Gill, 1862	2
<i>Chromis limbaughi</i> Greenfield and Woods, 1980	2
<i>Microspathodon bairdii</i> (Gill, 1862)	2
<i>Microspathodon dorsalis</i> (Gill 1862)	2

<i>Stegastes acapulcoensis</i> (Flower, 1944)	2
<i>Stegastes flavilatus</i> (Gill, 1863)	2
<i>Stegastes leucorus</i> (Gilbert, 1892)	2
<i>Stegastes rectifaenum</i> (Gill, 1863)	2
Family Cirrhitidae	
<i>Cirrhitichthys oxycephalus</i> (Bleeker, 1855)	2
<i>Cirrhitus rivulatus</i> (Valenciennes, 1855)	2
<i>Oxycirrhites typus</i> Bleeker 1857	2
Family Mugilidae	
<i>Mugil cephalus</i> Linnaeus, 1758	2
<i>Mugil curema</i> Valenciennes, 1836	2
Family Labridae	
<i>Bodianus diplotaenia</i> (Gill, 1863)	2
<i>Decodon measma</i> Gomon, 1974	2
<i>Halichoeres chierchiae</i> Caporiacco, 1974	2
<i>Halichoeres dispilus</i> (Günther, 1864)	2
<i>Halichoeres melanotis</i> (Gilbert, 1890)	2
<i>Halichoeres nicholsi</i> (Jordan and Gilbert, 1881)	2
<i>Halichoeres notospilus</i> (Günther, 1864)	2
<i>Halichoeres semicinctus</i> (Ayres, 1859)	2
<i>Iniistius pavo</i> (Valenciennes, 1840)	2
<i>Novaculichthys taeniorus</i> (Lacepede, 1801)	2
<i>Sagittalarva inornatus</i> (Gilbert, 1890)	2
<i>Thalassoma grammaticum</i> Gilbert, 1890	2
<i>Thalassoma lucasanum</i> (Gill, 1863)	2
<i>Xyrichtys mundiceps</i> (Gill, 1862)	2
Family Scaridae	
<i>Nicholsina denticulata</i> (Everman and Radcliffe, 1917)	2
<i>Scarus compressus</i> (Osburn and Nichols, 1916)	2
<i>Scarus ghobban</i> Forskål, 1775	2
<i>Scarus perrico</i> Jordan and Gilbert, 1881	2
<i>Scarus rubroviolaceus</i> Bleeker, 1814	2
Family Tripterygiidae	
<i>Axoclinus nigricaudus</i> Allen and Robertson, 1991	1
<i>Enneanectes carminalis</i> (Jordan and Gilbert, 1882)	2
<i>Enneanectes reticulatus</i> Allen and Robertson, 1991	2
<i>Crocodilichthys gracilis</i> Allen and Robertson, 1991	1
Family Dactyloscopidae	

<i>Dactylagnus mundus</i> Gill, 1863	2
<i>Dactyloscopus byersi</i> Dawson, 1969	2
<i>Dactyloscopus lunaticus</i> Gilbert, 1890	2
<i>Dactyloscopus pectoralis</i> Gill, 1861	2
<i>Gillelus arencola</i> Gilbert, 1890	2
<i>Gillelus ornatus</i> Gilbert, 1896	2
<i>Gillelus semicinctus</i> Gilbert, 1890	2
<i>Heteristius cinctus</i> (Osburn and Nichols, 1916)	2
<i>Myxodagnus opercularis</i> Gill, 1861	2
Family Zanclidae	
<i>Zanclus cornutus</i> (Linnaeus, 1758)	2
Family Acanthuridae	
<i>Acanthurus nigricans</i> (Linnaeus, 1758)	2
<i>Acanthurus triostegus</i> (Linnaeus, 1758)	2
<i>Acanthurus xanthopterus</i> Valenciennes, 1835	2
<i>Prionurus laticlavus</i> (Valenciennes, 1846)	1
<i>Prionurus punctatus</i> Gill, 1862	2
Family Scombridae	
<i>Acanthocybium solandri</i> (Cuvier, 1832)	1
<i>Euthynnus lineatus</i> Kishinouye, 1920	2
<i>Katsuwonus pelamis</i> (Linnaeus, 1758)	2
<i>Sarda chilensis</i> (Cuvier, 1832)	1
<i>Scomber japonicus</i> Houttuyn, 1782	1
<i>Scomberomorus sierra</i> Jordan and Starks, 1895	1
<i>Thunnus albacares</i> (Bonnaterre, 1788)	2
Family Istiophoridae	
<i>Istiophorus platypterus</i> (Shaw, 1792)	1
<i>Istiompax indica</i> (Cuvier, 1832)	1
<i>Makaira nigricans</i> Lacepède, 1802	1
Order Tetraodontiformes	
Family Balistidae	
<i>Balistes polylepis</i> Steindachner, 1876	2
<i>Melichthys niger</i> (Bloch, 1786)	2
<i>Pseudobalistes naufragium</i> (Jordan and Starks, 1895)	2
<i>Sufflamen verres</i> (Gilbert and Starks, 1904)	2
Family Monacanthidae	
<i>Aluterus scriptus</i> (Osbeck, 1765)	2
<i>Cantherhines dumerilii</i> (Hollard, 1854)	2

	Family Ostraciidae	
	<i>Ostracion meleagris</i> Shaw, 1796	2
	Family Tetraodontidae	
	<i>Arothron hispidus</i> (Linnaeus, 1758)	2
	<i>Arothron meleagris</i> (Bloch and Schneider, 1801)	2
	<i>Canthigaster punctatissima</i> (Günther, 1870)	2
	<i>Sphoeroides annulatus</i> (Jenyns, 1842)	2
	<i>Sphoeroides lobatus</i> (Steindachner, 1870)	2
	Family Diodontidae	
	<i>Chilomycterus reticulatus</i> (Linnaeus, 1758)	1
	<i>Diodon holocanthus</i> Linnaeus, 1758	2
	<i>Diodon hystrix</i> Linnaeus, 1758	2
Order Pleuronectiformes		
	Family Bothidae	
	<i>Bothus mancus</i> (Broussonet, 1782)	1
	Family Paralichthyidae	
	<i>Citharichthys gordae</i> Beebe and Tee-Van, 1938	2
	<i>Paralichthys woolmani</i> Jordan and Williams, 1897	2

Table 2. Taxonomic modifications from the list by Villarreal-Cavazos et al. (2000). Species presented in systematic order

Cuadro 2. Modificaciones taxonómicas de la lista Villarreal-Cavazos y colaboradores (2000). Especies presentadas en orden sistemático

Name in original report	Currently accepted name	Observations
Class Chondrichthyes	Class Elasmobranchii	
Order Rajiformes		
Family Narcinidae		
<i>Diplobatis ommata</i> (Jordan and Gilbert, 1890)		Both species currently in Order Torpediniformes
<i>Narcine entemedor</i> Jordan and Starks, 1895		
Family Dasyatidae		
<i>Dasyatis brevis</i> (Garman, 1880)	<i>Hypanus dipterurus</i> (Jordan and Gilbert, 1880)	
<i>Dasyatis longus</i> (Garman, 1880)	<i>Hypanus longa</i> (Garman, 1880)	

Family Myliobatidae	Familia Aetobatidae		
<i>Aetobatus narinari</i> (Euphrasen, 1790)	<i>Aetobatus laticeps</i> (Gill, 1865)	This species currently in Order Myliobatiformes	Three Families Urolophidae, Mobulidae and Myliobatidae currently in Order Myliobatiformes
Family Mobulidae			
<i>Manta birostris</i> (Walbaurn, 1792)	<i>Mobula birostris</i> (Walbaurn, 1792)		
Family Urolophidae			
<i>Urobatis concentricus</i> Osburn and Nichols, 1916		Both species currently placed in Family Urotrygonidae	
<i>Urobatis maculatus</i> Garman, 1913			
Class Osteichthyes	Class Actinopterygyii		
Family Muraenidae			
<i>Uropterygius tigrinus</i> Girard, 1859	<i>Myrichthys</i> <i>tigrinus</i> Girard, 1859		
Family Ophichthidae			
<i>Myrichthys</i> <i>maculosus</i> (Cuvier, 1816)	<i>Myrichthys</i> <i>tigrinus</i> Girard, 1859		
Family Bythitidae			
<i>Oligopus diagrammus</i> (Heller and Snodgrass, 1903)	<i>Grammonus diagrammus</i> (Heller and Snodgrass, 1903)		
Family Atherinidae			
<i>Eurystole eriarcha</i> (Jordan and Nichols, 1916)	<i>Atherinella eriarcha</i> (Jordan and Gilbert, 1882)	Currently placed in Family Atherinopsidae	
Family Scorpaenidae			
<i>Scorpaena plumieri mystes</i> (Jordan and Starks, 1895)	<i>Scorpaena mystes</i> Jordan and Starks, 1895		
Family Serranidae			
<i>Epinephelus acanthistius</i> (Gilbert, 1892)	<i>Hyporthodus acanthistius</i> (Gilbert, 1892)		
<i>Epinephelus panamensis</i> (Steindachner, 1876)	<i>Cephalopholis</i> <i>panamensis</i> (Steindachner, 1877)		
<i>Epinephelus itajara</i> (Lichstenstein, 1822)	<i>Epinephelus</i> <i>quiquefasciatus</i> (Bocourt, 1868)		
<i>Pseudogramma thaumasium</i> (Gilbert, 1900)		Originally placed in Family Grammistidae	

<i>Rypticus bicolor</i> Valenciennes, 1846		Originally placed in Family Grammistidae
<i>Rypticus nigripinnis</i> Gill, 1861		Originally placed in Family Grammistidae
Family Kyphosidae		
<i>Kyphosus analogus</i> Gill, 1862	<i>Kyphosus vaigiensis</i> (Quoy and Gaimard, 1825)	
<i>Sectator ocyurus</i> (Jordan and Gilbert, 1882)	<i>Kyphosus ocyurus</i> (Jordan and Gilbert, 1882)	
Family Branchiostegidae		
<i>Caulolatilus affinis</i> Gill, 1865		Currently placed in Family Malacanthidae
<i>Caulolatilus princeps</i> (Jenyns, 1840)		
Family Chaetodontidae		
<i>Chaetodon falcifer</i> Hubbs and Rechnitzer, 1958	<i>Prognathodes falcifer</i> (Hubbs and Rechnitzer, 1958)	
Family Labridae		
<i>Xyrichtys pavo</i> (Valenciennes, 1840)	<i>Iiniistius pavo</i> (Valenciennes, 1840)	
<i>Pseudojulis inornatus</i> Gilbert, 1890	<i>Sagittalarva inornatus</i> (Gilbert, 1890)	
<i>Hemipteronotus mundiceps</i> (Gill, 1863)	<i>Xyrichtys mundiceps</i> (Gill, 1862)	
Family Tripterygiidae		
<i>Axoclinus carminalis</i> (Jordan and Gilbert, 1882)	<i>Enneanectes carminalis</i> (Jordan and Gilbert, 1882)	
Family Chaenopsidae		
<i>Protemblemaria lucasana</i> Stephens, 1963	<i>Cirriemblemaria lucasana</i> (Stephens, 1963)	
Family Dactyloscopidae		
<i>Dactyloscopus mundus</i> Gill, 1862	<i>Dactylagnus mundus</i> Gill, 1863	

Family Chaenopsidae

Coralliozetus angelica
 (Böhlke and Mead, 1957)

Coralliozetus angelicus
 (Böhlke and Mead, 1957)

Family Zanclidae

Zanclus canescens
 (Linnaeus, 1758)

Zanclus cornutus
 (Linnaeus, 1758)

Family Bothidae

Citharichthys gordae Beebe
 and Tee-Van, 1938

Paralichthys woolmani
 Jordan and Williams, 1897

Both species
 currently placed
 in Family
 Paralichthyidae

DISCUSSION

A total of 69 confirmed species and 4 orders (Elopiformes, Gonorhynchiformes, Myliobatiformes and Torpediniformes) was added to the previous list of 236 species seen or found at the reef, corresponding to 18 orders, 60 families and 155 genera (Villarreal-Cavazos *et al.* 2000). Consequently, the current checklist consists of 302 species, corresponding to 194 genera, 74 families and 24 orders. This amount represents approximately 30% of the 840 to 911 fishes reported at the Gulf of California (Hastings *et al.* 2011; Robertson & Allen, 2015), and is comparable with the amount found in other areas with coral reef communities in western Mexico and for which detailed checklists exist, such as Concepción Bay 26°N with 146 species (Rodríguez-Romero *et al.* 2005), La Paz 24°N: 522 species (Balart *et al.* 1995), Banderas Bay 20°N: 205 species (Moncayo-Estrada *et al.* 2006),

Navidad Bay 19°N: 245 species (Aguilar-Palomino *et al.* 2001), Acapulco 16°N: 302 species (Rojas-Herrera *et al.* 2011), and Huatulco 15°N: 112 species (López-Pérez *et al.* 2010). This observation is remarkable considering the small size of Cabo Pulmo reef (less than 1000 ha) (Anonymous, 2006) and gives more evidence of the recognized high species diversity of the site (Aburto-Oropeza *et al.* 2011).

It is interesting to note that 22 (31%) of the new records pertain to sharks and rays, of which only 10 species had previously been reported at Cabo Pulmo (Villarreal-Cavazos *et al.* 2000; Anonymous 2006; Reyes-Bonilla *et al.* 2016). This means that the number of these taxa has more than doubled at the reef. Although there is no quantitative data to document it, the authors' observations point out that, in fact, the number of elasmobranch species commonly seen at the reefs and surroundings has increased noticeably since 2005, to the point that

shark observation is now a local tourist attraction, and large schools of eagle rays and other species are frequently seen hovering below the surface. It can be assumed that the good status of the system has favored this situation as fish biomass in the area has increased over 200% between the beginning and the end of the last decade, a condition that favors the presence of large predators (Aburto-Oropeza *et al.* 2011; Reyes-Bonilla *et al.* 2016; Enochs & Glynn 2017).

In addition to the 302 species documented in Cabo Pulmo reef, the maps by Robertson and Allen (2015) indicate the possible presence of another 243 species, considering the general geographic distribution range of the species that reside in the Gulf of California. As these diagrams represent interpolations of the northernmost and southernmost reported ranges of the species, they should be taken carefully in order to avoid overestimations of the total number of fish species at any given location (in this case, Cabo Pulmo). Nevertheless, the possibility of finding new records in the locality is open.

In conclusion, this paper adds 68 species to the original checklist of 236 fish taxa that had been reported or collected at Cabo Pulmo reef, generating a new total of 302 species. Such richness is high enough to be comparable to the one reported in other reefs of the western coast of Mexico (even though

Cabo Pulmo reef is relatively small), and demonstrate the importance of this area for fish biodiversity in the Gulf of California.

ACKNOWLEDGEMENT

We would like to thank Vladimir Pérez, María Martínez, Nuria Torrejón, Georgina Ramírez, Alexandra Álvarez del Castillo, Jenny Carolina (UABCS), Carlos Godínez (CONANP), Bryan Castro, Mario Castro, David Castro, Luis Castro (Cabo Pulmo Dive Center) for their support and participation in the underwater monitoring of this project and the search for online databases. Our final thanks go to the three anonymous reviewers for their highly constructive criticisms to improve the contents and structure of this paper.

BIBLIOGRAPHY

- Aburto-Oropeza, O., Erisman, B., Galland, G. R., Mascareñas-Osorio, I., Sala, E. & Ezcurra, E. (2011). Large recovery of fish biomass in a no-take marine reserve. *PLoS ONE*, 6(8), e23601. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023601>.
- Aguilar-Palomino, B., Pérez-Reyes, C., Galván-Magaña, F. & Abitia-Cardenas, L. A. (2001). Ictiofauna de la Bahía de Navidad, Jalisco, México. *Rev. Biol. Trop.*, 49, 173-190.
- Alvarez-Filip, L., Reyes-Bonilla, H. & Calderón-Aguilera, L. E. (2006). Community structure of fishes in Cabo Pulmo

- reef, Gulf of California. *Mar. Ecol.*, 27, 253-262. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0485.2006.00108.x>.
- Anonymous. (2006). *Programa de conservación y manejo: Parque Nacional de Cabo Pulmo*. Distrito Federal, México: Comisión Nacional de Areas Protegidas.
- Balart, E. F., Castro-Aguirre, J. L., Aurioles-Gamboa, D., García-Rodríguez, J. & Villavicencio-Garayzar, C. (1995). Adiciones a la ictiofauna de Bahía de la Paz, Baja California Sur, México. *Hidrobiologica*, 5, 79-85.
- Bastida-Zavala, J. R. (1995). Poliquetos (Annelida: Polychaeta) del arrecife coralino de Cabo Pulmo-Los Frailes, B. C. S., México. *Rev. Zool.*, 6, 9-29.
- Brusca, R. C. & Thomson, D. A. (1975). Pulmo Reef: The only "coral reef" in the Gulf of California. *Ciencias Marinas*, 1, 37-53. <https://doi.org/10.7773/cm.v2i2.290>.
- Cintra-Buenrostro, C. E., Reyes-Bonilla, H. & Arizpe-Covarrubias, O. (1998). Los equinodermos (Echinodermata) del arrecife de Cabo Pulmo, Pacífico de México. *Rev. Biol. Trop.*, 46, 341-344.
- Enochs, I. C. & Glynn, P. (2017). Trophodynamics of Eastern Pacific Coral Reefs. In W. P. Glynn, D. P. Manzello & I. C. Enochs (Eds.), *Coral Reefs of the Eastern Tropical Pacific* (pp. 291-314). New York, EE. UU.: Springer. https://doi.org/10.1007/978-94-017-7499-4_9.
- Eschmeyer, W. N., Fricke, R. & van der Laan, R. (2017, Eds). *Catalog of Fishes: genera, species, references*. Retrived on June 18th, 2017, available in <http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcat-main.asp>.
- García-Madrigal, M. S. & Bastida-Zavala, J. R. (1999). Cangrejos braquiuros (Brachyura) del arrecife de Cabo Pulmo-Los Frailes y alrededores, Golfo de California, México. *Rev. Biol. Trop.*, 47, 123-132.
- Hastings, P. A., Findley, L. T. & van der Heiden, A. M. (2011). Fishes of the Gulf of California. In R. C. Brusca (Ed.), *The Gulf of California. Biodiversity and conservation* (pp. 72-94). Arizona, EE. UU.: The University of Arizona Press.
- López-Pérez, R. A., Pérez-Maldonado, I. L., López-Ortíz, A. M., Barranco-Servín, L. M., Barrientos-Villalobos, J. & Leyte-Morales, G. E. (2010). Reef fishes of the Mazunte-Bahías de Huatulco reef track, Oaxaca, Mexican Pacific. *Zootaxa*, 2422, 53-62.
- Mateo-Cid, L. E., Mendoza-González, A. C., Galicia García, C. & Huerta Múzquiz, L. (2000). Contribución al estudio de las algas marinas bentónicas de Punta Arena y Cabo Pulmo, Baja California Sur, México. *Acta Bot. Mex.*, 52, 55-73. <https://doi.org/10.21829/abm52.2000.856>.
- Moncayo-Estrada, R., Castro-Aguirre, J. L. & de La Cruz-Agüero, J. (2006). Lista sistemática de la ictiofauna de Bahía de Banderas, México. *Rev. Mex. Biodiver.*, 7, 67-80.
- Reyes-Bonilla, H. & Álvarez-Filip, L. (2008). Long-term changes in taxonomic distinctness and trophic structure of the reef fishes at Cabo Pulmo Reef, Gulf of California. In B. Riegl & E. Richard (Eds.), *Proceedings of the 11th International Coral Reef Symposium* (pp. 790-794). Fort Lauderdale, EE. UU.: Nova Southeastern University.

- Reyes-Bonilla, H., Álvarez del Castillo-Cárdenas, P. A., Calderón-Aguilera, L. E., Erosa-Ricárdez, C. E., Fernández-Rivera Melo, F. J., Frausto T. C., Petatán-Ramírez D. (2014). Servicios ambientales de arrecifes coralinos: el caso del Parque Nacional Cabo Pulmo, B. C. S. En J. I. Urciaga-García (Ed.), *Desarrollo regional en Baja California Sur. Una perspectiva de los servicios ecosistémicos* (pp. 38-63). La Paz, México: UABCS.
- Reyes-Bonilla, H., Ayala-Bocos, A., Fernández-Rivera Melo, F. J., Zepeta-Vilchis, R., Asúnsolo-Rivera, A. & Ketchum, J. T. (2016). A Bibliographic and field record chronology of sharks at Cabo Pulmo National Park, Gulf of California. *Océánides*, 31(1), 55-57.
- Reyes-Bonilla, H., Sinsel-Duarte, F. & Arizpe-Covarrubias, O. (1997). Gorgonias y corales pétreos (Anthozoa: Gorgonacea y Scleractinia) de Cabo Pulmo, México. *Rev. Biol. Trop.*, 45, 1439-1443.
- Robertson, D. R. & Allen, G. R. (2015). Shore fishes of the tropical eastern Pacific: online information system. Version 2.0 Smithsonian Tropical Research Institute, Balboa, Panamá. Retrieved on August 20th, 2017, available in <http://biogeodb.stri.si.edu/sftep/>.
- Rodríguez-Romero, J., Muhlia-Melo, A., Galván-Magaña, F., Gutiérrez-Sánchez, F. J. & Gracia-López, V. (2005). Fish assemblages around Espíritu Santo Island and Espíritu Santo Sea mount in the lower Gulf of California, Mexico. *Bull. Mar. Sci.*, 778, 33-50.
- Rojas-Herrera, A. A., Granados-Amores, E., Violante-González, J., Palacios-Salgado, D. S. & Gil-Guerrero, J. S. (2011). Avances sobre investigaciones marinas y acuícolas del Pacífico tropical mexicano. En J. C. Chávez-Comparán & J. Mimbela-López (Eds.), *Diversidad de peces de la Bahía de Acapulco y zonas costeras adyacentes* (pp. 28-54). Colima, México: Universidad de Colima.
- Saldívar-Lucio, R. E. & Reyes-Bonilla, H. (2011). Monitoreo de la ictiofauna usando grupos taxonómicos superiores en el Parque Nacional Cabo Pulmo. *Rev. Biol. Trop.*, 59, 871-885.
- Villarreal-Cavazos, A., Reyes-Bonilla, H., Bermúdez-Almada, B. & Arizpe-Covarrubias, O. (2000). Los peces del arrecife de Cabo Pulmo, Golfo de California, México: lista sistemática y aspectos de abundancia y biogeografía. *Rev. Biol. Trop.*, 48, 413-424.

**Mass mortality of *Canthigaster rostrata*
(Tetraodontiformes: Tetraodontidae) on the southern
Costa Rican Caribbean coast**

**Mortalidad masiva de *Canthigaster rostrata*
(Tetraodontiformes: Tetraodontidae) en la costa del
Caribe Sur de Costa Rica**

Lilliana Piedra-Castro^{1} and Alexander Araya-Vargas¹*

ABSTRACT

In 2017 a mass mortality event of the reef fish *Canthigaster rostrata* was observed on the Southern Caribbean coast of Costa Rica. The 86 subjects collected, possibly juveniles, were less than 49 mm and below 2.8 g. Similar events have been reported in other Caribbean locations and may be associated with changes in sea temperature or resource exhaustion during their recruitment period.

Keywords: *Canthigaster rostrata*, mass mortality, reef fish, Caribbean, Costa Rica.

RESUMEN

Durante el 2017, observamos un evento de mortalidad masiva del pez de arrecife *Canthigaster rostrata* en el Caribe Sur costarricense. Los 86 individuos recolectados, posiblemente juveniles, presentaron tallas menores a los 49 mm y pesos debajo de 2.8 g. Eventos similares se han reportado en otras localidades del Caribe y podrían asociarse a cambios en la temperatura marina o al agotamiento de recursos durante su estrategia de reclutamiento.

Palabras claves: *Canthigaster rostrata*, mortalidad masiva, peces de arrecife, Caribe, Costa Rica.

INTRODUCTION

Canthigaster rostrata (Tetraodontiformes: Tetraodontidae) is a typical species in the Caribbean coral

reef, in areas characterized by coral heads and dense patches of marine sponges. Females defend their territory, which is used for shelter, feeding and spawning (Sikkel, 1990). In

¹ Laboratorio de Recursos Naturales y Vida Silvestre (LARNAVISI), Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional, Heredia, Costa Rica. lilliana.castro.piedra@una.cr* and alex.araya.vargas@gmail.com

Recibido: 2 octubre 2017

Corregido: 2 febrero 2018

Aceptado: 9 febrero 2018

DOI: <http://dx.doi.org/10.15359/revmar.10-1.2>

Rev. Mar. Cost. ESSN 1659-407X. Vol. 10 (1): 31-37, Enero-Junio 2018.



Licencia Creative Commons
Atribución-No-Comercial
Compartir Igual 4.0 Costa Rica

the Caribbean coast of Costa Rica, this species has been reported in the reefs of Puerto Viejo (Schaper, 1996), Isla Quiribí (Barrantes, 2010), Cahuita (Cortés *et al.* 2010), Cocles, Punta Uva, and Manzanillo (Arrieta, 2013).

Several reports of mass mortality of *C. rostrata* in the Greater Caribbean area have been made mainly by the press, blogs, or social networks (Castillo & Pérez, 2014; Gutiérrez, 2014; El Isleño, 2017); however, there is little documentation of this phenomenon in the scientific literature (Jordán-Garza *et al.* 2009), despite the fact that it may be a potential indicator of disturbances in marine environments.

The objective of this paper is to describe a mass mortality event of *C. rostrata* between April 17th and May 6th, 2017, in three sites along approximately 60 km of coastline and up to 1.35 km offshore of the Southern Caribbean coast of Costa Rica, as a recognition of the need to study indicators of changes in the ocean, and scientifically document mass mortality events.

MATERIALS AND METHODS

Dead individuals of *C. rostrata* were found and photographed on the sand and on the surface of the sea within the Gandoca-Manzanillo National Wildlife Refuge (REGAMA), specifically in Playa Gandoca (9° 35' 54.42''

N and 82° 36' 21.15'' W) (Fig. 1a.) and Punta Uva (9° 39' 11.12'' N and 82° 41' 33.94'' W) (Fig. 1b). Members of the Cieneguita Fishermen's Association reported a similar event near Isla Quiribí (9° 59' 34.32'' N and 83° 0' 44.95'' W). This is the only location where dead individuals, 86 to be exact, were collected floating on the surface of the sea.

The photographs taken were analyzed individually to establish the maximum number of dead fish per m². Fish collected were preserved in 70% alcohol and were later examined in the Laboratory of Natural Resources and Wildlife (LARNAVISI) at Universidad Nacional de Costa Rica (UNA) to determine whether they had external lesions and to measure total length (*Lt*) (Fig. 1c) and weight (g). Control specimens were taken to the Museum of Zoology of the School of Biological Sciences at UNA. These specimens did not constitute the total number of dead fish found.

RESULTS AND DISCUSSION

In Playa Gandoca, up to 57 dead individuals/m² were found, arranged in a linear manner parallel to the coast, while in Punta Uva a maximum of 64 dead individuals/m² were counted on the sea surface, being moved in rows by the currents from the northwest to the southeast. It is important to note that during the dives performed at Punta

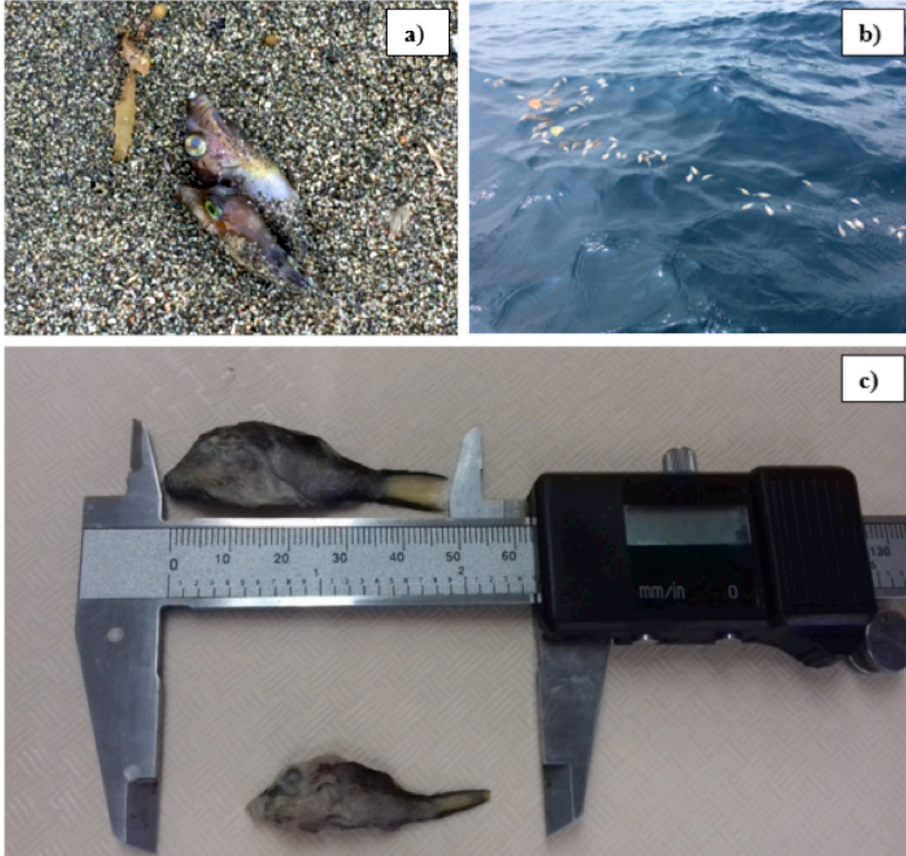


Fig. 1. *C. rostrata* individuals found dead in a) the sand of Playa Gandoca (photo provided by Felix Morrison), b) in the water near Punta Uva, and c) collected in the water in Isla Quiribí, which were measured for total length in mm (L_t)

Fig. 1. Individuos de *C. rostrata* encontrados muertos en a) la arena de la Playa Gandoca (fotografía suministrada por Felix Morrison), b) en el agua en las cercanías a Punta Uva y c) recolectados en el agua en Isla Quiribí que fueron medidos en L_t (mm)

Uva, live healthy specimens of *C. rostrata* were found, larger than the dead individuals on the surface. None of the dead individuals photographed or collected showed lesions, spots, presence

of ectoparasites, or morphological anomalies in external tissues that could indicate the cause of mortality.

The L_t of the collected fish varied between 25 and 49 mm, with

an average of 36.73 ± 4.72 mm, while their weight ranged between 0.40 and 2.08 g, with an average of 0.90 ± 0.37 g. These sizes are similar to those found by Jordán-Garza *et al.* (2009) in another *C. rostrata* mass mortality event reported on the northwest coast of the Yucatan Peninsula, where average *Lt* was 38 ± 2.6 mm, with densities of 39.5 ± 23.6 dead individuals/m².

Jordán-Garza *et al.* (2009) considered that the dead fish were probably juveniles of the same cohort, since their *Lts* were smaller than those of the adults of reproductive age reported by Sikkell (1990). This could also be the case for most of the individuals collected for the present study. Similar events have been reported in blogs and other electronic media in Costa Rica and elsewhere in the Caribbean (Table 1), in which the sizes of dead individuals were approximately 40 mm (Castillo & Pérez, 2014).

Some of the possible causes of death documented in other mass mortality events of tetraodontidae and reef fish include infection by ectoparasite copepods in *Diodon maculatus* (Sri Lanka) (Kirtisinghe, 1934), paralytic toxins produced by dinoflagellates (Baja California, Mexico) (Ochoa *et al.* 1997), outbreaks of diseases in surgeonfish such as *Ctenochaetus striatus* (French Polynesia) (Stier *et al.* 2013) and toxicosis (Hawaii), which caused vacuolar changes in the liver of *Aro-*

thron hispidus and death (Work *et al.* 2017). The artisanal fishing practices in the area were ruled out as potential causes, since the event only affected *C. rostrata*, which is not a species of commercial interest. The phenomenon lasted three weeks and was observed in locations at least 10 km apart from each other.

High mortality could also be associated with increase in sea surface temperatures, which can intensify metabolic requirements and reduce survival when exceeding the optimal ranges for the species (Holt & Jørgensen, 2015). The adverse effects of temperature on the recruitment of fish have also been studied by Berlinsky *et al.* (2004), Trujillo (2009) and Shi *et al.* (2010). For the dates of the event reported, sea surface temperature fluctuated between 29 and 30°C (Universidad de Costa Rica, 2016), higher than that reported by Piedra-Castro (2017) in the period 2003-2013 in the same area. This could possibly affect survival.

However, these *C. rostrata* mass mortality events seem to be rather related to a recruitment strategy reported in fish of the family Tetraodontidae, such as *Diodon holocanthus*. These balloon fish form aggregations of up to 400 juvenile individuals/m² in order to establish larger populations of adults at important feeding sites (Debrot & Nagelkerken, 1997). Local resources present in the reefs and marine

Table 1. Locations in the Greater Caribbean with reports of high *C. rostrata* mortalities

Cuadro 1. Localidades con reportes de mortalidades altas de *C. rostrata* en el Gran Caribe

Year	Location	Event	Reference
2008	Yucatan Peninsula (Mexico)	Mass mortality	Jordán-Garza <i>et al.</i> (2009)
2009	Roatán (Honduras)	Increases in density and mortality, but no mass mortality	N. Bolaños-Cubillos, Personal communication, January 31, 2018*
2013	San Andrés (Colombia), Turneffe, South Water Caye, Gladden Spit, Silk Cayes, Sapodilla Cayes, Central & South Barrier Reef (Belize), Roatán (Honduras), Southern Caribbean (Costa Rica)	Mass mortality and noticeable increase in density.	N. Bolaños-Cubillos, personal communication, January 31, 2018*
2014	Guna Yala and Bocas del Toro (Panama), Southern Caribbean (Costa Rica)	Mortality	Castillo & Pérez (2014) Gutiérrez (2014)
2017	San Andrés (Colombia), Southern Caribbean (Costa Rica)	Mass mortality and increased density	El Isleño (2017). (see bibliography of this paper).

* N. Bolaños-Cubillos allowed the citation of information of similar events in other locations in the Greater Caribbean reported in “Coral List” emails.

phanerogams may, therefore, not be sufficient to sustain these large aggregations of juveniles.

Vali & Sinclair-Taylor (2011) reported a similar recruitment and mortality event for fish of the same genus (*C. bennetti*) in Sulawesi, during which the recruits had sizes similar to those discussed in this paper (approximately 40 mm). This could indicate

an insufficiency of available resources in the environment required to satisfy the metabolic needs of high densities of individuals, which would constitute a stressor for the recruits causing the death of many individuals.

Although some possible causes of these mass mortality events have been presented in this paper, it is important to conduct exhaustive studies and im-

plement strategies to monitor these phenomena and their consequences in marine ecosystems.

BIBLIOGRAPHY

- Arrieta, A. U. (2013). *Estructura de la comunidad de peces de la zona arrecifal de Puerto Viejo-Punta Mona, Limón, Costa Rica*. Unpublished master's thesis, Universidad Nacional de Costa Rica, Heredia, Costa Rica.
- Barrantes, N. (2010). *Programa interpretativo del ecosistema marino de la Isla Quiribrí (Uvita), Limón*. Unpublished licentiate's thesis, Universidad de Costa Rica, Montes de Oca, Costa Rica.
- Berlinsky, D. L., Taylor, J. C., Howell, R., Bradley, T. M. & Smith, T. I. (2004). The effects of temperature and salinity on early life stages of black sea bass *Centropristis striata*. *J. World Aquacult. Soc.*, 35(3), 335-344. <https://doi.org/10.1111/j.1749-7345.2004.tb00097.x>
- Castillo, A. & Pérez, E. (2014). Aparecen muertos miles de peces Uas Moldugas, de la especie, *Canthigaster rostrata*, en los Archipiélagos del Caribe Panameño. *Gubiler*. Retrieved on September 14, 2017 from <http://gubiler.blogspot.com/2014/11/aparecen-muertos-miles-de-peces-uas.html>
- Cortés, J., Fonseca, A. C., Nivia-Ruiz, J., Nielsen-Muñoz, V., Samper-Villarreal, J., Salas, E., Martínez, S. & Zamora-Trejos, P. (2010). Monitoring coral reefs, seagrasses and mangroves in Costa Rica (CARICOMP). *Rev. Biol. Trop.*, 58(3), 1-22.
- Debrot, A. O. & Nagelkerken, I. (1997). A rare mass recruitment of the balloonfish (*Diodon holocanthus* L.) in the Leeward Dutch Antilles, 1994. *Caribb. J. Sci.*, 33(3-4), 284-286.
- Gutiérrez, T. (2014). Pescadores reportan miles de peces muertos en las playas del Caribe Sur. *CRhoy*. Retrieved on January 29, 2018 from <http://www.crhoy.com/archivo/pescadores-reportan-miles-de-peces-muertos-en-las-playas-del-caribe-sur-v31718x/>
- Holt, R. E. & Jørgensen, C. (2015). Climate change in fish: effects of respiratory constraints on optimal life history and behavior. *Biol. Lett.*, 11, 1-5. <https://doi.org/10.1098/rsbl.2014.1032>
- El Isleño. (2017). Investigan muerte masiva de peces en San Andrés. Retrieved on September 14, 2017 from http://www.elisleño.com/index.php?option=com_content&view=article&id=13259:investigan-muerte-masiva-de-peces-en-varios-sectores-de-la-isla&catid=41:ambiental&Itemid=83
- Jordán-Garza, A. G., Díaz-Almeyda, E. M., Iglesias-Prieto, R., Maldonado, M. A. & Ortega, J. (2009). Mass mortality of *Canthigaster rostrata* at the northeast-coast of the Yucatan Peninsula. *Coral Reefs*, 28, 661. <https://doi.org/10.1007/s00338-009-0492-x>
- Kirtisinghe, P. (1934). Parasitic infection of porcupine fish. *Nature*, 133, 142. <https://doi.org/10.1038/133142a0>
- Ochoa, J. L., Sánchez-Paz, A., Cruz-Villacorta, A., Núñez-Vázquez, E. & Sierra-Beltrán, A. (1997). Toxic events in the northwest Pacific coastline of Mexico during 1992-1995: origin and impact. *Hydrobiologia*, 352(1-2), 195-200. <https://doi.org/10.1023/A:1003015103760>
- Piedra-Castro, L. (2017). *Estrategia de manejo de recursos ecosistémicos marino-costeros en el Caribe Sur de Costa Rica, orientadas orientada a la adaptación*

- a la variabilidad climática de las comunidades costeras*. Unpublished doctoral dissertation, Instituto Tecnológico de Costa Rica, Cartago, Costa Rica.
- Schaper, S. (1996). La comunidad de peces en el arrecife de Puerto Viejo (Limón, Costa Rica). *Rev. Biol. Trop.*, 44(2), 923-925.
- Shi, Y. H., Zhang, G. Y., Zhu, Y. Z., Liu, J. Z. & Zang, W. L. (2010). Effects of temperature on fertilized eggs and larvae of tawny puffer *Takifugu flavidus*. *Aquacult. Res.*, 41(12), 1741-1747. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2009.02460.x>
- Sikkel, P. C. (1990). Social organization and spawning in the Atlantic sharpnose puffer, *Canthigaster rostrata* (Tetraodontidae). *Environ. Biol. Fish.*, 27(4), 243-254. <https://doi.org/10.1007/BF00002743>
- Stier, A., Idjadi, J., Geange, S. & Jada-Simone, W. (2013). High mortality in a surgeonfish following an exceptional settlement event. *Pac. Sci.*, 67(4), 533-538. <https://doi.org/10.2984/67.4.4>
- Trujillo, O. (2009). *Dinámico de reclutamiento de peces de arrecife rocoso del suroeste del Golfo de California*. Unpublished doctoral dissertation. Instituto Politécnico Nacional, La Paz, Mexico.
- Universidad de Costa Rica. (2016). Módulo de Información Oceanográfica. Retrieved on January 29, 2018 from <http://miocimar.ucr.ac.cr/content/temperatura-superficial-del-mar-24>.
- Vali, A. L. & Sinclair-Taylor, T. (2011). Mass schooling and mortality of *Canthigaster bennetti* in Sulawesi. *Coral Reefs*, 30(1), 251-251. <https://doi.org/10.1007/s00338-010-0706-2>
- Work, T., Moeller, P., Beauchesne, K., Dagenais, J., Breeden, R., Rameyer, R. ... & Winton, J. (2017). Pufferfish mortality associated with novel polar marine toxins in Hawaii. *Dis. Aquat. Org.*, 123(2), 87-99. <https://doi.org/10.3354/dao03096>

Primer registro de albinismo en el bagre boca chica *Ariopsis felis* (Siluriformes: Ariidae) del sureste del Golfo de México

First record of albinism in hardhead sea catfish *Ariopsis felis* (Siluriformes: Ariidae) from southeastern Gulf of Mexico

Luis A. Guerra-Jiménez¹ y Raúl E. Lara-Mendoza^{*2}

RESUMEN

Se reporta por primera vez la presencia de un organismo albino de *Ariopsis felis* capturado por la flota palangrera artesanal de Tabasco a 68.6 km de la costa y 49 m de profundidad, el ejemplar correspondió a una hembra sexualmente madura con longitud furcal de 31.5 cm y peso total de 406.7 g. El presente estudio aumenta los registros de especies albinas en el sureste del Golfo de México.

Palabras clave: Leucismo, alteración genética, bagre, pesquería artesanal, Tabasco.

ABSTRACT

The presence of an albino *Ariopsis felis* specimen is recorded for the first time. The specimen was captured by an artisanal longline fleet from Tabasco 68.6 km off the coast at 49 m deep. The specimen was a mature female, with 31.5 cm furcal length and 406.7 g. total weight. This study increases the records of albino species in the southeastern Gulf of Mexico.

Keywords: Leucism, genetic alteration, sea catfish, artisanal fishing, Tabasco.

