



Universidad Autónoma de Querétaro
 Facultad de Ciencias Naturales
 Doctorado en Ciencias (Recursos Bióticos)

Estudio morfométrico y osteológico del género *Profundulus*
 (Cyprinodontiformes: Profundulidae)

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de
 Doctor en Ciencias (Recursos Bióticos)

Presenta:

M. en C. Alfonso Ángel González Díaz

Dirigido por:

Dr. Edmundo Díaz Pardo

SINODALES

Dr. Edmundo Díaz Pardo
 Presidente

Dr. Raúl Francisco Pineda López
 Secretario

Dr. Luis Gerardo Hernández Sandoval
 Vocal

Dra. Rocío Rodiles Hernández
 Vocal

Dra. Katia González Rodríguez
 Vocal

Dr. Robert Jones
 Suplente

Dr. Humberto Suzán Aspíri
 Suplente

Mtro. Jaime Angéles Angéles
 Director de la Facultad

Firma

Firma

Firma

Firma

Firma

Firma

Firma

Dr. Luis Gerardo Hernández Sandoval
 Director de Investigación y Posgrado

Centro Universitario
 Querétaro, Qro.
 abril de 2008
 México

RESUMEN

El género *Profundulus* es representativo de la ictiofauna mesoamericana. Actualmente se reconocen seis especies, distribuidas en los grupos *punctatus* y *labialis*. El primero compuesto por *Profundulus guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus*, y el segundo por *P. candalarius*, *P. hildebrandi* y *P. labialis*. El conocimiento sistemático del género *Profundulus* es escaso y su clasificación se ha modificado a través del tiempo; la separación de las especies resulta difícil debido a su gran variación intra e interpoblacional. Se ha destacado la necesidad de buscar nuevas características morfológicas que avalen las diferencias establecidas, además se sugirió realizar estudios más detallados para reconstruir las relaciones de parentesco. Se evaluaron 11 medidas tradicionales y 21 cruzadas, y 10 piezas óseas con objeto de analizar la variación morfológica y osteológica del género *Profundulus*, para establecer la identidad taxonómica de las especies y sus relaciones filogenéticas, así como determinar sus posibles implicaciones en la evolución del grupo. El análisis morfométrico reveló tres patrones morfológicos, uno formado por *P. candalarius* y *P. labialis*, otro por *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus*, y por último el representado por *P. hildebrandi*. La reconstrucción de las formas del cuerpo a partir de las medidas cruzadas corroboró la existencia de tres patrones morfológicos, relacionados con la conducta alimentaria y uso del hábitat. El análisis filogenético demostró que las especies forman dos clados; los previamente reconocidos como grupos *punctatus* y *labialis*. La especie que mostró más diferencias morfológicas y osteológicas fue *P. hildebrandi*, los análisis sugieren que la expresión fenotípica de estas características es resultado de especialización trófica. Las relaciones de similitud coinciden notablemente con las filogenéticas. Las evidencias geográficas, filogenéticas y morfológicas sugieren que la diversificación del grupo tuvo lugar a partir de diversos eventos de vicarianza y ha sido reforzada por procesos ecológicos.

(Palabras clave: peces, *Profundulus*, Centroamérica, morfometría, osteología)

SUMMARY

Genus *Profundulus* is a representative taxa of the Mesoamerican ichthyofauna. Currently six species are recognized within the punctatus and labialis groups. The punctatus group contains *Profundulus guatemalensis*, *P. oaxacae* and *P. punctatus*, and the labialis group consists of *P. candalarius*, *P. hildebrandi* and *P. labialis*. Systematic knowledge of the genus *Profundulus* is limited, and the identification of species is difficult due large intra- and interpopulation variation. Recent studies that analyzed the phylogenetic relationships among species of the genus, emphasized the need for new morphological characteristics to confirm differences established from molecular analyses and to reconstruct the relationships. The present study evaluated 11 traditional morphological measures, 21 box truss characters, and 10 bones with the objective of analyzing morphological and osteological variation of genus *Profundulus*. The analyses were designed to establish the taxonomic identity of species and their phylogenetic relationships, as well as, to determine their possible implications in the evolution of this group. Morphometrical analysis revealed three morphological patterns– one represented by *P. candalarius* and *P. labialis*, second represented by *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* and *P. punctatus*, and a third represented by *P. hildebrandi*. Reconstruction of the body forms from box truss corroborated the existence of three morphological forms that apparently were related to feeding behavior and habitat use. Phylogenetic analysis confirmed the existence of two clades– the previously recognized punctatus and labialis groups. *Profundulus hildebrandi* showed more morphological and osteological differences than the other species, and these characters seem to be associated with trophic specialization. Patterns of ecomorphological and phylogenetic similarity were concordant. Phylogenetic, morphological, and geographic evidence suggests that phyletic diversification within the group was by vicariance, with ecological processes likely causing subsequent morphological differentiation.

(Key words: fishes, *Profundulus*, Central America, morphometrics, osteology)

Este trabajo está dedicado

A mi madre, porque eres mi más grande ejemplo de amor y fuerza.

A la memoria de mi padre.

A mis abues, Oli y Fito, por darme todo su amor y enseñanzas, que aunque ya no estén físicamente conmigo me siguen colmando de bendiciones. A Chabelita por todo su cariño y ternura.

A mi esposa Miriam, por tu paciencia y apoyo incondicional, pero sobre todo por tu gran amor.

A mi hijo Mau por haberme enseñado lo hermoso de ser padre y por compartir conmigo esas tardes maravillosas de béisbol.

A mi hijo Miguel Ángel por representar en mi vida una nueva ilusión y un motivo más para seguir adelante.

A las familias Gallardo-González, González-Aguilar, González-Santos, Rivas-González, Díaz-Miñon y Soria-Barreto, por ser parte fundamental de mi vida.

A todas aquellas personas y amigos que han sido participes en este largo proceso de formación profesional y personal.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Edmundo Díaz Pardo por el gran apoyo, atinados consejos y enorme paciencia durante este proceso de aprendizaje.