INTRODUCCIÓN

El albinismo es una anomalía genética caracterizada por la ausencia

total o parcial de la pigmentación en el cuerpo de un organismo, es causada por la alteración de un gen recesivo que afecta la producción de melanina

1 Facultad de Ciencias del Mar, Universidad Autónoma de Sinaloa. Paseo Claussen S/N, Colonia Los Pinos, C. P. 82000

2 Centro Regional de Investigación Pesquera-Ciudad del Carmen, Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura. SAGARPA. Av. Héroes del 21 de abril, núm. 26, Col. Playa Norte. Ciudad del Carmen, Campeche. C. P. 24100. rlara.fish@gmail.com*

Recibido: 23 noviembre 2017

Corregido: 20 marzo 2018

Aceptado: 20 marzo 2018

DOI: <http://dx.doi.org/10.15359/revmar.10-1.3>

Rev. Mar. Cost. ESSN 1659-407X. Vol. 10 (1): 39-46, Enero-Junio 2018.



Licencia Creative Commons
Atribución-No-Comercial
Compartir Igual 4.0 Costa Rica

(Li *et al.* 2017). Existen dos tipos de albinismo, en el primero se da una pérdida total de la pigmentación tegumentaria y retinal, y en el segundo una pérdida parcial de la pigmentación en donde solo los ojos o parte del cuerpo presenta la pigmentación original del organismo, a este último también se le conoce como albinismo parcial o leucismo (Lutz, 2001). En peces óseos se han reportado individuos albinos en una amplia variedad de especies marinas y dulceacuícolas, cuyas alteraciones genéticas se han relacionado con factores ambientales, que se podrían originar por diferentes razones como la herencia, la exposición a metales pesados o por selección artificial (Nobile *et al.* 2016). El comportamiento de los organismos albinos en su hábitat natural es por lo general solitario, lo que los hace vulnerables a depredadores (Hain & Leatherwood, 1982; Slavík *et al.* 2015).

El bagre marino boca chica o conocido localmente en Tabasco como curuco, *Ariopsis felis* (Linnaeus, 1766) es una especie de ambientes tropicales y subtropicales que habita sobre fondos blandos de arena o lodo en aguas salobres y marinas, en conjunto con el bagre bandera (*Bagre marinus*) representa una de las principales pesquerías en Tabasco, al ser este el estado de mayor producción en el Golfo de México y Mar Caribe mexicano en términos de descarga pesquera (CONAPESCA, 2013). *A. felis* se encuentra en la cate-

goría de menor preocupación de acuerdo al listado de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza, sin embargo, no presenta ningún tipo de regulación o medida de protección enfocada a esta especie, por lo que es necesario realizar estudios que aporten información para determinar el estado actual de su población (UICN, 2018). La captura de esta especie se realiza principalmente frente a la Barra de Chiltepec y Frontera, entre los 14-72 m de profundidad, utilizando palangre de fondo con anzuelos circulares, aunque también incide en otras pesquerías con redes de enmalle (DOF, 2012).

El objetivo del presente estudio es reportar por primera vez la presencia de un ejemplar albino del bagre boca chica, *A. felis*, y aportar información sobre el número de registros de especies que presentan esta anomalía en el sureste del Golfo de México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Durante julio de 2017, se registró un ejemplar *A. felis*, el cual fue capturado por pescadores ribereños de San Pedro, Tabasco (18° 32' N, 92° 27' W), utilizando un palangre de fondo con anzuelos circulares (núm. 9/0) y carnada muerta de músculo de bonito (*Euthynnus alletteratus*), a una distancia de la costa de 68 km y una profundidad de 49 m (Fig. 1). El ejemplar de *A. felis* fue determinado utilizando la guía FAO de identificación de especies

para propósitos pesqueros (Carpenter, 2002), posteriormente, se etiquetó y se llevó al Laboratorio de Investigación Pesquera del Centro Regional de Investigación Pesquera (CRIP), que pertenece al Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura con sede en Ciudad del Carmen, Campeche. En el laboratorio, fueron revisadas las características fenotípicas del ejemplar respecto a su coloración; se determinó el sexo

mediante la observación directa de las gónadas, se realizaron diversas mediciones morfométricas con un ictiómetro (± 0.1 cm) y se obtuvo el peso total con una balanza digital (± 0.01 g).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se recolectó un ejemplar hembra en condición sexual madura, con longitud furcal (LF) de 31.5 cm y peso total

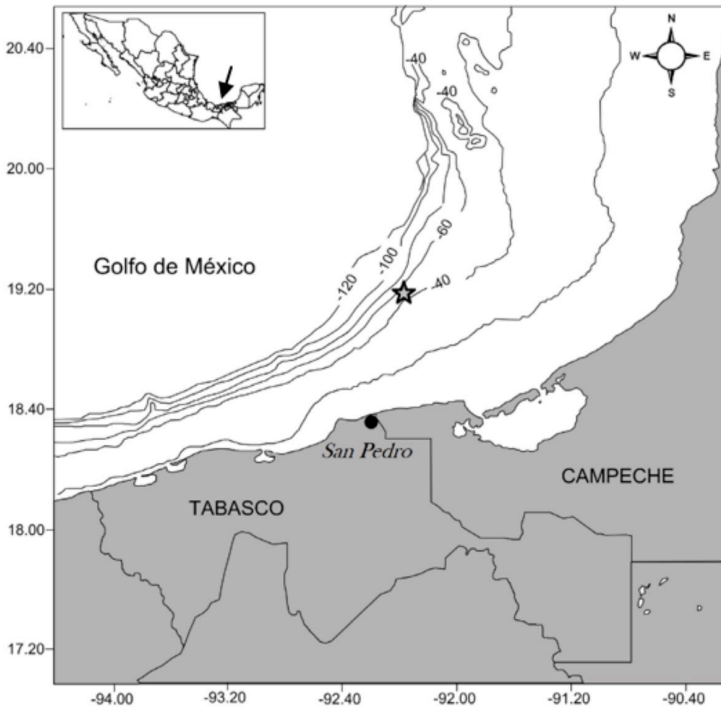


Fig. 1. Localización del sitio de captura (estrella gris) y localidad de desembarque (círculo negro) del ejemplar albino de *Ariopsis felis* en el sureste del Golfo de México. Los números negativos representan las isobatas en metros

Fig. 1. Catch site (grey star) and fishery landing (black circle) locations of the albino *Ariopsis felis* specimen in the southeastern Gulf of Mexico. Negative numbers represent the isobates in meters

(PT) de 406.7 g, otras medidas morfométricas son reportadas en el Cuadro 1. Las características particulares de este organismo fueron su coloración blanca en casi la totalidad de su cuerpo, excepto la segunda aleta dorsal, la cual mostró una coloración más oscura y sus ojos con características similares a la de un organismo normal (Fig. 2), con una coloración marrón azulado en el dorso, que se atenúa a blancuzco en la parte ventral, las aletas pélvicas son pálidas y la segunda dorsal negruzca.

Cuadro 1. Medidas morfométricas del ejemplar albino de *Ariopsis felis*

Table 1. Morphometric measurements of the albino *Ariopsis felis* specimen

Medida	cm
Longitud furcal	35.1
Longitud estándar	31.5
Altura máxima	5.6
Contorno máximo	17.5
Longitud del ojo	1.3
Longitud de la cabeza	8.7
Longitud base de la 1. ^a dorsal	3.7
Longitud base de la 2. ^a dorsal	2.1
Longitud base de la aleta pélvica	1.7
Longitud base aleta pectoral	1.6
Longitud base aleta anal	4.6
Longitud primer par de barbillones	4.5
Longitud segundo par de barbillones	4.1
Longitud tercer par de barbillones	2.1
Longitud hocico	3.1



Fig. 2. Vista lateral (I) y ventral (II) de una hembra madura de *Ariopsis felis* con albinismo, capturada en el sureste del Golfo de México

Fig. 2. Lateral (I) and ventral (II) view of a mature female *Ariopsis felis* with albinism, captured in southeastern Gulf of Mexico

Este reporte amplía el número de registros de especies de bagre que presentan estas características para el sureste del Golfo de México y para otras partes del mundo (Cuadro 2). Algunos otros registros para la zona han sido para el bagre bandera, *Bagre marinus* (Wakida-Kusunoki & Amador-del-Ángel, 2013) y la raya americana o balá, *Hypanus americanus* (Wakida-Kusunoki, 2015). La presencia de estos eventos de albinismo en especies que habitan el sureste del Golfo de México en los últimos años, puede deberse a diferentes causas, entre ellas la intensa actividad petrolera que hay en la zona y sus derrames (Ponce-

Velez *et al.* 2006, Wakida-Kusunoki & Caballero-Chávez, 2009); la presencia de contenido de metales pesados en los hábitats de estas especies, o el resultado de alteraciones genéticas dentro de sus mismas poblaciones (Wakida-Kusunoki & Amador-del-Ángel, 2013; Wakida-Kusunoki, 2015; Mena-Valenzuela & Valdiviezo-Rivera, 2016).

Cuadro 2. Reportes de anomalías en la coloración dentro del orden Siluriformes

Table 2. Records of body coloration abnormalities in the Siluriformes order

Tipo de anomalía	Familia	Especie	Localidad	Referencia
Albinismo total	Ictaluridae	<i>Ictalurus punctatus</i>	Río Chickahominy, EE. UU.	Menzel (1944)
Albinismo total	Ariidae	<i>Arius jella</i>	India	Gupta & Bhowmik (1958)
Albinismo total	Ariidae	<i>Tachysurus dussumieri</i>	Bahía Palk, India	Rajapandian & Sundaram (1966)
Albinismo total	Ictaluridae	<i>Noturus gyrinus</i>	Río Suwannee, Georgia	Holder & Ramsey (1972)
Albinismo total	Ariidae	<i>Tachysurus tenuispinis</i>	India	Baragi <i>et al.</i> (1976)
Albinismo total	Pimelodidae	<i>Zungaro zungaro</i>		Taberner <i>et al.</i> (1976)
Albinismo total	Ariidae	<i>Arius caelatus</i>	Malpe, India	Krishna-Pillai & Somvanshi (1979)
Albinismo total	Ictaluridae	<i>Nocturus flavus</i>	Río Platte, EE. UU.	Platania <i>et al.</i> (1986)
Albinismo total	Heptateridae	<i>Rhamdella minuta</i>	Sao Paulo, Brasil	Sazima & Pombal (1986)
Albinismo total y parcial en segundo organismo	Siluridae	<i>Silurus glanis</i>	Austria, Francia	Dingerkus <i>et al.</i> (1991)
Albinismo total	Ictaluridae	<i>Ameiurus catis</i>	Lago Epton, Gran Bretaña	Britton & Davies (2006)
Albinismo total	Loricariidae	<i>Schizolecis guntheri</i>	Brasil	de Brito & Caramaschi (2005)
Albinismo total	Ariidae	<i>Osteogeneiosus militaris</i>	Mumbai, India	Chavan <i>et al.</i> (2008)
Leucismo	Ariidae	<i>Genidens barbatus</i> y <i>Genidens planifrons</i>	Brasil	Leal <i>et al.</i> (2013)
Albinismo total	Ariidae	<i>Genidens barbatus</i>	Argentina	Milessi <i>et al.</i> (2013)

Tipo de anomalía	Familia	Especie	Localidad	Referencia
Albinismo total	Ariidae	<i>Bagre marinus</i>	Sureste Golfo de México	Wakida-Kusunoki & Amador-del-Ángel (2013)
Leucismo	Loricariidae	<i>Rhinelepis aspera</i>	Brasil	Batista-Nobile <i>et al.</i> (2016)
Leucismo parcial	Astroblepidae	<i>Astroblepus ubidiai</i>	Lago San Pablo, Ecuador	Mena-Valenzuela & Valdiviezo-Rivera (2016)
Albinismo total	Heptapteridae	<i>Imparfinis mirini</i>	Sao Paulo	Manoel <i>et al.</i> (2017)
Albinismo total	Ariidae	<i>Sciades parkeri</i>	Brasil	Andrade <i>et al.</i> (2017)
Leucismo parcial	Ariidae	<i>Ariopsis felis</i>	Sureste Golfo de México	Presente estudio

AGRADECIMIENTOS

A los pescadores de San Pedro, Tabasco, por la donación del ejemplar examinado para fines científicos. Al personal técnico del CRIP-Ciudad del Carmen que apoyaron durante los muestreos y a los revisores anónimos por sus comentarios. El presente estudio formó parte del Proyecto de Investigación Pesquera de los Recursos de Escama Marina de Tabasco, financiado por el Instituto Nacional de Pesca y Acuicultura (INAPESCA).

BIBLIOGRAFÍA

- Andrade, M. C., Schmid, K., Souza, O. & T. Giarrizzo (2017). First report of albinism in the Threatened Gillbacker sea catfish *Sciades parkeri* (Siluriformes, Ariidae). *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 60, 1-6. e17160326. <http://dx.doi.org/10.1590/1678-4324-2017160326>
- Baragi, M. V., Yagaral, R. B. & James, P. S. B. R. (1976). On an albino of the marine cat fish *Tachysurus tenuispinis* (Day). *Matsya* 2, 82-83.
- Batista-Nobile, A., Freitas-Souza, D., Pontieri de Lima, F., Acosta, A. A. & Da Silva, R. J. (2016). Partial albinism in *Rhinelepis aspera* of albinismo in South American freshwater fishes. *Rev. Mex. Biodivers.*, 87(2), 531-534. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.04.005>
- Britton, T. R. & Davies, G. D. (2006). First record of the catfish *Ameiurus catus* in Great Britain. *J. Fish Biol.* 69(4), 1236-1238. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.2006.01171.x>
- Carpenter, K. E. (2002). *The living marine resources of the western central Atlantic*. Roma, Italia. FAO.
- Chavan, B. B., Sundaram, S., Sawant, A. D. & Das, T. (2008). Record of complete albinism in marine catfish *Osteogeneiosus militaris* (Linnaeus 1758), landed at Mumbai. *Mar. Fish. Inform. Serv.*, 197, 15-17.
- CONAPESCA. (2013). *Anuario estadístico de acuicultura y pesca 2013*. Mazatlán,

- Sinaloa, México: Comisión Nacional de Acuacultura y Pesca. SAGARPA.
- de Brito, M. F. G. & Caramaschi, P. E. (2005). An albino armored catfish *Schizolecis gunteri* (Siluriformes: Loricariidae) from an Atlantic Forest coastal basin. *Neotrop. Ichthyol.* 3(1), 123-125. <https://doi.org/10.1590/S1679-62252005000100009>
- Dingerkus, G., Séret, B. & Guilbert, E. (1991). The first albino wels, *Silurus glanis* Linnaeus, 1758, from France, with a review of albinism in catfishes (Teleostei: Siluriformes). *Cybium*, 15(3), 185-188.
- DOF. (2012). Acuerdo mediante el cual se da a conocer la actualización de la Carta Nacional Pesquera (continúa en la Tercera Sección). (Publicado en DOF: 2/12/2010). México. *Diario Oficial de la Federación*.
- Gupta, P. D. & Bhowmik, R. M. (1958). A case of albinism in *Arius jella* Day from India. *Sci. Cult.*, 24(6), 283.
- Hain, J. H. & Leatherwood, S. (1982). Two sightings of white pilot whales, *Globicephalia melaena* and summarized records of anomalously white cetaceans. *J. Mammal.*, 63(2), 338-343. <https://doi.org/10.2307/1380654>
- Holder, D. R. & Ramsey, J. S. (1972). A case of albinism in the Tadpole Madtom, *Noturus gyrinus*. *Trans. Am. Fish. Soc.* 101(3), 566-567. [https://doi.org/10.1577/1548-8659\(1972\)101%3C-566b:ACOAIT%3E2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8659(1972)101%3C-566b:ACOAIT%3E2.0.CO;2)
- Krishna-Pillai, S. & Somvanshi, V. S. (1979). A case of complete albinism in marine cat fish *Arius caelatus* (Valenciennes). *Indian J. Fish.*, 26(1/2), 240-241.
- Leal, E. M., Schulz, H. U., Alborno, L. P., Manchado, R. & Ott, H. P. (2013). First record of Partial Albinism in two Catfish Species of *Genidens* (Siluriformes: Ariidae) in an Estuary of Southern Brazil. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 56(2), 237-240. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132013000200008>
- Li, Y., Geng, X., Bao, L., Elasmad, A., Huggins, W. K., Dunham, R. & Liu, Z. (2017). A deletion in the Hermansky-Pudlak syndrome 4 (*H_{ps}4*) gene appears to be responsible for albinism in channel catfish. *Mol. Genet. Genomics*, 292, 663-670. <https://doi.org/10.1007/s00438-017-1302-8>
- Lutz, C. G. (2001). Gene Action I: Qualitative Traits. In C. G. Lutz (Ed.), *Practical Genetics for Aquaculture* (pp. 4-32). Iowa, EE. UU.: A Blackwell Science Ltd. <https://doi.org/10.1002/9780470999837>
- Manoel, S. P., Ono, E. R. & Alves, M. I. B. (2017). First report of albinism in the South American catfish *Imparfinis mirini* (Siluriformes: Heptapteridae). *Rev. Mex. Biodivers.*, 88(2), 471-473. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.01.030>
- Mena-Valenzuela, P. & Valdiviezo-Rivera, J. (2016). Leucismo en *Astroblepus ubidiai* (Pellegrin 1931) (Siluriformes: Astroblepidae), de la provincia de Imbabura, Ecuador. *Biota Colombiana*, 17(1), 131-136. <https://doi.org/10.21068/c2016v17r01a10>
- Menzel, R. W. (1944). Albino catfish in Virginia. *Copeia*, 2, 124. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2017.01.030>
- Milessi, C. A., Cortés, F. & Jaureguizar, A. (2013). First report of albinism in the marine catfish *Genidens barbatus* (Lacepède 1803) in Argentine waters. *Pan-American J. Aquat. Sci.*, 8 (2), 139-141.
- Nobile, B. A., Freitas-Souza, D., Pontieri de Lima, F., Acosta, A. A. & Da Silva, R. J. (2016). Partial albinism in *Rhinelepis aspera* from the upper Paraná Basin, Brazil, with a review of

- albinism in South American freshwater fishes. *Rev. Mex. Biodivers.*, 87(2), 531-534. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2016.04.005>
- Platania, P. S., Cummings, T. R., Kehmeier, K. J. (1986). First verified record of the Stonecat, *Nocturus* (Ictaluridae), in the South Platte River System, Colorado, with notes on an albinistic specimen. *Southwest. Nat.*, 31(4), 553-555. <https://doi.org/10.2307/3671721>
- Ponce-Vélez, G., Botello, A. V. & Díaz-González, G. (2006). Organic and inorganic pollutants in marine sediments from northern and southern continental shelf of the Gulf of Mexico. *Int. J. Environ. Poll.*, 26(1/2/3), 295-304. <https://doi.org/10.1504/IJEP.2006.009113>
- Rajapandian, M. E. & Sundaram, K. S. (1967). A case of complete albinism in the catfish *Tachysurus dussumieri* (Cuvier and Valenciennes). *J. Mar. Biol. Ass. India*, 9(1), 194-195.
- Sazima, I. & Pombal Jr., J. (1986). Um albino de *Rhamdella minuta*, com notas sobre comportamento (Osteichthyes, Pimelodidae). *Rev. Bras. Biol.*, 46(2), 377-381.
- Slavík, O., Horhy, P. & Maciak, M. (2015). Ostracism of an Albino Individual by a group of pigmented Catfish. *PLOS ONE* 10(5), e0128279. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128279>
- Taberner, R., Fernández-Santos, J. O. & Castelli, J. O. (1976). Un manguruyú albino *Plaulicea leutkeni* (Steindachner, 1876) Eigenmann, 1910. *Physys. B.*, 35(91), 121-123.
- UICN. (2018). The IUCN Red List of Threatened Species. Recuperado en marzo 6, 2018, disponible en <http://www.iucnredlist.org>
- Wakida-Kusunoki, A. T. & Amador-del-Ángel, L. E. (2013). First record of albinism in gafftopsail catfish *Bagre marinus* (Pisces: Ariidae) from southeast México. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.*, 48(1), 203-206. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572013000100019>
- Wakida-Kusunoki, A. T. & Caballero-Chávez, V. (2009). Efectos del derrame de hidrocarburos del pozo Kab sobre la pesca ribereña en el litoral de Campeche y Tabasco, México. *Cienc. Pesq.*, 17(1), 65-73.
- Wakida-Kusunoki, A. T. (2015). First record of total albinism in southern stingray *Dasyatis americana*. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.*, 50(1), 135-139. <https://doi.org/10.4067/S0718-1957201500010001>

Riqueza y distribución vertical de los moluscos del litoral rocoso de la provincia de Islay, Arequipa, al sur del Perú

Mollusk richness and vertical distribution along the rocky shore of Islay, Arequipa, Southern Peru

Cristian A. Tejada-Pérez^{1*}, Francisco Villasante^{2, 3}, Cesar Luque-Fernández^{2, 3},
Claudia L. Tejada-Begazo^{2, 4} y Michael Espinoza²

RESUMEN

El litoral rocoso es un ecosistema heterogéneo en el que se distinguen una franja supralitoral, una zona mediolitoral y una franja infralitoral, al reconocer a las especies de moluscos como indicadoras de una zonación vertical. Este trabajo contribuye al conocimiento de la riqueza y la distribución vertical de los moluscos intermareales para la provincia de Islay, Arequipa, Perú. Se realizó una búsqueda intensiva en los meses de noviembre y diciembre del año 2013, para poder determinar la riqueza y se establecieron tres cuadrantes de 25 x 25 cm de lado distribuidos perpendicularmente a la línea costera con 14 repeticiones en los 7 sitios de estudio, para establecer su distribución vertical. Se utilizó un análisis de componentes principales (ACP), un escalamiento multidimensional no métrico (nMDS) y curvas de rango-abundancia para la determinación de la distribución vertical, y un análisis de similitudes (ANOSIM) para determinar diferencias entre la composición de moluscos entre los sitios de estudios y las subzonas del litoral. Se encontraron un total de 57 taxones, donde *Echinolittorina peruviana* fue la especie más representativa en la franja supralitoral, *Perumytilus purpuratus* para la zona mediolitoral y *Tegula atra* para la franja infralitoral. No se presentaron diferencias significativas en la composición de moluscos entre los sitios de estudio, pero sí entre las subzonas, al ser la zona mediolitoral la que presentó mayor riqueza y abundancia de organismos. La similitud fue mayor entre las subzonas medio e infra- con respecto a la supralitoral.

Palabras claves: Intermareal, Matarani, zonación, *Echinolittorina*, Catarindo.

- 1 Instituto Científico Michael Owen Dillon-IMOD, Calle Los Arces 339, Cayma, Arequipa, Perú ctejada@imod.org.pe*
- 2 Departamento Académico de Biología, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Av. Alcides Carrión s/n, Arequipa, Perú.
- 3 Instituto de Ciencia y Gestión Ambiental-Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa (ICIGA-UNSA), Calle San Agustín 108, Arequipa, Perú.
- 4 Laboratorio de Ciencias del Mar N.º 317, Universidad Peruana Cayetano Heredia, Av. Honorio Delgado 430, San Martín de Porres, Lima, Perú.

Recibido: 2 octubre 2017

Corregido: 8 marzo 2018

Aceptado: 13 marzo 2018

DOI: <http://dx.doi.org/10.15359/revmar.10-1.4>

Rev. Mar. Cost. ESSN 1659-407X. Vol. 10 (1): 47-66, Enero-Junio 2018.



Licencia Creative Commons
Atribución-No-Comercial
Compartir Igual 4.0 Costa Rica

ABSTRACT

The coastline is a heterogeneous ecosystem that includes a supralittoral fringe, a midlittoral zone, and an infralittoral fringe, with mollusk species that serve as indicators of vertical zonation. This study contributes to the knowledge of richness and vertical distribution of intertidal mollusks in Islay, Arequipa, Peru. An intensive search was conducted during November and December 2013 to determine richness. A total of 3 25x25 cm grids were located perpendicularly to the seashore with 14 repetitions in each of the 7 study sites, to establish their vertical distribution. A Principal Component Analysis (PCA), nonmetric multidimensional scaling (nMDS) and rank-abundance curves were used to determine vertical distribution. In addition, an Analysis of Similarities (ANOSIM) was utilized to determine differences between mollusk compositions between study sites and subzones. A total of 57 taxa were found, where *Echinolittorina peruviana* was the most representative species in the supralittoral fringe, *Perumytilus purpuratus* in the midlittoral zone and *Tegula atra* in the infralittoral fringe. No significant differences were found in the mollusk composition between study sites. However, there were differences among sub-areas, where the midlittoral zone had the greatest richness and abundance of organisms. There were more similarities between the middle and infra-subzones with respect to the supralittoral fringe.

Keywords: Intertidal, Matarani, zonation, *Echinolittorina*, Catarindo.

INTRODUCCIÓN

Según Underwood (1981), la línea costera rocosa intermareal es un ambiente muy heterogéneo que soporta una amplia variedad de formas de vida las cuales se distribuyen de forma particular, al seguir un patrón de zonación característico verticalmente (Stephenson & Stephenson, 1949). De todos los grupos de organismos que habitan el litoral rocoso, los moluscos han sido reconocidos como indicadores de zonación específica (Bandel & Wedler, 1987). Existen factores físicos y biológicos que modifican de diferente forma esta zonación, al ser en la franja supralitoral, los factores físicos como la desecación y la radiación solar son los que limitan el número de especies, y los factores biológicos como la

depredación y la competencia de espacio son los que modifican la franja infralitoral. La zona mediolitoral es una combinación de ambas (Castro & Huber, 2003).

Para Álamo & Valdivieso (1997), el Perú es un país que posee una de las más altas concentraciones de diversidad biológica debido a su complejidad ecológica y biogeográfica; sin embargo, la mayoría de estudios sobre phylum Mollusca se han realizado en Provincia Panameña o Provincia del Pacífico Oriental Tropical (Spalding *et al.* 2007). Por esta razón, en la zona norte de Perú se reporta la mayor riqueza del moluscos (Ramírez *et al.* 2003); por otro lado, Paredes *et al.* (1999), menciona que la principal parte de información generada sobre ellos corresponde al departa-

mento de Lima e Ica que pertenecen a la Provincia Peruana o Provincia del Pacífico Sudeste Templado-Cálido (Spalding *et al.* 2007). Para el departamento de Arequipa, ubicado en la zona sur del Perú, existe solamente un estudio referido a moluscos, realizado en la provincia de Islay por Talledo y Gonzales (1989).

La distribución vertical de los invertebrados marinos en la zona costera de Perú son aún más escasos, y solo se cuenta con el de Paredes (1974), para el departamento de Lima, en donde se propone un esquema zonal modificado que se basa en Stephenson y Stephenson (1949).

Debido a la escasa información, esta investigación contribuye al conocimiento de la diversidad de moluscos y su distribución vertical largo de la costa rocosa de la provincia de Islay-Arequipa.

MATERIAL Y MÉTODOS

Área de estudio

La provincia de Islay abarca una sección de la línea costera del departamento de Arequipa, al sur del occidente de Perú, y posee un litoral que corre en dirección noroeste-sureste. Desde el límite con la provincia de Camaná hasta Mollendo, se presentan acantilados bajos, “caletas” pequeñas, islotes y pequeñas playas arenosas o pedregosas, que luego continúa en un litoral

arenoso desde Mollendo hasta Corío, interrumpido por la desembocadura del río Tambo y algunas pequeñas formaciones rocosas en Mejía, para luego continuar con un litoral rocoso desde Corío hasta el departamento de Moquegua (Hughe, 1991).

Se estudiaron 7 sitios a lo largo del litoral rocoso de la provincia de Islay, los cuales correspondieron a caletas (Fig. 1). Estas poseen pequeñas playas de arena o canto rodado, comprendido de dos acantilados no muy pronunciados. Todos los sitios de estudio presentan condiciones físicas similares, como una zona costera rocosa semiprottegida y muy poco intervenida por acción antrópica. El muestreo se enfocó en superficies de 50°-80° grados de inclinación, sobre sustrato rocoso, de superficie lisa



Fig. 1. Fotografía de la caleta “Playa Mollendito” en Islay, Arequipa- Perú
Fig. 1. Photograph of the cove at “Playa Mollendito”, Islay, Arequipa-Peru

o rugosa y con o sin cobertura algal. Los 7 sitios de estudio fueron: Mollendito (MOL) ($16^{\circ} 58' 09''$ S y $72^{\circ} 07' 09''$ O), Punta Islay-El Faro (PUN) ($17^{\circ} 00' 51''$ S y $72^{\circ} 06' 32''$ O), Dos Playas (DOS) ($17^{\circ} 00' 53''$ S y $72^{\circ} 04' 52''$ O), La Ballenita (BAL) ($17^{\circ} 00' 54''$ S y $72^{\circ} 02' 30''$ O), Catarindo (CAT) ($17^{\circ} 01' 02''$ S y $72^{\circ} 02' 02''$ O), Calera (CAL) ($17^{\circ} 15' 13''$ S y $72^{\circ} 32' 33''$ O) y Pacae (PAC) ($17^{\circ} 15' 53''$ S y $72^{\circ} 31' 26''$ O) (Fig. 2) y se realizaron muestreos durante los meses de noviembre y diciembre del 2013.

Metodología

La riqueza de moluscos se determinó a través de una búsqueda intensiva en cada sitio de estudios, en todos los tipos de ambientes en el litoral durante pleamar y bajamar (Guzmán *et al.* 1998).

Para la distribución vertical, se utilizó tres cuadrículas de 25×25 cm de lado (625 cm^2) distribuidas verticalmente en el litoral al seguir la metodología propuesta por Jones (1980), quien toma como límite superior a los litorínidos y como límite inferior a los equinodermos,

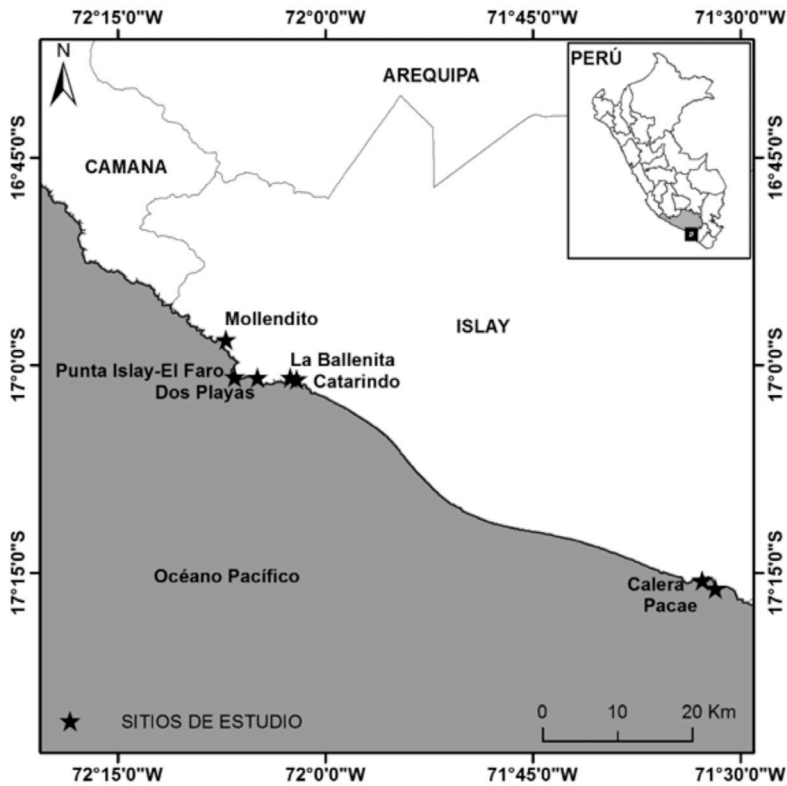


Fig. 2. Mapa de los sitios de estudio en la provincia de Islay, Arequipa-Perú
Fig. 2. Map of study sites in the province of Islay, Arequipa-Peru

y también se tomó como referencia el esquema de Paredes (1974) (Fig. 3). Se contabilizaron todos los moluscos dentro de cada cuadrícula, las cuales se colocaron: uno en la franja supralitoral, otra en la zona mediolitoral y otra en la franja infralitoral (Osorio & Cantuarias, 1989), a las que se denominaron como “subzona”, para este trabajo (Sibaja-Cordero, 2008; Sibaja-Cordero & Cortés, 2008; Londoño-Cruz *et al.* 2014; Ojeda *et al.* 2014). El tamaño de cada subzona fue muy variable, por lo que se tomó un punto medio referencial por cada una de ellas, para no tener preferencias de

ningún tipo al momento de colocar la cuadrícula. Se realizaron 14 repeticiones (las 3 cuadrantes verticalmente) distanciadas entre 10 a 15 metros en cada una de los 7 sitios de estudio.

Tanto en la búsqueda intensiva y en los cuadrantes, los organismos que no pudieron ser determinados en campo fueron trasladados al laboratorio para su determinación *a posteriori*.

Para la determinación taxonómica se utilizó a Marinovich (1973), McLean (1984), Paredes (1980; 1986), Talledo y Gonzales (1989), Álamo y Valdivieso (1997), Guzmán




NIVEL DE LA MAREA	ZONA		CUADRÍCULAS	
A. M. S.	ZONA SUPRALITORAL			
B. M. S.	LITORAL	FRANJA SUPRALITORAL		=14
		ZONA MEDIOLITORAL		=14
		FRANJA INFRALITORAL		=14
	ZONA INFRALITORAL			

Fig. 3. Esquema propuesto por Paredes (1974), de la zona litoral y la ubicación de las cuadrículas perpendicularmente al mar en cada sitio de estudio. A. M. S.: Pleamar de sicigias, B. M. S.: Bajamar de Sicigias

Fig. 3. Scheme proposed by Paredes (1974), for the rocky seashore and location of the grids for each study site. A.M.S.: high tide of Syzygy, B.M.S.: Syzygy’s low tide

et al. (1998), Veliz y Vásquez (2000), Espoz *et al.* (2004), Aldea y Valdovinos (2005), Veliz *et al.* (2012), Güller y Zelaya (2013), y a Schrödl y Hooker (2014). El arreglo taxonómico fue con base en *World Register of Marine Species* (WORMS Editorial Board, 2017) y *Worldwide Mollusc Species Data Base* (WMSDB) (Aldea *et al.* 2011; Galli 2013).

En el análisis de datos, la riqueza fue representada con el número total de taxones encontrados por sitio de estudio y en total para la provincia de Islay (Krebs, 1985; Torreblanca-Ramírez *et al.* 2012). Se aplicó un análisis de componentes principales (ACP) al transformar la abundancia en Log (X+1) (Sibaja-Cordero, 2008; Sibaja-Cordero & Cortés, 2008), para analizar la distribución vertical de las especies. Además, se elaboraron curvas de rango-abundancia ($\log_{10}(X+1)$) (Sokal & Rohlf, 1981), para cada subzona del litoral rocoso (Feinsinger, 2004). Se empleó un escalamiento multidimensional no métrico (nMDS) con la abundancia transformada a la doble raíz cuadrada (Clarke & Warwick, 2001), con la distancia de disimilitud de Bray-Curtis (Clarke & Warwick, 2001; Sibaja-Cordero 2008; Sibaja-Cordero & Cortés, 2008), para establecer las similitudes y/o la disimilitudes entre las 3 subzonas: la franja supralitoral, la zona mediolitoral y la franja infralitoral, de los sitios estudiados con respecto a la abundancia de

las especies y se complementó con una prueba de análisis de similitudes (ANOSIM) (Clarke & Warwick, 2001), para determinar si la composición de moluscos en los cuadrantes fueron similares entre sitios ($R > 0$, $P < 0.01$). El valor de R determina el nivel de diferencia donde $R = 1$ indica que existe una total diferencia entre grupos. Para el análisis estadístico se utilizó el programa libre PAST versión 2.17c (Hammer *et al.* 2001).

RESULTADOS

Diversidad

Se contabilizó un total de 17 740 especímenes de moluscos dentro de los cuadrantes de muestreo, sin considerar a los organismos que se encontraron en la búsqueda intensiva. Todos los moluscos se agrupan en 4 clases, 29 familias, 42 géneros y 57 taxones (Cuadro 1). La clase Gastropoda fue la mejor representada con 15 familias y 31 taxones (54.39%), seguida de Bivalvia con 10 familias y 17 taxones (29.82%). La clase Polyplacophora comprendió únicamente 3 familias y 8 taxones (14.04%) y la clase Cephalopoda con una familia y un taxón (1.75%). Las familias mejores representadas son Lottiidae (7 taxones), Chitonidae (6 taxones) y Fissurellidae (6 taxones) (Fig. 4). El sitio de estudio Dos Playas posee la mayor riqueza con 49 taxones y la menor es Pacae con 26 taxones (Fig. 5).

Cuadro 1. Ausencia y presencia de los diferentes taxones de moluscos en cada sitio de estudio en la provincia de Islay. Clases. **Biva**: Bivalvia, **Ceph**: Cephalopoda, **Gast**: Gastropoda, **Poly**: Polyplacophora. Sitios de estudio. **MOL**: Mollendo; **PUN**: Punta Islay-El Faro, **DOS**: Dos Playas, **BAL**: Ballenitas, **CAT**: Catarindo, **CAL**: Calera, **PAC**: Pacae. **N**: número total. cf.: *confer*. Zonación: **FS**: Franja Supralitoral; **ZM**: Zona Mediolitoral; **FI**: Franja Infralitoral.

Table 1. Absence and presence of different taxa of mollusks in each study site in the province of Islay. Classes. **Biva**: Bivalvia, **Ceph**: Cephalopoda, **Gast**: Gastropoda, **Poly**: Polyplacophora. Study sites. **MOL**: Mollendo; **PUN**: Punta Islay-El Faro; **DOS**: Dos Playas, **BAL**: Ballenitas; **CAT**: Catarindo; **CAL**: Calera; **PAC**: Pacae. **N**: Total number. cf.: *confer*. Zonation: **FS**: Supralittoral Fringe; **ZM**: Midlittoral Zone; **FI**: Infralittoral Fringe

Taxones	Clases	Familias	Sitios de estudio							Zonación	
			MOL	PUN	DOS	BAL	CAT	CAL	PAC		
<i>Acar pusilla</i> (G. B. Sowerby I, 1833)	Biva	Arcidae			X	X					FI
<i>Chama pellucida</i> Broderip, 1835	Biva	Chamidae			X	X	X	X			FI
<i>Carditella semen</i> (Reeve, 1843)	Biva	Condylocardiidae		X	X	X					ZM
<i>Carditella tegulata</i> (Reeve, 1843)	Biva	Condylocardiidae		X	X						ZM
<i>Hiatella arctica</i> (Linnaeus, 1767)	Biva	Hiatellidae			X			X	X		ZM
<i>Kellia suborbicularis</i> (Montagu, 1803)	Biva	Kellidae				X					ZM
<i>Kellia</i> sp.	Biva	Kellidae				X	X	X	X	X	ZM, FI
<i>Lasaea adansoni</i> (Gmelin, 1791)	Biva	Lasaeidae	X	X	X	X	X	X	X	X	ZM
<i>Entodesma cuneata</i> (Gray, 1828)	Biva	Lyonsiidae						X			FI
<i>Lyonsia</i> sp.	Biva	Lyonsiidae			X						ZM
<i>Aulacomya atra</i> (Molina, 1782)	Biva	Mytilidae	X	X	X	X		X			ZM, FI
<i>Brachidontes granulatus</i> (Hanley, 1843)	Biva	Mytilidae	X	X	X	X	X	X	X	X	FS, ZM, FI
<i>Leiosolenus peruvianus</i> (d'Orbigny, 1846)	Biva	Mytilidae	X	X							ZM

Taxones	Clases	Familias	Sitios de estudio							Zonación	
			MOL	PUN	DOS	BAL	CAT	CAL	PAC		
<i>Perumytilus purpuratus</i> (Lamarck, 1819)	Biva	Mytilidae	X	X	X	X	X	X	X	X	FS, ZM
<i>Semimytilus algosus</i> (Gould, 1850)	Biva	Mytilidae	X	X	X	X	X	X	X	X	ZM, FI
<i>Ennucula</i> sp.	Biva	Nuculidae		X							ZM
<i>Leukoma thaca</i> (Molina, 1782)	Biva	Veneridae		X							FI
<i>Octopus mimus</i> Gould, 1852	Ceph	Octopodidae	X								FI
<i>Crepidatella peruviana</i> (Lamarck, 1822)	Gast	Calyptraeidae	X	X	X	X	X	X	X	X	ZM, FI
<i>Trochita trochiformis</i> (Born, 1778)	Gast	Calyptraeidae	X	X	X	X	X	X	X	X	ZM, FI
<i>Diaulula variolata</i> (d'Orbigny, 1837)	Gast	Discodorididae		X							FI
<i>Doris fontainii</i> d'Orbigny, 1837	Gast	Dorididae						X			FI
<i>Phidiana lottini</i> (Lesson, 1831)	Gast	Facelinidae	X	X							FI
<i>Fissurella crassa</i> Lamarck, 1822	Gast	Fissurellidae	X	X	X	X	X	X	X	X	FS, ZM, FI
<i>Fissurella cumingi</i> Reeve, 1849	Gast	Fissurellidae	X								FI
<i>Fissurella latimarginata</i> G. B. Sowerby I, 1835	Gast	Fissurellidae	X	X	X	X	X	X	X	X	FI
<i>Fissurella limbata</i> G. B. Sowerby I, 1835	Gast	Fissurellidae	X	X	X	X	X	X	X	X	ZM, FI
<i>Fissurella maxima</i> G. B. Sowerby I, 1834	Gast	Fissurellidae	X	X	X	X	X	X	X	X	ZM, FI
<i>Fissurella pulchra</i> G. B. Sowerby I, 1834	Gast	Fissurellidae						X			FI
<i>Austrolittorina araucana</i> (d'Orbigny, 1840)	Gast	Littorinidae	X	X	X	X	X	X	X	X	FS, ZM
<i>Echmolittorina peruviana</i> (Lamarck, 1822)	Gast	Littorinidae	X	X	X	X	X	X	X	X	FS, ZM, FI
<i>Lottia orbigny</i> (Dall, 1909)	Gast	Lottiidae	X	X	X	X	X	X	X	X	FS, ZM
<i>Scurria araucana</i> (d'Orbigny, 1839)	Gast	Lottiidae	X	X	X	X	X	X	X	X	FS, ZM, FI
<i>Scurria ceciliana</i> (d'Orbigny, 1841)	Gast	Lottiidae	X	X	X	X	X	X	X	X	FS, ZM, FI
<i>Scurria plana</i> (Philippi, 1846)	Gast	Lottiidae	X	X	X	X	X	X	X	X	ZM, FI
<i>Scurria variabilis</i> (G. B. Sowerby I, 1839)	Gast	Lottiidae	X	X	X	X	X	X	X	X	FS, ZM, FI

Taxones	Clases	Familias	Sitios de estudio							Zonación
			MOT	PUN	DOS	BAL	CAT	CAL	PAC	
<i>Scurria viridula</i> (Lamarck, 1822)	Gast	Lottiidae	X	X	X	X	X	X	X	FS, ZM, FI
<i>Scurria</i> sp.	Gast	Lottiidae	X	X	X	X	X	X	X	FS, ZM, FI
<i>Mitra orientalis</i> Griffith & Pidgeon, 1834	Gast	Mitridae	X	X	X	X	X	X	X	ZM
<i>Concholepas concholepas</i> (Bruguière, 1789)	Gast	Muricidae	X	X	X	X	X	X	X	ZM, FI
<i>Crassilabrum crassilabrum</i> (G. B. Sowerby II, 1834)	Gast	Muricidae	X	X	X	X	X	X	X	FI
<i>Stromonita biserialis</i> (Blainville, 1832)	Gast	Muricidae	X	X	X	X	X	X	X	FI
<i>Iselica carotica</i> Marinovich, 1973	Gast	Amathinidae	X	X	X	X	X	X	X	ZM
<i>Rissoina inca</i> d'Orbigny, 1840	Gast	Rissoinidae	X	X	X	X	X	X	X	FI
<i>Siphonaria lessonii</i> Blainville, 1827	Gast	Siphonariidae	X	X	X	X	X	X	X	FS, ZM, FI
<i>Tegula atra</i> (Lesson, 1830)	Gast	Tegulidae	X	X	X	X	X	X	X	ZM, FI
<i>Tegula tridentata</i> (Potiez & Michaud, 1838)	Gast	Tegulidae	X	X	X	X	X	X	X	ZM, FI
<i>Diloma nigerrimum</i> (Gmelin, 1791)	Gast	Trochidae	X	X	X	X	X	X	X	FI
<i>Prisogaster niger</i> (W. Wood, 1828)	Gast	Turbinidae	X	X	X	X	X	X	X	ZM, FI
cf. <i>Calloplax vivipara</i> (Plate, 1899)	Poly	Callistoplacidae	X	X	X	X	X	X	X	ZM
<i>Chaetopleura peruviana</i> (Lamarck, 1819)	Poly	Chaetopleuridae	X	X	X	X	X	X	X	ZM, FI
<i>Acanthopleura echinata</i> (Barnes, 1824)	Poly	Chitonidae	X	X	X	X	X	X	X	ZM, FI
<i>Chiton cumingsii</i> Fremby, 1827	Poly	Chitonidae	X	X	X	X	X	X	X	ZM, FI
<i>Chiton (Chiton) granosus</i> Fremby, 1827	Poly	Chitonidae	X	X	X	X	X	X	X	FS, ZM, FI
<i>Enoplochiton niger</i> (Barnes, 1824)	Poly	Chitonidae	X	X	X	X	X	X	X	FS, ZM, FI
<i>Tonicia cf. chilensis</i> (Fremby, 1827)	Poly	Chitonidae	X	X	X	X	X	X	X	FS, ZM, FI
<i>Tonicia elegans</i> (Fremby, 1828)	Poly	Chitonidae	X	X	X	X	X	X	X	FI
Número total de taxones			33	42	49	36	39	38	26	
N=57 Taxones	N=4 Clases	N=29 Familias								

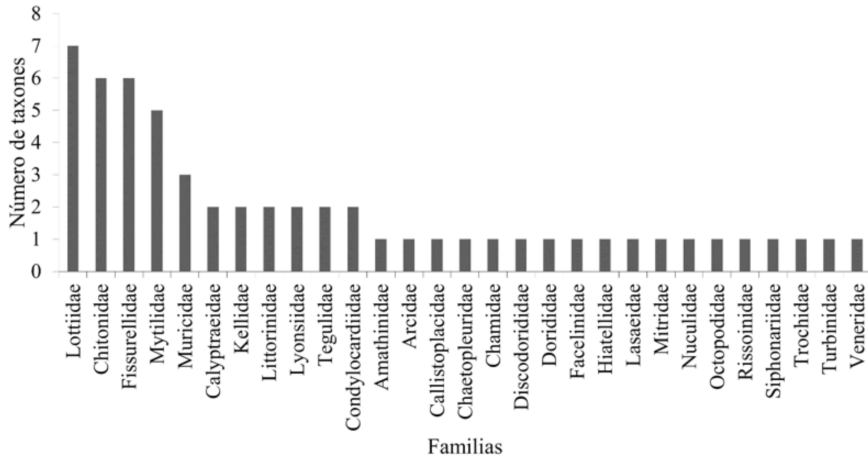


Fig. 4. Familias de moluscos ordenados de acuerdo al número de taxones para la provincia de Islay, Arequipa
 Fig. 4. Mollusk families ordered according to the number of taxa for the Islay province, Arequipa

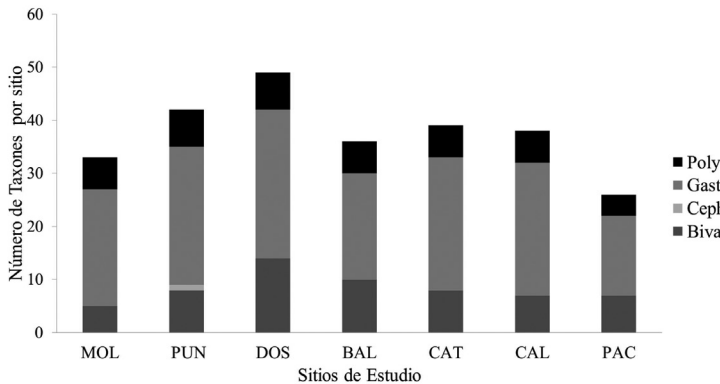


Fig. 5. Números de taxones y clases en cada sitio de estudio en la provincia de Islay. MOL: Mollendito; PUN: Punta Islay-El Faro; DOS: Dos playas; BAL: Ballenitas; CAT: Catarindo; CAL: Calera; PAC: Pacae. Clases: Poly: Polyplacophora; Gast: Gastropoda; Ceph: Cephalopoda; Biva: Bivalvia
 Fig. 5. Number of taxa and classes in each study site for the province of Islay. MOL: Mollendito; PUN: Punta Islay-El Faro; DOS: Dos playas; BAL: Ballenitas; CAT: Catarindo; CAL: Calera; PAC: Pacae. Clases: Poly: Polyplacophora; Gast: Gastropoda; Ceph: Cephalopoda; Biva: Bivalvia

Distribución vertical

El análisis de escalamiento multidimensional no paramétrico (nMDS) de dos dimensiones ($R = 0.3058$) muestra la existencia de una disimilaridad entre las tres subzonas del litoral, sobre todo de la franja supralitoral con respecto a las otros dos restantes (Fig. 6).

El análisis de componentes principales (ACP) reveló que ciertas especies están más representadas en cada una de las subzonas del litoral rocoso. El porcentaje total de varianza acumulada de los dos primeros componentes fue 59.62% (PC1:

38.57% y PC2: 21.053%). Para la franja supralitoral *E. peruviana* (EchiPeru) es la especie que se encuentra más representada para esta subzona, seguida de *A. araucana* (AustArau). Para la zona mediolitoral se encuentra *P. purpuratus* (PeruPurp) con *S. algosus* (SemiAlgo). Finalmente, para la franja infralitoral *T. atra* (TeguAtr) es la mejor representada seguida por *P. niger* (PrisNige). Por otro lado, hay ciertas especies que se comparten entre la zona mediolitoral y la franja infralitoral, al ser esta principalmente *T. tridentata* (TeguTrid) (Fig. 7).

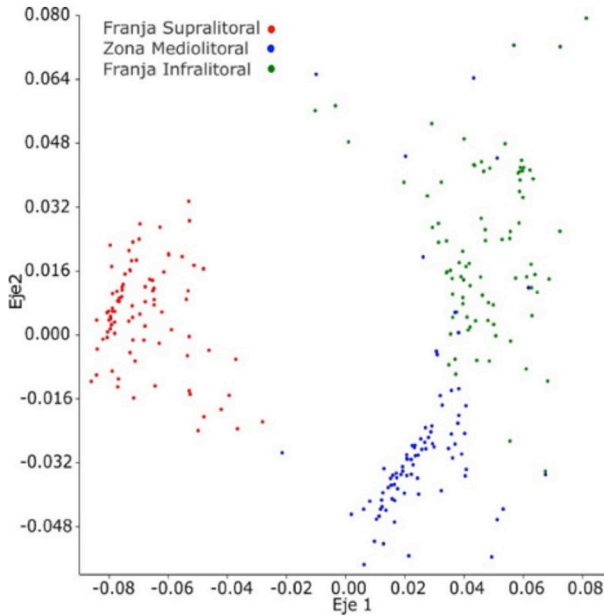


Fig. 6. Escalamiento multidimensional no métrico (nMDS), para la zonación vertical de los moluscos del litoral rocoso en Islay, Arequipa
Fig. 6. Non-metric multidimensional scaling (nMDS) for vertical zonation of mollusks along the rocky shore in Islay, Arequipa

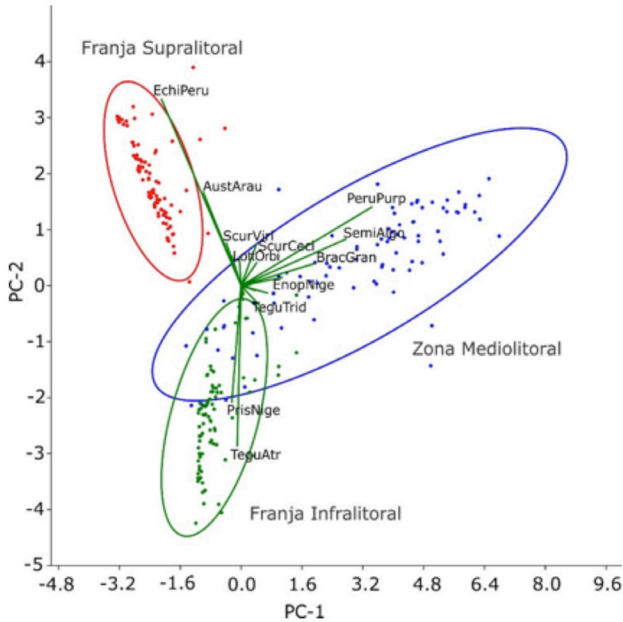


Fig. 7. Análisis de Componentes Principales (ACP), para la zonación vertical de los moluscos del litoral rocoso en Islay, Arequipa. Se señalan las subzonas identificadas (círculos) y la variación de la abundancia en cada una de estas (vectores)

Fig. 7. Principal Component Analysis (PCA) for vertical zonation of mollusks along the rocky shore in Islay, Arequipa. The identified subareas (circles) and abundance variations are marked in each (vectors)

La diversidad específica encontrada en cada subzona del litoral es diferente entre sí, ya que la mayor riqueza y diversidad se concentra en la zona mediolitoral seguida de la franja infralitoral y la supralitoral respectivamente. En las tres subzonas existe dominancia de ciertas especies, tal es el caso de *E. Peruviana* (520.36 ind. m⁻²) y *A. araucana* (145.78 ind. m⁻²) que presentan la mayor abundancia de organismos en la franja supralitoral. Para la zona mediolitoral *P. purpuratus* (958.12 ind.

m⁻²), *S. algosus* (459.48 ind. m⁻²) y *B. granulatus* (210.64 ind. m⁻²) se presentaron como las especies abundantes. Finalmente, la franja infralitoral está dominada por *T. atra* (187.59 ind. m⁻²) y *P. niger* (152.83 ind. m⁻²).

Sin embargo, a pesar de existir especies dominantes, las curvas de rango-abundancia muestran una mayor equidad (Fig. 8) con una menor pendiente entre la zona mediolitoral y la franja infralitoral, con respecto a la franja supralitoral.

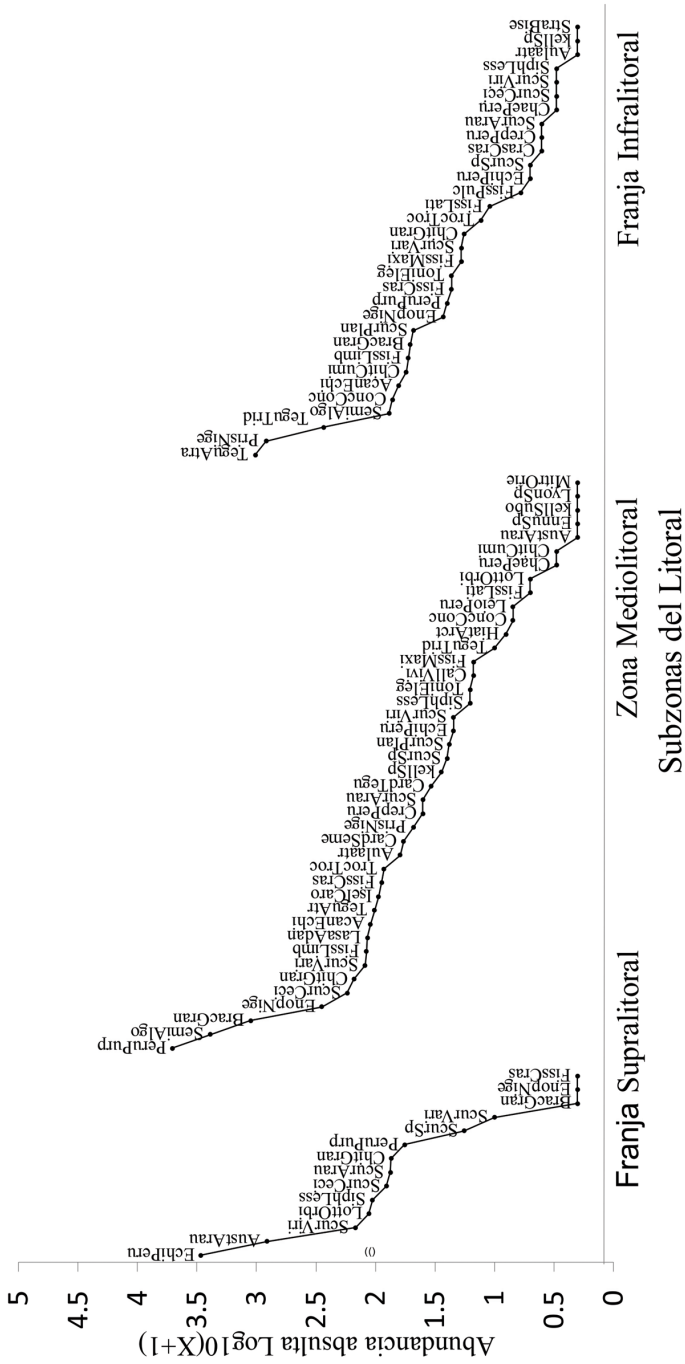


Fig. 8. Curvas rango-abundancia para las tres subzonas del litoral rocoso de la provincia de Islay, Arequipa
 Fig. 8. Rank-abundance curves for the three subzones of the rocky shore of the province of Islay, Arequipa

El análisis de similitud (ANO-SIM) muestra que no existe una diferencia significativa ($R = 0.006$, $P = 0.217$) en la composición de moluscos litorales entre las sitios de estudio, mientras que entre las subzonas del litoral si presenta una diferencia significativa ($R = 0.86$, $P = 0.001$). Entre las subzonas del litoral, la mayor diferencia es entre la franja supralitoral con la franja infralitoral ($R = 0.9415$, $P = 0.001$) y la menor diferencia es entre la zona mediolitoral con la franja infralitoral ($R = 0.6992$, $P = 0.001$).

DISCUSIÓN

Del total de los 57 taxones de moluscos encontrados para la zona de estudio, algunos resultan ser nuevos registros para el área como: *Ch. peruviana*, *D. variolata*, *D. fontainii*, *P. lotinii*, *F. cumingi*, *F. pulchra*, *S. plana*, *I. carotica*, *R. inca*, cf. *C. vivipara*, *T. cf. chilensis* y *T. elegans*; ya que Talledo y Gonzales (1989), no los registraron en su estudio. Paredes *et al.* (1999), reporta 79 taxones de moluscos para el departamento de Lima, el cual se ubica en la misma provincia biogeográfica, y la diferencia se debería al mayor tiempo de muestreo que realizaron de 1970 a 1974; ya que el tiempo y espacio es un factor importante en un estudio (Fernández & Jiménez, 2006). La estacionalidad parece no afectar notoriamente la abundancia y la riqueza

de los moluscos según Ojeda *et al.* (2014), ya que en su estudio los móviles tienden a aumentar ligeramente su densidad durante el verano austral y en los filtradores sésiles se mantienen casi constante y/o incluso registran su máxima abundancia en invierno. Otro factor importante por considerar para un inventario taxonómico es la sobreevaluación de macromoluscos (especies conspicuas), donde los micromoluscos (taxones menores de 10 mm) suelen ser ignorados debido a la dificultad que representa su determinación taxonómica (Esqueda-González *et al.* 2014).

Los patelogastrópodos *Scurria zebrina* y *Scurria scurra* registrados para Perú por Álamo y Valdivieso (1997), Paredes (1980) y Talledo y Gonzales (1989), no se encontraron en la provincia de Islay, al coincidir con lo reportado por Espoz *et al.* (2004). *S. zebrina* presenta una morfología externa similar a los juveniles de *S. viridula* lo que conlleva muchas veces a una mala determinación y *S. scurra* habita en el infralitoral. Además, ambas especies están restringidas para costas chilenas (Espoz, 2002; Espoz *et al.* 2004).

S. variabilis fue encontrada en sus diferentes ecofenotipos como lo menciona Espoz *et al.* (2004), donde afirma que *Scurria parasitica* resulta ser uno de estos, aunque Aldea y Valdovinos (2005), sugieren aún que deberían ser consideradas las dos como especies diferentes por las caracterís-

ticas externas de la concha. Del mismo modo, se tiene a *S. ceciliana*, y a su forma infectada por el líquen *Thelidium litorale*, que erróneamente era considerada como *Scurria bohemita* debido al líquen que le otorga un aspecto similar a los cirrípedos intermareales (Espoz *et al.* 1995). Espoz *et al.* (2004), mencionan que *S. bohemita* corresponde en realidad a *S. ceciliana*.

Se registró a *C. peruviana*, confundida antes como *Crepidatella dilatata*, especie comúnmente citada en la literatura peruana por su alta similitud en las características externas de la concha, pero esta última únicamente se encuentra distribuida por el sur de Chile y Argentina (Veliz *et al.* 2012). También, el registro de *C. tegulata* coincide con Dall (1910), Paredes *et al.* (2016) y Ramírez *et al.* (2003), como una especie que habita la costa peruana, aunque según Güller y Zelaya (2013), mencionan que no se encuentra registrada para Perú y que su límite norte está en Valparaíso (33°S) Chile. Por lo tanto, este trabajo confirma el registro de *C. peruviana* y *C. tegulata* para las costas de Perú.

Con relación en la distribución vertical de los moluscos en el litoral rocoso, es evidente que algunas especies son representativas para la franja supralitoral, otras para la zona medio-litoral y otras para la franja infralitoral, y ello debido a los factores físicos y biológicos a los que están sometidos (Castro & Huber, 2003). La abundan-

cia y la riqueza específica entre las tres subzonas del litoral en el presente estudio presentaron diferencias significativas de acuerdo a los resultados de la prueba de ANOSIM. Chappuis *et al.* (2014), mencionan que la variación vertical es más marcada que si esta fuese horizontal dentro de una misma área biogeográfica, en el que un estudio es llevado y ello debido a que entre los diferentes sitios de estudio comparten factores físicos similares, como temperatura del agua y salinidad. En el caso de la franja supralitoral *E. peruviana* y *A. araucana* son las especies más representativas descritas también para la costa central del Perú por Paredes (1974). De acuerdo a Vegas-Vélez (1971) y Osorio y Cantuarias (1989), las especies de litorínidos están especialmente adaptadas a soportar altas temperaturas y al estrés por desecación, debido a que estos organismos tienen la habilidad de conservar agua en sus cuerpos para disipar el calor (Wieser, 1980; Shick *et al.* 1988); Ahmad *et al.* (2011), mencionan que algunas especies de litorínidos producen mucus para reducir el contacto con la roca caliente y al mismo tiempo se deslizan dentro de su concha en bajar. Estudios similares también describen a litorínidos como las especies predominantes en esta subzona del litoral (ej.: Chelazzi & Vannini, 1980; Osorio & Cantuarias, 1989; Esqueda *et al.* 2000; Jiménez *et al.* 2004; Sibaja-cordero & Cortés, 2008). Incluso Stephenson y

Stephenson (1949), reconocieron un patrón general en esta subzona y la denominaron como la “Zona Litorina”, y Moore (1958), señala que la distribución de estos organismos es a escala mundial. McQuaid (1996), señala que estas especies se adaptaron a una variedad de hábitats al soportar distintas condiciones en términos de tolerancia térmica, lo que permite tomarlos como referencia en los esquemas de zonación vertical con relación en la temperatura, la desecación y el oleaje. Por otro lado, *P. purpuratus* es la especie más representativas para la zona mediolitoral, seguida de *S. algosus* y *B. granulatus*, estos resultados fueron encontrados similares con el litoral del centro del Perú (Paredes, 1974; Paredes & Tarazona, 1980), e idénticos con relación en la clase Mollusca, ya que son los mitílidos, también característicos para la zona intermedia del litoral en otros lugares del mundo (ej.: Esqueda *et al.* 2000; Araújo *et al.* 2005). La principal razón de su adaptación es que presentan mecanismos específicos de fijación como sus bisos que les permiten sujetarse a las rocas (Gosling, 2015), y muchas veces forman comunidades monoespecíficas dominada por una especie en particular (Paredes & Tarazona, 1980). Para la franja infralitoral se obtuvo a *T. atra* como la especie más representativa, seguida de *P. niger*, composición similar encontrada en la costa del centro del Perú por Paredes (1974). Los tróchidos son comunes para la franja infralitoral,

y debido a ello esta subzona es conocida también como la zona tróchido (Bhatt & Bal, 1973; Jaiswar & Kulkarni, 2001). En el caso de algunas partes de la costa oeste de América del Sur entre Perú y Chile, *T. atra* es una especie que está asociada a fondos rocosos en la zona intermareal y submareal, y es reconocida como uno de los herbívoros más abundantes y frecuentes sometidos constantemente a la depredación por parte de algunos equinodermos (Vasquez & Buschmann, 1997). Aunque, las especies predominantes por cada subzona son las mismas para el centro de Perú y norte de Chile, este trabajo muestra que el patrón de zonación no cambia en una misma provincia biogeográfica marina.

La mayor riqueza de especies en la zona mediolitoral es debido a la gran cantidad de ambientes disponibles que permiten una mayor colonización de los organismos (Jiménez *et al.* 2004), característica que se ajusta a la hipótesis de la heterogeneidad ambiental (MacArthur, 1965; Levinton, 1982), donde explica que un mayor número de microambientes están relacionados directamente con la diversidad de un lugar. Vakily (1992), menciona que las conchas de los moluscos forman un sustrato seguro para la colonización de muchas especies, y dado que en la zona mediolitoral hay abundancia de mitílidos, esto ayuda a explicar claramente la mayor abundancia y riqueza de especies.

AGRADECIMIENTOS

Un agradecimiento a Carlos Paredes, Yuri Hooker y Frank Cardoso por la ayuda brindada en la determinación de las especies de moluscos al igual que a Dulack Richards y Cristian Aldea por su ayuda y bibliografía brindada. A Rosaura González y Víctor Quipuscoa por sus sugerencias para este manuscrito y todos los ayudantes de campo, que sin ellos no hubiera sido posible llevar a cabo este estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- Ahmad, O., Fang, T. P. & Yahya, K. (2011). Distribution of intertidal organisms in the shores of Teluk Aling, Pulau Pinang, Malaysia. *Publ. Seto Mar. Biol. Lab.*, 41, 51-61. <https://doi.org/10.5134/159483>
- Álamo, V. & Valdivieso V. (1997). *Lista sistemática de moluscos marinos del Perú*. Callo, Perú: Multiformes, S. A.
- Aldea, C. & Valdovinos, C. (2005). Moluscos del intermareal rocoso del centro-sur de Chile (36°-38°): Taxonomía y clave de identificación. *Gayana*, 69(2), 364-396. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-65382005000200014>
- Aldea, C., Rosenfeld, S. & Cárdenas, J. (2011). Caracterización de la diversidad de moluscos bentónicos sublitorales en Isla Carlos III y áreas adyacentes, Estrecho de Magallanes, Chile. *An. Inst. Patagon.*, 39(2), 73-89. <https://doi.org/10.4067/S0718-686X2011000200006>
- Araújo, R., Bárbara, I., Sousa-Pinto, I. & Quintino, V. (2005). Spatial variability of intertidal rocky shore assemblages in the northwest coast of Portugal. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 64(1), 658-670. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2005.03.020>
- Bandel, K. & Wedler, E. (1987). Hydroid, amphineuran and gastropod zonation in the littoral of the Caribbean Sea, Colombia. *Senckenb. Marit.*, 19(1-2), 1-129.
- Bhatt, Y. M. & Bal, D. V. (1973). Zonation of intertidal organisms on the rocky shores of Bombay. *J. Mar. Biol. Assoc. India*, 305-316.
- Castro, P. & Huber, M. E. (2003). *Marine Biology*. Nueva York, EE. UU.: McGraw-Hill.
- Chelazzi, G. & Vannini, M. (1980). Zonation of intertidal molluscs on rocky shores of Southern Somalia. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 10(1), 569-583. [https://doi.org/10.1016/S0302-3524\(80\)80076-4](https://doi.org/10.1016/S0302-3524(80)80076-4)
- Chappuis, E., Terradas, M., Cefali, M. E., Mariani, S. & Ballesteros, E. (2014). Vertical zonation is the main distribution pattern of littoral assemblages on rocky shores at a regional scale. *Estuar. Coast. Shelf Sci.*, 147, 113-122. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2014.05.031>
- Clarke, K. R. & Warwick, R. M. (2001). *Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation*. Plymouth, United Kingdom: PRIMER-E Plymouth Laboratory.
- Dall, W. H. (1910). Report on a Collection of Shells from Peru, with a Summary of the Littoral Marine Mollusca of the Peruvian Zoological Province. *Proc. USNM.*, 37, 147-294.
- Espoz, C. (2002). *Ecología y evolución de patelogastrópodos endémicos a la costa rocosa de Perú y Chile: distribución, abundancia y filogenia*. Tesis doctoral no publicada, Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile.

- Espez, C., Guzmán, G. & Castilla, J. C. (1995). The lichen *Thelidium litorale* on shells of intertidal limpets: a case of lichen-mediated cryptic mimicry. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 119, 191-197. <https://doi.org/10.3354/meps119191>
- Espez, C., Lindberg, D. R., Castilla, J. C. & Simison, W. B. (2004). Los patelogastrópodos intermareales de Chile y Perú. *Rev. Chil. Hist. Nat.*, 77(1), 257-283. <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2004000200006>
- Esqueda, M. del C., Ríos-Jara, E., Michel-Morfin, J. E. & Landa-Jaime, V. (2000). The vertical distribution and abundance of gastropods and bivalves from rocky beaches of Cuastecomate Bay, Jalisco, México. *Rev. Biol. Trop.*, 48(4), 765-775. PMID:11487925
- Esqueda-González, M. C., Ríos-Jara, E., Galván-Villa, C. M. & Rodríguez-Zaragoza, F. A. (2014). Species composition, richness, and distribution of marine bivalve molluscs in Bahía de Mazatlán, Mexico. *ZooKeys*, 399(1), 43-69. <https://doi.org/10.3897/zookeys.399.6256>
- Feinsinger P. (2004). *El diseño de estudios de campo para la conservación de la biodiversidad*. Santa Cruz de la Sierra, Bolivia: FAN.
- Fernández, J. R. & Jiménez, M. M. (2006). Estructura de la comunidad de moluscos y relaciones tróficas en el litoral rocoso del estado Sucre, Venezuela. *Rev. Biol. Trop.*, 54(3), 121-130.
- Galli, C. (2013). Worldwide mollusc species data base. Recuperado en setiembre 18, 2016, disponible en <http://www.bagnliggia.it/WMSD/WMSDsearch.html>.
- Gosling, E. (2015). *Marine Bivalve Molluscs*. Chichester, United Kingdom: Wiley Backwell. <https://doi.org/10.1002/9781119045212>
- Güller, M. & Zelaya, D. G. (2013). The families Carditidae and Condylocardiidae in the Magellan and Peru-Chile provinces (Bivalvia: Carditoidea). *Zootaxa*, 3682(2), 201-239. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3682.2.1>
- Guzmán, N., Saá, S. & Ortlieb, L. (1998). Catálogo descriptivo de los moluscos litorales (Gastropoda y Pelecypoda) en la zona de Antofagasta, 23°S (Chile). *Estud. Oceanol*, 17(1), 17-86.
- Hammer, Ø., Harper, D. A. T. & Ryan, P. D. (2001). Paleontological statistics software package for education and data analysis. *Palaeontol. Electron*, 4(1), 9-18.
- Hughe, R. A. (1991). Las aves de la provincia de Islay. *Bol. Lima*, 75, 47-54.
- Jaiswar, A. K. & Kulkarni, B. G. (2001). Vertical distribution of molluscs in the intertidal area in and around Mumbai, India. *J. Indian Fish. Assoc.*, 28, 93-100.
- Jiménez, M., Márquez, B. & Díaz, O. (2004). Moluscos del litoral rocoso en cuatro localidades del Estado de Sucre, Venezuela. *Saber*, 16(1), 9-18.
- Jones, W. E., (1980). Field teaching methods in shore ecology. In J. H. Price, D. E. G. Irvine & W. F. Farnham (Eds.), *The Shore Environment, Vol. I: Methods* (pp. 19-44.) London, United Kingdom: Academic Press.
- Krebs, C. J. (1985). *Ecología, estudio de la distribución y la abundancia*. México: Harla.
- Levinton, J. S. (1982). *Marine Ecology*. Nueva Jersey, EE. UU.: Prentice-Hall.
- Londoño-Cruz, E., López de Mesa-Agudelo, L. A., Arias-Galvez, F., Herrera-Paz, D. L., Prado, A., Cuellas, L. M. & Cantera, J. (2014). Distribution of macroinvertebrates on intertidal rocky shores in Gorgona Island, Colombia (Tropical Eastern Pacific). *Rev. Biol. Trop.*, 62(1),

- 189-198. <https://doi.org/10.15517/rbt.v62i0.16275>
- MacArthur, R. H. (1965). Patterns of species diversity. *Biol. Rev.*, 40, 510-533. <https://doi.org/10.1111/j.1469-185X.1965.tb00815.x>
- Marincovich L. J. (1973). Intertidal Mollusks of Iquique, Chile. *Contr. Sci. Mus. Nat. Hist. Los Angeles*, 16, 1-49.
- McLean, J. H. (1984). Systematics of *Fissurella* in the Peruvian and Magellanic faunal provinces (Gastropoda: Prosobranchia). *B. Nat. Hi. Mus. Angeles Country*, 354(1), 1-76.
- McQuaid, C. D. (1996). Biology of the gastropod family Littorinidae; I. Evolutionary aspects. *Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev.* 34, 233-262.
- Moore, B. H. (1958). *Marine Ecology*. Nueva York, EE. UU.: Wiley & Sons.
- Ojeda, J., Rosenfeld, S., Marambio, J., Rozzi, R. & Mansilla, A. (2014). Patrones estacionales y espaciales de la diversidad de moluscos intermareales de bahía Róbaló, canal Beagle, Reserva de la Biosfera Cabo de Hornos, Chile. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.*, 49, 493-509. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572014000300007>
- Osorio, C. & Cantuarias, V. (1989). Vertical distribution of mollusks on the rocky intertidal of Easter Island. *Pac. Sci.*, 43(4), 302-315.
- Paredes, C. (1974). El modelo de zonación en la orilla rocosa del departamento de Lima. *Rev. Peru. Biol.*, 1(2), 168-191. <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v1i2.8422>
- Paredes, C. (1980). La familia Acmaeidae (Gastropoda, Archaeogastropoda) en el Perú. *Rev. Peru. Biol.*, 2(1), 52-58. <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v2i1.8359>
- Paredes, C. (1986). La familia Fissurellidae (Gastropoda, Archaeogastropoda) en el Perú. *Rev. Cienc. UNMSM*, 74(1), 75-86.
- Paredes, C., Cardoso, F., Santamaría, J., Esplana, J. & Llaja, J. (2016). Lista anotada de los bivalvos marinos del Perú. *Rev. Peru. Biol.*, 23(2), 127-150. <https://doi.org/10.15381/rpb.v23i2.12397>
- Paredes, C., Cardoso, F. & Tarazona, J. (1999). Invertebrados del intermareal rocoso del departamento de Lima, Perú: una lista comentada de especies. *Rev. Peru. Biol.*, 6(1), 5-47. <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v6i2.8309>
- Paredes, C. & Tarazona, J. (1980). Las comunidades de mitílidos del mediolitoral rocoso del departamento de Lima. *Rev. Peru. Biol.*, 2(1), 59-72. <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v2i1.8362>
- Ramírez, R., Paredes, C. & Arenas, J. (2003). Moluscos del Perú. *Rev. Peru. Biol.*, 51(3), 225-284. <https://doi.org/10.15517/rbt.v51i3.26386>
- Schrödl, M. & Hooker, Y. (2014). Sea slugs of Peru: Peruvian-Chilean faunal elements. *Spixiana*, 37(1), 45-59.
- Shick, J. M., Widdows, J. & Gnaiger, E. (1988). Calorimetric studies of behavior, metabolism and energetics of sessile intertidal animals. *Am. Zool.*, 28(1), 161-181. <https://doi.org/10.1093/icb/28.1.161>
- Sibaja-Cordero, J. A. (2008). Vertical zonation in the rocky intertidal at Cocos Island (Isla del Coco), Costa Rica: A comparison with other tropical locations. *Rev. Biol. Trop.*, 56(2), 171-187. <https://doi.org/10.15517/rbt.v56i2.27017>
- Sibaja-Cordero, J. A. & Cortés, J. (2008). Vertical zonation of rocky intertidal organisms in a seasonal upwelling area (Eastern Tropical Pacific), Costa Rica. *Rev. Biol. Trop.*, 56(4), 91-104. <https://doi.org/10.15517/rbt.v56i4.27208>
- Sokal, R. R. & Rohlf, F. J. (1981). *Biometry. The principles and practice of statistics*

- in biological research. Nueva York, EE. UU.: W. H. Freeman & Company.
- Spalding, M. D., Fox, H. E., Allen, G. R., Davidson, N., Ferdaña, Z. A., Finlayson, M., Robertson, J. (2007). Marine ecoregions of the world: A bioregionalization of coastal and shelf areas. *BioScience*, 57(7), 573-583. <https://doi.org/10.1641/B570707>
- Stephenson, T. A., & Stephenson, A. (1949). The universal features of zonation between tide-marks on rocky coasts. *J. Ecol.*, 37(2), 289-305. <https://doi.org/10.2307/2256610>
- Talledo, C. R. & Gonzales., R. (1989). *Moluscos Gastrópodos y Placóforos de la Provincia de Islay (Arequipa), Perú*. Arequipa, Perú: Universidad Nacional de San Agustín.
- Torreblanca-Ramírez, C., Flores-Garza, R., Flores-Rodríguez, P., García-Ibañez, S. & Galeana-Rebolledo, L. (2012). Riqueza, composición y diversidad de la comunidad de moluscos asociada al sustrato rocoso intermareal de playa Parque de la Reina, Acapulco, México. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.*, 47(2), 283-294. <https://doi.org/10.4067/S0718-19572012000200010>
- Underwood, A. J. (1981). Structure of a rocky intertidal community in New South Wales: Patterns of vertical distribution and seasonal changes. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, 51(1), 57-85. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(81\)90154-4](https://doi.org/10.1016/0022-0981(81)90154-4)
- Vakily, J. M. (1992). *Determination and Comparison of Bivalve Growth, with Emphasis on Thailand and Other Tropical Areas*. Manila, Philippines: ICLARM Technical Reports 36.
- Vasquez, J. A. & Buschmann, A. H. (1997). Herbivore-kelp interactions in Chilean subtidal communities: a review. *Rev. Chil. Hist. Nat.*, 70, 41-52.
- Vegas-Vélez, M. (1971). *Introducción a la ecología de bentos marino*. Programa regional de desarrollo científico y tecnológico. Serie de Biología 9. Washington, D. C., EE. UU.: OEA.
- Veliz, D. & Vásquez, J. A. (2000). La familia Trochidae (Mollusca: Gastropoda) en el norte de Chile: consideraciones ecológicas y taxonómicas. *Rev. Chil. Hist. Nat.*, 73(1), 757-769. <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2000000400018>
- Veliz, D., Winkler, F. M., Guisado, C. & Collin, R. (2012). A new species of *Crepidatella* (Gastropoda: Calyptraeidae) from northern Chile. *Molluscan Res.*, 32(3), 145-153.
- Wieser, W. (1980). Metabolic and products in three species of marine gastropods. *J. Mar. Biolog. Assoc. U.K.*, 60(1), 175-180. <https://doi.org/10.1017/S0025315400024231>
- WoRMS Editorial Board. (2017). World register of marine species. Recuperado en octubre 10, 2017, disponible en <http://www.marinespecies.org>. doi:10.14284/170

Artículo de Revisión: La calidad espermática en peces y los métodos de evaluación

Review article: Fish sperm quality and assessment methods

Juan C. López-Hernández¹, Adriana Osorio-Pérez¹, Salvador A. Jiménez-Félix¹, Salomón Páramo-Delgadillo¹, Gabriel Márquez-Couturier¹, George S. Yasui² y Lenin Arias-Rodríguez^{1}*

RESUMEN

El efecto antrópico, la pérdida de biodiversidad, el desplazamiento de especies, la introducción de especies exóticas y el incremento demográfico, han promovido aumentar el rendimiento de los cultivos, la recuperación de sitios impactados, la reintroducción de especies y la búsqueda de alternativas para comprender, y evaluar la reproducción de las especies ícticas nativas. En ello, el conocimiento y el empleo de los gametos de hembras y machos de los peces, para la producción masiva de larvas hacen necesario el uso de metodologías que permitan seleccionar todos aquellos reproductores que muestren cualidades genéticas y fisiológicas que den pauta a mejorar e incrementar la cantidad y la calidad de las larvas que serán empleadas para cultivo masivo, repoblación, producción de reproductores y para su empleo en experimentos de ciencia básica y aplicada. En esta revisión bibliográfica, se hace mención de las particularidades de las células espermáticas de los peces y de las alternativas metodológicas para evaluar su calidad, mediante la comprensión de la fisiología de la activación (porcentajes y tiempo de motilidad, tipo de movimiento y número de espermatozoides) y hasta el análisis estructural en el nivel extracelular e intracelular (morfología espermática, daño a la membrana, ensayo cometa, células vivas/muertas/apoptóticas, mismas que están en función de los objetivos de los programas de reproducción o experimentación). Con el desarrollo de equipos de citometría automática y de genómica unicelular, se ha logrado mayor comprensión del funcionamiento de las células espermáticas, de la expresión genética ligada a las cualidades celulares y del significado biológico.

Palabras clave: Calidad espermática, evaluación, métodos, peces, reproducción.

ABSTRACT

Aspects such as anthropic effects, loss of biodiversity, species displacement, introduction of exotic species, and demographic growth have caused an increase in crop yield, recovery of impacted sites,

1 División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), Villahermosa, C. P. 86150, Tabasco, México. leninariasrodriguez@hotmail.com*

2 Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Recibido: 13 septiembre 2017

Corregido: 23 abril 2018

Aceptado: 04 mayo 2018

DOI: <http://dx.doi.org/10.15359/revmar.10-1.5>

Rev. Mar. Cost. ESSN 1659-407X. Vol. 10 (1): 67-96, Enero-Junio 2018.



reintroduction of species and the search for alternatives to understand and evaluate reproduction of native fish species. In such context, knowing and using both female and male gametes for massive larvae production creates the need to use methodologies that would allow sorting the brood stock with genetic and physiological traits that would improve the quantity and quality of larvae to be used for massive culture, restocking, breeding production, and experiments on basic and applied sciences. This bibliographic review mentions the particularities of fish sperm cells and methodological alternatives to assess their quality, by understanding activation physiology (motility percentages and time of activity, type of movement and sperm number), including the structural analysis at extracellular and intracellular levels (spermatic morphology, damage to the membrane, comet assay, live/dead/apoptotic cells, which depend on the main objectives of reproduction or experimental programs). The development of equipment to automated cytometry and unicellular genomics has allowed for a better understanding of the functioning of spermatic cells, genetic expression linked to cellular qualities and their biological implication.

Keywords: Sperm quality, assessment, methods, fish, reproduction.