A la Dra. Rocío Rodiles Hernández por su participación como codirectora y ayuda incondicional en la realización de la tesis.

A la Dra. Katia González Rodríguez y los Drs. Luis Gerardo Hernández Sandoval, Raúl Pineda López, Robert Jones y Humberto Suzán Aspíri por los valiosos comentarios a este trabajo.

A la M. C. Miriam Soria Barreto por la invaluable ayuda, los comentarios y sugerencias hechas a esta tesis. Gracias por todo el respaldo, por creer y confiar en mí.

A Celedonio Chan Sala por la ayuda en la recolecta de los peces y por las enseñanzas en el arte de la pesca.

A los Maestros Eduardo Soto y Ernesto Velázquez, y los Doctores Emilio Martínez y Luis Zambrano; por facilitarme el material biológico depositado en las colecciones de peces del IPN, MZ-UNICACH, CIIDIR-OAX y CNP-UNAM respectivamente.

Al Ing. Jesús Carmona por brindarme las facilidades para acceder al equipo de laboratorio utilizado en parte del trabajo práctico.

Al Dr. Eduardo Espinoza Medinilla por su asesoría en el análisis filogenético.

Al M. C. Jesús Luna por su ayuda en la determinación taxonómica de los invertebrados presentes en los contenidos estomacales de los peces.

Al Dr. Kirk Winemiller por la revisión y ayuda en la traducción del resumen al inglés.

A la C. P. Rosalía González Milla y Lic. Olivia Rivas González por su enorme ayuda en los trámites administrativos correspondientes para la realización del examen doctoral.

ÍNDICE

	Página
Resumen	i
Summary	ii
Dedicatorias	iii
Agradecimientos	iv
Índice	v
Índice de cuadros	vi
Índice de figuras	viii
INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	7
JUSTIFICACIÓN	14
HIPÓTESIS	16
OBJETIVO GENERAL	17
OBJETIVOS PARTICULARES	17
MATERIALES Y MÉTODOS	18
RESULTADOS	
Análisis morfométrico	27
Análisis osteológico	45
Análisis filogenético	51
Análisis ecomorfológico	53
DISCUSIÓN	65
CONCLUSIONES	90
LITERATURA CITADA	93

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Página
1.	Valores máximos, mínimos y promedio de longitud patrón de los ejemplares de <i>Profundulus</i> utilizados en el análisis morfométrico (mm).	27
2.	Matriz de coeficientes del análisis de discriminantes (AVC) a partir de las medidas tradicionales. En negritas se señalan los eigenvalores de las medidas más importantes.	28
3.	Matriz de distancias cuadráticas de Mahalanobis de las medidas tradicionales.	29
4.	Medidas tradicionales discriminantes y valores de F obtenidos del ANVA en las especies de <i>Profundulus</i> con $P < 0.001$, $n=50$.	31
5.	Valores máximos, mínimos y promedios de las medidas tradicionales discriminantes, expresadas en porcentaje con respecto a la longitud patrón.	32
6.	Matriz de coeficientes del análisis de discriminantes (AVC) a partir de las medidas cruzadas. En negritas se señalan los eigenvalores de las medidas más importantes.	36
7.	Matriz de distancias cuadráticas de Mahalanobis de las medidas cruzadas.	38

8.	Medidas cruzadas discriminantes y valores de F obtenidos del ANVA en las especies de <i>Profundulus</i> con $P < 0.001$, $n=50$.	39
9.	Valores máximos, mínimos y promedios de las medidas cruzadas discriminantes, expresadas en porcentaje con respecto a la longitud patrón.	41
10.	Clasificación de las piezas óseas analizadas en las especies de <i>Profundulus</i> .	45
11.	Matriz de caracteres osteológicos y morfológicos utilizados para el análisis filogenético.	51
12.	Matriz de distancias cuadráticas de Mahalanobis obtenida del método de superimposición de procrustes.	57
13.	Resultados del análisis de varianza con las medidas de las branquiespinas.	58
14.	Resultados de las pruebas de T por pares de especies para la posición de la boca.	59
15.	Lista de los sitios donde se tomaron los datos ambientales y parámetros físicos-químicos del agua.	64
16.	Valores promedio de las variables ambientales tomadas en los sitios de colecta de las especies.	65

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Mapa de distribución del género <i>Profundulus</i> .	1
2.	Especies del género <i>Profundulus</i> .	3
3.	Relaciones filogenéticas de las especies de <i>Profundulus</i> propuestas por Miller (1955).	7
4.	Áreas de distribución de las especies de <i>Profundulus</i> .	8
5.	Relaciones filogenéticas de las especies de <i>Profundulus</i> propuestas por Doadrio <i>et al.</i> (1999).	11
6.	Medidas tradicionales utilizadas para el análisis morfométrico. Ver números en el texto.	19
7.	Medidas cruzadas utilizadas para el análisis morfométrico. Ver números en el texto.	20
8.	Puntos de anclaje “landmarks” utilizados para el análisis de morfometría geométrica.	23
9.	Medidas tomadas del primer arco branquial de <i>P. hildebrandi</i> , <i>P. labialis</i> y <i>P. punctatus</i> .	24
10.	Gráfica de las dos primeras variables canónicas obtenidas del análisis de discriminantes con las medidas tradicionales.	29

11. Dendrograma de las especies de *Profundulus* obtenido con las medidas tradicionales a partir del método de agrupamiento UPGMA. 30
12. Diagramas de caja de las medidas tradicionales discriminantes en *Profundulus*, mostrando los cuantiles 25, 75 y mediana. Donde, c= *P. candalarius*, g= *P. guatemalensis*, h= *P. hildebrandi*, l= *P. labialis*, o= *P. oaxacae*, p= *P. punctatus*. 33-34
13. Gráfica de las dos primeras variables canónicas obtenidas del análisis de discriminantes con las medidas cruzadas. 37
14. Dendrograma de las especies de *Profundulus* obtenido con las medidas cruzadas a partir del método de agrupamiento UPGMA. 38
15. Diagramas de caja de las medidas cruzadas discriminantes en *Profundulus*, mostrando los cuantiles 25, 75 y mediana. Números corresponden a las medidas, c= *P. candalarius*, g= *P. guatemalensis*, h= *P. hildebrandi*, l= *P. labialis*, o= *P. oaxacae*, p= *P. punctatus*. 42-43
16. Reconstrucción de las formas del cuerpo de las especies de *Profundulus* a partir del método de cuadriláteros contiguos. 44