INTRODUCCIÓN

Tras el curso de miles de años de evolución biológica, los peces como organismos típicamente acuáticos han desarrollado estrategias reproductivas que han favorecido la creación y el cobijo de necesidades bioquímicas y fisiológicas que los gametos necesitan para unirse y desencadenar el apropiado desarrollo del embrión (Wootton & Smith, 2014a, b; Wootton & Carl 2014; Mylonas *et al.* 2010; Schulz *et al.* 2010; Patzner, 2008; Schreck & Moyle, 1990; Zohar & Mylonas, 2001). En las formas de diferenciación gonadal reconocidas para los peces, es bien distinguido el gonocorismo o separación de sexos en hembras y machos, con capacidad gonádica individual para producir óvulos o espermatozoides respectivamente; en el hermafroditismo, las gónadas del mismo espécimen tienen capacidad para producir ambos gametos (Wootton

& Carl, 2014; Wootton & Smith, 2014a; Schulz *et al.* 2010). En los peces las estrategias reproductivas son variadas y complejas y la reproducción sexual es el modo típico y más común (Coward *et al.* 2002). En dicho sentido, se presentan dos tipos de reproducción, la externa que está presente en el 94% de las especies de peces y la interna en tan solo el 6% (Patzner, 2008) de las especies registradas. En la primera, los óvulos y los espermatozoides son liberados al medio acuático en un acto sincronizado, donde los gametos se activan por el agua y los espermatozoides fertilizan los óvulos (Dumorné *et al.* 2017; Mylonas *et al.* 2010; Zohar & Mylonas, 2001). En la fertilización externa se requiere gran número de gametos, en ella el encuentro entre el óvulo y el espermatozoide es al azar, al ser ello también congruente con las oportunidades de fertilización y sobrevivencia de los embriones (Herráez *et al.* 2017; Rurangwa

et al. 2004; Mylonas *et al.* 2017; Wootton & Smith, 2014a, b). En el caso de la fertilización interna, los espermatozoides son depositados en el receptáculo espermático de la hembra, mediante un órgano accesorio denominado gonopodio que está presente en ciertas especies de la familia poeciliidae, o mixopterigios en elasmobranquios, lo que garantiza la fecundación cuando los óvulos de la hembra están maduros (Herráez *et al.* 2017; Rurangwa *et al.* 2004; Wootton & Smith, 2014a, b). Generalmente, la fertilización interna es exclusiva de cuidado parental vivíparo, donde el embrión se desarrolla dentro de la madre y las larvas son liberadas como juveniles de nado libre, lo que no requiere de un gran número de gametos fertilizados, pues la oportunidad de fertilización y de sobrevivencia de los embriones de pasar a estado juvenil es asegurada (Herráez *et al.* 2017; Patzner, 2008; Rurangwa *et al.* 2004; Wootton & Smith, 2014a, b). En la mayoría de peces teleósteos, como son las carpas, las mojaras, los robalos, los bagres, etc., la fertilización es externa y en otras especies interna, como es el caso del pez cebra *Oryzias setnai*, donde los espermatozoides se mantienen viables por largo tiempo en los espermatofitos que se atan a la piel que reviste el gonoporo de la hembra durante la copula, permitiendo así la fertilización sin copulas posteriores (Wootton & Smith, 2014a). En ambos casos, la reproduc-

ción está regulada por la vía cerebral, mediante la liberación de hormonas folículo estimulantes y luteinizantes, las cuales son clave para el control reproductivo endocrino (Wootton & Smith, 2014b; Mylonas *et al.* 2017; Zohar & Mylonas, 2001).

El ciclo reproductivo típico de un pez, se divide en dos fases principales: la proliferación, el crecimiento y la diferenciación de los gametos, constituyen la primera fase (vitelogénesis y espermatogénesis); mientras que la maduración de los óvulos, los espermatozoides y la preparación para la liberación, constituyen la segunda (espermiación y ovulación) (Patzner, 2008; Schulz *et al.* 2010, Zohar & Mylonas, 2001). El control de la reproducción es un tópico importante en acuicultura y es uno de los factores limitantes del éxito reproductivo, en ello la calidad de los gametos es crucial (Zohar & Mylonas, 2001), pues de esta dependen también los porcentajes de fertilización.

Los métodos para el control y el manejo de la reproducción en peces son muy diversos, estos incluyen, tratamiento hormonal, control de los parámetros físicos, almacenamiento de gametos, reversión sexual, manipulación del tiempo de reproducción, esterilización, y separación de reproductores, entre otros (Mylonas *et al.* 2017; Zohar & Mylonas, 2001).

El control de la función reproductiva de los peces en cautiverio por medios artificiales como son temperatura, fotoperiodo y tratamientos hormonales, son esenciales para la sustentabilidad de la producción acuícola comercial, pues gracias a ellos es posible que los gametos alcancen la maduración final y puedan ser recolectados o removidos directamente de las gónadas con fines de fertilización artificial (Zohar & Mylonas, 2001). Por ello, es necesario el conocimiento y el desarrollo de tecnologías reproductivas, para el manejo sustentable de los gametos de peces de importancia económica, biológica y de todas aquellas especies en riesgo crítico, pues se requiere del estudio y del conocimiento de los factores que afectan la calidad de los gametos, como es el caso de los espermatozoides y sus modos de activación y fecundación (Dumorné *et al.* 2017; Herráez *et al.* 2017; Murakami *et al.* 2014; Rurangwa *et al.* 2004; Zohar & Mylonas, 2001). Así como de todas aquellas metodologías, que son requeridas para evaluar apropiadamente la calidad de los espermatozoides empleados, para la fertilización artificial con fines acuícolas, de ciencia experimental básica, aplicada; también para la comprensión y la expansión de las fronteras de la biología espermática de los peces tropicales. En esta revisión detallada y selectiva

de la bibliografía especializada, se ha hecho una amplia descripción de los conceptos, términos necesarios que permitirán a cualquier lector especialista o no en el tema, comprender las bases biológicas, fisiológicas y metodológicas necesarias para evaluar la calidad espermática de los peces.

Espermatogénesis en los peces

Los espermatozoides son el producto final derivado de un proceso altamente organizado y complejo de maduración gonádica de los machos, que es llamado espermatogénesis (Schulz *et al.* 2010), el cual implica la formación de cuatro células haploides, todas ellas especializadas y capacitadas para fertilizar y entregar los genes (material genético) del núcleo espermático a un óvulo (Ciereszko *et al.* 2017; Herráez *et al.* 2017; Schulz *et al.* 2010, Rurangwa *et al.* 2004; Zohar & Mylonas, 2001). La espermatogénesis está sujeta a múltiples estímulos del ambiente (fotoperiodo, temperatura, disponibilidad de alimento), de la fisiología y del control hormonal del organismo (Zohar & Mylonas, 2001).

En los peces teleósteos, se ha podido observar dos tipos de espermatogénesis: el cístico, en el cual el proceso se lleva a cabo dentro del lóbulo gonádico y el semicístico en el cual el desarrollo se realiza fuera del lóbulo gonádico, como es el caso de *Ophidion sp.* (Mattei *et al.* 1993). En ambos tipos el proceso es metamórfico

y está dividido en tres diferentes fases: (I) mitótica con espermatogonias; (II) meiótica con espermatocitos primarios y secundarios; y (III) espermiogénesis con espermátidas que darán origen a espermatozoides haploides (Billard, 1986; Herráez *et al.* 2017; Schulz *et al.* 2010) bajo desarrollo normal, ya que en algunas ocasiones hay irregularidades de interés evolutivo, genético y biológico, que pueden dar origen a endomitosis con presencia de espermatozoides con niveles diferentes de contenido genético como son los diploides, tetraploides, etc. (Arias-Rodríguez *et al.* 2010; López-Hernández, 2017, Herráez *et al.* 2017; Zohar & Mylonas, 2001).

Las espermatogonias son células que se clasifican en primarias y secundarias, la primera de ellas tiene la capacidad de proliferar y autorenovarse por mitosis, dando nuevas espermatogonias primarias o bien, diferenciarse a las secundarias, que desarrollan a espermatocitos. Los cuales se dividen en dos fases, primarios y secundarios; que se transformaran en espermátidas que sobrellevarán cambios estructurales y funcionales como son la formación del flagelo, la pieza media y la cabeza, todo ello dará origen a espermatozoides maduros, que tendrán la capacidad de fertilizar un óvulo (Dzyuba & Cosson, 2014; Herráez *et al.* 2017).

Los espermatozoides haploides (1n), contenidos en los testículos, re-

quieran transitar por varios cambios fisiológicos durante la maduración, con el fin de responder al choque osmótico que activará la capacidad fertilizante (Alavi *et al.* 2009; Dumorné *et al.* 2017). Durante la espermiación, los espermatozoides se dirigen de los testículos hacia la papila genital a través del ducto espermático, cuyo fluido seminal es de pH básico, rico en diversas sales como sodio, potasio, calcio, magnesio, entre otras (Alavi *et al.* 2009; Dumorné *et al.* 2017; Mylonas *et al.* 2017) que condicionan para cada especie por osmolaridad del líquido seminal única (Dumorné *et al.* 2017), siendo ello un atributo esencial para la activación de los espermatozoides que depende del hábitat particular de cada especie de pez.

Generalidades de la morfología espermática en peces

A través de los procesos de selección natural, los arreglos microestructurales de las células espermáticas han optimizado las estrategias de fertilización de acuerdo con las particularidades reproductivas de cada especie (Birkhead *et al.* 2009; Herráez *et al.* 2017; Rurangwa *et al.* 2004). Numerosos trabajos, enfocados al conocimiento de la morfología de las células espermáticas de peces, han mostrado la diversidad de formas y la composición estructural y ultraestructural de los espermatozoides (Herráez *et al.* 2017; Rurangwa *et al.* 2004). Estos

han sido útiles, para comprender algunos aspectos taxonómicos y relaciones evolutivas de cada familia (Islam & Akhter, 2011).

En casi todas las especies, la anatomía de los espermatozoides consiste de tres segmentos: cabeza, pieza media y flagelo. La cabeza de acuerdo a la especie varía en forma y tamaño, transporta los genes del macho (Ciereszko *et al.* 2017) en condición haploide en un núcleo de formas variables y en la mayoría de los teleósteos es ausente de acrosoma, debido a la presencia del micrópilo en el óvulo (Islam & Akhter, 2011; Jamieson, 1991; Zohar & Mylonas, 2001). La pieza media está sujeta a la cabeza de los espermatozoides, constituida principalmente por mitocondrias que contribuyen con la energía mediada por el ATP (Dzyuba *et al.* 2017; Saudrais *et al.* 1998 Rurangwa *et al.* 2004), para el movimiento flagelar hay dos centriolos, el proximal y distal que durante la espermiogénesis utilizarán uno o los dos centriolos como cuerpo basal para originar uno o dos flagelos respectivamente (Jamieson, 1991). El flagelo, es el aparato motil para alcanzar y penetrar el óvulo por el canal micropilar (Dzyuba & Cosson, 2014; Jamieson, 1991), en su mayoría está constituido por el axonema en arreglo de nueve pares de microtúbulos periféricos y un par central llamado complejo 9+2 que está recubierto por la membrana plasmática, y

confiere forma de cinta o de remo (aletas flagelares) (Jamieson, 1991), que de acuerdo a Tabares *et al.* (2005), posiblemente es una ventaja evolutiva para favorecer el movimiento del espermatozoide en el medio acuoso. Por otra parte, en algunas especies de la familia Mormyridae o peces elefantes de fertilización externa, el flagelo está ausente y su única forma de locomoción es de tipo ameboideo (Jamieson, 1991).

Tales estructuras y componentes que integran la célula espermática, son crucialmente importantes para determinar la calidad del desempeño espermático (Linhart *et al.* 2003; Saudrais *et al.* 1998). Mediante la tinción de un frotis espermático con giemsa al 20% y con el empleo de un microscopio óptico, provisto de una cámara con un programa para la visualización de imágenes, es posible observar los atributos básicos de la anatomía extracelular de los espermatozoides, como son la cabeza y el flagelo, tal y a como puede observarse en las imágenes mostradas de la Figura 1, que dan como ejemplo las variaciones en tamaño y formas de los espermatozoides del bagre tropical *Rhamdia laticauda* (Fig. 1A, 1B), los del pejelagarto tropical *Atractosteus tropicus* (Fig. 1C, 1D) y los de la mojarra del Nilo *Oreochromis niloticus* (Fig. 1E, 1F).

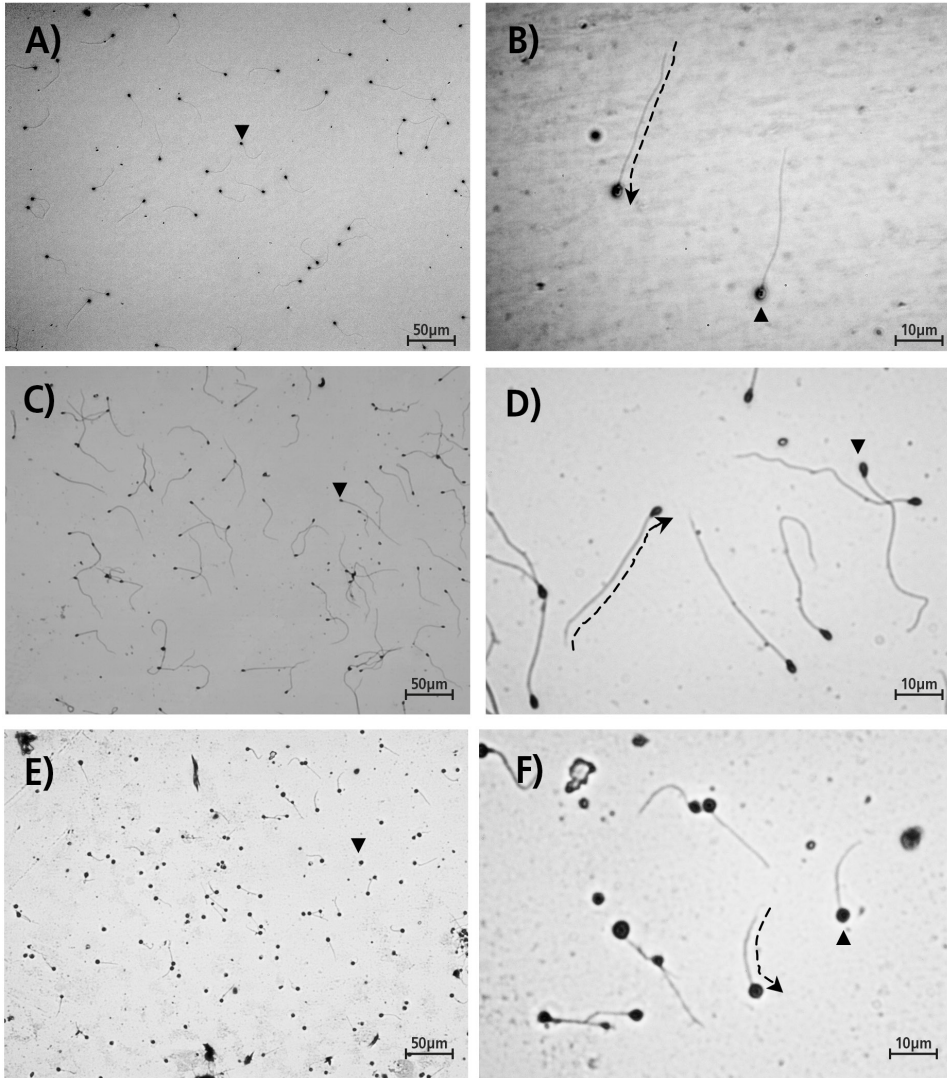


Fig. 1. Paisaje característico de los espermatozoides a 12.5X y 50X del bagre tropical *Rhamdia laticauda* (A, B), el pejelagarto tropical *Atractosteus tropicus* (C, D) y la mojarra del Nilo *Oreochromis niloticus* (E, F), mostrando con un triángulo sólido (▼) la cabeza espermática y la trayectoria flagelar con una flecha en línea discontinua. Imágenes originales de los autores.

Fig. 1. Typical sperm landscape at 12.5X and 50X from the tropical catfish *Rhamdia laticauda* (A, B), the tropical gar *Atractosteus tropicus* (C, D) and the Nile cichlid *Oreochromis niloticus* (E, F), pointing with a solid triangle (▼) the sperm's head and the flagellar trajectory with an arrow on interrupted line. Original pictures from authors.

La calidad espermática en peces

La calidad espermática es la habilidad y la capacidad de un espermatozoide para fertilizar exitosamente un óvulo y activar el desarrollo de un embrión viable (Bobe & Labbé, 2010; Dumorné *et al.* 2017; Fauvel *et al.* 2010; Rurangwa *et al.* 2004). La viabilidad del embrión, es la suma de la calidad del óvulo y del espermatozoide (Dzyuba & Cosson, 2014). Desde el punto de vista biológico, en condiciones naturales, los espermatozoides de dos o más machos de una misma especie compiten por fertilizar los óvulos, en dependencia del desempeño espermático, con el fin de asegurar mayor número de progenie (López-Hernández, 2013; López-Hernández, 2017; Osorio-Pérez, 2017).

En acuicultura, la importancia del diagnóstico del semen predice la capacidad fecundante del eyaculado y contribuye a mejorar las técnicas de fertilización *in vitro* y el desarrollo de metodologías de crioconservación o biotecnologías aplicadas al mejoramiento genético (Bobe & Labbé, 2010; Fauvel *et al.* 2010). Para considerar competentes los espermatozoides de un pez, estos deben cumplir con los requerimientos básicos de calidad espermática (Herráez *et al.* 2017; López-Hernández, 2013; 2017; Osorio-Pérez, 2017; Rurangwa *et al.* 2004). En la evaluación de la calidad espermática, es válido cualquier parámetro cuantitativo o cualitativo que

se relacione directamente con la habilidad fecundante del espermatozoide, entre ellos se puede mencionar: el tiempo de movimiento o periodo por el cual los espermatozoides están activos, tipo de movimiento o características del movimiento espermático, porcentaje de células motiles o número de células que se observan en movimiento, número de espermatozoides o cantidad de células espermáticas por volumen de muestra (Bobe & Labbé, 2010; Fauvel *et al.* 2010; Rurangwa *et al.* 2004) e integridad (o estado de deterioro) de las estructuras de la célula espermática (Herráez *et al.* 2017).

La recolección de semen

Un factor importante a considerar en la evaluación de la calidad del semen, es el método de recolecta empleado. Generalmente, cuando los reproductores machos están maduros, se reconocen porque liberan el líquido seminal ante suave presión del abdomen (Aas *et al.* 1991; Billard *et al.* 1995a; Dreanno *et al.* 1998). Los organismos deben (de preferencia), anestesiarse y secarse con una tela para evitar el contacto con el agua (y heces fecales), ya que esta activa la motilidad de los espermatozoides al mezclarse durante el manejo de los animales y las muestras de semen (Arias-Rodríguez, 2001; López-Hernández, 2013; 2017; Osorio-Pérez, 2017). El semen extraído puede ser recolectado mediante el empleo de

un tubo graduado, una jeringa o una cánula (Dreanno *et al.* 1998). Con el empleo de un tubo de ensayo, jeringa y tubo capilar, no hay riesgo de daño a los testículos (Rodríguez-Gutiérrez, 1992). Sin embargo, su empleo ocasiona contaminación por excremento y orina, se evita con, no alimentar y purgando los peces a lo largo de un día (Dreanno *et al.* 1998). Cuando la canulación es empleada, se evita la contaminación del líquido seminal por heces y orina, pero existe la posibilidad de daño testicular, si no se tiene un buen conocimiento de la anatomía del pez (Dreanno *et al.* 1998; Glogowski *et al.* 2000; Rodríguez-Gutiérrez, 1992). Cuando se trata de peces pequeños, como los locha (Arias-Rodríguez *et al.* 2010) u otros de uso ornamental, el empleo de tubos capilares es de mucha utilidad para la recolección de semen.

Técnicas tradicionales y avanzadas para la evaluación de la calidad espermática

El control de la calidad espermática es un tema relevante en la industria acuícola o de interés creciente para estudios de biología reproductiva, ya sea para la producción de especies comerciales establecidas o para la introducción de nuevas especies con alto interés comercial (Cabrita *et al.* 2014; Herráez *et al.* 2017; Rurangwa *et al.* 2004). Por ello, las particularidades genéticas y fisiológicas de un espermatozoide viable, para ferti-

lizar exitosamente un óvulo (Herráez *et al.* 2017; Rurangwa *et al.* 2004) pueden permitir el desarrollo de un espécimen normal (Álvarez *et al.* 2009; Herráez *et al.* 2017; Murakami *et al.* 2014). En el apareamiento o desove, la presencia en abundancia de gametos con buena calidad son liberados por las especies de fertilización externa en hábitats específicos como son cuerpos de agua dulceacuícolas, salobres y marinos donde el desbalance entre la osmolaridad del hábitat acuático y la del líquido seminal, son en conjunto los detonantes de la actividad espermática, que es uno de los parámetros que dan pauta al éxito de la fertilización (Rurangwa *et al.* 2004).

Tradicionalmente, las características apropiadas de las muestras de semen, han sido evaluadas mediante el análisis de diferentes parámetros como la concentración de células espermáticas, la motilidad o la actividad que es considerada como el tiempo de actividad celular, los porcentajes de células activas (Cabrita *et al.* 2014; Rurangwa *et al.* 2004) y los porcentajes de fertilización (Arias-Rodríguez *et al.* 2004; Rurangwa *et al.* 2004). En años recientes, en las prácticas de evaluación de los espermatozoides, se inició con el uso de la morfología de las células espermáticas, la integridad de la membrana celular y nuclear, el contenido energético y las pruebas complejas, que incluyen herramientas

moleculares para identificar células vivas, muertas y en apoptosis (Cabrita *et al.* 2014; Herráez *et al.* 2017; Rurangwa *et al.* 2004).

La evaluación de la motilidad espermática y los porcentajes de fertilización, han sido los parámetros de mayor uso para determinar la calidad del semen en mamíferos y en algunas especies acuáticas. Es sabido que la integridad espermática se encuentra asociada con los porcentajes de fertilización, al ser óptimos cuando la calidad espermática es buena y pobres cuando la calidad es baja (Ciereszko *et al.* 2005; Costache *et al.* 2012; Herráez *et al.* 2017). Afortunadamente, métodos analíticos con mayor objetividad han surgido, y tales exámenes incluyen el Análisis Espermático Asistido por Computadora (AEAC o CASA), la electroforesis de células individuales (ensayo cometa o de dispersión de componentes celulares), la viabilidad espermática y apoptosis por citometría fluorescente automática. Así mismo, la Microscopia Electrónica de Barrido, la Microscopia Electrónica de Transmisión, el ensayo túnel y del metabolismo de ATP; entre otros (Cabrita *et al.* 2014; Herráez *et al.* 2017; Rurangwa *et al.* 2004) han sido empleados recientemente como nuevas herramientas, para la evaluación rápida y confiable de la calidad espermática de especies emergentes de peces para su apro-

vechamiento acuícola (Cabrita *et al.* 2014; Herráez *et al.* 2017), con la desventaja de los altos costos de su empleo.

El desarrollo de nuevas técnicas y métodos alternativos para evaluar objetivamente la calidad espermática en peces, ha dado pauta a mejorar los criterios de evaluación y los resultados durante su aplicación en programas de producción masiva de larvas de peces (Herráez *et al.* 2017). Métodos alternativos como es el empleo de Microscopia Electrónica de Transmisión y Microscopia Electrónica Barrido, sistemas computarizados (Sperm Class Analyzer® CASA System), prueba de dispersión de ADN (ensayo cometa), citometría fluorescente para determinar la viabilidad celular por tinción con Ioduro de propidio y Anexina V (Invitrogen®), han permitido el análisis detallado del efecto de diversos agentes como la luz ultravioleta, crioprotectores, diluyentes espermáticos, metales pesados, contaminantes, etc., empleados en algunas ocasiones con propósitos biotecnológicos y de conservación temporal y a largo plazo (Cabrita *et al.* 2014; Herráez *et al.* 2017; Rurangwa *et al.* 2004).

El tiempo de motilidad o actividad espermática

El tiempo de motilidad o periodo de actividad de los espermatozoides posterior a su activación con

un medio acuoso, se ha venido expresando en términos de tiempo que es medido particularmente en segundos, este parámetro inicia desde el momento en que los espermatozoides son activados con agua o fluido ovárico, hasta la disminución o cese total del movimiento flagelar (Arias-Rodríguez, 2001). Para la evaluación de la motilidad, es recomendable emplear una dilución alta o volumen mayor de agua (o activador) en relación con el volumen inicial de la muestra de semen, hecho que sincroniza la activación de los espermatozoides de lo contrario, se puede presentar incertidumbre en la motilidad observada ya que la activación podría ser heterogénea (Arias-Rodríguez, 2001; Rurangwa *et al.* 2004).

La duración de la motilidad en el ambiente natural, varía entre especies y coincide con el tiempo de fertilización del espermatozoide. Generalmente, este tiempo de motilidad es influenciado por el hábitat del cual se origina el reproductor macho, por ejemplo: marino o dulceacuícola (Wootton & Carl, 2014; Wootton & Smith, 2014a, b). En la mayoría de los peces que desovan en agua marina (medio hipertónico), los espermatozoides mantienen periodos de motilidad más prolongados que en especies que desovan en ambientes dulceacuícolas (medio hipotónico) (Tabares *et al.* 2005). Sin embargo, son el nú-

mero de mitocondrias de cada especie las que proveen la energía (ATP o Adenosin Trifosfato) necesaria para el movimiento flagelar (Dziewulska *et al.* 2012; Tabares *et al.* 2005), por lo que el tiempo de vida motil del espermatozoide no solo depende de las condiciones extrínsecas (cantidad de agua, temperatura y osmolaridad), sino también, de la cantidad de ATP emitida por las mitocondrias al flagelo (Dziewulska *et al.* 2012; Rurangwa *et al.* 2004).

El contenido de ATP intracelular, está relacionado con la capacidad de movimiento del espermatozoide y con el tiempo total de motilidad (Dziewulska *et al.* 2012), al declinarse este después de la activación hasta en un 50%, lo que sugiere que una muestra con reducido tiempo de movimiento pudo haber sido activada inicialmente por agua u orina durante su extracción, al declinar el contenido de ATP y en consecuencia el movimiento (Billard *et al.* 1995a; Perchec *et al.* 1995; Rurangwa *et al.* 2004).

Los espermatozoides típicamente, están inmóviles en el lumen de la red de túbulos seminíferos de los testículos y son activos después de ser diluidos en un medio externo, como es el caso del agua originaria del pez sea marino o dulce acuícola (Billard *et al.* 1995b), dicha condición es importante cuando se evalúa la motilidad (Billard *et al.* 1995a). Las concentraciones

altas de cationes K^+ en el líquido seminal, inhiben la motilidad de los espermatozoides en algunas especies (Billard *et al.* 1995a). El pH de la solución activadora (p. e. marina o dulce) también afecta la motilidad, al ser necesario (en ocasiones) ajustar el pH de la solución a valores ácidos o alcalinos, esto depende de la especie en estudio (Arias-Rodríguez, 2001).

La osmolaridad de la solución activadora, afecta los porcentajes de células activas, como ha sido observado en experimentos con el bagre tropical *R. laticauda* (Jiménez-Trinidad, 2016). En el caso de los peces de agua dulce esta debe ser hipotónica y para los peces marinos hipertónica (Billard *et al.* 1995a).

Durante la evaluación de la motilidad es necesario hacer una dilución alta (p. e. 1:1000) con el fin de iniciar una activación sincrónica de los espermatozoides. En diluciones bajas no todos los espermatozoides se activan (activación heterogénea), al ser esta progresiva durante varios minutos después de realizada la activación. Dicha característica genera imprecisiones de la intensidad y la duración de la motilidad. Por consiguiente, es importante establecer que niveles de dilución insuficientes e irregulares, pueden ser la explicación de muchas de las discrepancias señaladas en la literatura para una misma especie (Billard *et al.* 1995a; Rurangwa *et al.* 2004).

El semen resulta difícil de mezclar debido a su viscosidad, por lo que deben hacerse diluciones altas o agitar adecuadamente las muestras, aunque esto puede dañar las células espermáticas (Billard *et al.* 1995a). Un procedimiento adecuado consiste en realizar primero una dilución en una solución extendidora de la motilidad (solución que no activa a los espermatozoides, sino que los mantiene en latencia) como las empleadas por Lahnsteiner & Patzner (1998), en *Boops boops*, *Diplodus sargus*, *Mullus barbatus* y *Trachurus mediterraneus*, que generalmente debe tener la misma presión osmótica (misma osmolaridad) que el fluido seminal (lo que puede lograrse al adicionar K^+ a una concentración adecuada).

La activación de los espermatozoides es realizada en el segundo paso, bajo el microscopio, al poder emplear 1 μ l de semen en 19 microlitros (1:20) de solución activadora que tenga una presión osmótica apropiada (Cosson *et al.* 2008).

Diferentes métodos son empleados con el fin de medir la motilidad. El de más uso se refiere a la duración total en segundos, asociado al tipo de movimiento del flagelo, al seguir comúnmente una escala gradual basada en los atributos del movimiento espermático como la descripción tradicional que ha sido señalada por Menkveld & Kruger (1996).

En la estimación de la motilidad, se considera también el porcentaje de células activas al poder emplearse el criterio (subjetivo) sugerido por Aas *et al.* (1991), en el cual el porcentaje de células motiles se define en una escala del 0 al 100%, con intervalos de 10 (p. e. 10, 20, 30, 40%, etc.).

Métodos modernos que permiten evaluar la motilidad de los espermatozoides, consisten en medir la frecuencia con la cual el flagelo es agitado, análisis que se realiza mediante estroboscopia (Cosson *et al.* 2008). Con el análisis de fotografías y/o videos del movimiento de la cabeza y/o del flagelo, es posible medir la velocidad de desplazamiento del espermatozoide en un periodo de tiempo (Cosson *et al.* 2008; Herráez *et al.* 2017). Recientemente, la motilidad se está estudiando mediante procedimientos que permiten la desmembración y la reactivación *in vitro* (Linhart *et al.* 2003; Saudrais *et al.* 1998).

Tipo o grado de movimiento

Otra variable importante es el tipo o grado de movimiento que es expresado como la dirección que la célula toma en su trayectoria motil, esto indica si el espermatozoide está en su máxima capacidad progresiva para fecundar el óvulo desde el momento de la activación, es decir, que el flagelo está en constante movimiento vigoroso por tiempo prolongado durante la vida motil del esper-

matozoide (Arias-Rodriguez, 2001; Rurangwa *et al.* 2004). El tipo de movimiento, se puede estimar cualitativamente por microscopia óptica y para ello se emplean escalas pre-establecidas como la propuesta por Menkveld & Kruger (1996), donde se describen detalladamente los patrones de movimiento de los espermatozoides activados y a como se describe a continuación:

Grado 4. Máximo movimiento progresivo de los espermatozoides (óptimo para la fertilización).

Grado 3 Disminución del movimiento progresivo de los espermatozoides, junto con el incremento de los movimientos laterales que promedian aproximadamente de dos a tres anchos el cuerpo del espermatozoide (apropiado para la fertilización).

Grado 2. Poco o ningún movimiento progresivo y movimientos laterales circulares de una o dos veces el ancho del cuerpo del espermatozoide (no apropiado para la fertilización).

Grado 1. Muy poco movimiento de la cabeza de los espermatozoides, junto con el decremento del movimiento del flagelo (sin capacidad de fertilización).

Grado 0. Sin motilidad, ni movimiento progresivo (movimiento frontal) de los espermatozoides (sin capacidad absoluta para la fertilización).

Porcentajes de células motiles

Al relacionar el tiempo y el tipo de movimiento, es fácil estimar qué porcentaje o porcentajes de la alícuota espermática activada es viable, tal parámetro es evaluado al determinar el número subjetivo de células activas en un campo visual bajo el microscopio óptico, normalmente al emplear el objetivo de 40X, pues permite estimar las posibilidades del espécimen macho para competir por la fertilización (Arias-Rodríguez, 2001; Rurangwa *et al.* 2004). En la fertilización *in vitro*, los porcentajes de células funcionales deben ser óptimos (>80%), porque los valores menores (<70%), reducen significativamente la obtención de porcentajes aceptables de óvulos fecundados. Para ello, se puede emplear el criterio sugerido por Aas *et al.* (1991), en el cual el porcentaje de células motiles está definido en escala del 0% al 100% con intervalos de 10, donde el 90% y 100% son óptimos para garantizar mayores porcentajes de óvulos fertilizados o de su empleo para experimentos de biología y biotecnología.

Concentración o número de espermatozoides

La concentración de espermatozoides en el líquido seminal es con frecuencia empleado en la caracterización de la calidad del semen (Arias-Rodríguez, 2001; Billard *et al.* 1995a). El conteo del número de espermatozoides por mililitro de muestra espermática, se determina

tradicionalmente con el empleo de un hematocitómetro o cámara Neubauer (Arias-Rodríguez, 2001), un ejemplo de ello es lo indicado en la Figura 2A. El número de espermatozoides se puede estimar también por densidad óptica, mediante espectrofotometría o por la técnica del microhematócrito (Rakitin *et al.* 1999; Rurangwa *et al.* 2004), la primera es la más precisa y rápida, pero con un alto costo del equipo. Últimamente, se utilizan los citómetros automáticos, con fácil operación y con altos estándares de precisión en los resultados que se obtienen, pero los costos del equipo, los reactivos y los consumibles hacen esta herramienta poco accesible para las prácticas acuícolas, al ser más común su empleo en experimentación (Fig. 2B, C, D) (Jiménez-Trinidad, 2016; López-Hernández, 2017; Osorio-Pérez, 2017).

El número de espermatozoides, también está relacionado con la estación reproductiva, el tratamiento hormonal, los porcentajes de fecundación y de la especie, la disponibilidad del alimento, las propiedades nutricionales del alimento y la calidad del agua (Murakami *et al.* 2014).

La cantidad de células espermáticas varía además entre individuos de la misma especie y entre las diferentes especies; por ello, es recomendable que dicho parámetro se determine en las muestras de semen, de cada uno de los reproductores machos seleccionados

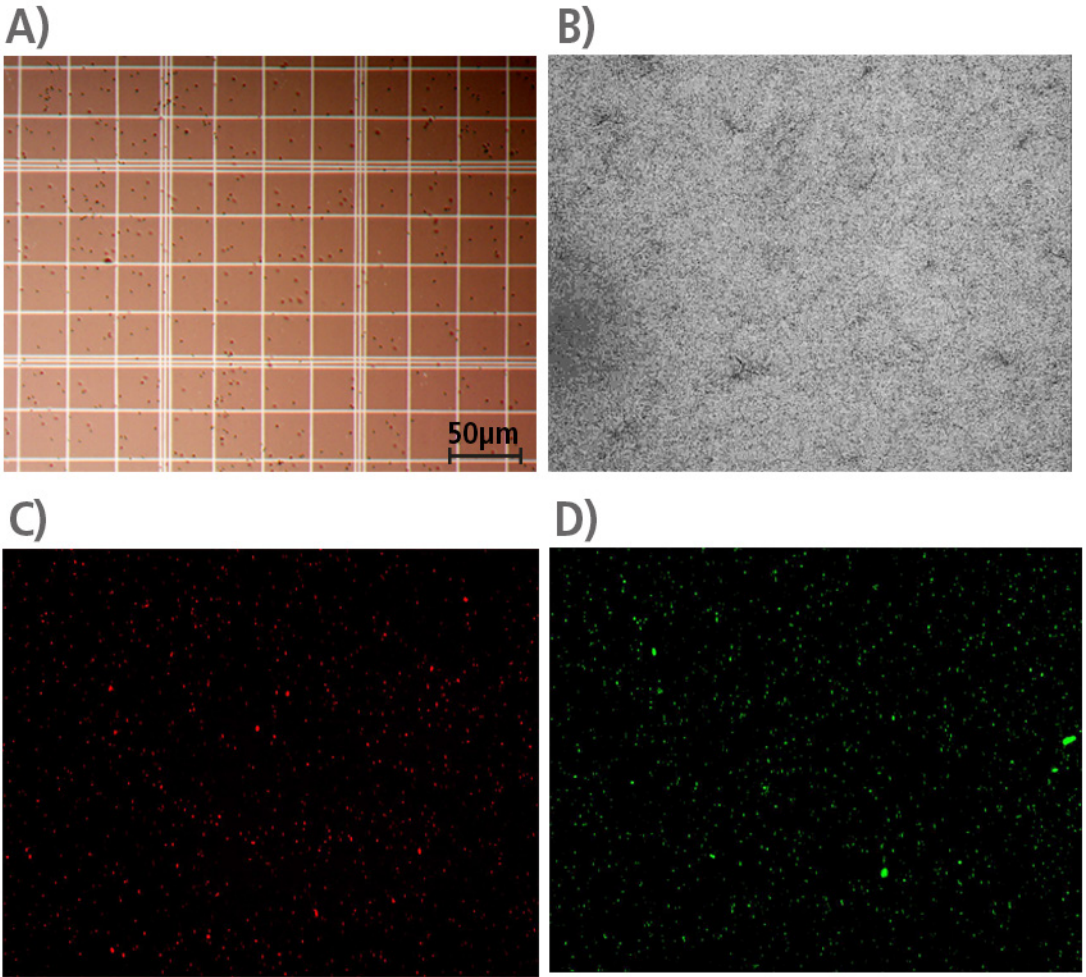


Fig. 2. Cuantificación del total de células espermáticas del bagre tropical *Rhamdia laticauda* mediante la cámara de Neubauer a 12.5X (A) y el citómetro automático a 16X en campo claro (B), y cuantificación de la viabilidad espermática por citometría automática en campo fluorescente, al emplear yoduro de propidio para células muertas (C) y anexina V para células en apoptosis (D). Imágenes originales de los autores.

Fig. 2. Total sperm cell count of the tropical catfish *Rhamdia laticauda* using the Neubauer chamber at 12.5X (A) and the automatic cytometer at 16X with bright field (B); and quantification of sperm viability by the automatic cytometer at fluorescent field, marked with propidium iodide for dead cells (C) and annexin V to detect apoptotic cells (D). Original pictures by authors.

para los programas de producción masiva de larvas o bien para los experimentos que requieran de porcentajes altos de fertilización (Murakami *et al.* 2014). Es obvio que el número de espermatozoides, necesarios para fertilizar un óvulo es equivalente a una célula espermática por cada óvulo del pez, esto es en los casos muy precisos del programa de fertilización. Sin embargo, realmente no existe un valor o número preciso o recomendable de células espermáticas viables, debido a que los valores están en función del número de óvulos a fertilizar, un mínimo de 1 000 espermatozoides puede garantizar la fertilización exitosa de 100 óvulos viables (Satterfield & Flickinger, 1995).

Lo recomendable es emplear en los casos de bajo presupuesto, el índice de motilidad (I. M.) mínimo de 50, el cual se obtiene al multiplicar la graduación del movimiento espermático anteriormente señalado, por el porcentaje de células activas (Satterfield & Flickinger, 1995). Dicho parámetro se ha empleado con éxito en la perca *Stizostedion vitreum* (Satterfield & Flickinger, 1995), en el botete diana *Sphoeroides annulatus* (Arias-Rodriguez *et al.* 2004) y en el bagre tropical *R. laticauda* (López-Hernández, 2013, 2017) con índices de motilidad de 400, mismo que se obtuvo al multiplicar el tipo de movimiento equivalente a 4 por el 100% de células activas.

La capacidad de fertilización

La capacidad de fertilización es un estimador que permite evaluar la calidad del semen. Este procedimiento se emplea en estudios referidos a la inseminación artificial y preservación de espermatozoides (Billard *et al.* 1995a; Lahnsteiner *et al.* 1998; Rurangwa *et al.* 2004). De acuerdo con Billard *et al.* (1995a), la capacidad de fertilización integra un factor independiente como es la calidad de los óvulos, la interacción entre gametos y fluidos seminales/ováricos. La inseminación se realiza a diferentes porcentajes de dilución espermática, con el propósito de establecer un número mínimo de espermatozoides que puedan fertilizar al 100% ciertos gramos de óvulos (Billard *et al.* 1995a).

La densidad del líquido seminal

La densidad del líquido seminal es otro factor importante en su calidad, pues durante la toma de muestras se observa con frecuencia que algunos reproductores manifiestan abundante fluidez seminal, muy posiblemente tengan densidad baja de espermatozoides (Rurangwa *et al.* 2004), mientras que en caso contrario, el semen con densidad alta, mantiene mayor número de células espermáticas por mililitro de muestra (Arias-Rodriguez *et al.* 2004). La densidad, se puede determinar en el laboratorio húmedo o en campo cuando no se cuenta con un espectrofotómetro, mediante la

fórmula: $D=P/V$; donde D = densidad, P = peso en gramos de la muestra y V corresponde al volumen en mililitros de la muestra (Rodríguez-Gutiérrez, 1992).

Morfología y viabilidad por tinción

La determinación de la morfología y la viabilidad de una muestra de semen es un requisito importante, aunque de poco uso, debido a lo laborioso e impráctico del método, cuando los resultados son requeridos de inmediato (López-Hernández, 2017; Osorio-Pérez, 2017; Rurangwa *et al.* 2004). Sin embargo, cuando se trata de procedimientos encaminados a la criopreservación de semen o al apoyo de metodologías en las cuales no se requiere información inmediata (p. e. motilidad), este es un procedimiento que proporciona información adicional respecto a los porcentajes de fertilización y sobrevivencia.

La prueba de viabilidad consiste en determinar el número de espermatozoides vivos y muertos, al emplear la tinción (de un frotis delgado de semen) con eosina-nigrosina (Álvarez *et al.* 2009; Fribourgh, 1966), los espermatozoides muertos se tiñen de rojo y los vivos no. El empleo del procedimiento anterior aunque es económico, se debe realizar y valorar, porque su aplicación no resulta en un procedimiento práctico para cualquier especie (Arias-Rodríguez, 2001).

La prueba tradicional para la determinación de la morfología consiste en teñir un frotis delgado de semen con azul de metileno y con fucsina fenólica de Ziehl-Nielsen (Rodríguez-Gutiérrez, 1992), en el que es posible detectar (a 100X) anomalías morfológicas como espermatozoides con doble flagelo, gotas de citoplasma en el flagelo próximas a la cabeza, flagelos curvados o doblados y cabezas sin flagelo (Miliorini *et al.* 2011; López-Hernández, 2017). Por otro lado, los métodos de tinción con colorantes fluorescentes, ofrecen mayor precisión debido a la particularidad bioquímica de los fluorocromos que se emplean para determinar estados fisiológicos específicos de la célula (p. e. vivos, muertos y en apoptosis) (Chan *et al.* 2012). Actualmente, los colorantes fluorescentes más utilizados son azul de tripano, SYBR 14 (Chalah & Billard, 1998) Rhodamina 123, Hoechst 33258, diacetato de carboxifluoresceína, yoduro de propidio (Brana *et al.* 2002) y bromuro de etidio, Anexina V (Schutte *et al.* 1998; Vermes *et al.* 2000; Koopman *et al.* 1994; Zhang *et al.* 1997), que facilitan un análisis más objetivo y cuantitativo con equipos alimentados con luz ultravioleta que excitan a los fluorocromos al emitir un color específico, tales equipos pueden ser los microscopio de fluorescencia y citómetros de flujo. Métodos con mayor resolución son los que

emplean observación directa de las células espermáticas y están basados en las herramientas de microscopía electrónica (Osorio-Pérez, 2017; Psenicka *et al.* 2007; López-Hernández, 2017), las cuales se estarán comentando en los apartados siguientes.

Citometría automática y la viabilidad espermática

El citómetro es un instrumento que puede medir ciertas propiedades físicas como son tamaño, forma y densidad, y otras particularidades celulares después de que estas son incubadas con componentes orgánicos especiales (Chapman, 2000; Jiménez-Trinidad, 2016; López-Hernández, 2017; Osorio-Pérez, 2017). Los avances en los fluidos, en electrónica, ordenadores y *software*, laser de alta potencia como el diodo emisor de luz (LED), y tecnologías de lentes ópticos como detector de imágenes, han permitido el desarrollo de una nueva generación de sistemas accesibles, como la citometría basada en imágenes automatizadas. También, el desarrollo y la disponibilidad de nuevos colorantes fluorescentes, han hecho de esto una herramienta muy flexible y en la que es posible correlacionar hasta diez parámetros en una sola lectura (Chapman, 2000; Vermes *et al.* 2000). En contraste con las técnicas tradicionales que aportan menor cantidad de datos y requieren de mayor tiempo para su desarrollo.

La citometría de flujo, ha sido empleada en estudios de biología de

la reproducción para la evaluación de las características e integridad de la membrana de células espermáticas. El método de doble tinción permite medir con precisión la viabilidad de diferentes poblaciones de células (Chan *et al.* 2012; López-Hernández, 2017; Osorio-Pérez, 2017). La capacidad de la citometría de fluorescencia, para cambiar fácilmente su módulo óptico, permite la excitación y la emisión de estos tipos de colores, lo que da la posibilidad de experimentar con varios tintes y discriminar células en diferentes estadios o condiciones fisiológicas, por ejemplo: vivas, muertas y en apoptosis (Chan *et al.* 2012; López-Hernández, 2017; Osorio-Pérez, 2017).

Las características dependen de las diferencias en la permeabilidad de la membrana plasmática de las células espermáticas vivas, muertas y apoptóticas en los tintes empleados para teñir el ADN, como el yoduro de propidio, bromuro de etidio y Hoechst-33342, uno puede discriminar a las células vivas, muertas y apoptóticas. El yoduro de propidio penetra en las células necróticas o muertas, intercalándose con el ADN, y causa fluorescencia roja. La Anexina V, muestra una interacción fuerte y específica con la fosfatidilserina en presencia de Ca^{+} que se da por pérdida de simetría de la membrana plasmática (Vermes *et al.* 2000), la cual es visualizada por fluorescencia verde o azul tenue, con la que es posible detectar las células en apoptosis. En el

caso particular de las células espermáticas vivas, estas no se tiñen y son observadas como objetos transparentes durante los análisis.

La homeóstasis es mantenida en organismos multicelulares por el balance entre la proliferación celular y la muerte celular. El término apoptosis o muerte celular programada, se define como un programa de muerte celular genéticamente codificado, el cual es morfológicamente y bioquímicamente distinto de la necrosis o muerte accidental (Vermes *et al.* 2000).

Tipos diferentes de muerte celular: Apoptosis (tipo I), muerte celular asociada con autofagia y pérdida de la integridad de la membrana plasmática (tipo II) y fuga del contenido intracelular (necrosis o tipo III) (Koopman *et al.* 1994). La apoptosis es un mecanismo de renovación de células no deseadas por el sistema inmune, esta es caracterizada por la condensación de cromatina, reducción del volumen celular y división del ADN por endonucleasas en fragmentos grandes de oligonucleosomas, además es acompañada por la pérdida de asimetría fosfolípida de la membrana (Koopman *et al.* 1994). Existen diversas técnicas para determinar y cuantificar el fenómeno apoptótico, dentro de las metodologías más comunes para la detección de apoptosis se encuentran: el electroforesis en gel, en la cual el ADN fragmentado puede ser observado como bandas de tamaño equivalente a múltiples oli-

gonucleosomas o de un único nucleosoma, y la viabilidad por tinción mediante marcadores como: Anexina V, yoduro de propidio, eosina-nigrosina, azul de tripano, etc. Además, métodos como pérdida de la viabilidad celular o condensación de ADN, han sido también empleados en el monitoreo de la apoptosis. Sin embargo, los cambios morfológicos y la degradación de la cromatina son la base de tales ensayos y ocurren después de la apoptosis (Zhang *et al.* 1997).

En los primeros estadios de la apoptosis un cambio en la superficie de la célula es observado, esta es la translocación de la fosfatidilserina del interior de la membrana plasmática al exterior, que queda expuesta en la superficie de la célula. La Anexina “V” es una proteína de unión-fosfolípida dependiente de Ca^{+} , con alta afinidad por la fosfatidilserina y es una de las más usadas para detectar apoptosis mediante el análisis citométrico fluorescente, al marcar la pérdida de simetría de la membrana, durante el inicio del proceso apoptótico (Zhang *et al.* 1997).

El análisis por citometría fluorescente de células (Fig. 2C, D), es objetivo, ya que mide la cantidad de tinción asociada o hibridizada con las células de una manera más completa, este puede analizar millones de células en segundos y puede evaluar múltiples tinciones fluorescentes, asociadas con espermias individuales (Graham, 2001). La citometría de flujo, es una

técnica atractiva, debido a que permite la caracterización de cada espermatozoide en términos de función celular e integridad de sus diferentes compartimentos, así como, también la identificación de subgrupos sobre un gran número de células. Por medio del análisis de citometría de flujo, la detección de moléculas involucradas en la muerte apoptótica, el análisis del ciclo celular y la determinación de la actividad de las caspasas han sido también evaluadas con éxito en células espermáticas.

Evaluación de las microestructuras espermáticas por Microscopía Óptica (MOP)

El análisis de la morfología espermática típica es el criterio directo más importante para evaluar la calidad de una muestra de semen. La correcta evaluación depende del modo de preparación, fijación y del método de tinción de las células gaméticas (van der Horst & Maree, 2010).

Una técnica de tinción debe causar el menor cambio en las dimensiones y las formas como sea posible, con el fin de evaluar de manera confiable las características morfométricas de cada componente celular. Las diferentes morfologías espermáticas por microscopía óptica, son usualmente establecidas por la tinción de las muestras de semen y al examinar la laminilla bajo un microscopio óptico, con los objetivos de 40X o

100X con contraste de fases negativo, al ajustar correctamente el brillo del campo (Fig. 1), seguido por el análisis de las imágenes capturadas.

Técnicas de tinción diferentes han sido desarrolladas para el análisis espermático por microscopía óptica como: Hematoxilina-eosina, azul de toluidina, giemsa, Wright, naranja G, tinción con azul de eosina-anilina, método de Shorr, Papanicolaou, método de Berg, tinción verde claro, naranja de acridina y tinción verde de Janus (Aksoy *et al.* 2012; Serafini *et al.* 2014). Sin embargo, el desarrollo del Análisis Automatizado para la Morfología Espermática (AAME) o el Sistema de Análisis Espermático Integrado (SAEI), ha llevado al incremento en el número de estudios sobre la morfología en espermatozoides de animales, principalmente en mamíferos mediante el empleo de tinciones que da un mejor contraste de fondo.

El empleo combinado por sistemas computarizados y métodos de tinción como Diff-Quick, Hemacolor, Spermac, SpermBlue, actualmente permite el análisis automático de rutina de la forma de los espermatozoides y fomenta el desarrollo del análisis de imágenes para caracterizarlos de manera rápida (van der Horst & Maree, 2010) en otros grupos taxonómicos como es el caso de varias especies de mamíferos, lo que incluye a nuestra especie *Homo sapiens*. En el caso de

los peces, la adaptación de tales métodos en el futuro, requerirán de su validación. Sin embargo, la morfología de los espermatozoides en peces, es tan variada que requiere de la estandarización de la forma celular para cada especie previa a procesos de medición. Por ello, los métodos subjetivos por microscopía óptica y el empleo de las nuevas tinciones, permiten la evaluación de espermatozoides en tiempo real, al ser este un método barato y de fácil acceso (Aksoy *et al.* 2012; Estes *et al.* 2015).

Evaluación de las microestructuras espermáticas por Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

La MEB es una herramienta poderosa, que permite la observación y la caracterización de materiales orgánicos e inorgánicos heterogéneos y superficies a escala local. El área examinada o el microvolumen analizado es irradiado con un fino haz de electrones focalizados, el cual puede ser estático o mediante un barrido a través de la superficie del espécimen. Con la ayuda de esta herramienta, gran número de estudios sobre la fisiología espermática, han sido desarrollados en peces (Xin *et al.* 2014). En general, los espermatozoides de los peces, se han diferenciado en tres partes mayores por medio de la MEB: cabeza, pieza media y flagelo (Alavi *et al.* 2009; López-Hernández, 2017; Osorio-Pérez, 2017; Rurangwa *et al.* 2004).

El conocimiento sobre los espermatozoides en peces, ha incrementado considerablemente desde décadas pasadas. Dichos estudios se han enfocado en las diferencias morfológicas y estructurales entre especies, las cuales sirven como criterio para estudios evolutivos y taxonómicos (López-Hernández, 2017; Osorio-Pérez, 2017; Psenicka *et al.* 2007; Yasui *et al.* 2009). Además, el análisis por Microscopía Electrónica de Barrido provee información detallada sobre la ultraestructura subcelular espermática, y esto permite entender la morfología normal de los espermatozoides, la cual es valiosa en el desarrollo de métodos de criopreservación y la evaluación de posible daño celular, por la exposición hacia algún agente contaminante previo a procesos de fertilización artificial (Xin *et al.* 2014). El surgimiento de análisis por computadoras (AAME y CASA) en combinación con el análisis espermático por MEB, proveen de una opción versátil para el reemplazamiento de las técnicas de microscopía tradicional, por su fácil operación y objetividad durante el análisis de la velocidad de desplazamiento espermático, del tipo de movimiento y del tiempo de motilidad. Sin embargo, la adquisición de tales programas y equipos son altamente costosos.

Evaluación de las microestructuras espermáticas por Microscopia Electrónica de Transmisión (MET)

El estudio de la ultraestructura espermática por MET de los diferentes grupos de peces, ha sido un tema popular desde décadas pasadas, debido principalmente a sus diferencias morfológicas específicas que reflejan variación en capacidades funcionales y filogenéticas entre especies (López-Hernández, 2017; Psenicka *et al.* 2008). El estudio ultraestructural de los espermatozoides de muchas especies de peces, ha mostrado que la organización de los orgánulos espermáticos es muy conservativa en miembros de la misma familia o subfamilia (Quagio-Grassiotto & Oliveira, 2008). Sin embargo, en los teleósteos es muy difícil correlacionar filogenéticamente la ultraestructura espermática con modelos taxonómicos, ya que los espermatozoides de este grupo muestran gran variedad de tipos y formas incluso dentro de la misma familia sistemática. Los análisis por MET, han permitido describir de manera más detallada el proceso de espermatogénesis en un gran número de peces, y en las que características únicas han sido observadas, entre especies, así como correlaciones filogenéticas con otros grupos taxonómicos. En Siluriformes, las características morfológicas espermáticas son exclusivas del orden en comparación a otros grupos de teleósteos (López-Hernández, 2017; Qua-

gio-Grassiotto & Oliveira, 2008). En algunas familias como Pimelodidae, Doradidae y Heptapteridae por ejemplo, un tipo especial de espermatogénesis ha sido caracterizado por MET, lo cual no es compartido con ningún otro orden (Quagio-Grassiotto & Oliveira, 2008). El análisis de la morfología y ultraestructura espermática por MET, ha sido también empleado para la evaluación de la fertilidad en peces, cuando son expuestos a algún agente químico o manipulados para bancos de genoma mediante criopreservación.

Parámetros químicos, bioquímicos y lipídicos del plasma seminal

En la mayoría de los peces la espermatogénesis es de tipo quística y los espermatozoides son liberados dentro del sistema de ductos eferentes en el testículo, donde son sujetos a la fase de maduración al final de la espermatogénesis, o llamada espermiogénesis o espermiación (Schulz *et al.* 2010). Durante esta fase, el epitelio testicular produce el plasma seminal, como un fluido de componentes bioquímicos múltiples que rodean a los espermatozoides (Linhart *et al.* 2003). El papel principal del plasma seminal, es crear un medio óptimo para almacenar los espermatozoides, y también evitar la activación que mantiene el metabolismo que preserva la viabilidad y la energía para activar la motilidad (Linhart *et al.* 2003). Además de la morfología celular, la densidad, el volumen, la motilidad, la capacidad

de fertilización, la osmolaridad y la composición del plasma seminal, han sido los parámetros más empleados para medir la calidad espermática en peces (Duan *et al.* 2016). En la mayoría de los peces teleósteos, los espermatozoides están inactivos en el plasma seminal en los testículos. Factores como la osmolaridad en ciprínidos, la presión osmótica, la concentración de K^+ , la concentración de glucosa y el pH del plasma seminal ≥ 7.0 en Salmónidos (Linhart *et al.* 2003; Tabares *et al.* 2005; Taati *et al.* 2010) y proteínas específicas del plasma seminal (Dumorné *et al.* 2017) con 120 kDa en cíclidos, son factores que inhiben la motilidad espermática en peces dulceacuícolas (Linhart *et al.* 2003; Tabares *et al.* 2005; Taati *et al.* 2010).

En los peces, variaciones de parámetros químicos, bioquímicos y lipídicos se presentan en la misma familia y especies (Duan *et al.* 2016). Tales variaciones se encuentran asociadas principalmente, a los procesos de reproducción anual, o en ciclos reproductivos a lo largo del año (Linhart *et al.* 2003; López-Hernández, 2017; Osorio-Pérez, 2017). El conocimiento de los componentes del plasma seminal en peces, ha sido empleado para el desarrollo de Soluciones Reguladoras de la Vitalidad Espermática (SRVE) (Arias-Rodríguez, 2001), las cuales permiten la manipulación de los gametos con fines de reproducción artificial, manipulación cromosómica o criopre-

servación (Duan *et al.* 2016; Linhart *et al.* 2003; Psenicka *et al.* 2008). En la acuicultura, el adecuado conocimiento de las características químicas y físicas del semen, permite el control y la producción exitosa de larvas en los sistemas de cultivo (Duan *et al.* 2016; Murakami *et al.* 2014).

CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

En peces, como en la mayoría de los organismos con reproducción sexual, los espermatozoides tienen dos funciones importantes: activar la mayoría de los procesos moleculares del óvulo fertilizado y transmitir el material genético. En los machos, el éxito reproductivo depende de varios factores, entre ellos, la calidad del agua, la alimentación, la condición genética y la fisiología/capacidad reproductiva de las células espermáticas, para fertilizar el óvulo. La activación de las células espermáticas se lleva a cabo desde el momento en que el espermatozoide entra en contacto con el medio acuoso y los receptores de la membrana plasmática activan el movimiento flagelar. Los factores principales que intervienen durante la motilidad espermática son la presión osmótica, la composición iónica, el contenido de ATP y el pH en relación con el medio en el que habita el pez. Los espermatozoides maduros y funcionales son células haploides constituidas por una cabeza, una pieza media y un flagelo, todas ellas

con morfología regular y acorde con las particularidades de cada especie que muestran variabilidad en forma, tamaño, número, localización de organelos y estructuras para la fertilización, como el flagelo y acrosoma en algunas especies; la observación de tales estructuras con herramientas de microscopía óptica, electrónica y por citometría automática, son necesarias para incrementar y optimizar los porcentajes de fertilización, sobre todo de especies en riesgo crítico de extinción y con importancia económica. Las estructuras que componen al espermatozoide deben tener buenas condiciones de simetría y funcionalidad, pues regulan el tiempo que una célula espermática se mueve (generalmente expresado en segundos), el tipo de motilidad de los espermatozoides o patrón de movimiento y el número de células activadas (porcentajes de motilidad). Lo anterior, es fundamental para garantizar porcentajes apropiados de fertilización, por ello es definida como calidad de los espermatozoides o calidad espermática. El conocimiento de la fisiología reproductiva de las células espermáticas, es importante como alternativa que favorece los programas de repoblación y de cruas selectivas a través de fertilización artificial. El conocimiento de las bases fisiológicas de los espermatozoides es fundamental para programas de conservación temporal y criopreservación, necesarios para la creación de bancos de germoplasma. Los avances biotecnológicos

con miras al empleo y a la manipulación de los gametos con amplios estándares de calidad fisiológica y genética, permitirán en el futuro, el aislamiento y la transferencia de núcleos apropiados para la creación selectiva de variedades híbridas con fines acuícolas, biológicos y experimentales. Aunado a que las herramientas genómicas, consentirán relacionar la calidad y el desempeño fisiológico con la expresión genética de células espermáticas individuales, que darán cabida a una mayor comprensión de la segregación y la herencia ligada a la eclosión, la sobrevivencia, la resistencia a enfermedades, el arribo a la primera alimentación, el desempeño de larvas, juveniles y adultos en los cultivos y el medio natural.

BIBLIOGRAFÍA

- Aas, G. H., Refstie, T. & Gjerde, B. (1991). Evaluation of milt quality of Atlantic salmon. *Aquaculture*, 95, 125-132. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(91\)90079-M](https://doi.org/10.1016/0044-8486(91)90079-M).
- Aksoy, E., Aktan, T. M., Duman, S. & Cuce, G. (2012). Assessment of spermatozoa morphology under light microscopy with different histology stains and comparison of morphometric measurements. *Int. J. Morphol.*, 30(4), 1544-1550. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022012000400045>.
- Alavi, S. M. H., Rodina, M., Viveiros, A. T. M., Cosson, J., Gela, D., Boryshpolets, S. & Linhart, O. (2009). Effects of osmolality on sperm morphology, motility and flagellar wave parameters in Northern pike (*Esox lucius L.*). *Theriogenology*,

- 72, 32-43. <https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2009.01.015>.
- Arias-Rodríguez, L. (2001). *Inactivación genética de esperma e inducción de ginogénesis y de triploidía en el botete diana *Sphoeroides annulatus*, (Jenyns, 1842)*. Tesis de maestría no publicada, Centro de Investigación para la Alimentación y Desarrollo, A. C. (CIAD), Unidad Mazatlán, Sinaloa, México.
- Arias-Rodríguez, L., Rodríguez, I. L. E. & Pignataro, V. G. (2004). Efecto de la radiación UV en la inactivación genética del esperma de botete diana *Sphoeroides annulatus* (Jenyns, 1842). *Ciencias Marinas*, 30, 390-402. <https://doi.org/10.7773/cm.v30i3.334>.
- Arias-Rodríguez, L., Yasui, G. J., Kusuda, S., Fujimoto, K. & Arai, K. (2010). Reproductive and genetic capacity of spermatozoa of inter-populational hybrid males in the loach, *Misgurnus anguillicaudatus*. *J. Appl. Ichthyol*, 26, 653-658. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2010.01534.x>.
- Álvarez, B., Arenal, A., Fuentes, R., Pimentel, R., Abad, Z. & Pimentel, E. (2009). Methods in reproductive aquaculture: Marine and Freshwater Species. In E. Cabrita., V. Robles & P. Herraéz (Eds.), *Use of post-thaw silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) spermatozoa to increase hatchery productions* (pp. 345-350). Florida, EE. UU.: C. R. C. Press.
- Billard, R. (1986). Spermatogenesis and spermatology of some teleost fish species. *Reprod. Nutr. Dévelop.*, 26(4), 877-920. <https://doi.org/10.1051/rnd:19860601>.
- Billard, R., Cosson, J., Crim, L. W. & Suquet, M. (1995a). Broodstock management and egg and larval quality. In N. R. Bromage & R. J. Robert (Eds.), *Sperm physiology and quality* (pp. 25-53). Boston, EE. UU.: Blackwell Science, Oxford.
- Billard, R., Cosson, J., Perchec, G. & Linhart, O. (1995b). Biology of sperm and artificial reproduction in carp. *Aquaculture*, 129, 95-112. [https://doi.org/10.1016/0044-8486\(94\)00231-C](https://doi.org/10.1016/0044-8486(94)00231-C).
- Birkhead, T. R., Hosken, D. J. & Pitnick, S. (2009). *Sperm biology: An evolutionary perspective*. Burlington, EE. UU.: ELSEVIER.
- Bobe, J. & Labbé, C. (2010). Egg and sperm quality in fish. *General and Comparative Endocrinology*, 165(3), 535-548. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.02.011>.
- Brana, C., Benham, C. & Sundstrom, L. (2002). A method for characterizing cell death “*in vitro*” by combining propidium iodide staining with immunohistochemistry. *Brain Res. Protocols*, 10(2), 109-114. [https://doi.org/10.1016/S1385-299X\(02\)00201-5](https://doi.org/10.1016/S1385-299X(02)00201-5).
- Cabrita, E., Martínez-Páramo, S., Gavaia, P. J., Riesco, M. F., Valcarce, D. G., Sarasquete, C., Herráez, M. P. & Robles, V. (2014). Factors enhancing fish sperm quality and emerging tools for sperm analysis. *Aquaculture*. 432, 389-401. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2014.04.034>.
- Chalah, T. & Brillard, J. P. (1998). Comparison of assessment of fowl sperm viability by eosin-nigrosin and dual fluorescence (SYBR-14/PI). *Theriogenology*, 50(3), 487-493. [https://doi.org/10.1016/S0093-691X\(98\)00155-1](https://doi.org/10.1016/S0093-691X(98)00155-1).
- Chan, L. L., Wilkinson, A. R., Paradis, B. D. & Lai, N. (2012). Rapid image-based cytometry for comparison of fluorescent viability staining methods. *J. Fluores.*, 22(5), 1301-1311. <https://doi.org/10.1007/s10895-012-1072-y>.
- Chapman, G. V. (2000). Instrumentation for flow cytometry. *J. Immunol. Methods*, 243(1), 3-12. [https://doi.org/10.1016/S0022-1759\(00\)00224-6](https://doi.org/10.1016/S0022-1759(00)00224-6).

- Ciereszko, A., Dietrich, M. A. & Nynca, J. (2017). Fish semen proteomics - New opportunities in fish reproductive research. *Aquaculture*, 472, 81-92. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.03.005>.
- Ciereszko, A., Wolfe, T. D. & Dabrowskia, K. (2005). Analysis of DNA damage in sea lamprey (*Petromyzon marinus*) spermatozoa by UV, hydrogen peroxide, and the toxicant bisazir. *Aquat. Toxicol.*, 73, 128-138. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2005.03.003>.
- Cosson, J., Groison, A. L., Suquet, M. & Fauvel, C. (2008). Motility characteristics of spermatozoa in cod (*Gadus morhua*) and hake (*Merluccius merluccius*). *Cybiolum*, 32, 176-177.
- Costache, M., Radu, D., Nicolae, C. G. & Grosu, H. (2012). Relationships between morphology, motility and fertilization capacity in paddlefish (*Polyodon spathula*) spermatozoa. *Adv. Res. Sci. Areas*, 24(4), 1427-1429. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2008.01145.x>.
- Coward, K., Bromage, N. R., Hibbitt, O. & Parrington, J. (2002). Gamete physiology, fertilization and egg activation in teleost fish. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 12, 33-58. <https://doi.org/10.1023/A:1022613404123>.
- Dreanno, C., Suquet, M., Desbruyeres, E., Cosson, J., Delliou, H. L. & Billard, R. (1998). Effect of urine on semen quality in turbot (*Psetta maxima*). *Aquaculture*, 169, 247-262. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00262-2](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00262-2).
- Duan, W., Xu, K., Hu, F., Zhang, Y., Wen, M., Wang, J., Tao, M., Luo, K., Zhao, R., Qin, Q., Zhang, C., Liu, J., Liu, Y. & Liu, S. (2016). Comparative proteomic, physiological, morphological, and biochemical analyses reveal the characteristics of the diploid spermatozoa of allotetraploid hybrids of red crucian carp (*Carassius auratus*) and common carp (*Cyprinus carpio*). *Biology of Reproduction*, 94, (1-2)35, 1-12. <https://doi.org/10.1095/biolreprod.115.132787>.
- Dumorné, K., Figueroa, E., Cosson, J., Lee-Estevez, M., Ulloa-Rodríguez, P., Valdebenito, I. & Farías, J. C. (2017). Protein phosphorylation and ions effects on salmonid sperm motility activation. *Rev. Aquaculture*, 0, 1-11. <https://doi.org/10.1111/raq.12198>.
- Dziewulska, K., Rzemieniecki, A., Baranowska-Bosiacka, I., Domagała, J. & Chlubek, D. (2012). The parameters of energetic status of the wild Atlantic salmon (*Salmo salar L.*) spermatozoa. *Aquaculture Res.*, 43(1), 139-148. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2011.02833.x>.
- Dzyuba, B., Bondarenko, O., Fedorov, P., Gazo, I., Prokopchuk, G. & Cosson, J. (2017). Energetics of fish spermatozoa: The proven and the possible. *Aquaculture*, 472, 60-72. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.05.038>.
- Dzyuba, V. & Cosson, J. (2014). Motility of fish spermatozoa: from external signaling to flagella response. *Reprod. Biol.*, 14 (3), 165-175. <https://doi.org/10.1016/j.repbio.2013.12.005>.
- Esteso, M. C., Rodríguez, E., Toledano-Díaz, A., Castaño, C., Pradise, J., López-Sébastien, A. & Santiago-Moreno, J. (2015). Descriptive analysis of sperm head morphometry in Iberian ibex (*Capra pyrenaica*): Optimum sampling procedure and staining methods using Sperm-Class Analyzer®. *Anim. Reprod. Sci.*, 155, 42-49. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2015.01.014>.
- Fauvel, C., Suquet, M. & Cosson, J. (2010). Evaluation of fish sperm quality.

- J. Appl. Ichthyol.*, 26(5), 636-643. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2010.01529.x>.
- Fribourgh, J. H. (1966). The application of a differential staining method to low-temperature studies on goldfish spermatozoa. *The Prog. Fish-Culturist*, 28(4), 227-231. [https://doi.org/10.1577/1548-8640\(1966\)28\[227:-TAOADS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8640(1966)28[227:-TAOADS]2.0.CO;2).
- Glogowski, J., M. Kwasnik., B. Piros., K. Dabrowski., K. Goryczko., S. Dobosz., H. Kuzminski & A. Cierzeko. (2000). Characterization of rainbow trout milt collected with a catheter: semen parameters and cryopreservation success. *Aquaculture Res.*, 31, 289-296. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2109.2000.00400.x>.
- Graham, J. K. (2001). Assessment of sperm quality: a flow cytometric approach. *Anim. Reprod. Sci.*, 68, 239-247. [https://doi.org/10.1016/S0378-4320\(01\)00160-9](https://doi.org/10.1016/S0378-4320(01)00160-9).
- Herráez, M. P., Ausió, J., Devaux, A., González-Rojo, S., Fernández-Díez, C., Bony, S., Saperas, N. & Robles, V. (2017). Paternal contribution to development: Sperm genetic damage and repair in fish. *Aquaculture*, 472, 45-59. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.03.007>.
- Islam, M. S. & Akhter, T. (2011). Tale of fish sperm and factors affecting sperm motility: A Review. *Adv. Life Sci.*, 1, 11-19. <https://doi.org/10.5923/j.als.20110101.03>.
- Jamieson, B. G. M. (1991). Fish evolution and systematics: evidence from spermatozoa. With a survey of lophophorate, echinoderm and protochordate sperm and an account of gamete cryopreservation. New York, USA: Cambridge University Press.
- Jiménez-Trinidad, A. (2016). *La osmolaridad y sus efectos en la vitalidad espermática del bagre tropical Rhamdia latucauda (Pisces: Heptapteridae)*. Tesis de Licenciatura no publicada, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, México.
- Koopman, G., Reutelingsperger, C. P. M., Kuijten, G. A. M., Keehnen, R. M. J., Pals, S. T. & Vans Oers, M. H. J. (1994). Annexin V for flow cytometric detection of phosphatidylserine expression on B cells undergoing apoptosis. *Blood*, 84(5), 1415-1420.
- Lahnsteiner, F. & Patzner, R. A. (1998). Sperm motility of the marine teleosts *Boops boops*, *Diplodus sargus*, *Mullus barbatus* and *Trachurus mediterraneus*. *J. Fish Biol.*, 52, 726-742. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1998.tb00816.x>.
- Lahnsteiner, F., Berger, B., Weismann, T. & Patzner, R. A. (1998). Determination of semen quality of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*, by sperm motility, seminal plasma parameters, and spermatozoa metabolism. *Aquaculture*, 163, 163-181. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00243-9](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00243-9).
- Linhart, O., Cosson, J., Mims, S., Rodina M., Gela, D. & Shelton, W. L. (2003). Effects of ions on the motility of fresh and demembrated spermatozoa of common carp (*Cyprinus carpio*) and paddlefish (*Polyodon spathula*). *Fish Physiol. Biochem.*, 28(1-4), 203-5. <https://doi.org/10.1023/B:FI-SH.0000030528.03098.6d>.
- López-Hernández, J. C. (2013). *Efecto de la luz ultravioleta sobre la calidad espermática del juil tropical Rhamdia latucauda (Pisces: Heptapteridae)*. Tesis de Licenciatura no publicada, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, México.

- López-Hernández, J. C. (2017). *Biología, fisiología espermática básica y efecto de la radiación ultravioleta sobre la fisiología e integridad de las células espermáticas del bagre tropical Rhamdia laticauda*. Tesis de Maestría no publicada, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, México.
- Mattei, X., Siau, Y., Thiaw, O. T. & Thain, D. (1993). Peculiarities in the organization of testis *Ophidion* sp. (Pisces Teleosts). Evidence for two types of spermatogenesis in teleost fish. *J. Fish. Biol.*, 43(6), 931-937. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1993.tb01167.x>.
- Menkveld, R. & Kruger, T. E. (1996). Human Spermatozoa in Assisted Reproduction. In A. A. Acosta & T. F. Kruger (Eds.), *Basic semen analysis* (pp. 53-72). New York, EE. UU.: Parthenon Publishing Group.
- Miliorini, A. B., Murgas, L. D. S., Rosa, P. V., Oberlender, G., Pereira, G. J. M. & da Costa, D. V. (2011). A morphological classification proposal for curimba (*Prochilodus lineatus*) sperm damages after cryopreservation. *Aquaculture Res.*, 42(2), 177-187. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2109.2010.02575.x>.
- Murakami, E., Rodrigueiro, R. J. B., Santos, T. C., Ospina-Rojas, I. C. & Rademacher, M. (2014). Effects of dietary supplementation of meat-type quail breeders with guanidinoacetic acid on their reproductive parameters and progeny performance. *Poult. Sci.*, 93(9), 2237-2244. <https://doi.org/10.3382/ps.2014-03894>.
- Mylonas, C. C., Duncan, N. J. & Asturiano, J. F. (2017). Hormonal manipulations for the enhancement of sperm production in cultured fish and evaluation of sperm quality. *Aquaculture*, 472, 21-44. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2016.04.021>.
- Mylonas, C. C., Fostier, A. & Zanuy, S. (2010). Broodstock management and hormonal manipulations of reproduction. *Gen. Comp. Endoc.*, 165(3), 516-534. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.03.007>.
- Osorio-Pérez, A. (2017). *Fisiología y microestructura espermática del pejelagarto tropical Atractosteus tropicus*. Tesis de Licenciatura no publicada, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, México.
- Patzner, R. A. (2008). Reproductive strategies of fish. In M. R. Rocha., A. Arukwe & B. G. Kapoor (Eds.), *Fish reproduction* (pp. 311-351). New Hampshire, EE. UU.: Science Publishers.
- Perchec, G., Jeulin, C., Cosson, J., André, F. & Billard, R. (1995). Relationship between sperm ATP content and motility of carp spermatozoa. *J. Cell Sci.*, 108, 747-753.
- Psenicka, M., Alavi, S. M. H., Rodina, M., Cicova, Z., Gela, D., Cosson, J., Nebesarova, J. & Linhart, O. (2008). Morphology, chemical contents and physiology of chondrosteian fish sperm: a comparative study between Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) and sterlet (*Acipenser ruthenus*). *J. Appl. Ichthyol.*, 24(4), 371-377. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0426.2008.01139.x>.
- Psenicka, M., Alavi, S. M. H., Rodina, M., Gela, D., Nebesarova, J. & Linhart, O. (2007). Morphology and ultrastructure of Siberian sturgeon (*Acipenser baerii*) spermatozoa using scanning and transmission electron microscopy. *Biol. Cell.*, 99(2), 103-115. <https://doi.org/10.1042/BC20060060>.
- Quagio-Grassiotto, I. & Oliveira, C. (2008). Sperm ultrastructure and a new type of spermiogenesis in two species of

- Pimelodidae, with a comparative review of sperm ultrastructure in Siluriformes (Teleostei: Ostariophysis). *Zool. Anz.*, 247(1), 55-66. <https://doi.org/10.1016/j.jcz.2007.07.002>.
- Rakitin, A., Ferguson, M. M. & Trippel, E. A. (1999). Spermatocrit and spermatozoa density in Atlantic cod (*Godus morhua*): correlation and variation during the spawning season. *Aquaculture*, 170(3-4), 343-358. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(98\)00417-7](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(98)00417-7).
- Rodríguez-Gutiérrez, M. (1992). *Técnicas de evaluación cuantitativa de la madurez gonádica de peces*. México: A. G. T. Editor.
- Rurangwa, E., Kime, D. E., Ollevier, F. & Nash, J. P. (2004). The measurement of sperm motility and factors affecting sperm quality in cultured fish. *Aquaculture*, 234(1-4), 1-28. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2003.12.006>.
- Satterfield, J. R. & Flickinger, S. A. (1995). Factors influencing storage potencial of preserved walleye semen. *Prog. Fish Cult.*, 57(3), 175-181. [https://doi.org/10.1577/1548-8640\(1995\)057<0175:FISPOP>2.3.CO;2](https://doi.org/10.1577/1548-8640(1995)057<0175:FISPOP>2.3.CO;2).
- Saudrais, C., Fierville, F., Loir, M., Le Rumeur, E., Cibert, C. & Cosson, J. (1998). The use of phosphocreatine plus ADP as energy source for motility of membrane-deprived trout spermatozoa. *Cell Motil. Cytoskel.*, 41(2), 91-106. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0169\(1998\)41:2<91::AID-CM1>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0169(1998)41:2<91::AID-CM1>3.0.CO;2-I).
- Schreck, C. B. & Moyle, P. B. (1990). *Methods for Fish Biology*. Maryland, EE. UU.: American Fisheries Society.
- Schulz, R. W., França, L. R., Lareyre, J. J., LeGac, F., Chiarini-Garcia, H., Nobrega, R. H. & Miura, T. (2010). Spermatogenesis in fish. *Gen. Comp. Endocr.*, 165(3), 390-411. <https://doi.org/10.1016/j.ygcen.2009.02.013>.
- Schutte, B., Nuydens, R., Geerts, H. & Ramaekers, F. (1998). Annexin V binding assay as a tool to measure apoptosis in differentiated neuronal cells. *J. Neurosci. Methods*, 86(1), 63-69. [https://doi.org/10.1016/S0165-0270\(98\)00147-2](https://doi.org/10.1016/S0165-0270(98)00147-2).
- Serafini, R., Longobardi, V., Spadetta, M., Neri, D., Ariota, B., Gasparrini, B. & Di Palo, R. (2014). Trypan blue/giemsa staining to assess sperm membrane integrity in *Salernitano stallions* and its relationship to pregnancy rates. *Reprod. Dom. Anim.*, 49(1), 41-47. <https://doi.org/10.1111/rda.12221>.
- Taati, M. M., Mehrad, B., Shabani, A. & Golpour, A. (2010). Correlation between chemical composition of seminal plasma and sperm motility characteristics of Prussian carp (*Carassius gibelio*). *Int. J. Bioflux Soc.*, 3(3), 233-238.
- Tabares, C. J., Tarazona, A. M. & Olivera-Ángel, M. (2005). Fisiología de la activación del espermatozoide en peces de agua dulce. *Rev. Colomb. Cienc. Pec.*, 18(2), 149-161.
- van der Horst, G. & Maree, L. (2010). Sperm Blue®: a new universal stain for human and animal sperm which is also amenable to automated sperm morphology analysis. *Biotech. Histochem.*, 84(6), 299-308. <http://dx.doi.org/10.3109/10520290902984274>.
- Vermes, I., Haanen, C. & Reutelingsperger, C. (2000). Flow cytometry of apoptotic cell death. *J. Immunol. Methods*, 243(1-2), 167-190. [https://doi.org/10.1016/S0022-1759\(00\)00233-7](https://doi.org/10.1016/S0022-1759(00)00233-7).
- Wootton, R. J. & Carl, S. (2014). Reproductive Biology of Teleost Fishes. In R. J. Wootton & C. Smith (Eds.), *Gametogenesis* (pp. 45-80). Chichester, England: John Wiley & Sons, Ltd.

- Wootton, R. J. & Smith, C. (2014a). Reproductive Biology of Teleost Fishes. In R. J. Wootton & C. Smith (Eds.), *Mating systems and sexual selection* (pp 201-249). Chichester, England: John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781118891360.ch8>.
- Wootton, R. J. & Smith, C. (2014b). Reproductive Biology of Teleost Fishes. In R. J. Wootton & C. Smith (Eds.), *Endocrinology of reproduction* (pp. 81-126). Chichester, England: John Wiley & Sons, Ltd.
- Xin, N., Liu, T., Zhao, H., Wang, Z., Liu, J., Zhang, Q. & Qi, J. (2014). The impact of exogenous DNA on the structure of sperm of olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Anim. Reprod. Sci.*, *149*, 305-310. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2014.06.029>.
- Yasui, G. S., Arias-Rodríguez, L., Fujimoto, T. & Arai, K. (2009). A sperm cryopreservation protocol for the loach *Misgurnus anguillicaudatus* and its applicability for other related species. *Anim. Reprod. Sci.*, *116*(3), 335-345. <https://doi.org/10.1016/j.anireprosci.2009.02.021>.
- Zhang, G., Gurtu, V., Kain, S. R. & Yan, G. (1997). Early detection of apoptosis using a fluorescent conjugate of Annexin V. *BioTechniques*, *23*(3), 525-531.
- Zohar, Y. & Mylonas, C. C. (2001). Endocrine manipulations of spawning in cultured fish: from hormones to genes. *Aquaculture*, *197*(1-4), 99-136. [https://doi.org/10.1016/S0044-8486\(01\)00584-1](https://doi.org/10.1016/S0044-8486(01)00584-1).

Variación en la distribución del manatí antillano (*Trichechus manatus manatus*) en la costa sur de Puerto Rico a través de censos aéreos en helicóptero

Variation in the distribution of the Antillean manatee (*Trichechus manatus manatus*) on the southern coast of Puerto Rico through helicopter aerial surveys

Antonio A. Mignucci-Giannoni^{1*}, Chabeli Iglesias-Escabi^{1,2}, Raúl J. Rosario-Delestre¹, y Mayela Alsina-Guerrero^{1,3}

RESUMEN

El manatí antillano (*Trichechus manatus manatus*) está en peligro de extinción debido a actividades antrópicas, las cuales afectan tanto su salud como el uso de hábitats requeridos para su supervivencia. El presente estudio detalla la distribución espacial y uso de hábitat del manatí en la costa sur de Puerto Rico al hacer censos aéreos en helicóptero y relacionarlos con aspectos zoogeográficos, ambientales y oceanográficas. Se realizaron 33 censos aéreos en helicóptero, paralelos a la costa sur, desde el año 2001 al año 2015. Hubo un total de 488 avistamientos y 914 individuos, lo cual representa 13 manatíes por hora de esfuerzo y 12.4% de crías. No se encontró que factores de temporada, temperatura superficial del mar o las corrientes afecten su presencia. El uso de recursos de agua dulce y praderas de yerbas no presentó estadísticamente una relación, pero si es claro que son parte de su naturaleza y necesarios para su sobrevivencia. Sin embargo, la profundidad y el grado de protección que ofrecen las bahías si es determinante para predecir la presencia de manatíes. Un marcado incremento en el número de manatíes por hora de esfuerzo entre el año 2007 y año 2015 representa un posible aumento poblacional. Dado que la supervivencia de los manatíes en Puerto Rico está amenazada por diferentes factores naturales y antrópicos, este estudio, junto a los de telemetría y uso de hábitat, deben ayudar a designar en el futuro áreas protegidas críticas para su supervivencia.

Palabras claves: censos aéreos, helicóptero, Puerto Rico, *Trichechus manatus*, zoogeografía.

- 1 Centro de Conservación de Manatíes de Puerto Rico, Universidad Interamericana, PO Box 361715 San Juan, Puerto Rico 00936, mignucci@manatipr.org*
 - 2 Facultad de Ciencias del Mar y Recursos Naturales, Universidad de Valparaíso. Av. Borgoño N.º 16 344, Reñaca, Viña del Mar, Chile, chabeli.iglesias@yahoo.com
 - 3 Georgia Aquarium, 225 Baker St. NW, Atlanta GA 30313 USA, malsina@georgiiaquarium.org
- Antonio A. Mignucci-Giannoni y Chabeli Iglesias-Escabi: estos autores contribuyeron igualmente en este trabajo.