17.	Estructuras utilizadas para el análisis osteológico de las especies de <i>Profundulus</i> .	45
18.	Estructuras utilizadas para el análisis osteológico de la suspensión mandibular, basipterigios y pterigióforos de las especies de <i>Profundulus</i> .	46
19.	Vómer de las especies de <i>Profundulus</i> .	46
20.	Lacrimonal de las especies de <i>Profundulus</i> .	47
21.	Premaxilar de las especies de <i>Profundulus</i> .	47
22.	Dentario de las especies de <i>Profundulus</i> .	48
23.	Articular de las especies de <i>Profundulus</i> .	48
24.	Mesopterigoides de las especies de <i>Profundulus</i> .	49
25.	Cuadrado de las especies de <i>Profundulus</i> .	49
26.	Interopercular de las especies de <i>Profundulus</i> .	49
27.	Basipterigio de las especies de <i>Profundulus</i> .	50
28.	Pterigióforo de las especies de <i>Profundulus</i> .	50
29.	Cladogramas de las relaciones filogenéticas de las especies de <i>Profundulus</i> obtenido con el método de parsimonia de Wagner.	52

30.	Gráfica de la superimposición procrustes de <i>P. hildebrandi</i> , <i>P. labialis</i> y <i>P. punctatus</i> .	54
31.	Gráfica de las dos primeras variables canónicas obtenidas del análisis de discriminantes con los “partial warps” de la superimposición de procrustes.	55
32.	Gradillas de deformación de las formas de <i>Profundulus</i> sobre las dos primeras variables canónicas del análisis de discriminantes.	56
33.	Dendrograma obtenido a partir de las distancias cuadráticas de Mahalanobis con los “partial warps” de la superimposición de procrustes.	57
34.	Diagramas de caja de las medidas de las branquiespinas, mostrando los cuantiles 25, 75 y mediana. Donde h= <i>P. hildebrandi</i> , l= <i>P. labialis</i> y p= <i>P. punctatus</i> .	58
35.	Diagramas de caja ángulo de la boca, mostrando los cuantiles 25, 75 y mediana; y dibujos de la posición de la boca de <i>P. hildebrandi</i> , <i>P. labialis</i> y <i>P. punctatus</i> .	59
36.	Gráfica de la relación longitud del intestino y la longitud patrón de <i>P. hildebrandi</i> , <i>P. labialis</i> y <i>P. punctatus</i> .	60
37.	Gráfica de la composición de la dieta expresada en proporciones de <i>P. hildebrandi</i> , <i>P. labialis</i> y <i>P. punctatus</i> .	61

INTRODUCCIÓN

La familia Profundulidae forma parte del orden Cyprinodontiformes, se trata de un grupo representativo de la ictiofauna Mesoamericana, su origen se remonta al Plioceno y probablemente hasta el Mioceno. Estos peces se conocen comúnmente como “killifishes”, escamudos o popoyotes, son de tamaño pequeño, en estado adulto miden de 70 a 90 mm de longitud total (LT) y en algunos casos pueden alcanzar hasta 120 mm. Habitan ríos de montaña con altitudes entre 500 a 2250 msnm; aunque algunas especies pueden encontrarse hasta los 300 m de altura. En las regiones con mayor altitud son los únicos peces nativos, ocupando además hábitat muy restringidos. Presentan una distribución que abarca las dos vertientes americanas, en el Pacífico se ubican desde Acapulco, México, hasta el oeste de Honduras, mientras que en el Atlántico se localizan desde del Istmo de Tehuantepec hasta el Río Motagua, Guatemala (Miller, 1955) (Fig. 1).

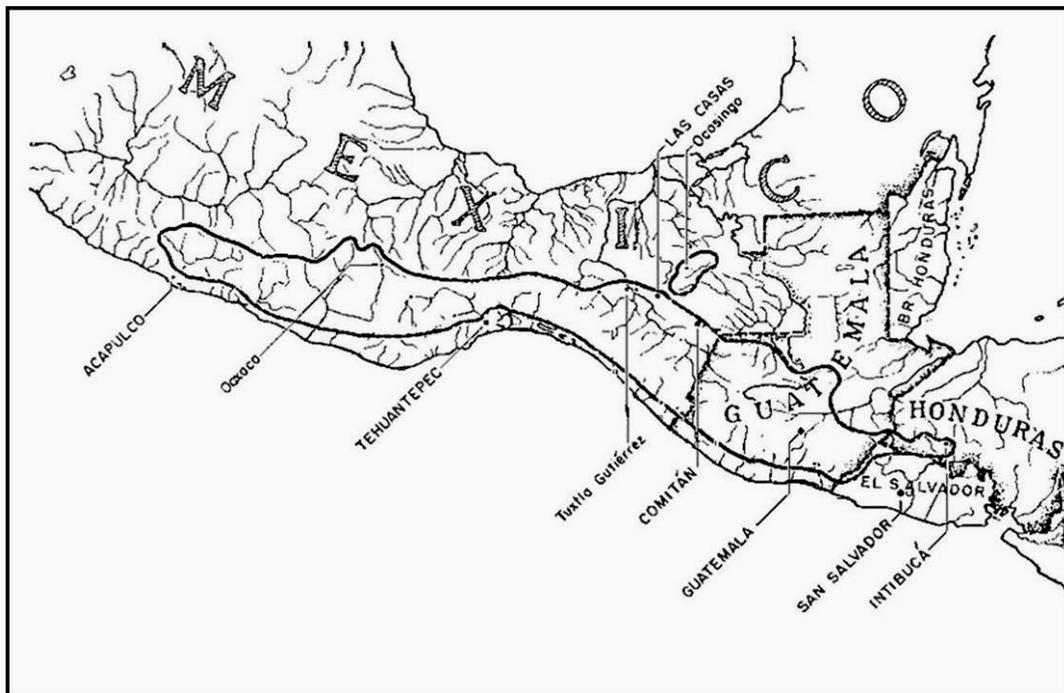


Figura 1. Mapa de distribución del género *Profundulus*.