Recibido: 13 febrero 2018

Corregido: 24 mayo 2018

Aceptado: 28 mayo 2018

DOI: <http://dx.doi.org/10.15359/revmar.10-1.6>

Rev. Mar. Cost. ESSN 1659-407X. Vol. 10 (1): 97-121, Enero-Junio 2018.



Licencia Creative Commons
Atribución-No-Comercial
Compartir Igual 4.0 Costa Rica

ABSTRACT

The Antillean manatee (*Trichechus manatus manatus*) is endangered due to anthropogenic activities, which affect both the manatee's health and use of habitats required for their survival. The spatial distribution and use of the manatee habitat on the southern coast of Puerto Rico was obtained using helicopter aerial surveys and was related to zoogeographic, environmental and oceanographic factors. A total of 33 surveys were conducted along the southern coast from 2001 to 2015. There was a total of 488 sightings and 914 individuals, which represents 13 manatees per hour of effort, 12.4% being calves. No correlation was found between their presence and seasons, sea surface temperature, or currents. The use of freshwater and seagrass bed resources did not present a statistical relationship, but it is clear that they are part of their nature and necessary for their survival. However, the depth and degree of protection offered by the bays is decisive to predict the presence of manatees. A marked increase in the number of manatees per hour of effort between 2007 and 2015 represents a possible population growth. Given that the survival of manatees in Puerto Rico is threatened by different natural and anthropogenic factors, this study, together with studies on telemetry and habitat use, should help designate future protected areas critical for their survival.

Keywords: Aerial survey, helicopter, Puerto Rico, *Trichechus manatus*, zoogeography.

INTRODUCCIÓN

El manatí de las Indias Occidentales (*Trichechus manatus*) es una especie conformada por dos subespecies (Domning & Hayek, 1986): el manatí de la Florida (*T. manatus latirostris*) y el manatí antillano (*T. manatus manatus*). La distribución de esta especie se extiende desde la costa este de los Estados Unidos a partir de Georgia y Florida, por el Golfo de México y Mar Caribe, particularmente en las Antillas Mayores, hasta las costas de las Guayanas y Brasil en el Océano Atlántico occidental-ecuatorial (Deutsch *et al.* 2008). De estas áreas, Florida, Belice y Puerto Rico es donde se encuentran las poblaciones más estables (Self-Sullivan & Mignucci-Giannoni, 2008; Self-Sullivan & Mignucci-Giannoni, 2012).

Sin embargo, el manatí antillano es el mamífero marino en Puerto Rico con mayor peligro de extinción debido a actividades antrópicas, como la caza directa entre los siglos XVI y XX, choques con embarcaciones, invasión de hábitat y contaminación industrial (Mignucci-Giannoni *et al.* 2000; Mignucci, 2010; Bonde *et al.* 2012). Estas actividades perjudiciales afectan tanto la salud del manatí como el uso particular de hábitats específicos requeridos para su supervivencia. Además de las actividades antrópicas, se reportan como limitantes de su distribución en un área, la temperatura superficial del agua, la salinidad, la cantidad y el tipo de alimento disponible, bahías protegidas por la acción de las corrientes, el oleaje y los vientos, la profundidad de los cuerpos de

agua y la claridad del agua (Lefebvre *et al.* 2000).

El uso de la costa sur de Puerto Rico por el manatí ha sido documentado desde los municipios: de Cabo Rojo hasta el de Patillas (Mignucci-Giannoni, 1989), y es en la costa sur, particularmente en los municipios de Peñuelas, Guayama y Salinas, donde se ha reportado una mayor incidencia de mortandad para la especie (Mignucci-Giannoni *et al.* 2000).

Un plan de recuperación para la población del manatí antillano en Puerto Rico fue publicado en 1986 (Rathbun & Possardt, 1986). Desde que se listó el manatí como especie en peligro de extinción y la publicación de este plan de recuperación, el Servicio de Pesca y Vida Silvestre de los Estados Unidos y el Departamento de Recursos Naturales y Ambientales de Puerto Rico, han implementado varias actividades de recuperación, principalmente enfocadas en la educación ambiental, esfuerzos regulatorios, planes de monitoreo y uso de hábitat. Los censos aéreos llevados a cabo en varios intervalos desde la década de 1970 (Magor, 1979; Powell *et al.* 1981; Rathbun *et al.* 1985; Freeman & Quintero, 1990; US Fish and Wildlife Service, datos no publicados) han ayudado a determinar los patrones de distribución, para así poder establecer áreas de protección del manatí. El establecimiento de un área de protección efectiva también requiere conocer los patrones de uso de

recursos por parte del manatí, la relación entre estos y las amenazas actuales a esta especie y su hábitat.

Recursos potencialmente limitantes incluyen las praderas de yerbas marinas, la disponibilidad de agua dulce y protegidas (por ejemplo, bahías cerradas, poco profundas, protegidas del oleaje). La calidad de las praderas de yerbas marinas, el principal hábitat de alimentación de los manatíes de Puerto Rico (Mignucci-Giannoni & Beck, 1998; Lefebvre *et al.* 2000), puede ser impactado por la sedimentación y otras fuentes de contaminación (Duarte *et al.* 2004). La calidad del agua también puede ser afectada por contaminación industrial y de agricultura (Drew *et al.* 2012).

El presente estudio detalla la distribución espacial y el uso de hábitat del manatí, particularmente en la costa sur de Puerto Rico, durante los últimos 15 años al utilizar censos aéreos en helicóptero, se investigó aspectos zoogeográficos en esta distribución y su asociación a variables ambientales y oceanográficas.

MATERIALES Y MÉTODOS

El estudio estuvo compuesto de una serie de censos aéreos paralelos a la costa sur de Puerto Rico, desde punta Águila, Cabo Rojo (17° 57.127' N, 67° 12.880' O) hasta punta Yeguas, Maunabo (18° 0.729' N, 65° 50.035' O) (Fig. 1).

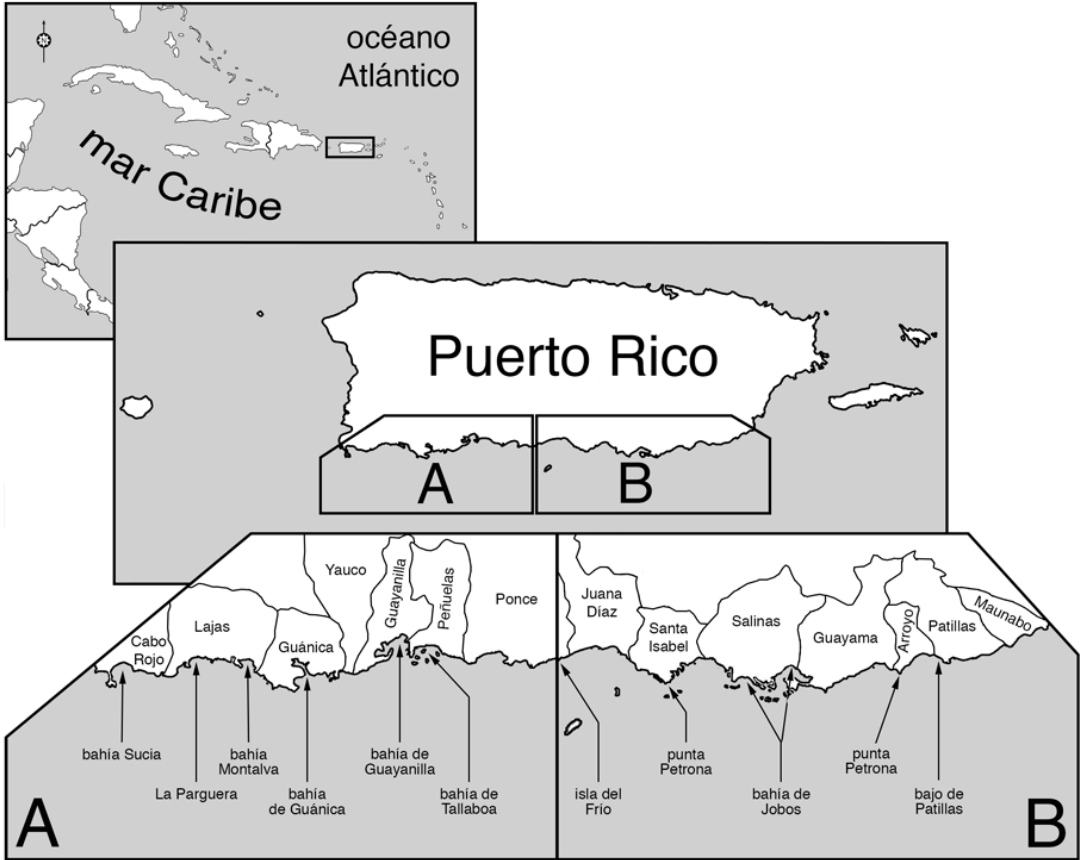


Fig. 1. Área de estudio en Puerto Rico, se detallan las dos secciones de la costa sur de la isla donde se llevaron a cabo los censos aéreos (A y B), y las localidades más relevantes

Fig. 1. Study area in Puerto Rico, detailing the two sections of the southern coast of the island where the aerial surveys were conducted (A and B), and the most relevant locations

Ya que los helicópteros han probado ser útiles para obtener datos valiosos sobre distribución y agrupaciones de manatíes (Provanča & Provanča, 1988; Rathbun, 1988),

se escogió como plataforma usar uno ligero, monomotor, Eurocopter AS350B Écureuil (AStar) (Fig. 2). Dado la selección de su uso en vez de avioneta, la metodología fue adaptada



Fig. 2. Plataforma de avistamiento para los censos aéreos, un helicóptero ligero monomotor Eurocopter AS350B Écureuil (AStar) con flotadores de seguridad de despliegue automático en los patines de aterrizaje

Fig. 2. Sighting platform for aerial surveys, a Eurocopter AS350B Écureuil (AStar) single-engine light utility helicopter with automatic deployment safety floats on the landing skids

para helicópteros de los detallados en Packard *et al.* (1985), Packard (1985), Packard *et al.* (1986), Lefebvre & Kochman (1991), Lefebvre *et al.* (1995), y Miller *et al.* (1998). Se utilizó el protocolo de seguridad para censos aéreos de Lefebvre (1995), que la tripulación llevara traje de aviación contra incendios (NOMEX® III A FSL 27/P Flight Suit de Gibson & Barnes, El Cajon, California), botas, chaleco salvavidas (HV-35 SPECOPS Special Operations Helicopter Vest de Switlik, Trenton, New Jersey) y botella de aire pequeña con regulador (HEED

3-Helicopter Emergency Egress Device 3 de Submersible Systems, Huntington Beach, California), y que el helicóptero llevara flotadores de seguridad de despliegue automático en los patines de aterrizaje (AerazurTm Emergency Flotation Gear de Zodiac Aerospace, Plaisir Cedex, Francia). Los censos aéreos se llevaron a cabo cuando las condiciones de vuelo fueron seguras y favorables, con muy pocas o nada de nubes y oleaje (Escala de Beaufort 0-3), en la mañana, durante aproximadamente 3.2 horas con una o dos paradas de 30-45 minutos para reabastecer combustible.

La costa sur de Puerto Rico (Fig. 1) se dividió en dos secciones como área de estudio para propósitos prácticos, suroeste (de Cabo Rojo a Ponce) y sureste (desde Juana Díaz a Maunabo). El plan de vuelo incluyó rutas predispuestas (Fig. 3), volando paralelo a la costa, a una distancia aproximadamente de 500 m de ella, a unos 150-185 m de altura y a una velocidad entre 165 y 200 km/h. Se tomaron datos de velocidad y altura cada 15 minutos. El esfuerzo se distribuyó uniformemente, al cubrir todas las áreas por igual y con el mismo tiempo. Para llevar a cabo censos sobre los pequeños cayos que quedan separados de la costa, se voló sobre la tierra de ellos con observadores que miraban hacia el agua a ambos lados del borde costero.



Fig. 3. Plan y transectos de vuelo para las costas suroeste (A) y sureste (B) de Puerto Rico. El círculo relleno, color blanco indica el comienzo del vuelo, el círculo vacío blanco indica el final del vuelo

Fig. 3. Flight plan and transects for the southwestern (A) and southeastern (B) coasts of Puerto Rico. The filled white circle is the beginning of the flight while the empty white circle is the end of the flight

En cada vuelo participó un piloto, tres observadores y una persona para tomar datos. Los tres tenían que llevar puestas gafas para el sol, polarizadas para eliminar el reflejo superficial del mar y el deslumbramiento, además audífonos acolchonados de cancelación de sonido (A20® Aviation Headset de Bose Corporation, Framing, Massachusetts), para la comunicación entre los

tripulantes. Uno de los observadores iba sentado en el asiento del copiloto, mientras los otros dos iban sentados a cada lado del helicóptero; el registrador iba entre los dos observadores. Los tres buscaron en el agua principalmente en o cerca de la línea de transecto y periódicamente en el horizonte. Los avistamientos fueron escritos a mano de forma dual por el registrador en una ficha

de datos y por el observador/copiloto en una carta náutica.

Cuando los animales fueron avistados durante las horas de esfuerzo, el helicóptero planeó estacionariamente o circuló al animal o grupo. Se estimó el número de manatíes adultos y el número de crías que había en cada grupo y se determinó el comportamiento.

Los comportamientos de grupo fueron clasificados en seis categorías según estudios anteriores: (1) alimentándose, (2) zambulléndose, (3) viajando, (4) descansando, (5) subiendo a la superficie y (6) apareándose. También, se tomó la hora en la cual se hizo el avistamiento, la localidad general, la latitud, la longitud y el observador/copiloto marcó el avistamiento en la carta náutica.

Análisis de datos. Se organizaron los datos de la siguiente manera: número de adultos y de crías, comportamiento, clima, localidad general, latitud y longitud en tablas de Excel (Microsoft Excel, 2011). Los datos de avistamientos fueron ingresados también al programa Google Earth (2016) con su respectiva información. Al tener toda la información y adaptar la metodología utilizada en el trabajo de Drew *et al.* (2012), se buscó para cada avistamiento: A) la profundidad en metros utilizando cartas náuticas (North American Datum 1983); B) si se encontraba o no sobre praderas de yerbas marinas, para ello se utilizó los mapas del hábitat bentónico de la NOAA del

año 2001 (Kendall *et al.* 2001); C) la distancia en metros a la fuente de agua dulce más cercana utilizando Google Earth, junto al mapa de los ríos principales de Puerto Rico (López-Marrero & Villanueva-Colón, 2006); y D) el grado de protección de la bahía utilizando datos de batimetría y vientos para el Wave Exposure Model de la NOAA (WEMO 4.0; <http://www.cc-fhr.noaa.gov/stressors/wemo/>).

Para comparar los avistamientos con las corrientes y la temperatura superficial del mar, se utilizaron unas gráficas de promedios de velocidad de estas, por cada estación del año del área del Caribe de la División de Oceanografía Física del Laboratorio de Oceanografía y Meteorología del Atlántico de la NOAA (<http://www.aoml.noaa.gov/phod/index.php>).

Se utilizaron estadísticas descriptivas y Chi-cuadrado para evaluar la presencia según la localidad en función de las variables de avistamiento sobre alimento disponible y grado de protección de la bahía. Como análisis *post hoc* se hizo un modelo paramétrico lineal general y un modelo no paramétrico, se utilizó el paquete *np* de R entre las variables ambientales: profundidad de los cuerpos de agua en los avistamientos, distancia a la fuente de agua dulce más cercana, alimento disponible y avistamientos de manatíes, por medio del *software* Rstudio (2016).

RESULTADOS

Avistamientos y esfuerzo. Entre el año 2001 y año 2015 se realizaron 33 censos aéreos en helicóptero en la costa sur de Puerto Rico; 21 en el transecto suroeste de Cabo Rojo a Ponce, y 12 en el transecto sureste de Juana Díaz a Maunabo (Cuadro 1). La altura y la velocidad promedio de vuelo fueron 165.4 m (115.7-232.5 m) y 155 kph (120-197.6 kph), respectivamente. Se volaron un total de 105.7 horas, de

las cuales 70.5 fueron de esfuerzo en avistar manatíes. Hubo un total de 488 avistamientos y 914 individuos (Cuadro 2), lo cual representa 6.9 avistamientos y 13.0 individuos de manatí por hora de esfuerzo (Cuadro 2). El número de manatíes aumentó desde el año 2001 y el año 2002 con números iniciales de alrededor de 5-7 animales, a más de 17 manatíes por hora de esfuerzo a partir del año 2007 (Cuadro 2, Fig. 4).

Cuadro 1. Censos aéreos de manatíes en la costa sur de Puerto Rico desde el 2001 al 2015

Table 1. Aerial surveys of manatees along the southern coast of Puerto Rico from 2001 to 2015

<i>Fecha</i>	<i>Horas de vuelo</i>	<i>Horas de esfuerzo</i>	<i>Promedio altura (m)</i>	<i>Promedio v (kph)</i>	<i>Avistamientos</i>	<i>Individuos</i>	<i>Parejas de madre/cría</i>	<i>Promedio de grupo</i>
Transecto suroeste								
17 ene 2001	3.8	2.7	171.4	166.7	13	25	5	1.9
04 abr 2001	3.5	2.6	212.6	137.4	11	15	2	1.4
18 jul /2001	4.2	3.2	161.5	125.9	4	9	0	2.3
21 nov 2001	2.9	2.1	148.0	172.1	15	29	8	1.9
19 abr 2002	2.8	1.9	141.9	155.4	7	14	3	2.0
19 jul 2002	2.5	1.7	185.3	155.6	3	5	1	1.7
20 sep 2002	3.4	2.5	142.2	197.6	17	28	4	1.6
06 dic 2002	3.2	2.3	163.9	149.3	10	13	0	1.3
17 feb 2003	2.8	1.8	185.9	179.6	5	9	1	1.8
28 abr 2003	2.8	2.0	115.7	170.4	9	11	1	1.2
13 feb 2004	4.5	1.6	169.8	187.8	6	15	1	2.5
20 ene 2005	3.5	1.7	152.4	161.3	12	20	4	1.7
04 jun 2005	2.6	1.6	166.8	167.1	8	10	1	1.3
09 dic 2005	2.8	2.2	152.4	159.8	8	15	2	1.9

<i>Fecha</i>	<i>Horas de vuelo</i>	<i>Horas de esfuerzo</i>	<i>Promedio altura (m)</i>	<i>Promedio v (kph)</i>	<i>Avistamientos</i>	<i>Individuos</i>	<i>Parejas de madre/cría</i>	<i>Promedio de grupo</i>
11 sep 2007	3.3	2.0	152.4	161.7	16	39	3	2.4
14 may 2008	3.3	1.8	149.3	157.4	13	35	7	2.7
26 nov 2008	2.9	1.9	158.5	157.4	22	37	5	1.7
29 ene 2010	3.1	1.9	142.2	146.7	17	22	1	1.3
22 oct 2010	3.2	1.9	160.0	143.5	20	42	6	2.1
13 feb 2012	3.0	1.8	152.4	157.4	33	69	8	2.1
11 jun 2015	3.7	2.6	232.5	120.0	27	55	3	2.0
Total	67.6	43.6			276	517	66	
Promedio	3.2±0.5	2.1±0.4	162.7±25.4	158.6±18.4	13.1±7.7	24.6±16.6	3.1±2.5	1.9±1.5
Mín./ Máx.	2.5/ 4.5	1.6/ 3.2	115.7/ 235.5	120.0/ 197.6	3/ 33	5/ 69	0/ 8	1/ 11
Transecto sureste								
28 jun 2002	3.4	2.4	165.8	124.1	6	11	2	1.8
13 sep 2002	3.2	2.3	180.8	141.9	13	28	4	2.2
13 dic 2002	3.5	2.5	193.8	142.8	9	16	0	1.8
07 feb 2003	2.8	2.0	179.8	148.2	6	18	4	3.0
24 mar 2003	3.2	2.3	184.4	170.0	23	40	6	1.7
20 sep 2003	3.5	2.2	175.8	150.0	12	18	2	1.5
23 ene 2004	3.8	3.2	176.1	152.0	30	56	5	1.9
01 abr 2004	3.7	2.4	198.1	173.7	12	30	1	2.5
21 ene 2005	2.5	1.8	152.4	140.8	28	55	9	2.0
01 jun 2005	2.1	1.4	146.8	172.9	15	26	1	1.7
01 mar 2012	4.1	2.7	155.8	126.6	36	65	6	1.8
12 jun 2015	2.4	1.9	130.2	143.5	22	34	7	1.5
Total	38.0	26.9			212	397	47	
Promedio	3.2±0.6	2.2±0.4	170.0±20.2	148.9±16.4	17.7±9.9	33.1±17.6	3.9±2.8	1.9±1.5
Mín./ Máx.	2.1/ 4.1	1.4/ 3.2	130.2/ 198.1	124.1/ 173.7	6/ 36	11/ 65	0/ 9	1/ 12
Costa sur de Puerto Rico								
Total	105.7	70.5			488	914	113	
Promedio	3.2±0.5	2.1±0.4	165.4±23.6	155.0±18.1	14.8±8.7	27.7±17.2	3.4±2.6	1.9±1.5
Mín./ Máx.	2.1/ 4.5	1.4/ 3.2	115.7/ 232.5	120.0/ 197.6	3/ 36	5/ 69	0/ 9	1/ 12

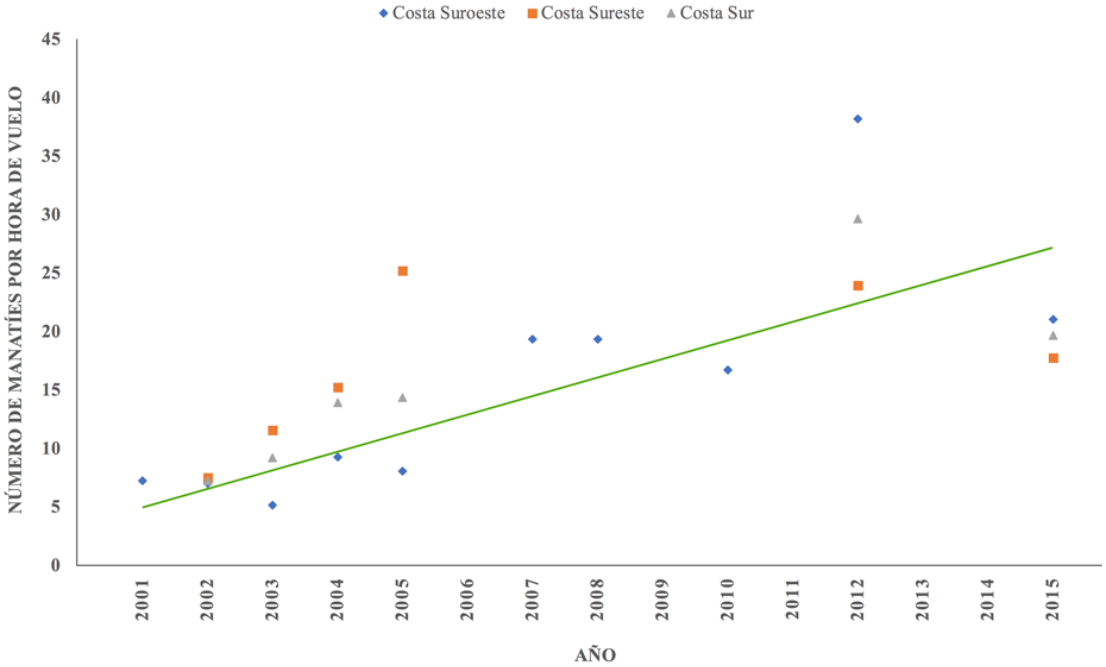


Fig. 4. Número de manatíes por hora de esfuerzo desde el 2001 al 2015, por costa de Puerto Rico, se demuestra la pendiente positiva indicativa de un posible aumento poblacional. Los diamantes azules representan la costa suroeste, los cuadrados anaranjados representa la costa sureste, y los triángulos grises representa la costa sur completa

Fig. 4. Number of manatees per hour of effort from 2001 to 2015 in each coast of Puerto Rico, demonstrating the positive slope indicative of a possible population increase. Blue diamonds represent the southwestern coast, orange squares represent the southeastern coast, and gray triangles represent the entire southern coast

Agrupaciones. Los manatíes fueron encontrados en agrupaciones pequeñas de uno o dos animales ($n = 488$, promedio 1.9, mínimo 1, máximo 12, SD 1.5, Cuadro 1, Fig. 5). Agrupaciones mayores a cuatro animales

(hasta doce), se encontraron principalmente alimentándose juntos o en comportamientos de reproducción. De todos los avistamientos, 113 (23.2%) fueron de madres con crías, para un 12.4% crías avistadas (Cuadro 2).

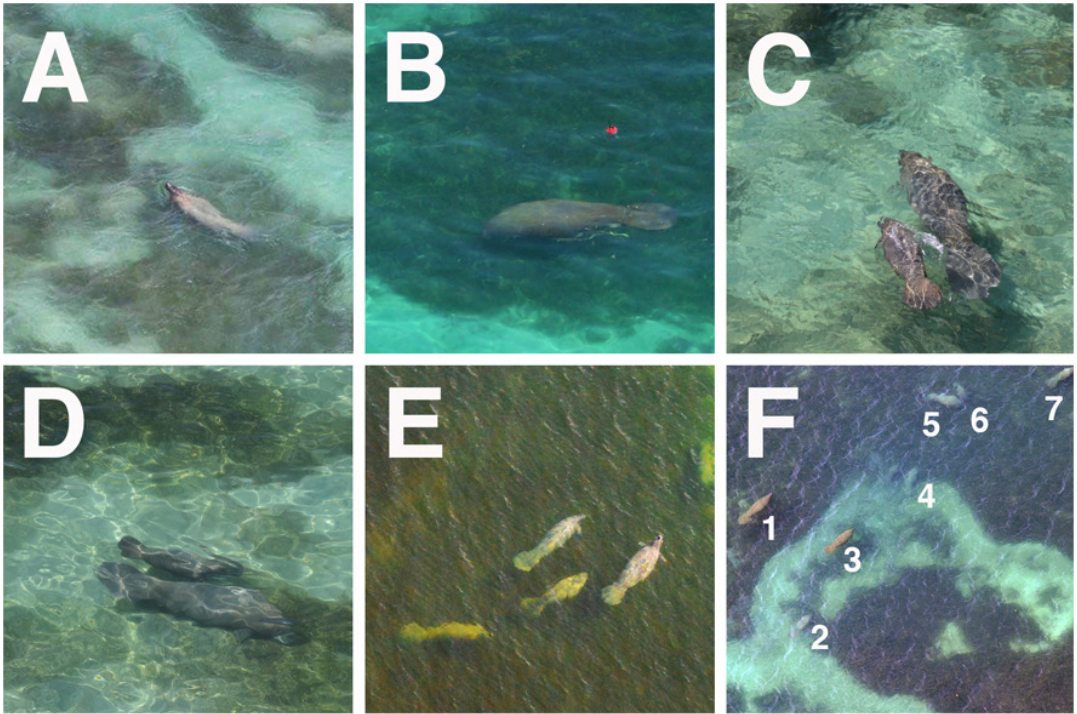


Fig. 5. Fotos aéreas de manatíes antillanos durante los censos de helicóptero en la costa sur de Puerto Rico, detalla diferentes agrupaciones: A) animal solitario, B) animal con transmisor de satélite alimentándose en una pradera de yerba marina, C) pareja de madre/cría, D) pareja de madre/cría alimentándose en parcho de yerbas marinas, E) cuatro manatíes juntos sobre pradera de yerba marina, F) siete manatíes en una agregación ligera, incluye una madre con cría (números 5 y 6) sobre parcho de arena y pradera de yerba marina

Fig. 5. Aerial photos of Antillean manatees during the helicopter aerial surveys on the southern coast of Puerto Rico, detailing different groupings: A) single animal, B) animal with satellite transmitter feeding on a seagrass bed, C) mother/calf pair, D) mother/calf pair feeding on seagrass bed, E) four manatees together on a seagrass bed, F) seven manatees on a light aggregation, including a mother with calf (numbers 5 and 6) on a sand patch and seagrass bed

Cuadro 2. Avistamientos de manatíes por costa y correlación con esfuerzo
 Table 2. Manatee sightings by coast and correlation with effort

	<i>Costa suroeste</i>	<i>Costa sureste</i>	<i>Costa sur</i>
Número de avistamientos	276	212	488
Número de manatíes	517	397	914
Número de parejas madre/cría	66	47	113
Horas de esfuerzo	43.6	26.9	70.5
Número de avistamientos por hora de esfuerzo	6.3	7.9	6.9
Número de manatíes por hora de esfuerzo	11.9	14.8	13.0
Número de parejas madre/cría por hora de esfuerzo	1.5	1.7	1.6
Número de manatíes por hora de esfuerzo 2001	7.4	-	-
Número de manatíes por hora de esfuerzo 2002	7.1	7.6	7.4
Número de manatíes por hora de esfuerzo 2003	5.3	11.7	9.3
Número de manatíes por hora de esfuerzo 2004	9.4	15.4	14.0
Número de manatíes por hora de esfuerzo 2005	8.2	25.3	14.5
Número de manatíes por hora de esfuerzo 2007	19.5	-	-
Número de manatíes por hora de esfuerzo 2008	19.5	-	-
Número de manatíes por hora de esfuerzo 2010	16.8	-	-
Número de manatíes por hora de esfuerzo 2012	38.3	24.1	29.8
Número de manatíes por hora de esfuerzo 2015	21.2	17.9	19.8
Porcentaje de parejas de madre/cría por avistamientos	23.9%	22.2%	23.2%
Porcentaje de parejas de madre/cría por individuos	12.7%	11.8%	12.4%

Comportamiento. Los manatíes fueron avistados mayormente viajando (26.3%) o en actividad de reproducción (24.7%). En menor grado, 17.7% de los manatíes fueron avistados alimentándose, 15.5% de ellos subiendo a la superficie para respirar, 10.8% estaban descansando, y 5.1% de ellos zambulléndose.

Distribución temporal. Los censos aéreos cubrieron las cuatro

estaciones templadas del año: primavera (marzo-mayo, 21.2%), verano (junio-agosto 24.2%), otoño (septiembre-noviembre, 21.2%) e invierno (diciembre-febrero, 33.4%), al igual que las dos estaciones ecuatoriales del año: temporada seca (diciembre-mayo, 50%) y de lluvia (junio-noviembre, 50%). Sin embargo, la distribución de avistamientos de individuos y grupos madre/cría no fueron uniformes. La

temporada seca vis a vis temporada lluviosa, obtuvo un porcentaje mayor en cada uno de estos tres renglones (avistamientos 56.6%, individuos avistados 57.6%, y grupos madre/cría 56.6%). De forma similar, un porcentaje mayor fue obtenido en los tres renglones para las temporadas de primavera (31.6%, 32.8% y 34.4%, respectivamente) y otoño (32.3%, 32.4% y 36.7%, respectivamente). Marcadamente, los meses de invierno resultaron en el menor porcentaje de avistamientos, individuos y grupos madre/cría.

Distribución espacial. Los manatíes fueron avistados en todos los municipios de la costa sur de Puerto Rico, menos Yauco y Maunabo (Cuadro 3, Figs. 6 y 7). Sin embargo, la distribución no fue uniforme, tanto en número de avistamientos, individuos, parejas madre/cría o áreas de reproducción. Los municipios con mayor número de estos avistamientos e individuos fueron Salinas (18.0% y 18.9%, respectivamente), y Guánica (16.6% y 18.2%, respectivamente). En comparación, los municipios con mayor número de parejas madre/cría fueron Salinas (18.6%),

Cuadro 3. Relación de avistamientos de manatíes en los municipios costeros del sur de Puerto Rico

Table 3. List of manatee sightings by coastal municipalities of southern Puerto Rico

<i>Municipio</i>	<i>Porcentaje avistamientos</i>	<i>Porcentaje individuos</i>	<i>Porcentaje madre/cría</i>	<i>Promedio de agrupación</i>
Cabo Rojo	7.0	6.1	9.7	1.6
Lajas	9.2	8.8	15.0	1.8
Guánica	16.6	18.2	15.9	2.0
Yauco	0	0	0	-
Guayanilla	9.0	8.0	5.3	1.7
Peñuelas	8.8	9.7	7.1	2.1
Ponce	6.1	5.9	5.3	1.8
Juana Díaz	1.6	1.9	0	2.1
Santa Isabel	8.0	7.7	5.3	1.8
Salinas	18.0	18.9	18.6	2.0
Guayama	8.8	9.1	8.0	1.9
Arroyo	2.9	2.2	3.5	1.4
Patillas	3.9	3.6	6.2	1.7
Maunabo	0	0	0	-
Total	100.0	100.0	100.0	1.9

Guánica (15.9%) y Lajas (15.0%), lo cual difirió de las áreas de actividad reproductiva en las que en Guánica (30.4%), Guayama (13.0%), Juana Díaz (13.0%) y Peñuelas (13.0%) fueron más frecuentes. De particular interés, se documentó el uso por parte de manatíes de los cayos lejanos a la costa en La Parguera (arrecife Margarita, El Palo, Media Luna y Turru-mote), Tallaboa (cayo María Langa, cayo Palomas, cayo Río y cayo Caribe), Ponce (cayo Cardona e isla del Frío), Santa Isabel (cayo Barbería), la cayería del estuario de la bahía de Jobos en Salinas y Guayama, y el uso repetido de la bahía Bioluminiscente en la Parguera. Sin embargo, no se observaron manatíes durante el estudio en la isla de Caja de Muerto al sur de Ponce y Juana Díaz.

Zoogeográficamente, se evaluó la relación entre avistamientos y (1) si este se encontraba, o no, sobre praderas de yerbas marinas, (2) profundidad, (3) distancia a la fuente de agua dulce más cercana, (4) temperatura superficial del mar, (5) grado de protección que proveen las bahías de los vientos, y (6) velocidad de las corrientes. Una leve mayoría (52.1%) de los animales se encontraron sobre praderas de yerbas marinas, mientras que para parejas madre/cría no se encontraron diferencias significativas ($P = 0.2103$ para dentro de praderas y $P = 0.2236$ para afuera de praderas).

La distancia promedio desde los avistamientos de manatíes a la fuente de agua dulce (río o quebrada) más cercana en la costa sur fue de 6.8 km ($n = 488$, mínimo 0 km, máximo 35.4 km, SD 8.9 km). Distancia promedio entre los avistamientos de parejas de madre/cría a la fuente de agua dulce más cercana fue de 8.5 km ($n = 121$, mínimo 0 km, máximo 35.4 km, SD 10.2 km), pero estadísticamente esto no fue significativo ($P = 0.0784$). Se documentó la entrada de manatíes a dos ríos en la costa sur de Puerto Rico, el río Loco de Guánica y el río Bucaná en Ponce.

No se encontró relación entre la distribución temporal o espacial de los manatíes en la costa sur de Puerto Rico y la temperatura superficial del mar ($P = 0.2367$), al tomar en cuenta que en promedio el grado de diferencia entre el agua más fría y más cálida es de 2°C (27°C entre enero y marzo, y 29°C entre julio y septiembre) y el límite inferior observado con efectos adversos clínicos para la especie en áreas templadas (i. e., Florida) es menor a los 22°C (Reep & Bonde, 2010). Tampoco, hubo una relación significativa entre la distribución temporal o espacial de los manatíes en la costa sur y la velocidad de las corrientes ($P = 0.2769$). La profundidad promedio para los avistamientos, tanto en general como para parejas de madre/cría, fue de 3.4 m ($n = 488$, mínimo 0.3 m, máximo 19.5 m, SD 2.9 m), y se encontró que esto es

Cuadro 4. Relación entre porcentajes de avistamientos de manatíes en la costa sur de Puerto Rico vs. aguas poco profundas, aguas protegidas del oleaje y aguas poco profundas y protegidas

Table 4. Relationship between percentages of manatee sightings on the southern coast of Puerto Rico vs. shallow waters, waters protected from the waves and shallow and protected waters

	<i>Aguas poco profundas</i>	<i>Aguas protegidas</i>	<i>Aguas poco profundas y protegidas</i>	<i>Otras áreas</i>
Avistamientos	2.4%	33.0%	54.7%	9.8%
Pareja madre/ cría	0.9%	38.1%	51.3%	9.7%
<i>P</i>	0.0466	0.2339	0.0191	0.1960

significativo para el predecir hábitat de manatíes ($P = 0.0466$) (Cuadro 4). La presencia de manatíes aumenta mientras menor es la profundidad y disminuye a mayor profundidad.

Se encontró que el grado de protección que proveen las bahías (al tomar en cuenta la profundidad, el oleaje y los vientos) es significativo para los avistamientos de manatíes. La mayoría de los avistamientos se dieron en aguas protegidas con oleaje menor a los 0.3 m, ya sea en aguas poco profundas menores a los 3 m (54.7%) o mayores a los 3 m (33.0%) (Cuadro 4). Solo 9.8% de los avistamientos ocurrieron en áreas no protegidas, con oleaje mayor al 0.3 m y profundidades mayores a los 3 m. Inclusive, manatíes fueron avistados solo en 2.4% de los avistamientos en aguas poco profundas (menores a los 3 m), pero no protegidas y oleaje mayor a los 0.3 m. Una relación similar se observó en los avistamientos de madres con cría y el

grado de protección que proveen las bahías (aguas protegidas con oleaje menor a los 0.3 m y aguas poco profundas menores a los 3 m [51.3%], o mayores a los 3 m [38.1%], áreas no protegidas con oleaje mayor al 0.3 m y profundidades mayores a los 3 m [9.8%], y aguas poco profundas menores a los 3 m, pero no protegidas y oleaje mayor a los 0.3 m [0.9%]).

DISCUSIÓN

Censos aéreos para manatíes son comúnmente llevados a cabo en la Florida (Reynolds *et al.* 2012), pero esporádicos, raros o ausentes para otros países dentro del rango de distribución de la especie. La mayoría de los censos de manatíes en estos países se llevaron a cabo con avionetas monomotor de ala alta (por ejemplo, 172 Skyhawk por Cessna Aircraft Company, Wichita, Kansas) (Reynolds *et al.* 2012), por el costo por hora de vuelo menor

de la avioneta vs. el helicóptero. Mientras que las avionetas son más costo-efectivas para repetir censos aéreos, este estudio demuestra que el uso del helicóptero provee para mayor seguridad, y un conteo más certero del total de manatíes en un área. Esto se debe a que el helicóptero puede parar en sitio (planear estacionario), mientras se contabilizan todos los avistamientos y no hay que depender de volar en círculos para la contabilización detallada. Es durante estos vuelos en círculo cuando se pueden cometer errores de conteo doble o perder de vista a los manatíes, pero también es cuando la avioneta y la tripulación está más expuesta a errores de aviación y accidentes (Lefebvre, 1995), especialmente si la avioneta es monomotor. Este estudio utilizó un helicóptero como plataforma de censo, lo que logró una mayor efectividad en detectar individuos y contabilizarlos.

Avistamientos y esfuerzo. El número promedio de manatíes avistado por censo aéreo durante este estudio (27.7, mínimo 5, máximo 69), es mayor al reportado para el área por Powell *et al.* (1981) (0-14), Rathbun *et al.* (1985) (0-10) y Freeman & Quintero (1990) (0-8). El número de individuos avistados por hora de esfuerzo (promedio 13.0 individuos/h, mínimo 7.4 individuos/h, máximo 29.8 individuos/h) durante este estudio es también más alto que lo reportado para la misma área por Powell *et al.* (1981) (3.1), Rath-

bun *et al.* (1985) (5.6) y Freeman & Quintero (1990) (2.1). Este incremento es significativo al comparar el uso de avioneta con el de helicóptero como plataforma de avistamiento, con este último proveyendo mayor capacidad de avistamiento, conteo y recuento de los manatíes. Más aún, su incremento en número por hora de esfuerzo desde el año 2007 al año 2015, representa un posible aumento poblacional, dada la tendencia clara de una pendiente positiva, forma de ver abundancia estandarizada para la especie (Fig. 4).

Agrupaciones. La agrupación por avistamiento varió entre dos y doce animales, para un promedio de 1.9 por grupo, similar al reportado por Powell *et al.* (1981) (1-6, promedio de 1.9), y es comparable a lo reportado para manatíes en México (1.8 en Morales-Vela *et al.* 2000, y 1.6 en Olivera-Gómez & Mellink, 2002), pero más bajo de lo reportado para Panamá (2.2, Mou Sue *et al.* 1990). De los manatíes avistados, 12.4% fueron crías. En promedio, 3.5 parejas de madre/cría fueron observadas por censo aéreo en este estudio, con un promedio de 1.6 por horas de esfuerzo. El porcentaje de parejas de madre/cría fue significativamente mayor que en los estudios anteriores, ambos para la isla entera (6.4% en Powell *et al.* 1981 y 7.6% en Rathbun *et al.* 1985), y específicamente, para el área de estudio (3.4% en Rathbun *et al.* 1985 y 10.3% en Freeman & Quintero, 1990). En Florida, 10% de avistamientos de parejas

de madre/cría parece ser el promedio en censos aéreos (Packard & Mulholland, 1983; Powell & Rathbun, 1984), mientras que para México fue de 7.4% (Morales-Vela *et al.* 2000), 4.0% para Honduras (Rathbun *et al.* 1983), 8.9% y 10.6% para Belice (Bengston & Magor, 1979; O'Shea & Salisbury, 1991), y 15.7% para Panamá (Mou Sue *et al.* 1990). El alto porcentaje en crías en este estudio es de trascendencia, ya que indica la importancia del área para la crianza, específicamente los municipios de Salinas (44.7%), seguido por Guánica (27.3%) y Lajas (25.8%).

Comportamiento. Los observados y su frecuencia variaron de los reportados por Rathbun *et al.* (1985). Sin embargo, esto se puede deber a diferencias en diseño de estudio e interpretación del observador. En adición, algunos comportamientos son inherentes a la naturaleza del manatí y no representan un caso particular significativo (por ejemplo, subiendo a la superficie a respirar, nadando, zambullendo). También, la interpretación de que un comportamiento es acertado (por ejemplo, descansando), es variable o no puede ser probado en su totalidad. Los que sin duda pueden verificarse son alimentación (si se nota remoción y flotación de hojas de yerbas marinas) y actividad reproductiva (cuando hay varios animales y demuestran comportamientos de copula o persecución de un individuo-presuntamente la hembra-en particular).