Hasta 1981, esta familia fue considerada como parte de la familia Cyprinodontidae, sin embargo, Parenti (1981) a través de un estudio osteológico demostró que los ciprinodóntidos debían agruparse en nueve familias: Aplocheilidae, Rivulidae, Profundulidae, Fundulidae, Valenciidae, Poeciliidae, Anablepidae, Goodeidae y Cyprinodontidae; esta clasificación ha sido adoptada y difundida ampliamente en el ámbito ictiológico. Además, ha sido corroborada por el análisis de otros caracteres morfológicos y moleculares (Meyer y Liderad, 1993; Parker, 1997).

La descripción reciente de nuevos taxa y el avance en el conocimiento de algunos grupos de ciprinodontiformes despertó el interés de Costa (1998) para analizar nuevos caracteres osteológicos y reevaluar los caracteres usados en los trabajos previos, con el fin de probar las hipótesis filogenéticas de los ciprinodóntidos. Este estudio se basó en la revisión de la musculatura y osteología de los taxa, así como en características de la línea lateral, los patrones de escamación, color corporal y forma de la cabeza, destacando por su importancia el análisis de las piezas óseas del cráneo como el premaxilar, maxilar, suspensión mandibular, aparato opercular y de las cinturas pélvica y pectoral.

En dicho trabajo se corroboró la monofilia de Profundulidae y del resto de las familias, también se determinó que el grupo hermano es la familia Goodeidae y no son otros ciprinodóntidos como lo consideró Parenti (1981). Esta relación tiene implicaciones biogeográficas interesantes ya que ambas familias muestran un área de distribución disyunta y a su vez complementaria.

Aunque todas las evidencias señalan que Profundulidae presenta características suficientes para ser considerada como familia, Miller et al. (2005) en su reciente revisión taxonómica de los peces dulceacuícolas mexicanos consideró que el género *Profundulus* debe ser asignado a la familia Cyprinodontidae, poniendo en duda la clasificación de los estudios anteriores; también señaló que no hay evidencias suficientes para elevar éste género a nivel de familia, proponiendo la revisión de un mayor número de caracteres, particularmente osteológicos.

El género *Profundulus* ha sido reconocido como el único representante de esta familia, si bien la clasificación taxonómica de éste y las especies han sufrido cambios a través del tiempo. Antes de 1955 se conocían diez especies de *Profundulus* (*P. punctatus*, *P. pachycephalus*, *P. parvipinnis*, *P. oaxacae*, *P. balsanus*, *P. scapularis*, *P. guatemalensis*, *P. labialis*, *P. candalarius* y *P. hildebrandi*). En 1955, Miller consideró que el taxón estaba formado únicamente por cinco especies distribuidas en dos grupos naturales, *punctatus* y *labialis*, el primero constituido por *P. guatemalensis* y *P. punctatus* y el segundo por *P. labialis*, *P. candalarius* y *P. hildebrandi*. (Fig. 2).

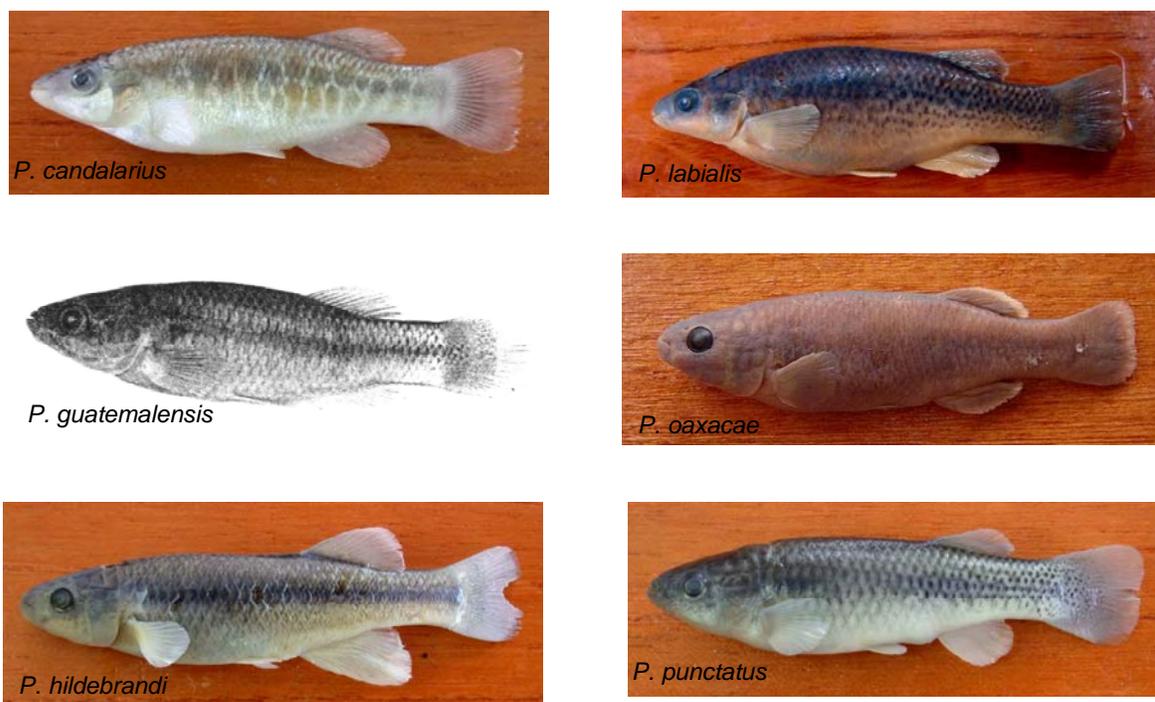


Figura 2. Especies del género *Profundulus*.