Por tanto, estudios futuros de censos aéreos no deberían enfocarse en una lista de comportamientos muy extensa y prestar más atención a los verificables, al tomar en cuenta la visión de Altmann (1974) de diferenciarlos entre estados y eventos.

Distribución temporal. En Puerto Rico se pueden observar manatíes todo el año a lo largo de la costa, con pequeñas variaciones por temporada, similar a lo observado por Powell *et al.* (1981), Rathbun *et al.* (1985) y Freeman & Quintero (1990). La diferencia en el porcentaje de avistamiento, individuos y parejas de madre/cría, observada durante la época seca, puede deberse a mejores condiciones durante esta, dado a la poca precipitación y el poco flujo de agua marrón de los ríos, las cuales afectan la visibilidad. Ya que se da por hecho que los manatíes de Puerto Rico no inmigran o emigran a otras islas (Hunter *et al.* 2012), la leve variabilidad temporal puede ser más bien el resultado de las condiciones de visibilidad de agua para detectar manatíes.

Distribución espacial. La distribución de manatíes para la costa sur de Puerto Rico no es uniforme, con municipalidades que significativamente tienen mayor cantidad de avistamientos, animales y parejas de madre/cría. De particular uso se destacan Salinas, Guánica y Peñuelas para avistamiento y número de animales avistados, y Salinas, Guánica y Lajas para parejas de

madre/cría. Los municipios con mayor porcentaje de avistamiento de grupos de reproducción fueron Guánica, Guayama y Peñuelas. Al tomar todos estos factores juntos, se despuntan entonces como áreas importantes para manatíes en la costa sur de Puerto Rico los mu-

nicipios de Guánica (bahía de Guánica y ensenada las Pardas, Fig. 6B) y Lajas (bahía de la Parguera y bahía Montalva, Fig. 6A), Guayanilla (punta Verraco, Fig. 6C), Peñuelas (bahía de Tallaboa, Fig. 6C), Santa Isabel (punta Petrona, Fig. 7A), Salinas y Guayama (bahía de

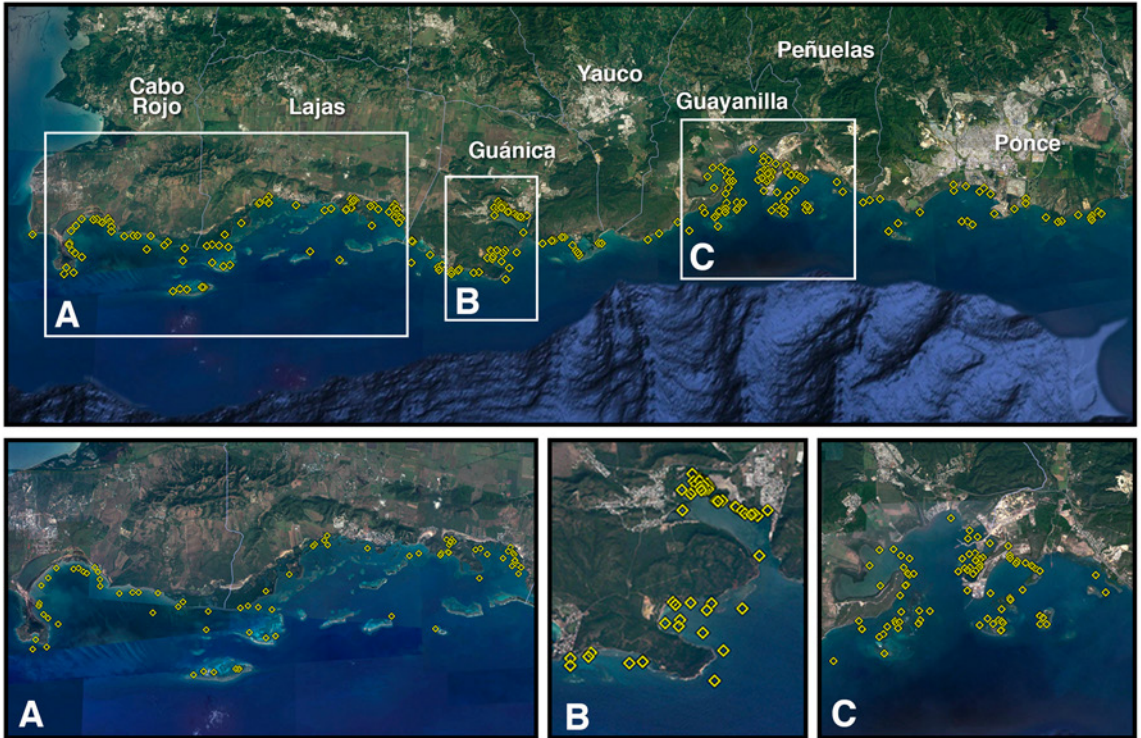


Fig. 6. Distribución de los avistamientos de manatíes para los censos aéreos llevados a cabo entre el 2001 y 2015 en la costa suroeste de Puerto Rico, se detallan las tres áreas de mayor uso de hábitat: A) bahía Sucia, La Parguera y cayos adyacentes en Cabo Rojo y Lajas, B) ensenada Las Pardas y bahía de Guánica y C) bahía de Guayanilla y bahía de Tallaboa en Guayanilla y Peñuelas

Fig. 6. Distribution of manatee sightings for aerial surveys conducted between 2001 and 2015 on the southwestern coast of Puerto Rico, detailing the three habitat areas of greatest use: A) bahía Sucia, La Parguera and adjacent cays in Cabo Rojo and Lajas, B) ensenada Las Pardas and bahía de Guánica, and C) bahía de Guayanilla and bahía de Tallaboa in Guayanilla and Peñuelas

Jobos, Fig. 7B), y a menor grado, Cabo Rojo (bahía Sucia, Fig. 6A) y Arroyo y Peñuelas (punta Figuras, puerto de Patillas y bajo de Patillas, Fig. 7C), cónsono con lo detallado por Powell *et al.* 1981; Rathbun *et al.* 1985 y Drew *et al.* 2012. Sin embargo, el uso por manatíes de cayos lejanos a la costa en el sur de Puerto Rico y de la bahía Bioluminiscente reportado en este estudio no fue anteriormente documentado por Powell *et al.* 1981; Rathbun *et al.* 1985 o Freeman & Quintero, 1990.

Zoogeográficamente, no se encontró que factores de temporada, temperatura superficial del mar o corrientes, afecten la presencia de manatíes. Tampoco, hubo diferencia significativa en relación con la cercanía de los manatíes a las yerbas marinas, inclusive si se considera a las parejas de madre/cría, aunque se entiende que es un factor limitante en la distribución de la especie (Lefebvre *et al.* 2000; Reid *et al.* 2001). No obstante, la relación no significativa en este estudio, la importancia de las praderas de yerbas marinas para la especie, es clara cuando se ve que en las grandes praderas en la costa de Cabo Rojo (bahía Sucia), Lajas (bahía Montalva) y Guayanilla (punta Verraco), siempre se observaron manatíes en todos los censos (Fig. 6A, 6C). Tanto, es así que Drew *et al.* (2012) sugirió que el área de Santa Isabel, entre punta Petrona y cayo Barberría (Fig. 7A), se considere como una región con un alto potencial para ser

designada como área de protección del manatí, por su gran extensión de pradera de yerbas marinas.

Se ha detallado también que las fuentes de agua dulce son uno de los factores limitantes para los manatíes (Ortiz *et al.* 1998). Durante este estudio, fueron avistados tanto en la cercanía a la desembocadura de ríos en la costa sur de Puerto Rico (río Loco en Guánica, río Tallaboa en Peñuelas, río Coamo en Santa Isabel, río Seco en Guayama, río Nigua en Arroyo y río Grande de Patillas), inclusive dentro de dos de ellos (río Loco en Guánica y río Bucaná en Ponce). Sin embargo, el promedio de distancia a la fuente de agua dulce más cercana fue de 6.8 km para todos los avistamientos y 8.5 km para parejas de madre/cría. Debemos considerar que Puerto Rico es una isla kársica (Giusti, 1978), y la presencia de ríos submarinos que dan al mar y ojos de agua es alta, pero poco estudiada o documentada, las cuales podrían ser utilizadas por los manatíes como fuentes de agua dulce para su metabolismo y función renal. Estas fuentes de agua dulce son indetectables al ojo humano y por tanto no documentadas en este estudio.

Puerto Rico, específicamente la costa sur de la isla, presenta velocidades de corrientes promedio bajas, durante todo el año (<10 cm/s) y esto crea un ambiente de baja energía cinética en el sitio, lo que hace que esta zona sea apropiada para los manatíes. La temperatura superficial del mar

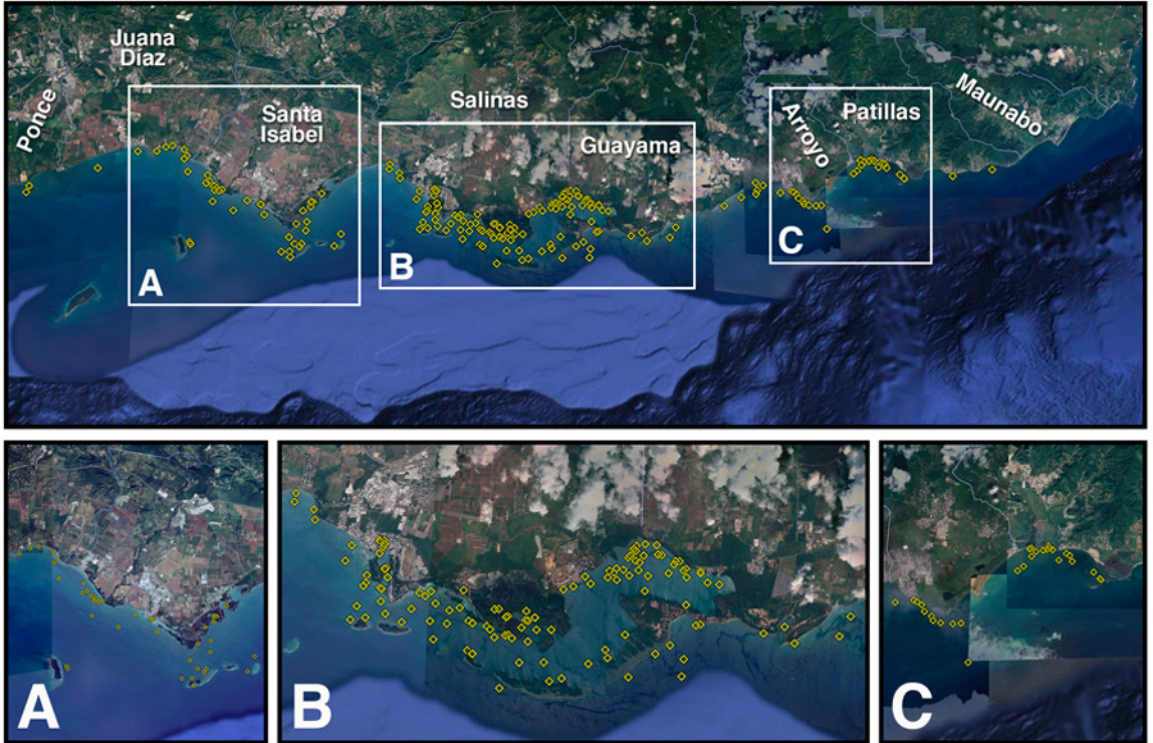


Fig. 7. Distribución de los avistamientos de manatíes para los censos aéreos llevados a cabo entre el 2001 y 2015 en la costa sureste de Puerto Rico, se detallan las tres áreas de mayor uso de hábitat: A) punta Petrona y bahías y cayos adyacentes en Santa Isabel, B) estuario de la bahía de Jobos en Salinas y Guayama, y C) punta Figuras, puerto de Patillas y bajo de Patillas

Fig. 7. Distribution of manatee sightings for aerial surveys conducted between 2001 and 2015 on the southeastern coast of Puerto Rico, detailing the three habitat areas of greatest use: A) punta Petrona and adjacent bays and cays in Santa Isabel, B) estuario de la bahía de Jobos in Salinas and Guayama, and C) punta Figuras, puerto de Patillas and bajo de Patillas

tampoco varía mucho durante el año, se mantienen entre los 27°C y 29°C. Esto demuestra una baja influencia para la distribución de los manatíes en la isla, ya que no se registraron menores

a 20°C, y esto se considera como limitante para que los manatíes busquen refugio durante el invierno en lugares donde el agua está por encima de los 22°C (Irvine & Campbell, 1978).

La profundidad (Z) del agua de los avistamientos mostró una mayor correlación con la distribución de los manatíes, tanto para los individuos como para las parejas de madre/cría. Esto demuestra que ellos prefieren aguas poco profundas (aproximadamente 3 m), aunque en ocasiones se aventuran a aguas con mayor Z, particularmente para moverse de un área a otra. Esto es de suma importancia para el manejo de la especie ante la amenaza por choques con embarcaciones a velocidad. Los deportes acuáticos, en particular carreras de bote y *jet-ski*, deben mantenerse lejos de estas aguas (< 3.4 m de Z), preferidas y utilizadas por esta especie. A pesar de que los manatíes en Puerto Rico pasan mucho tiempo atravesando aguas costeras abiertas, prefieren aguas protegidas, como bahías poco profundas (<3 m de Z) con baja energía de oleaje (< 0.3 m de altura de la ola), para alimentarse, descansar y proteger a sus crías, similar a lo detallado por Drew *et al.* (2012).

CONCLUSIÓN

Dado que la supervivencia de los manatíes en Puerto Rico está amenazada por diferentes factores naturales, genéticos, por embotellamiento, falta de inmigración (Hunter *et al.* 2012), antrópicos, por caza directa y últimamente, por choques por embarcaciones a velocidad (Mignucci-Giannoni

et al. 2000; Bonde *et al.* 2012), los datos, los mapas y los análisis producto de estos censos aéreos, junto a datos de telemetría y uso de hábitat (Reid & Bonde, 1993; Reid *et al.* 1994a; Reid *et al.* 1994b; Deutsch *et al.* 1998, Sloane *et al.* 2006, Reid *et al.* 2007), deben ayudar a delinear estrategias para designar áreas protegidas críticas, para el futuro de esta especie en peligro de extinción. El manatí antillano en Puerto Rico solo sobrevivirá cuando se consideren estudios multifacéticos (de genética, biología, etología, fisiología, patología, demografía y ecología) con acciones multisectoriales de conservación que incluyan ciencia, manejo y alcance comunitario.

AGRADECIMIENTOS

Este proyecto fue financiado por EcoEléctrica Puerto Rico y AES, especialmente gracias al apoyo de I. E. Laborde y Y. Alancastro, y se llevó a cabo bajo permisos del US Fish and Wildlife Service (MA791721-2, MA791721-3, MA791721-4, MA791721-5, USGS Biological Resources Division Sirenia Project) y del Departamento de Recursos Naturales y Ambientales de Puerto Rico (DRNA-01-EPE-002, DRNA-2014-EPE-27). Agradecemos la ayuda de observadores durante los vuelos, se incluye a A. R. Estrada-Acosta, C. I. Rivera-Pérez, G. M. Toyos-González, I. Cruz-Cruz, M. M. Colón-Llavina, M.

A. Rodríguez-López, M. Pérez-Lewis, N. Landrau-Giovanetti, T. Alejandro-Zayas y V. M. Rosado-Odom, y en especial la pericia de nuestros pilotos, J. L. Rodríguez-Pérez, J. A. Rodríguez-Rodríguez, P. Andino, A. Rodríguez y J. Cruz-Castro de Coptco Helicopters y Glide Aviation (Caribbean Heli-Jets). Agradecemos también a R. Villamil de Glide Aviation por todas las concesiones hechas para lograr el estudio a través de todos estos años; a D. Fernández por la asistencia con la estadística, y a J. P. Zegarra por la ayuda con los datos oceanográficos. Agradecemos los comentarios y las sugerencias de J. A. Powell, Bert Rivera-Marchand y evaluadores, en el manuscrito del estudio.

BIBLIOGRAFÍA

- Altmann, J. (1974). Observational study of behavior: Sampling methods. *Behaviour*, 49(3-4), 227-267. <https://doi.org/10.1163/156853974X00534>.
- Bengtson, J. L. & Magor, D. (1979). A survey of manatees in Belize. *J. Mammal*, 60(1), 230-232. <https://doi.org/10.2307/1379785>.
- Bonde, R. K., Mignucci-Giannoni, A. A. & Bossart, G. D. (2012). Sirenian pathology and mortality assessment. En E. Hines, J. Reynolds, L. Aragonés, A. A. Mignucci Giannoni & M. Marmontel (Eds.), *Sirenian Conservation: Issues and strategies in developing countries* (pp. 148-156). Florida, EE.UU.: University Press of Florida.
- Deutsch, C. J., Bonde, R. K. & Reid, J. P. (1998). Radio-tracking manatees from land and space: Tag design, implementation, and lessons learned from long-term study. *Mar. Technol. Soc. J.*, 32(1), 18-29.
- Deutsch, C. J., Self-Sullivan, C. & Mignucci-Giannoni, A. (2008). *Trichechus manatus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e. T22103A9356917. Recuperado en 1 de febrero de 2018, disponible en <http://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T22103A9356917.en>.
- Domning, D. P. & Hayek, L. C. (1986). Interspecific and intraspecific morphological variation in manatees (*Sirenia: Trichechus*). *Mar. Mamm. Sci.*, 2, 87-144. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.1986.tb00034.x>.
- Drew, C. A., Alexander-Vaughn, L. B. & Collazo, J. A. (2012). Science summary in support of manatee protection area (MPA) design in Puerto Rico. North Carolina Agricultural Research Service, North Carolina State University, *Tech. Bull.*, 330, 1-63. <https://dx.doi.org/10.3996/CSS.101.2013>.
- Duarte, C. M., Marba, N. & Santos, R. (2004). What may cause loss of seagrasses? En J. Borum, C. M. Duarte, D. Krause-Jensen & T. M. Greve (Eds.), *European seagrasses: An introduction to monitoring and management*. (pp. 24-32). Hillerød, Denmark: M&MS Project.
- Freeman, J. & Quintero, H. (1990). The distribution of West Indian manatees (*Trichechus manatus*) in Puerto Rico: 1988-1989. *Nat. Tech. Info. Serv.*, PB91-137240, 1-43.
- Giusti, E. V. (1978). Hydrogeology of the karst of Puerto Rico. U. S. Geological Survey *Professional Paper 1012*, 1-68.

- Google Earth. (2016). Google Earth®, Versión 7. Boston, EE.UU.: Free Software Foundation, Inc.
- Hunter, M. E., Mignucci-Giannoni, A. A., Pause Tucker, K., King, T. L., Bonde, R. K., Gray, B. A. & McGuire, P. M. (2012). Puerto Rico and Florida manatees represent genetically distinct groups. *Conserv. Genet.*, 13, 1623-1635. <https://doi.org/10.1007/s10592-012-0414-2>.
- Irvine, A. B. & Campbell, H. W. (1978). Aerial census of the West Indian manatee, *Trichechus manatus*, in the Southeastern United States. *J. Mammal.*, 59, 613-617. <https://doi.org/10.2307/1380237>.
- Kendall, M. S., Monaco, M. E., Buja, K. R., Christensen, J. D., Kruer, C. R., Finkbeiner, M. & Warner, R. A. (2001). *Methods used to map the benthic habitats of Puerto Rico and the U.S. Virgin Islands*. Maryland, EE.UU.: National Oceanic and Atmospheric Administration, National Ocean Service.
- Lefebvre, L. W. (1995). Manatee aerial survey safety rules. *SireNews*, 24, 2-3.
- Lefebvre, L. W. & Kochman, H. I. (1991). An evaluation of aerial survey replicate count methodology to determine trends in manatee abundance. *Wildl. Soc. Bull.*, 19, 298-309.
- Lefebvre, L. W., Ackerman, B. B., Portier, K. M. & Pollok, K. (1995). Aerial Survey as a technique for estimating trends in manatee population size—problems and prospects. En T. J. O’Shea, B. B. Ackerman & H. R. Percival (Eds.), *Population biology of the Florida manatee* (pp. 63-74). Washington DC, EE.UU.: National Biological Service.
- Lefebvre, L. W., Reid, J. P., Kenworthy, J. & Powell, J. A. (2000). Characterizing manatee habitat use and seagrass grazing in Florida and Puerto Rico: Implications for conservation and management. *Pac. Conserv. Biol.*, 5, 289-298. <https://doi.org/10.1071/PC000289>.
- López-Marrero, T. & Villanueva-Colón, N. (2006). *Atlas ambiental de Puerto Rico*. San Juan, Puerto Rico: La Editorial, Universidad de Puerto Rico.
- Magor, D. (1979). *Surey of the Caribbean manatee, Trichechus manatus L. on Vieques Island, Puerto Rico*. Ceiba, Puerto Rico: Roosevelt Roads Naval Station, Department of the Navy.
- Microsoft Excel. (2011). Microsoft Excel®, Versión 14.7.3. Boston, EE.UU.: Free Software Foundation, Inc.
- Mignucci-Giannoni, A. A. (1989). *Zoogeography of marine mammals in Puerto Rico and the Virgin Islands*. Tesis de maestría no publicada, University of Rhode Island, Kingston.
- Mignucci-Giannoni, A. A. & Beck, C. A. (1998). The diet of the manatee (*Trichechus manatus*) in Puerto Rico. *Mar. Mamm. Sci.*, 14(2), 394-397. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.1998.tb00733.x>
- Mignucci-Giannoni, A. A., Montoya-Ospina, R. A., Jiménez-Marrero, N. M., Rodríguez-López, M. A., Williams, E. H. & Bonde, R. K. (2000). Manatee mortality in Puerto Rico. *Environ. Manage.*, 25(2), 189-198. <https://doi.org/10.1007/s002679910015>.
- Mignucci, A. (2010). *El manatí de Puerto Rico*. San Juan, Puerto Rico: Red Caribeña de Varamientos & Universidad Interamericana de Puerto Rico.
- Miller, K. E., Ackerman, B. B., Lefebvre, L. W. & Clifton, K. B. (1998). An evaluation of strip-transect aerial survey methods for monitoring manatee populations in Florida. *Wildl. Soc. Bull.*, 26, 561-570.
- Morales-Vela, B., Olivera-Gómez, L. D., Reynolds, J. E. & Rathbun, G. B. (2000). Distribution and habitat use by manatees

- (*Trichechus manatus manatus*) in Belize and Chetumal Bay, Mexico. *Biol. Conserv.*, 95(1), 67-75. [https://doi.org/10.1016/S0006-3207\(00\)00009-4](https://doi.org/10.1016/S0006-3207(00)00009-4).
- Mou Sue, L. L., Chen, D. H., Bonde, R. K. & O'Shea T. J. (1990). Distribution and status of manatees (*Trichechus manatus*) in Panama. *Mar. Mamm. Sci.*, 6, 234-241. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.1990.tb00247.x>.
- O'Shea, T. J. & Salisbury, C. A. (1991). Belize-A last stronghold for manatees in the Caribbean. *Oryx*, 25, 156-164.
- Olivera-Gómez, L. D. & Mellink, E. (2002). Spatial and temporal variation in counts of the Antillean manatee (*Trichechus manatus manatus*) during distribution surveys at bahía de Chetumal, Mexico. *Aquat. Mamm.*, 28, 285-293.
- Ortiz, R. M., Worthy, G. A. J. & MacKenzie, D. S. (1998). Osmoregulation in wild and captive West Indian manatees (*Trichechus manatus*). *Physiol. Biochem. Zool.*, 71(4), 449-457. <https://doi.org/10.1086/515427>.
- Packard, J. M. (1985). *Development of manatee aerial survey techniques*. Florida, EE.UU.: Cooperative Fish and Wildlife Research Unit, University of Florida.
- Packard, J. M. & Mulholland, R. (1983). *Analysis of manatee aerial surveys: a compilation and preliminary analysis of winter aerial surveys conducted in Florida between 1977 and 1982*. Florida, EE.UU.: Cooperative Fish and Wildlife Research Unit, University of Florida.
- Packard, J. M., Siniff, D. B. & Cornell, J. A. (1986). Use of replicate counts to improve indices of trends in manatee abundance. *Wildl. Soc. Bull.*, 14, 265-275.
- Packard, J. M., Summers, R. C. & Barnes, L. B. (1985). Variation of visibility bias during aerial surveys of manatees. *J. Wildl. Manage.*, 49, 347-351. <https://doi.org/10.2307/3801528>.
- Powell, J. A. & Rathbun, G. B. (1984). Distribution and abundance of manatees along the northern coast of the Gulf of Mexico. *Northeast Gulf Sci.*, 7, 1-28.
- Powell, J. A., Belitsky, D. W. & Rathbun, G. B. (1981). Status of the West Indian manatee (*Trichechus manatus*) in Puerto Rico. *J. Mammal.*, 62(3), 642-646. <https://doi.org/10.2307/1380417>.
- Provancha, J. A. & Provancha, M. J. (1988). Long-term trends in abundance and distribution of manatees (*Trichechus manatus*) in the northern Banana River, Brevard County, Florida. *Mar. Mamm. Sci.*, 4, 323-338. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.1988.tb00541.x>
- Rathbun, G. B. (1988). Fixed-wing airplane versus helicopter surveys of manatees (*Trichechus manatus*). *Mar. Mamm. Sci.*, 4, 71-75. <https://doi.org/10.1111/j.1748-7692.1988.tb00185.x>.
- Rathbun, G. B. & Possardt, E. L. (1986). *Recovery plan for the Puerto Rico population of the West Indian (Antillean) manatee (Trichechus manatus Linnaeus, 1758)*. Georgia, EE.UU.: US Fish Wildlife Service.
- Rathbun, G. B., Carr, T., Carr, N. & Woods, C. A. (1985). The distribution of manatees and sea turtles in Puerto Rico, with emphasis on Roosevelt Roads Naval Station. *Nat. Tech. Info. Serv.*, PB86-151834/GAR, 1-83.
- Rathbun, G. B., Powell, J. A. & Cruz, G. (1983). Status of the West Indian manatee in Honduras. *Biol. Conserv.*, 26(4), 301-308. [https://doi.org/10.1016/0006-3207\(83\)90094-0](https://doi.org/10.1016/0006-3207(83)90094-0).
- Reep, R. L., Bonde, R. K. (2010). *The Florida manatee: Biology and conservation*. Florida, EE.UU.: University of Florida Press.

- Reid, J. P. & Bonde, R. K. (1993, noviembre). Can Puerto Rican manatees be tracked from space? The first satellite-based telemetry of *Trichechus manatus* outside the continental United States. En *Abstract 10th Biennial Conference on the Biology of Marine Mammals*, Galveston, Texas.
- Reid, J. P., Bonde, R. K., Easton, D. E. & Kochman, H. I. (1994a). *1993 annual report on the radio telemetry of manatees in Puerto Rico*. Washington DC, EE.UU.: National Biological Service.
- Reid, J. P., Bonde, R. K., Easton, D. E. & Kochman, H. I. (1994b, marzo). Considerations for conducting manatee telemetry studies outside of Florida: A Puerto Rico case study. En *Abstracts First International Manatee and Dugong Research Conference*, Gainesville, Florida.
- Reid, J. P., Easton, D. & Kenworthy, W. J. (2001). *Manatee and seagrass habitat characterization in Puerto Rico*. Florida, EE.UU.: Roosevelt Roads Naval Station, Department of the Navy.
- Reid, J., Jiménez, N., Butler, S., Montalvo, J., Slone, D., Saliva, J. & Stith, B. (2007, noviembre). Use of Argos-linked GPS tags to document specific habitat use patterns of manatees in eastern Puerto Rico. En *Abstracts 16th Biennial Conference on the Biology of Marine Mammals*, Cape Town, South Africa.
- Reynolds, J. E., Morales-Vela, B., Lawler, I. & Edwards, H. (2012). Utility and design of aerial surveys for sirenians. En E. Hines, J. Reynolds, L. Aragonés, A. A. Mignucci Giannoni & M. Marmontel (Eds.), *Sirenian Conservation: Issues and strategies in developing countries* (pp. 186-195). Florida, EE.UU.: University Press of Florida.
- Rstudio. (2016). Rstudio®. Versión 0.99.903. Boston, EE.UU.: RStudio Inc.
- Self-Sullivan, C. & Mignucci-Giannoni, A. A. (2008). *Trichechus manatus* ssp. *manatus*. The IUCN Red List of Threatened Species 2008: e.T22105A9359161. Recuperado en 1 de febrero de 2018, disponible en <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2008.RLTS.T22105A9359161.en>.
- Self-Sullivan, C. & Mignucci-Giannoni, A. A. (2012). West Indian manatees (*Trichechus manatus*) in the Wider Caribbean Region. En E. Hines, J. Reynolds, L. Aragonés, A. A. Mignucci Giannoni & M. Marmontel (Eds.), *Sirenian Conservation: Issues and strategies in developing countries* (pp. 36-46). Florida, EE.UU.: University Press of Florida.
- Slone, D. H., Reid, J. P., Bonde, R. K., Butler, S. M. & Stith, B. M. (2006). *Summary of West Indian manatee (Trichechus manatus) tracking by USGS-FISC Sirenian Project in Puerto Rico: With additional information on aerial surveys, carcass recovery and genetics research*. Florida, EE.UU.: US Fish and Wildlife Service.

INSTRUCCIONES PARA LOS AUTORES

La *Revista Ciencias Marinas y Costeras* es una revista anual del Programa de Maestría en Ciencias Marinas y Costeras (Escuela de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional), de divulgación científica y que publica:

- Artículos científicos (originales e inéditos)
- Notas científicas (comunicaciones cortas) y
- Reseñas bibliográficas

El Comité Editorial solicita a los autores cumplir las siguientes instrucciones:

a) **Formato general**

- Idioma: Español o inglés, resumen en ambos idiomas,
- Letras: Títulos de sección: Times New Roman 14
Textos: Times New Roman 12
Títulos de figuras y cuadros, autores y palabras claves: Times New Roman 11
Resumen y abstract: Times New Roman 10
- Texto: A doble espacio; cada párrafo con sangría inicial de 5 caracteres. No incluye el resumen y abstract.
- Extensión máxima: *Artículos científicos*: Un máximo de 25 páginas incluyendo figuras y cuadros. Solo en casos justificados ante el Comité Editorial se aceptarán artículos con extensiones mayores.
Nota científica: Máximo de 6 páginas.
Reseña: Máximo de 3 páginas.
- Márgenes: Superior: 3 cm
Inferior: 2.5 cm
Izquierdo: 3 cm
Derecho: 2.5 cm



Las abreviaturas utilizadas deben ajustarse al Sistema Internacional de Unidades (m, km, g, mg, %, PSU, °C). Todas las cifras decimales deberán separarse con punto y no con coma.

No se incluirán notas al pie de página o anexos, únicamente se incluirá el material complementario cuando sea indispensable.

b) Estructura general del Artículo Científico

- *Título del artículo:* Centrado, en negrita, en español e inglés, mayúscula y letra tamaño 14. Se debe dejar un espacio sencillo entre el título y los autores.
- *Autor (es):* Letra Times New Roman 11. Nombre y apellidos en cursiva, justificado e indicando la filiación institucional (utilizar superíndices con números), lugar de trabajo o dirección física, y correo electrónico. Se debe indicar la filiación de todos los autores, anotando quién es el autor encargado de la correspondencia, y marcándolo con un asterisco. Se debe dejar un espacio sencillo entre el (los) autor (es) y el Resumen.
- Los títulos de las secciones deben colocarse en el margen izquierdo (**INTRODUCCIÓN, MATERIALES Y MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSIÓN, AGRADECIMIENTOS Y BIBLIOGRAFÍA**). Los títulos de las secciones deben escribirse utilizando mayúsculas y negrita, y dejando un espacio para comenzar el texto. No debe haber espacio entre párrafos de una misma sección.
- *Resumen:* Cada artículo deberá estar precedido por un resumen en español y en inglés. Cada resumen no debe exceder las 250 palabras.
- *Palabras claves:* A cada uno de los resúmenes le seguirán las palabras claves (máximo cinco) representativas del contenido del artículo.
- *Introducción:* Debe explicar la finalidad del artículo, y plantear y justificar el problema de investigación. Además, debe incluir información específica sobre antecedentes del tema en estudio, así como el estado del tema a abordar.
- *Materiales y Métodos:* Se presenta la metodología empleada y toda la información necesaria para que el trabajo sea repetible. Se puede también sustentar la selección de los métodos empleados.
- *Resultados:* Se presentan en forma de texto. Se pueden incluir los datos utilizando cuadros y figuras (cuando se requiera). Los cuadros y las figuras deberán ser numerados consecutivamente, y contar con títulos apropiados al contenido (en español e inglés); no se deberán usar negritas, y se acentuarán

tanto las minúsculas como las mayúsculas. Se deberá citar el origen de los datos que contienen, y deberán estar mencionados en el texto. No deben incluirse datos o ilustraciones que no tengan relación con el texto.

Título de Cuadros: Deben ser escritos a doble espacio; se deben evitar las líneas verticales, y utilizar líneas horizontales únicamente cuando separen campos de información (encabezados, subencabezados, campos inferiores o intermedios independientes tales como subtotales). El título debe colocarse en la parte superior del cuadro, en minúscula y sin negrita.

Título de Figuras: Deben ser escritos a doble espacio. El título debe colocarse en la parte inferior de la figura, en minúscula y sin negrita.

Los cuadros y figuras deberán enviarse con una reducción apropiada (hasta 60%), y sus elementos deberán tener el tamaño necesario para permitir su fácil lectura; el tamaño de las letras y el grosor de las líneas deben serlos apropiados para que sean visibles y claras cuando se efectúe una reducción. La tipografía ya reducida no deberá ser menor de 8 puntos. Es posible incluir en el manuscrito dibujos y/o fotografías; en el caso de las fotografías, la revista asumirá el costo de publicar las en blanco y negro; en caso contrario, el autor deberá asumir los costos.

Formato de las imágenes: El autor debe preparar sus figuras y cuadros muy cuidadosamente, ya que suelen ser la causa de atrasos en la revisión de los manuscritos y en el proceso de diagramación. Independientemente de la aplicación utilizada, cuando se incluyan imágenes o cuadros de forma electrónica, se deben guardar o convertir las imágenes a uno de los siguientes formatos:

EPS: Dibujos vectoriales. Se debe incrustar la fuente o guardar el texto como gráficos.

TIFF: Fotografías en color o en escala de grises (semi-tonos); siempre usar un mínimo de 300 dpi.

TIFF: Dibujos de mapas de bits; se debe usar un mínimo de 1000 dpi.

TIFF: Combinaciones de línea de mapa de bits / medio tono (color o escala de grises); es necesario el uso de un mínimo de 500 dpi.

DOC, XLS o PPT: Si las imágenes o los cuadros fueron creados en cualesquiera de estas aplicaciones de Microsoft Office®, debe de indicarlo.

Los cuadros y figuras deben entregarse por separado.

- *Discusión:* El autor deberá discutir los resultados más relevantes haciendo uso de las referencias pertinentes y actualizadas. Es permitida una sola sección de Resultados y Discusión
- *Conclusiones:* Toda conclusión debe estar sustentada con los datos presentados y discutidos, y en estricta consonancia con el propósito del artículo. Cuando se trata de una síntesis de los descubrimientos, en esta sección se pueden incluir propuestas, a criterio del autor.
- *Agradecimientos:* Deben reflejar una apreciación auténtica hacia quienes han colaborado en la investigación.
- *Bibliografía:* Las referencias bibliográficas deben ajustarse a lo establecido en las normas de la “American Psychological Association (APA), disponibles en el vínculo de la página de la revista (www.una.ac.cr/revmar).

Publicaciones periódicas. Las publicaciones periódicas son aquellas que aparecen con cierta regularidad: diarios, revistas, boletines ilustrados y otros semejantes. El formato requerido es el siguiente:

Autor, A. A., Autor, E. E. & Autor, C. C. (Año de publicación). Título del artículo. *Título de la revista científica en cursiva y correctamente abreviado según las normas de la ISI*, Volumen (número entre paréntesis), página inicial y final separadas por un guion.

Tomasko, D. A. & Lapointe, B. E. (1991). Productivity and biomass of *Thalassia testudinum* as related to water column nutrient availability and epiphyte levels: field observations and experimental studies. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 75(3), 9-17.

Publicaciones no periódicas. Las publicaciones no periódicas son las que se publican por separado: libros, informes, folletos, ciertas monografías, manuales y medios audiovisuales. Los formatos requeridos son los siguientes:

Autor, A. A. (Año de publicación). *Título del trabajo*. Localidad: Editorial.

Libro:

Robinson, D. N. (1992). *Social discourse and moral judgment*. San Diego, CA, EE.UU.: Academic Press.

Capítulo de libro:

O'Neil, J. M. & Egan, J. (1992). Men's and women's gender role journeys; Metaphor for healing, transition, and transformation. En E. R. Wainrib (Ed.), *Gender issues across the life cycle* (pp. 107-123). New York, EE.UU.: Springer.

Memoria de congreso:

González, R., Calvo, A., Benavides, G. & Casullo, M. (1998, noviembre). *Evaluación de la conducta social de Aratus pisonii*. Ponencia presentada en el Congreso Latinoamericano de Carcinología, Salamanca, España.

Página Web:

Dewey, R. A. (2002). La torsión en los gastrópodos: una revisión. Recuperado en enero 25, 2003, disponible en <http://www.gpa.orljournalsljacobson.html>

Artículo de revista electrónica:

Jacobson, J. W., Mulick, J. A. & Schwartz, A. A. (1995). A history of facilitated communication: Science, pseudoscience, and antiscience: Science working group on facilitated communication. *American Psychologist*, 50, 750-765. Recuperado en enero 25, 1996, disponible en <http://www.gpa.orljournalsljacobson.html>

Procedente de una base de datos en CD-ROM:

Schneiderman, R. A. (1997). Librarians can make sense of the Net. *San Antonio Business Journal*, 11(3). Recuperado en enero 27, 1999. De la base de datos EBSCO (Masterfile), disponible en <http://www.ebsco.com>

Tesis:

Wilfley, D. E. (1989). *Interpersonal analysis of bulimia: Normal-weight and obese*. Tesis de doctorado no publicada, University of Missouri, Columbia.

Comunicaciones no publicadas: No deben ser incluidas en las referencias, solo se nombran en el texto del trabajo. Es necesario incluir al lado de la cita la persona que suministra la información, el medio y la fecha. Ej.: “La coloración de *A. similis* varía con los periodos de lluvia” (C. Fonseca, comunicación personal, Junio 29, 2000).

c) Estructura general de la Nota Científica:

Se utilizan los mismos criterios que para el Artículo Científico en lo que respecta al Título del artículo, Autor (es), Resumen, Abstract y Palabras claves. Sin embargo, para las notas científicas cada resumen no deberá exceder las 70 palabras.

- Los títulos de las secciones deben colocarse en el margen izquierdo (**INTRODUCCIÓN, MATERIALES Y MÉTODOS, RESULTADOS, DISCUSIÓN, AGRADECIMIENTOS Y BIBLIOGRAFÍA**). Los títulos de las secciones deben escribirse utilizando mayúsculas y negrita, y dejando un espacio para comenzar el texto. No debe haber espacio entre párrafos de una misma sección.
- *Introducción*: Enmarcar sucintamente el problema a resolver y el objetivo con un sustento teórico. El texto deberá escribirse de manera continua y sin espacio entre párrafos.
- *Cuadros y Figuras*: Deberán seguir el mismo formato que en los artículos científicos.
- *Agradecimientos*: Se pondrán como último párrafo, sin encabezado. Los nombres “oficiales” no se deben traducir.
- *Bibliografía*: Deberá seguir el mismo formato que en los artículos científicos.

d) Estructura general de una Reseña Bibliográfica:

Plantea una revisión bibliográfica de un determinado ámbito de estudio relacionado con la temática que la revista. Puede repasar los expositores más relevantes, sus ideas principales y sus aportes. Puede hacer análisis y comentarios basados en afirmaciones objetivas y sustentadas.

- *Partes del artículo de revisión bibliográfica*
 - Título (en español e inglés).
 - Filiación.
 - Palabras claves (en español e inglés).
 - Resumen (en español e inglés). En este apartado debe incluir:
 - Plantea el objetivo del estudio.
 - Expone la temática que aborda y su trascendencia.
 - Especifica los periodos o etapas de la información bibliográfica objeto del análisis.

- Presenta los principales criterios para analizar la información bibliográfica tratada.
- Presenta los principales hallazgos, conclusiones.
- Presenta las principales aplicaciones, implicaciones o recomendaciones.
- Incorpora la información necesaria que oriente al lector/a a identificar del contenido básico del escrito de forma rápida y a determinar su relevancia. Es autosuficiente semánticamente.
- Introducción (plantea el objetivo o problemática que motivó la revisión y los criterios de organización del discurso).
- Desarrollo: especifica el análisis bibliográfico · Conclusiones o discusiones y pendientes.

e) **Etapas que siguen los manuscritos:**

1. Frecuencia de publicación

La publicación de la **REVMAR** es semestral, en un volumen con la publicación del primer número del 01 enero - 30 junio y el segundo número del 01 julio - 31 diciembre

2. Fecha de recepción de artículos

La recepción de artículos permanecerá abierta todo el año.