Hacia 1999 se determinó que tales grupos correspondían respectivamente a los subgéneros *Profundulus* y *Tlaloc*; el primero quedó conformado por *P. guatemalensis*, *P. punctatus*, *P. oaxacae*, *P. balsanus* y dos especies nuevas aún no descritas; mientras que *Tlaloc* se integró por *P. labialis*, *P. candalarius* y *P. hildebrandi*

(Doadrio et al., 1999a). Finalmente, se sugirió que los subgéneros *Profundulus* y *Tlaloc* deben ser considerados géneros, y que las especies válidas son *P. guatemalensis*, *P. punctatus*, *P. oaxacae*, *P. balsanus*, *Profundulus nov. sp. 1*, *Profundulus nov. sp. 2*, *Tlaloc labialis*, *T. candalarius* y *T. hildebrandi* (Doadrio et al., 1999b).

En una reciente revisión taxonómica (Miller et al., 2005) se propone que el género está compuesto por seis especies, incluyendo a *Profundulus oaxacae* como especie válida, la cual había sido puesta en sinonimia con *P. punctatus*; no obstante, se señala que es necesario revisar más características morfológicas, osteológicas y moleculares que confirmen o refuten esta consideración.

A pesar que la familia Profundulidae es de distribución amplia, prácticamente nada se sabe acerca de su biología básica, como en sus características de reproducción, alimentación, crecimiento, etc., así como de aspectos de su ecología. Esta situación es crítica para algunas especies que tienen una distribución restringida y en ambientes con gran deterioro ambiental, lo cual puede favorecer su rápida disminución poblacional o su extinción. Las especies que enfrentan los mayores problemas ambientales en su hábitat son *P. candalarius* y *P. hildebrandi*, distribuidas en la región de los Altos de Chiapas y *P. oaxacae* ubicada en la región de la Mixteca Oaxaqueña.

Los escasos trabajos publicados están relacionados con aspectos de taxonomía y sistemática, donde se han descrito las especies válidas, se han planteado hipótesis de sus posibles relaciones filogenéticas y los probables eventos históricos que favorecieron su divergencia. Asimismo, se ha propuesto que la variación fenotípica observada en algunas poblaciones puede tener bases genéticas (Miller, 1955; Doadrio et al., 1999a,b).

Las situaciones antes planteadas ponen en evidencia la necesidad de profundizar en aspectos de taxonomía y sistemática del grupo con el fin de determinar o corroborar cuál es la diversidad real, establecer los límites de variación morfológica de

las especies, conocer las relaciones filogenéticas junto con los procesos involucrados y determinar los patrones evolutivos.

Para dar validez a las especies y conocer sus límites de variación, se ha sugerido hacer un análisis morfométrico del género, que incluya las especies ampliamente distribuidas, como *P. punctatus* y *P. labialis*, considerando que en dichas especies pueden existir diferencias morfológicas importantes (Miller, 1955; Doadrio et al., 1999a). De la misma forma, para establecer con mayor exactitud las relaciones filogenéticas, se requiere analizar características morfológicas y osteológicas, las cuales han sido tradicionalmente utilizadas por los taxónomos, puesto que proporcionan información valiosa para proponer los procesos ecológicos y/o históricos que intervinieron en los patrones de divergencia y especiación.

El uso de la morfometría en los estudios ictiológicos ha contribuido de gran manera a resolver problemas taxonómicos, se ha empleado para evaluar la variación morfológica entre poblaciones y separar especies. Históricamente se han utilizado medidas relacionadas con dos ejes del cuerpo (largo y alto); sin embargo, en tiempos recientes se ha propuesto el uso de métodos más sofisticados, como el de cuadriláteros contiguos y la morfometría geométrica, que permiten establecer características discriminantes entre poblaciones o especies y hacer la reconstrucción de la forma del cuerpo de los peces (Rohlf, 1990; Zelditch et al., 2004). Esto último tiene implicaciones importantes, ya que las medidas y las formas pueden ser interpretadas desde el punto de vista de la morfología funcional e incluso para inferir procesos evolutivos (Strauss y Bookstein, 1982; Strauss y Bond, 1990; Wainwright y Reilly, 1994; Zelditch et al., 2004). El reciente refinamiento de las técnicas morfométricas ha renovado el interés de muchos taxónomos por su uso; incluso en la escuela cladista se ha aceptado su aplicación para establecer relaciones filogenéticas (Wiens, 2000; Zelditch et al., 2004).

También, las herramientas estadísticas y metodológicas para analizar los datos morfométricos han avanzado y mejorado notablemente. El uso cada vez más frecuente de técnicas multivariadas ha ayudado en la búsqueda de medidas discriminantes entre

poblaciones o especies, igual que para conocer patrones morfológicos de los organismos o de piezas óseas (Strauss y Bookstein, 1982; Bookstein et al., 1985). Además, cada vez es más habitual y necesaria la construcción de dendrogramas y cladogramas para establecer e interpretar las relaciones de similitud y filogenéticas entre taxa.

Es ampliamente reconocido el valor de los estudios osteológicos en el quehacer taxonómico, no sólo en los peces, sino en casi todos los vertebrados. Los atributos óseos han sido históricamente útiles para definir taxa, proponer hipótesis filogenéticas y procesos evolutivos (Strauss y Bond, 1990). La diversidad de estos trabajos es grande, se pueden encontrar aquellos donde sólo se hace la descripción de esqueletos o algunas estructuras; otros donde el objetivo es buscar atributos cualitativos útiles para separar y reconocer especies; y algunos más que buscan caracteres idóneos para la construcción de filogenias.

Los trabajos osteológicos recientes han sido útiles para entender la relación entre la morfología y el ambiente con la finalidad de interpretar cómo funcionan los organismos en un contexto histórico y ecológico (Wainwright y Reilly, 1994). A través del tiempo se ha documentado la trascendencia que puede tener la segregación trófica en la evolución de algunos grupos de peces, y cómo la morfología puede determinar la conducta alimentaria de los organismos y sus interacciones espaciales y temporales.

La familia *Profundulidae* plantea interesantes problemas taxonómicos, ecológicos y biogeográficos, que pueden ser abordados a través de los estudios morfométricos y osteológicos antes mencionados. Los resultados que se obtengan de los trabajos taxonómicos brindarán nuevas perspectivas de investigación, principalmente encaminadas al abordaje de aspectos biológicos y ecológicos de las especies. Sin duda, toda la información que se pueda generar sobre este grupo de peces será trascendente para el diseño de estrategias de conservación y manejo exitosos, ante las inminentes amenazas ambientales que hay sobre los sistemas acuáticos donde habita.

ANTECEDENTES

El conocimiento biológico de las especies de la familia Profundulidae es muy limitado, los trabajos publicados comprenden las descripciones originales de cada especie, la revisión taxonómica del género realizada por Miller (1955), los estudios de la variación genética del subgénero *Profundulus* y la sistemática molecular de la familia (Doadrio et al., 1999a,b).

La revisión del género (Miller, 1955) es el trabajo más extenso y completo conocido, en el cual se llevó a cabo un análisis de la variación de algunos atributos merísticos (número de vértebras, branquiespinas, escamas en la línea lateral y alrededor del cuerpo, radios en las aletas dorsal, anal y pectorales) entre poblaciones de las diez especies reconocidas hasta ese momento. Este autor determinó que *Profundulus pachycephalus*, *P. parvipinnis*, *P. oaxacae*, *P. balsanus* y *P. scapularis* debían ser consideradas sinónimos de *P. punctatus*; no obstante, reconoció la necesidad de revisar más ejemplares de *P. balsanus*. Definió que el género estaba integrado por cinco especies biológicamente válidas, distribuidas en los grupos punctatus (*Profundulus guatemalensis* y *P. punctatus*) y labialis (*P. candalarius*, *P. labialis* y *P. hildebrandi*) (Fig. 3).

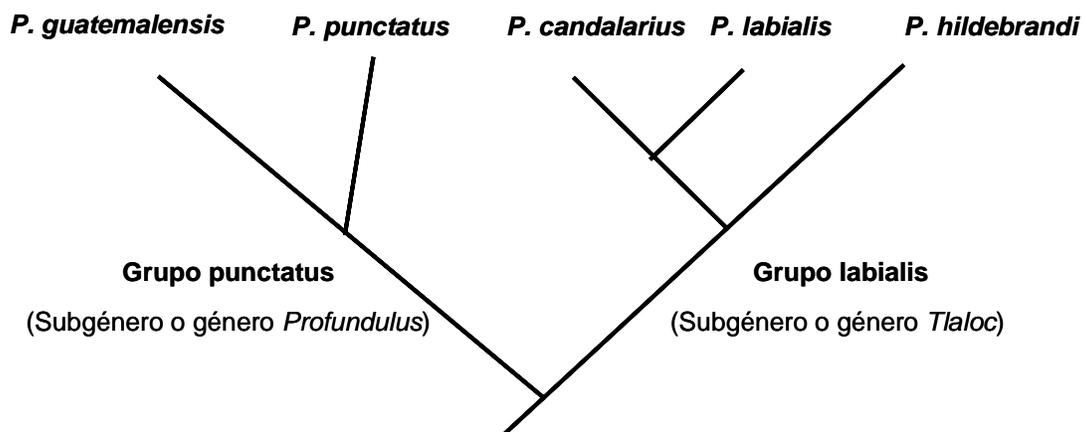


Figura 3. Relaciones filogenéticas de las especies de *Profundulus* propuestas por Miller (1955).

Miller (1955) describió con detalle la distribución de los dos grupos, reportando que las especies de punctatus son formas alopátricas de amplia distribución; así *Profundulus punctatus* se ubica en la vertiente del Pacífico, desde el Río Papagayo en Guerrero, México hasta El Salvador, y en la del Atlántico desde el Río Coatzacoalcos hasta el Río Chiapa en México; dicha especie se caracteriza porque sus poblaciones muestran gran variación morfológica. En cambio, *P. guatemalensis* se distribuye desde los ríos de las tierras altas de Guatemala y El Salvador hasta el oeste de Honduras en la vertiente del Pacífico, mientras que en la del Atlántico habita las partes altas de los ríos Motagua y Negro en Guatemala (Fig. 4).