3. Forma de entrega

La primera versión del manuscrito puede ser enviada en forma digital vía Internet, junto con la [carta de originalidad y cesión de derechos de autor](#) adjunto debidamente llenado y firmado por todas las personas autoras, utilizando los correos: revmar@una.cr o revciemarycos@gmail.com. Alternativamente puede ser enviada vía correo postal a las siguientes direcciones:

Licda. Nidya Cecilia Nova Bustos Editora Revista Ciencias Marinas y Costeras Maestría en Ciencias Marinas y Costeras Universidad Nacional Apartado Postal 86-3000 Costa Rica	M. Sc. Luis Villalobos Chacón Director Revista Ciencias Marinas y Costeras Maestría en Ciencias Marinas y Costeras Universidad Nacional Apartado Postal 86-3000 Costa Rica
--	--

El contenido de la *Carta de originalidad y cesión de derechos de autor*

1. El artículo es original e inédito: esto es, constituye una producción intelectual propia de la(s) persona(s) arriba indicada(s) y no ha sido divulgado a terceros(as) de forma pública, por ningún medio de difusión impreso o digital.
2. El artículo no ha sido postulado simultáneamente para su publicación ante otra revista impresa, electrónica ni en ningún otro medio escrito u órgano editorial. En caso de que antes hubiere sido sometido a evaluación de otra revista, se debe explicar la causa por la que no se aceptó, e indicar el correo electrónico de la revista a que fue sometido originalmente.
3. El autor (es) no ha(n) suscrito con anterioridad ante terceros contratos de cesión de derechos patrimoniales o licencias de uso en relación con los derechos de propiedad intelectual que ostentan sobre el artículo postulado que les impida cederlos por medio de este acto.
4. En caso de artículos elaborados como obras en colaboración –bien se trate de obras en las que los autores(as) tienen el mismo grado de participación o aquellas en las que existe una persona autora principal y una o varias personas autoras secundarias–, todos(as) ellos(as) han contribuido intelectualmente en la elaboración del documento.
5. En caso de artículos elaborados como obras en colaboración (según se especificó en el punto 4), en relación con el reconocimiento que se realiza respecto de los niveles de participación asignados por los(as) autores(as) del artículo, estos(as) liberan de responsabilidad a la Revista Ciencias Marinas y Costeras.
6. En caso de artículos elaborados como obras en colaboración, todos(as) los(as) autores(as) han leído y aprobado el manuscrito postulado. En este entendido, los(as) autores(as) abajo firmantes designamos a _____ como encargado(a) de recibir correspondencia y con autoridad suficiente para representar, en condición de agente autorizado(a) a los demás autores(as). Denominado autor correspondencia.
7. Reconoce(n) que la Revista no comparte necesariamente las afirmaciones que en el artículo se plantean.
8. Manifiesta(n) que todos los datos de **citas** dentro de texto y sus respectivas **referencias** tienen la fuente y el crédito debidamente identificados.
9. Aporta(n) los permisos o autorizaciones de quienes poseen los derechos patrimoniales para el uso de tablas y figuras (ilustraciones, fotografías, dibujos, mapas, esquemas u otros) en el escrito.
10. En caso de que el artículo postulado sea aceptado para su publicación, permite(n) la cesión GRATUITA, EXCLUSIVA, DE ÁMBITO MUNDIAL Y POR PLAZO INDEFINIDO de su(s) derecho(s) patrimonial(es) de autoría a la Universidad Nacional (Costa Rica), lo que implica lo siguiente:
 - a. La edición gráfica y de estilo de la obra o parte de esta.
 - b. La publicación y reproducción íntegra de la obra o parte de esta, tanto por medios impresos como electrónicos, incluyendo Internet y cualquier otra tecnología conocida o por conocer.
 - c. La traducción a cualquier idioma o dialecto de la obra o parte de esta.

- d. La adaptación de la obra a formatos de lectura, sonido, voz y cualquier otra representación o mecanismo técnico disponible, que posibilite su acceso para personas no videntes parcial o totalmente, o con alguna otra forma de capacidades especiales que les impida su acceso a la lectura convencional del artículo.
 - e. La distribución y puesta a disposición de la obra al público, de tal forma que el público pueda tener acceso a ellas desde el momento y lugar que cada quien elija, a través de los mecanismos físicos o electrónicos de que disponga.
 - f. Que la obra sea distribuida a través de la licencia Creative Commons BY- NC-SA versión 4.0, lo que implica la posibilidad de que los lectores puedan de forma gratuita descargar, almacenar, copiar, generen obras derivadas y distribuir la versión final aprobada y publicada (post print) del artículo, siempre y cuando se realice sin fines comerciales, y se mencione la fuente y autoría de la obra.
 - g. Cualquier otra forma de utilización, proceso o sistema conocido o por conocerse que se relacione con las actividades y fines editoriales a los cuales se vincula la Revista.
11. Derechos de reutilización: A su vez, la UNA les concede a los AUTORES el derecho de reutilizar para cualquier propósito y poder publicar en internet o cualquier sitio electrónico, la versión final aprobada y publicada (post print) del artículo, siempre y cuando se realice sin fines de lucro.
 12. Acepta(n) que, con su colaboración, el artículo presentado sea ajustado por el equipo de edición de la Revista, a las “Instrucciones para autores/as” previamente establecidas y publicadas en el sitio web oficial de la Revista (<http://www.revistas.una.ac.cr/index.php/revmar>); en cuanto a procedimientos, formato, corrección, edición, publicación, duración del proceso editorial y otros requerimientos solicitados en dichas normas.
 13. Aceptan, que la revista se reservará el derecho de retirar, o bloquear en forma expedita el acceso a las publicaciones almacenadas en sus plataformas virtuales al momento de obtener conocimiento efectivo de una denuncia interpuesta por un tercero por presunta infracción de sus derechos de autor.
 14. De conformidad con la Ley N° 8968, ley de protección de la persona frente al tratamiento de sus datos personales, el AUTOR consiente en facilitarle a la Revista un correo electrónico de contacto, así como los datos personales necesarios para la identificación de la autoría del artículo: _____. A su vez, autorizan a la Revista a publicar junto con el artículo, los datos personales necesarios (nombre y apellidos, institución, ciudad/país, correo y el número ORCID). Cualquier otro dato personal distinto al indicado anteriormente, será resguardado por la Revista con absoluta confidencialidad y no podrá ser divulgado ni transferido a terceros sin consentimiento del AUTOR.
 15. Admiten(n) que la postulación y posible publicación del artículo en la *Revista Ciencias Marinas y Costeras* se regirá por las políticas editoriales de esta, la normativa institucional de la Universidad Nacional y la legislación de la República de Costa Rica. Adicionalmente, que en caso de cualquier eventual diferencia de criterio o disputa futura, esta se dirimirá de acuerdo con los mecanismos de Resolución Alternativa de Conflictos y la Jurisdicción Costarricense.

Los artículos aceptados por la *Revista Ciencias Marinas y Costeras* pasan a ser propiedad de esta, respetándose los derechos de autor y producción correspondientes. No se devolverán los originales.

4. Sistema de arbitraje

Los manuscritos que cumplan con los objetivos temáticos de la revista y se ajusten al formato indicado serán enviados a al menos dos evaluadores externos, quienes revisarán el documento siguiendo la metodología de “doble ciego” y harán las recomendaciones para mejorarlos o los calificarán como inaceptables. El comité editorial devolverá al autor las observaciones recibidas por parte de los evaluadores. Si el artículo es aceptado, pero sujeto a modificaciones, se le dará un plazo definido al autor para realizarlas y volver a someter a consideración el manuscrito.

5. Pruebas y reimpresos

Luego del proceso de corrección, edición y aceptación final del manuscrito, el autor recibirá la prueba final de digital, por vía electrónica y en formato PDF antes de la publicación del artículo. Por lo anterior, los autores serán los responsables de la revisión final, efectuando los cambios mínimos necesarios, y corrigiendo los errores de digitalización que puedan existir. Los autores deberán devolver la prueba de galera en un plazo máximo de una semana a partir de su fecha de recepción. El retraso en la devolución de las pruebas podría implicar la publicación del trabajo sin las correcciones del autor.

Título del artículo: en español e inglés. Centrado, en negrita, mayúscula, letra Times New Roman 14, doble espacio.

**EVALUACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE
ESCHERICHIA COLI EN *CRASSOSTREA GIGAS*...**

**EVALUATION OF *ESCHERICHIA COLI*
CONCENTRATIONS IN *CRASSOSTREA GIGAS* ...**

Se debe dejar un espacio sencillo entre el título y los autores

Autor (es): Nombre y apellidos en cursiva, letra Times New Roman 11, doble espacio, justificado.

Luis A. Vega Corrales^{1} y Carolina Marín Vindas¹.*

¹Estación de Biología Marina Juan Bertoglia Richards, Universidad Nacional, Costa Rica. luis.vega.corrales@una.cr*

Indicar el correo electrónico del autor encargado de la correspondencia. Marcar con un asterisco.

Dejar un espacio sencillo entre el (los) autor (es) y el Resumen

Títulos de sección (Resumen, Introducción, Materiales y Métodos, Resultados, Discusión, Agradecimientos, Bibliografía): margen izquierdo, en negrita, mayúscula, letra Times New Roman 14.

RESUMEN

Costa Rica no cuenta con referencias sobre la calidad sanitaria de las zonas de cultivo de *Crassostrea gigas* y esto puede representar un riesgo para la salud pública...

Resumen: en español e inglés. Letra Times New Roman 10, justificado, espacio sencillo. Extensión máxima: 250 palabras

Subtítulo de palabras claves: en negrita, letra Times New Roman 11. Mínimo y máximo 5 palabras claves, así lo están exigiendo las bases de datos

Palabras claves: Contaminación marina, maricultura, *Escherichia coli*, *Crassostrea gigas*, Costa Rica.

ABSTRACT

Costa Rica does not have references on health quality of harvesting zones of *Crassostrea gigas*, which can pose a potential public health risk...

Keywords: Marine pollution, mariculture, *Escherichia coli*, *Crassostrea gigas*, Costa Rica.

INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas marinos son vulnerables a la contaminación antropogénica. Según Halpern *et al.* (2008), no existen zonas marino costeras que no estén impactadas por la influencia humana...

Texto: letra Times New Roman 12, doble espacio, justificado. Se acentuarán tanto las minúsculas como las mayúsculas. Cada párrafo con sangría inicial de 5 caracteres. No deben haber espacios entre párrafos de una misma sección.

...Estudios recientes han demostrado que las condiciones de las zonas de cultivo de moluscos bivalvos dependen, entre muchos otros factores, de las condiciones climatológicas y estacionales del área (Peterson, 1960; CITES, 2011; Campos *et al.* 2013b; Derolez *et al.* 2013; Lee & Silk, 2013; Mignani *et al.* 2013).

Cita para publicaciones de 1 autor.

Cita para publicaciones de más de 2 autores.

Cita para diferentes publicaciones del mismo autor y año.

Cita para publicaciones de 2 autores.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluó la contaminación por *E. coli* en las zonas de cultivo de ostras de Punta Cuchillo (9°49' 48" N y 84°52' 48" O) y de Punta Morales (10°4' 84" N y 84°58' 37" O), ubicadas en el Golfo de Nicoya, Costa Rica (Fig. 1).

Los cuadros y figuras deben entregarse por separado.

Las cifras decimales deben indicarse con punto y no con coma.

Para la fase presuntiva se inoculó cada serie de cinco tubos de Lauryl Tryptose Broth (BD®) con 10, 1 y 0.1 mL de la muestra de agua... Para las muestras de ostras se homogeneizaron 25 g de carne y líquido intravalvar en 225 mL de Buffered Peptone Water (BD®). A partir de esta mezcla se prepararon las diluciones 1:100 y 1:1 000. De cada dilución se inocularon 5 tubos de Lauryl Tryptose Broth.

Los miles deben indicarse con un espacio.

Las abreviaturas utilizadas deben ajustarse al Sistema Internacional de Unidades (m, km, g, mg, %, PSU, °C).

BIBLIOGRAFÍA

Utilizar &

Se utilizan letras para diferenciar publicaciones del mismo autor y año.

- Campos, C. J. A., Acornley, R., Morgan, O. C. & Kershaw, S. (2013a). Trends in the levels of *Escherichia coli* in commercially harvested bivalve shellfish from England and Wales, 1999-2008. *Mar. Pollut. Bull.*, 67(1-2), 223-227.
- Campos, C. J. A., Kershaw, S. R. & Lee, R. J. (2013b). Environmental influences on faecal indicator organism in bivalve shellfish. *Estuarine, Coastal and Shelf Science*

Publicaciones periódicas: Volumen de la Revista en cursiva. El número de la Revista entre paréntesis. No debe haber espacio entre el volumen y el número. Páginas iniciales y finales separadas por un guión.

- Clesceri, L. S., Greenberg, A. E. & Trussell, R. R. (1989). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (17th ed.). Washington, EE:UU.: American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation.

Publicaciones no periódicas: Título del libro en cursiva.

Publicaciones no periódicas: Localidad: Editorial.

Cuando son más de 7 autores, se enuncian los primeros 6 autores seguido de "... " y luego se escribe el último autor

- Halpern, B. S., Walbridge, S., Selkoe, K. A., Kappel, C. V, Micheli, F., D'Agrosa, C., ... Watson, R. (2008). A global map of human impact on marine ecosystems. *Science*, 319, 948-952.

Organización

- IMN. Instituto Meteorológico Nacional. (2014). Clima en Costa Rica. Instituto Meteorológico Nacional de Costa Rica. Recovered its in 22 January 2014, retrieved from <http://www.imn.ac.cr/educacion/CLIMA DE COSTA RICA.html>
- CITES. (2011). *The CITES species. Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora*. Ginebra, Suiza. Recuperado el 21 de septiembre, 2011, disponible en www.cites.org/eng/disc/species.php
- R Core Team. (2013). R: A language and environment for statistical computing. Viena, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Retrieved from <http://www.R-project.org/>

Página web: Recuperado en:
Página web: Disponible en:

CUADROS Y FIGURAS

Cuadros deben ser numerados consecutivamente.

Los cuadros y figuras deberán enviarse con una reducción apropiada (hasta 60%), y sus elementos deberán tener el tamaño necesario para permitir su fácil lectura; el tamaño de las letras y el grosor de las líneas deben ser los apropiados para que sean visibles y claras cuando se efectúe una reducción. La tipografía ya reducida no deberá ser menor de 8 puntos. Es posible incluir en el manuscrito dibujos y/o fotografías; en el caso de las fotografías, la revista asumirá el costo de publicar las en blanco y negro; en caso contrario, el autor deberá asumir los costos.

Cuadro 1. Criterios de clasificación de zonas de producción de moluscos bivalvos con base en muestras de agua de mar

Table 1. Shellfish harvesting zones classification criteria based in seawater samples

Título de cuadro: En español e inglés. Debe colocarse en la parte superior del cuadro, en minúscula y sin negrita. Letra Times New Roman 11, doble espacio, justificado.

Evitar líneas verticales. Utilizar líneas horizontales únicamente cuando separen campos de información (encabezados, subencabezados, campos inferiores)

Category of classification	Faecal coliforms (MPN 100 mL ⁻¹)		Treatment required
	Geometric mean	90% compliance	
Approved areas	< 14	< 43	None.
Prohibited areas	No sanitary survey or conditions for approved/restricted areas not met.		Harvesting not permitted.

Reference: Lee *et al.* (2008)

Se debe indicar el origen de los datos.

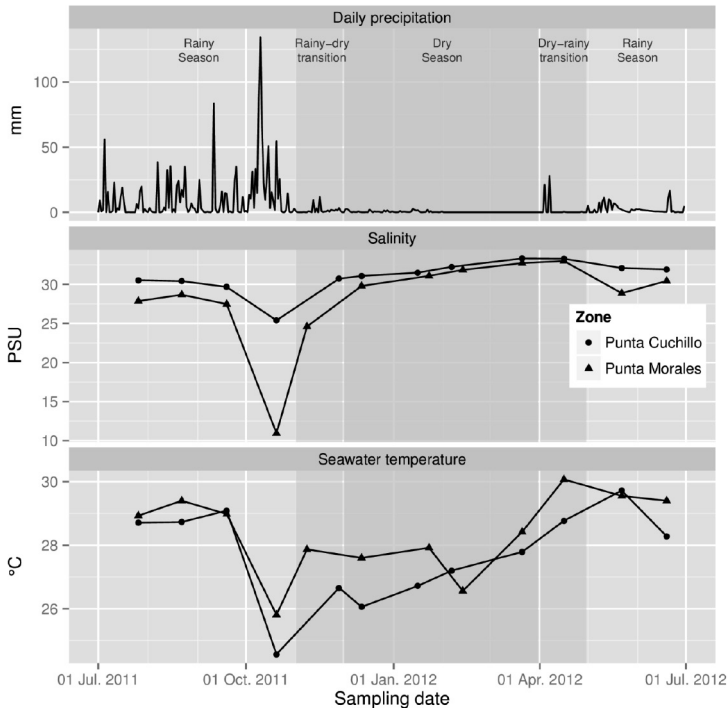


Fig. 3. Precipitación diaria (mm) y salinidad (UPS) y temperatura (°C) mensual registradas de julio de 2011 a junio de 2012 en las zonas de cultivo de *Crassostrea gigas* de Punta Cuchillo y de Punta Morales, Golfo de Nicoya, Costa Rica. Se representan la estación seca, la estación lluviosa y los meses de transición establecidos para la zona de estudio por el Instituto Meteorológico de Costa Rica. Fuente precipitación: Instituto Meteorológico Nacional de Costa Rica

Fig. 3. Daily precipitation (mm) and salinity (PSU) and temperature (°C) registered monthly from July 2011 to June 2012 in the *Crassostrea gigas* harvesting zones of Punta Cuchillo and Punta Morales, Gulf of Nicoya, Costa Rica. It represented dry season, rainy season and the transition months established for the study zone by the Meteorological Institute of Costa Rica. Precipitation source: Meteorological Institute of Costa Rica

Título de figura: En español e inglés. Debe colocarse en la parte inferior de la figura, en minúscula y sin negrita. Letra Times New Roman 11, doble espacio, justificado.

INSTRUCTIONS FOR AUTHORS

The *Journal of Marine and Coastal Sciences* is an annual scientific journal published by the Master's Program in Marine and Coastal Sciences (School of Biological Sciences, Universidad Nacional, Costa Rica), including:

- Scientific articles (original and unpublished)
- Scientific notes (short communications) and
- Literature reviews

The Editorial Committee requires authors to follow these instructions:

a) **General format**

Language:	English or Spanish, abstract in both languages.
Fonts:	Headings of sections: Times New Roman 14 pts. Text: Times New Roman 12 pts. Titles of figures and tables, name of authors and key-words: Times New Roman 11 pts. Abstract and <i>resumen</i> : Times New Roman 10 pts.
Text:	Double-spaced; indent paragraphs 5 spaces, except for <i>resumen</i> and abstract.
Maximum length:	<i>Scientific articles</i> : 25 pages maximum including figures and tables. Longer articles will only be accepted upon justification submitted to the Editorial Committee. <i>Scientific notes</i> : 6 pages maximum. <i>Reviews</i> : 25 pages maximum.
Margins:	Top: 3 cm Bottom: 2.5 cm Left: 3 cm Right: 2.5 cm

Abbreviations shall be used according to the International Unit System (m, km, g, mg, %, PSU, °C). Use period for decimals instead of comma.

Do not include footnotes or appendices. Additional material may be included only if indispensable.

b) **General structure for a scientific paper**

- *Title of the article:* Centered, bold, both in English and in Spanish, capital letters, 14 pts. Leave a single space between the title and the authors.
- *Author(s):* Times New Roman 11pts. Write first and last names in italics, justify text and indicate institutional affiliation (use superscript numbers), place of work or physical address and e-mail. Include affiliation of all authors; mark corresponding author with an asterisk. Leave a single space between the author(s) and the abstract.
- Titles of sections must be aligned to the left, in capital letters and in bold (**INTRODUCTION, MATERIALS AND METHODS, RESULTS, DISCUSSION, CONCLUSION, ACKNOWLEDGEMENTS AND BIBLIOGRAPHY**). Use a single space before the text. Do not leave spaces between paragraphs of the same section.
- *Abstract:* Each article will be preceded by the abstracts in English and Spanish, each one not exceeding 250 words.
- *Keywords:* Each abstract will be followed by keywords (five words max.) representing the article content.
- *Introduction:* The purpose of the article and the research problem reasoning shall be explained here. Specific information on the background of the study and the state of the art shall be included as well.
- *Materials and methods:* The methodology used and all the necessary information to repeat the work shall be included here. The reasons regarding selected methods may also be explained in this section.
- *Results:* Results will be presented in a text format. Data may be included in tables and figures (when required). Tables and figures shall be consecutively numbered and identified with titles according to the content (in English and Spanish); do not use bold; use accent marks over small as well as capital letters in Spanish. All data sources shall be cited and included in the text. Do not include information or illustrations unrelated to the text.

Titles of tables: Double-spaced; avoid vertical lines and use horizontal lines only to separate information fields (headings, sub-headings, independent spaces in the middle or at the bottom such as subtotals). Titles must be in the upper section of the table, in small letters and in bold.

Titles of figures: Double-spaced; Title must be at the bottom of the figure, in small letters and in bold.

Tables and figures should be reduced as appropriate (no more than 60%); the elements in the tables and figures should have the appropriate size for easy reading. Choose the appropriate font size and line-width to keep the letters clear and visible even after a reduction. Reduced fonts shall not be less than 8 pts. Drawings and/or photographs may be included in the manuscript: photographs will be published by the journal in black and white at no cost; in any other case, the author will cover the costs.

Image formatting: Figures and tables must be prepared carefully to avoid any delays in the manuscript editing and the diagramming process. Regardless of the application used, when images or tables are included electronically, save or convert them using the following formats:

EPS: Vector drawings. Insert the source reference or save the text as graphics.

TIFF: Color or grayscale photographs, always use 300 dpi minimum.

TIFF: For bitmap images, use 1000 dpi minimum.

TIFF: For combinations of bitmap/half tone (color or grayscale) use 500 dpi minimum.

DOC, XLS or PPT: Indicate if images or tables were created in Microsoft Office®.

Tables and figures shall be submitted separately.

- *Discussion:* The author will discuss the most relevant results, using pertinent and updated references. Only one Results and Discussion section is allowed.
- *Conclusions:* All conclusions shall be based on the data presented and discussed. Conclusions shall strictly agree with the purpose of

the article. If the article is a synthesis of findings, proposals may be included in this section, at the author's discretion.

- *Acknowledgements*: This section must reflect an authentic appreciation to the research collaborators.
- *Bibliography*: Bibliographic references shall follow the guidelines of the American Psychological Association (APA), available at the Journal's Website (www.una.ac.cr/revmar).

Periodicals: Periodicals are regular publications: journals, newspapers, illustrated bulletins, etc. The format required is as follows:

Author, A. A., Author, E. E. & Author, C. C. (Year of publication). Title of the article. *Title of the scientific journal in italics and correctly abbreviated according to the ISI standards*, Volume (number in parenthesis), initial and final pages separated by a hyphen.

Tomasko, D. A. & Lapointe, B. E. (1991). Productivity and biomass of *Thalassia testudinum* as related to water column nutrient availability and epiphyte levels: field observations and experimental studies. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 75(3), 9-17.

Non-periodical publications: Non-periodical publications are those published separately: books, reports, booklets, some monographies, manuals and audiovisual media. Follow this format:

Author, A. A. (Year of publication). *Title of the work*. Place: Publishing house.

Book

Robinson, D. N. (1992). *Social discourse and moral judgment*. San Diego, CA, USA: Academic Press.

Chapter of a book

O'Neil, J. M. & Egan, J. (1992). Men's and women's gender role journeys; Metaphor for healing, transition, and transformation. In E. R. Wainrib (Ed.), *Gender issues across the life cycle* (pp. 107-123). New York, USA: Springer.

Conference proceedings

González, R., Calvo, A., Benavides, G. & Casullo, M. (1998, November). *Evaluación de la conducta social de Aratus pisonii*. Paper presented in the Congreso Latinoamericano de Carcinología, Salamanca, Spain.

Web page

Dewey, R. A. (2002). La torsión en los gastrópodos: una revisión. Retrieved on January 25, 2003 available at <http://www.gpa.orljournalsljacobson.html>

Article in an electronic journal

Jacobson, J. W., Mulick, J. A. & Schwartz, A. A. (1995). A history of facilitated communication: Science, pseudoscience, and antiscience: Science working group on facilitated communication. *American Psychologist*, 50, 750-765. Retrieved on January 25, 1996, available at <http://www.gpa.orljournalsljacobson.html>

From a database on CD-ROM

Schneiderman, R. A. (1997). Librarians can make sense of the Net. *San Antonio Business Journal*, 11(3). Retrieved on January 27, 1999. From the EBSCO database (Masterfile), available at <http://www.ebsco.com>

Thesis

Wilfley, D. E. (1989). *Interpersonal analysis of bulimia: Normal-weight and obese*. Unpublished doctoral thesis, University of Missouri, Columbia.

Unpublished communications: Unpublished communications will not be included in the references; they will only be mentioned in the text. Include the name of the person who provides the information, media and date. Ej.: “La coloración de *A. similis* varía con los periodos de lluvia” (C. Fonseca, personal communication, June 29, 2000).

c) General structure for a scientific note

Apply the same criteria used for the scientific article regarding Title of the article, author(s), abstract and *resumen* and keywords, except for the number of words in the abstract (70 words max).

- Titles of sections must be on the left margin (**INTRODUCTION, MATERIALS AND METHODS, RESULTS, DISCUSSION, ACKNOWLEDGEMENTS AND BIBLIOGRAPHY**). The titles of sections shall be in capital letters and in bold. Leave a space to start the text. Do not leave spaces between paragraphs of the same section.
- *Introduction*: Explain, clearly and concisely, the problem to be resolved and the objective with a theoretical base. The text should be continuous, not leaving spaces between paragraphs.
- *Tables and figures*: Same format as the scientific articles.
- *Acknowledgements*: This section will be included as the last paragraph, with no heading. “Official” names should not be translated.
- *Bibliography*: Same format as the scientific articles.

d) **General structure for a literature review**

This type of article includes literature reviews of a specific field of study related to the theme of the Journal. Authors may review the most relevant exponents, their main ideas and contributions, as well as conduct analyses and make comments based on sustained objective statements.

- Elements of a literature review article
 - Title (in English and Spanish).
 - Affiliation.
 - Keywords (in English and Spanish).
 - Abstract (in English and Spanish). Include the following in this section:
 - Objective of the study.
 - Topic addressed and its significance.
 - Periods or stages of the bibliographic information consulted in the analysis.
 - Main criteria for analyzing the bibliographic information consulted.
 - Main findings and conclusions.
 - Main applications, implications and recommendations.
 - Necessary information that would help the reader quickly identify the basic content of the paper and its relevance. The paper is semantically self-sufficient.

- Introduction: Establishes the objective or problem that motivated the review and includes the paper's organization criteria.
- Development: Specifies the bibliographic analysis
- Conclusions or discussions and pending matters.

e) **Manuscript stages**

1. Receiving date

Articles will be received throughout the year; however, the due date will be March 30th of each year to guarantee that the publication will appear on the volume of the corresponding year.

2. Delivery

The first version of the manuscript can be sent in digital form, together with the attached [statement of originality and copyright transfer agreement](#) duly completed and signed by all the authors, to the following emails: revmar@una.cr or revcienmarycos@gmail.com. It can alternatively be sent by postal mail to the following addresses:

Licda. Nidya Cecilia Nova Bustos Editor Revista Ciencias Marinas y Costeras Maestría en Ciencias Marinas y Costeras Universidad Nacional Apartado Postal 86-3000 Costa Rica	M. Sc. Luis Villalobos Chacón Director Revista Ciencias Marinas y Costeras Maestría en Ciencias Marinas y Costeras Universidad Nacional Apartado Postal 86-3000 Costa Rica
---	--

Content of the *Statement of Originality and Copyright Transfer Agreement*

1. The article is original and has not been published: in other words, it is the intellectual production of the person(s) indicated above and has not been publicly shared with third parties by any printed or digital means.
2. The article has not been simultaneously submitted for publication in another printed or electronic journal or any other written media or editorial body. In case the article has already been submitted in another journal, please explain why it was not accepted and indicate the email of the journal where it was originally submitted.
3. The authors have not subscribed, with third parties, any transfer of intellectual proprietary rights agreements or use licenses regarding intellectual property rights for the submitted article that prevents them from licensing the Journal.

4. In case of collective authorship— whether works in which the authors have the same degree of involvement or those in which there is a lead author and one or more secondary authors— all authors have contributed intellectually to the paper.
5. In case of collective authorship (as specified in item 4), in relation to the recognition of participation levels assigned by the authors, they released *Revista Ciencias Marinas y Costeras* from any liability.
6. In case of collective authorship, all authors have read and approved the submitted manuscript. Therefore, we, the undersigned authors, appoint _____ as the corresponding author having sufficient authority to represent the other authors, on his/her capacity as the authorized agent.
7. The author(s) recognize(s) that the Journal does not necessarily endorse the statements expressed in the article.
8. The author(s) state(s) that all text **citations** in the paper and their corresponding bibliographic **references** have been properly sourced and credited.
9. The author(s) include(s) in the paper the permits or authorization from those who own the rights for use of tables and figures (illustrations, photographs, drawings, maps, diagrams, or other).
10. In case the submitted paper is accepted for publication, the author(s) **FREELY, EXCLUSIVELY, AND FOR AN INDEFINITE TERM** transfer(s) copyright(s) to Universidad Nacional (Costa Rica), for the following:
 - a. Graphics editing and proofreading of the entire paper or part of it.
 - b. The publication and reproduction of the entire paper or part of it, both in printed and electronic formats, including Internet and any other technology now known or to be known.
 - c. The translation of the paper or part thereof into any language or dialect.
 - d. The adaptation of the article to reading, sound, and voice recognition formats and any other representation or technical device available, enabling partial or complete access for the blind or persons with any other form of disability that prevents them to access the conventional reading of the article.
 - e. The distribution and availability of the article to the public, so that the public may access it from the time and place chosen by the reader, through the physical or electronic devices at the person's disposal.
 - f. The distribution of the paper through the Creative Commons BY-NC-SA license, version 4.0, which implies the possibility that readers download, store, copy, generate derived papers, and distribute the final approved and published version (*post print*) of the article, provided it is done for non commercial purposes, and the article is properly sourced and credited.
 - g. Any other use, process, or system known or to be known related to the editorial purposes and activities linked to the Journal.
11. Reuse Rights: at the same time, UNA grants **AUTHORS** the right to reuse, for any purpose, and to publish on the Internet or any website, the final approved and published version (*post print*) of the article, provided it is done for non-profit purposes.

12. The author(s) agree(s) that the submitted paper be adjusted, with their collaboration, by the Journal editing team to the “[Instructions to Authors](http://www.revistas.una.ac.cr/index.php/revmar)” previously established and published in the Journal’s official website (<http://www.revistas.una.ac.cr/index.php/revmar>); in terms of procedures, formatting, proofreading, editing, publication, duration of the editorial process and other requirements called for in those instructions.
13. The author(s) accept(s) that the Journal reserves the right to expeditiously remove or block access to the publications saved in its virtual platforms after obtaining actual knowledge of a complaint filed by a third party for an alleged infringement of copyright.
14. According to Law No. 8968, Personal Data Protection Law, the AUTHOR agrees to provide the Journal with an electronic mail address, as well as the personal data necessary for the identification of the authorship of the article: _____.
In addition, the author authorizes the Journal to publish, along with the article, the personal data necessary (name and last name, institution, city/country, email and ORCID number). Any personal data other than the one indicated above will be treated as absolutely confidential by the Journal and shall not be published or given to third parties without the AUTHOR’s consent.
15. The author(s) accept(s) that the application and possible publication of the article in *Revista Ciencias Marinas y Costeras* is governed by the editorial policies of the Journal, the institutional rules of Universidad Nacional de Costa Rica and the laws of the Republic of Costa Rica. In addition, in case of any possible difference of opinion or future dispute, it shall be settled in accordance with the mechanisms of Alternative Dispute Resolution and the Costa Rican jurisdiction.

The articles accepted by the *Journal of Marine and Coastal Sciences* become property of the Journal; the author and production rights are respected. The original manuscripts will not be returned.

3. Arbitration

The manuscripts that fulfill the thematic objectives of the Journal and adjust to the indicated format will be sent to at least two external evaluators who will review the document according to the “double blind” methodology and will make the necessary recommendations to improve them or declare them unacceptable. The Editorial Committee will send such observations to the author. If the article is accepted, but subject to modifications, the author will have a specific term to make such modifications and submit the manuscript again. Final approval of articles is granted by the Editorial Committee.

4. Galley proof and reprints

After the manuscript has been proofread, edited and accepted, the author will receive a final galley proof in PDF by email before the publication of the article. The authors will be responsible for the final review, making the minimum necessary changes and correcting any existing printing mistakes. The authors

should return the galley proof within a maximum period of one week from the date it was received. The delay in returning the galley proof may result in the publication of the article without the author's corrections.

Title of article: in Spanish and English. Centered, in bold, in capital letters, Times New Roman 14, double space.

**EVALUACIÓN DE LAS CONCENTRACIONES DE
ESCHERICHIA COLI EN *CRASSOSTREA GIGAS*...
EVALUATION OF *ESCHERICHIA COLI*
CONCENTRATIONS IN *CRASSOSTREA GIGAS* ...**

Leave a space between section titles and the text.

Author(s): full name in italics, Times New Roman 11, double space, justified.

Luis A. Vega Corrales^{1} y Carolina Marín Vindas¹.*

¹Estación de Biología Marina Juan Bertoglia Richards, Universidad Nacional, Costa Rica. luis.vega.corrales@una.cr*

Include e-mail address of corresponding author. Marked with an asterisk.

Indicate all of the authors' institutional affiliation, place of work or physical address. Use numbered superscripts.

Leave a single space between the author(s) and the abstract.

Titles of section (Abstract, Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgments, Bibliography): left margin, in bold, in capital letters, Times New Roman 14.

RESUMEN

Costa Rica no cuenta con referencias sobre la calidad sanitaria de las zonas de cultivo de *Crassostrea gigas* y esto puede representar un riesgo para la salud pública...

Palabras claves: Contaminación marina, maricultura, *Escherichia coli*, *Crassostrea gigas*, Costa Rica.

Abstract: in Spanish and English. Times New Roman 10, justified, single space. Maximum length: 250 words.

ABSTRACT

Costa Rica does not have references on health quality of harvesting zones of *Crassostrea gigas*, which can pose a potential public health risk...

Keywords: Marine pollution, mariculture, *Escherichia coli*, *Crassostrea gigas*, Costa Rica.

Keywords subtitle: in bold, Times New Roman 11. Minimum and maximum 5 keywords, as required by databases.

Leave a space between section titles and the text.

INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas marinos son vulnerables a la contaminación antropogénica. Según Halpern *et al.* (2008), no existen zonas marino costeras que no estén impactadas por la influencia humana...

Text: Times New Roman 12, double space, justified. Both lowercase and capital letters must have accents if in Spanish. Each paragraph must have a 5 character indentation. There should be no spaces between paragraphs within the same section.

...Estudios recientes han demostrado que las concen las zonas de cultivo de moluscos bivalvos dependen, entre muchos otros factores, de las condiciones climatológicas y estacionales del área (Peterson, 1960; CITES, 2011; Campos *et al.* 2013b; Derolez *et al.* 2013; Lee & Silk, 2013; Mignani *et al.* 2013).

Citation for one author.

Citation for more than 2 author publications.

Citation for different publications of the same author and year.

Citation for two author publications.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se evaluó la contaminación por *E. coli* en las zonas de cultivo de ostras de Punta Cuchillo (9°49' 48" N y 84°52' 48" O) y de Punta Morales (10°4' 84" N y 84°58' 37" O), ubicadas en el Golfo de Nicoya, Costa Rica (Fig. 1).

Tables and figures must be delivered separately.

Use a decimal point rather than a comma.

Para la fase presuntiva se inoculó cada serie de cinco tubos de Lauryl Tryptose Broth (BD®) con 10, 1 y 0.1 mL de la muestra de agua... Para las muestras de ostras se homogeneizaron 25 g de carne y líquido intravalvar en 225 mL de Buffered Peptone Water (BD®). A partir de esta mezcla se prepararon las diluciones 1:100 y 1:1,000. De cada dilución se inocularon 5 tubos de Lauryl Tryptose Broth.

Thousands should be indicated with a comma.

The abbreviations used should conform to the international system of units (m, km, g, mg, %, PSU, °C).

BIBLIOGRAFÍA

Use "&".

Use letters to differentiate publications by the same author and year.

Campos, C. J. A., Acornley, R., Morgan, O. C. & Kershaw, S. (2013a). Trends in the levels of *Escherichia coli* in commercially harvested bivalve shellfish from England and Wales, 1999-2008. *Mar. Pollut. Bull.*, 67(1-2), 223-227.

Periodicals: journal volume in italics and issue in parentheses. There should be no space between the volume and the issue. Initial and final pages separated with a hyphen.

Campos, C. J. A., Kershaw, S. R. & Lee, R. J. (2013b). Environmental influences on faecal indicator organisms in coastal waters and their accumulation in bivalve shellfish. *Estuaries Coasts*, 36(4), 834-853.

Clesceri, L. S., Greenberg, A. E. & Trussell, R. R. (1989). *Standard methods for the examination of water and wastewater* (17th ed.). Washington, EE:UU.: American Public Health Association, American Water Works Association.

Non-periodical publications: title of book in italics.

Non-periodical publications: Place: Publisher.

Halpern, B. S., Walbridge, S., Selkoe, K. A., Kappel, C. V, Micheli, F., D'Agrosa, C., ... Watson, R. (2008). A global map of human impact on marine ecosystems. *Science* 319 948-952.

When there are more than 7 authors, list the first 6 followed by "... " and write the last author.

Organization

IMN. Instituto Meteorológico Nacional. (2014). Clima en Costa Rica. Instituto Meteorológico Nacional de Costa Rica. Recovered its in 22 January 2014, retrieved from <http://www.imn.ac.cr/educacion/CLIMA DE COSTA RICA.html>

CITES. (2011). *The CITES species. Convention on International Trade in Endangered Species of Wild Fauna and Flora*. Ginebra, Suiza. Recuperado el 21 de septiembre, 2011, disponible en www.cites.org/eng/disc/species.php

R Core Team. (2013). R: A language and environment for statistical computing. Viena, Austria: R Foundation for Statistical Computing. Retrieved from <http://www.R-project.org/>

Website: Retrieved from:
Website: Available at:

CUADROS Y FIGURAS

Tables and figures must be properly reduced (up to 60%) and their components must be properly sized to allow easy reading; the size of the font and the thickness of the lines should be properly visible and clear when reduced. The font already reduced should not be smaller than 8. The manuscript may include drawings and/or photographs; in the case of photographs, the journal will cover the cost of publishing them in black and white; otherwise, the author will cover the cost.

Tables should be numbered consecutively.

Cuadro 1. Criterios de clasificación de zonas de producción de moluscos bivalvos con base en muestras de agua de mar

Table 1. Shellfish harvesting zones classification criteria based in seawater samples

Title of table: in Spanish and English. It should be placed at the top of the table, in lower case and not in bold. Times New Roman 11, double space, justified.

Avoid vertical lines. Use horizontal lines only when they separate fields of information (headlines, subheadings, lower fields).

Category of classification	Faecal coliforms (MPN 100 mL ⁻¹)		Treatment required
	Geometric mean	90% compliance	
Approved areas	< 14	< 43	None.
Prohibited areas	No sanitary survey or conditions for approved/restricted areas not met.		Harvesting not permitted.

Reference: Lee *et al.* (2008)

You must indicate the source of the data.

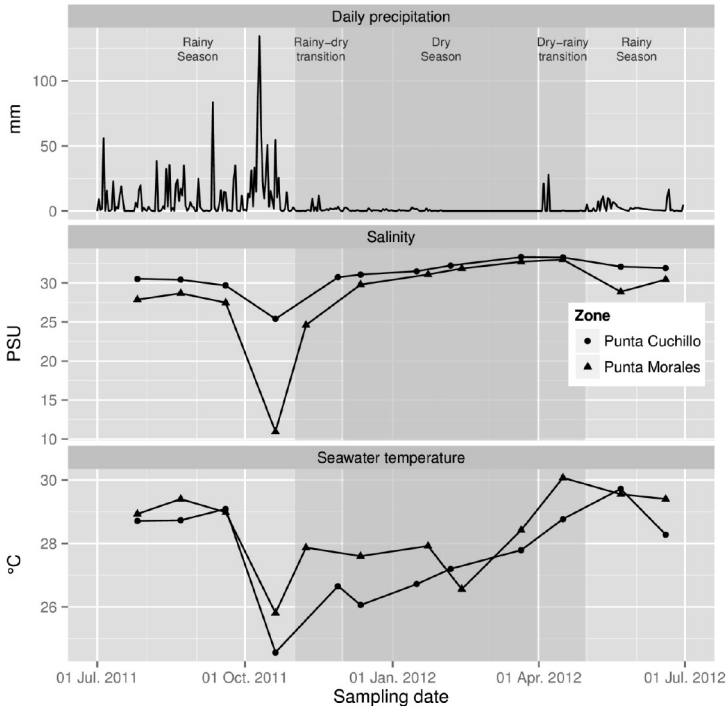


Fig. 3. Precipitación diaria (mm) y salinidad (UPS) y temperatura (°C) mensual registradas de julio de 2011 a junio de 2012 en las zonas de cultivo de *Crassostrea gigas* de Punta Cuchillo y de Punta Morales, Golfo de Nicoya, Costa Rica. Se representan la estación seca, la estación lluviosa y los meses de transición establecidos para la zona de estudio por el Instituto Meteorológico de Costa Rica. Fuente precipitación: Instituto Meteorológico Nacional de Costa Rica

Fig. 3. Daily precipitation (mm) and salinity (PSU) and temperature (°C) registered monthly from July 2011 to June 2012 in the *Crassostrea gigas* harvesting zones of Punta Cuchillo and Punta Morales, Gulf of Nicoya, Costa Rica. It represented dry season, rainy season and the transition months established for the study zone by the Meteorological Institute of Costa Rica. Precipitation source: Meteorological Institute of Costa Rica

Title of figure: in Spanish and English. It should be placed at the bottom of the figure, in lower case and not in bold. Times New Roman 11, double space, justified.



Impreso por el Programa de Publicaciones e Impresiones
de la Universidad Nacional, en el 2019.

La edición consta de 100 ejemplares
en papel bond y cartulina barnizable.

E-66-18—P.UNA