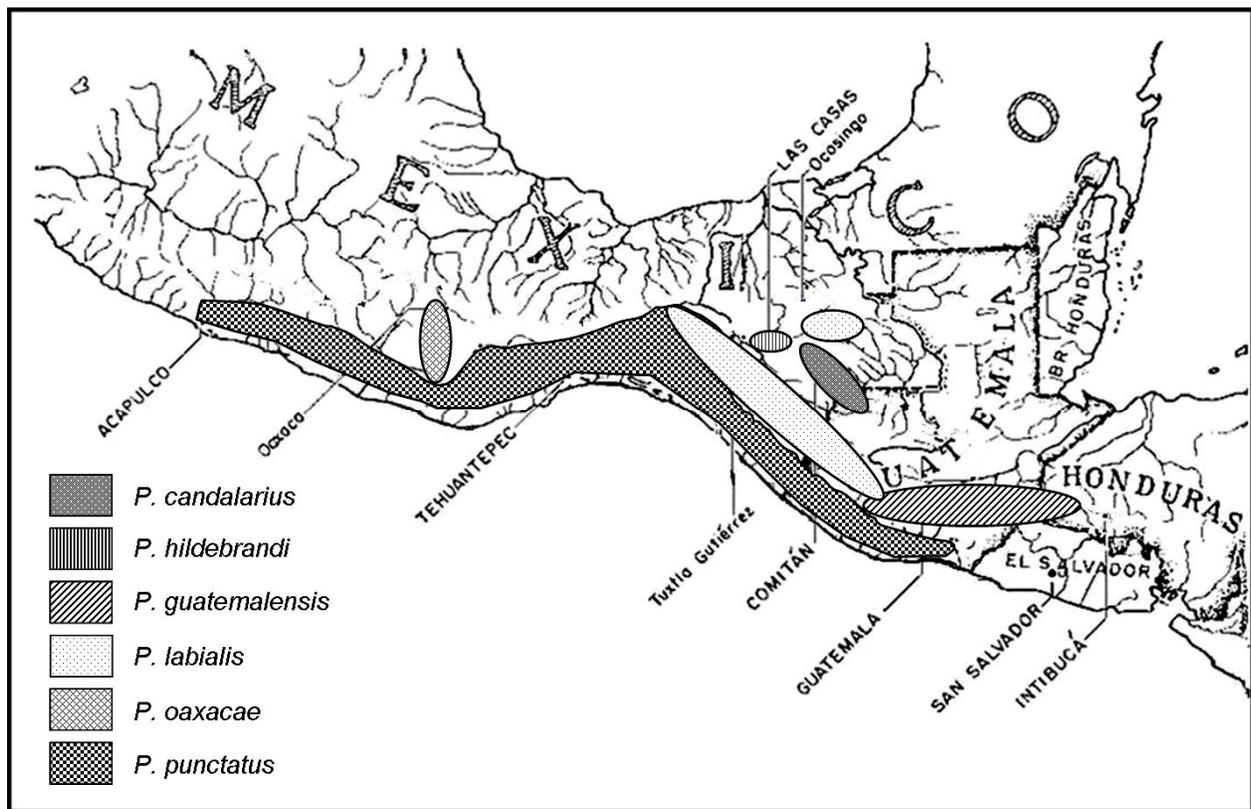


Figura 4. Áreas de distribución de las especies de *Profundulus* (de acuerdo a Miller et al., 2005)

Por su parte, el grupo labialis está confinado a la vertiente Atlántica, siendo *Profundulus labialis* la especie con mayor distribución, además de que presenta una

variabilidad igual o mayor que *P. punctatus*, expresada por la existencia de cuatro entidades biológicas en los ríos de Chiapas. Por su parte, *P. candalarius* sólo se reporta en los ríos Grande de Comitán, Chiapas, México y Candelaria en Guatemala, mientras que *P. hildebrandi* está restringida a la cuenca de San Cristóbal de las Casas, Chiapas (Miller, 1955) (Fig. 4).

El último argumentó que los procesos que dieron origen y causaron la diversificación de las especies del género se encuentran estrechamente relacionados con la intensa actividad hidrológica de la región mesoamericana ocurrida durante el Plioceno y quizá desde el Mioceno. Durante ese tiempo hubo repetidas y considerables fluctuaciones de los niveles de agua que favorecieron el aislamiento geográfico entre poblaciones, permitiendo su diferenciación genética y morfológica; además, consideró que las masas montañosas del sur de Chiapas y oeste de Guatemala, sirvieron como islas de refugio para plantas y animales, entre ellos los peces.

Desde el trabajo de Miller (1955) nada se publicó sobre taxonomía y sistemática de este grupo de peces, y es hasta 1999 cuando Doadrio et al. (1999a,b) y colaboradores realizaron una investigación sobre la variación genética y taxonómica de lo que consideraron el subgénero *Profundulus* (grupo *punctatus*). En ese trabajo se argumentó sobre la necesidad de establecer los límites genéticos entre las especies y determinar sus relaciones filogenéticas para robustecer las hipótesis acerca del tiempo y los patrones involucrados en la diversificación del género. Para esto, analizaron la variación aloenzimática entre poblaciones del subgénero *Profundulus*, encontrando que la plasticidad fenotípica de las poblaciones tenía un sustento genético.

En dicho estudio se estableció que la variación morfológica observada en *P. punctatus* aparentemente está soportada por bases genéticas, debido a que algunas poblaciones mostraron diferencias moleculares importantes y suficientes para ser consideradas taxa independientes. Por ello, *Profundulus oaxacae* fue considerada como una especie con validez taxonómica; también se propuso la existencia de dos especies nuevas no descritas, una de ellas procedente del Istmo de Tehuantepec y la

otra de la región Mixteca Oaxaqueña, igualmente se ubicó a *P. balsanus* como sinónimo de *P. punctatus*. Con estos resultados, el número de especies en el grupo *punctatus* pasaría de dos a cinco (*P. guatemalensis*, *P. punctatus*, *P. oaxacae*, *P. sp. nov. 1* y *P. sp. nov. 2*).

También, establecieron que *P. guatemalensis* y *P. punctatus* no son las especies más primitivas, en su lugar proponen que *P. oaxacae* y *P. sp. nov. 1* de la región Mixteca, deben ser consideradas las precursoras debido a que mostraron los niveles más altos de divergencia genética. No lograron construir un árbol filogenético confiable debido al número limitado de caracteres estudiados. Se corroboró que la edad aproximada del género es del Plioceno y Mioceno, se encontró que la distribución geográfica del subgénero *Profundulus* puede ser consecuencia del levantamiento de las montañas que separan los ríos de las vertientes Pacífica y Atlántica (Doadrio et al., 1999a). En un siguiente trabajo de *Profundulus* (Doadrio et al., 1999b), se propuso la sistemática molecular de la familia con base en la secuenciación de genes mitocondriales y la electroforesis de aloenzimas. Se corroboró la existencia de nueve especies incluidas en dos grupos, definidos ahora como los géneros *Profundulus* y *Tlaloc*. Con respecto a las relaciones filogenéticas se obtuvo que en el género *Tlaloc*, *Tlaloc hildebrandi* es la especie basal, en tanto *T. candalarius* y *T. labialis* constituyen un grupo hermano. Mientras que en el género *Profundulus* el primer clado está conformado por *P. oaxacae*, una especie nueva del río Tehuantepec y *P. punctatus*, y el segundo por *P. guatemalensis* y una especie nueva de la región Mixteca. Las relaciones entre *P. balsanus* y *P. guatemalensis* no fueron satisfactoriamente resueltas (Fig. 5).

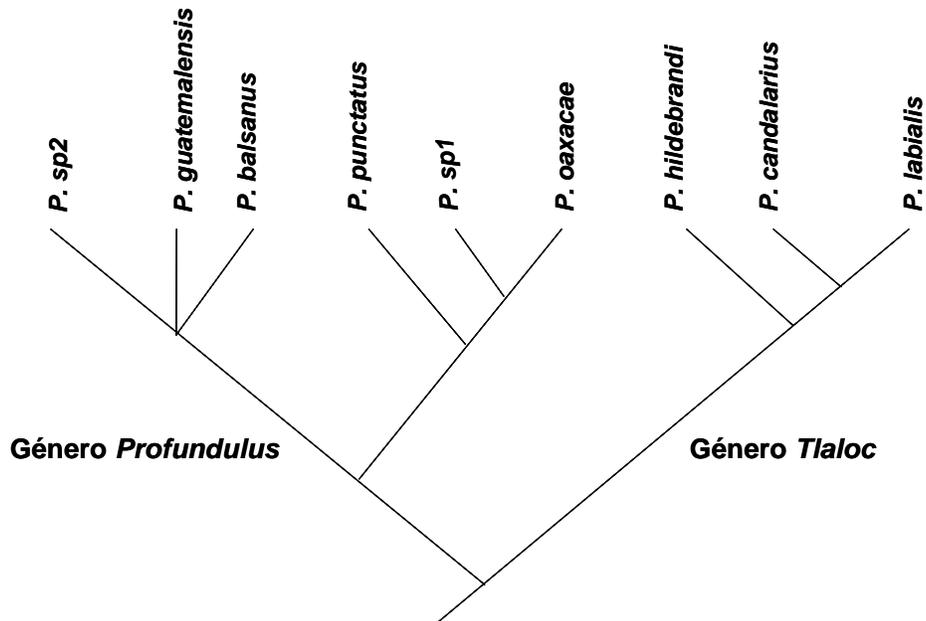


Figura 5. Relaciones filogenéticas de las especies de *Profundulus* propuestas por Doadrio et al. (1999).

Miller et al. (2005), en su libro sobre peces dulceacuícolas mexicanos, consideraron que no hay evidencias suficientes para validar a la familia Profundulidae, por lo que coloca al género *Profundulus* como miembro de la familia Cyprinodontidae. Del mismo modo rescatan de la sinonimia a *P. oaxacae*, antes reconocido como *P. punctatus*. Su distribución se limita a la vertiente del Pacífico, en las partes altas de la cuenca del Río Verde en Oaxaca. De esta manera, actualmente se reconocen seis especies válidas para el género.

Es evidente que la problemática taxonómica de *Profundulus* aún está lejos de ser resuelta, por lo que se ha hecho un llamado al uso de herramientas nuevas para determinar el número real de especies y sus límites de variación morfológica, así como sus relaciones de parentesco. Entre las sugerencias destacan efectuar análisis morfométricos y osteológicos de las especies, mismas que han sido de enorme utilidad desde hace mucho tiempo en ictiología. Con el desarrollo de nuevos métodos estadísticos y de programas computacionales, este tipo de estudios se han visto

beneficiados, brindando nuevas perspectivas de investigación, como lo demuestran los trabajos desarrollados con diversos grupos ícticos.

Existen trabajos con peces mexicanos donde los datos morfométricos y osteológicos se han analizado a través de técnicas estadísticas modernas, con el objetivo de establecer los límites y patrones de variación intra e interespecífica. Como ejemplo se pueden citar los realizados con *Notropis sallaei* (Chernoff y Miller, 1981) (*Aztecula sensu* Miller et al., 2005), *Gambusia yucatanana* (Greenfield, 1985), *Lampetra* (Lyons et al., 1996), *Astyanax* (Paulo, 1994; Schmitter-Soto, 1998) y *Eugerres* (González-Acosta, 2005), en los cuales se hicieron análisis de la variación morfológica de poblaciones geográficamente aisladas con el objetivo de precisar su estatus taxonómico. Otro tipo de aplicaciones tiene que ver con la descripción de especies, como la realizada con *Allodontichthys polylepis* (Rauchenberger, 1988) y *Chirostoma contrerasi* (Barbour, 2002), donde a partir de la técnica de cuadriláteros contiguos (Strauss y Bookstein, 1982) y estadística multivariada se encontraron medidas discriminantes y diagnósticas para cada una de ellas. El establecimiento de las relaciones filogenéticas y de similitud se ha hecho también con datos morfométricos y osteológicos, como lo ejemplifica el trabajo realizado con especies del género *Algansea* (Jensen y Barbour, 1981).

Recientemente, los atributos morfológicos y osteológicos han cobrado valor para explicar la diversificación de algunos grupos de peces a partir de interacciones ecológicas. En esta perspectiva se considera que los peces pueden presentar modificaciones morfológicas y tróficas que se interpretan como características importantes para reducir la competencia por los recursos (hábitat y alimento) (Schoener, 1974; Gatz, 1979). En peces mexicanos se pueden mencionar los trabajos realizados con las especies de *Chirostoma* (*Mendía sensu* Miller et al., 2005), donde a partir del análisis morfométrico de estructuras relacionadas con la alimentación y la forma del cuerpo se busca explicar la convivencia simpátrica de algunas especies y sus implicaciones evolutivas (Rodríguez-Ruiz y Granado-Lorencio, 1987, 1988; González, 2001; Soria-Barreto y Paulo-Maya 2005). En este mismo sentido también se ha utilizado

el método de morfometría geométrica para analizar algunas especies del género *Poecilia* (Hankison et al., 2006).

Además, los caracteres morfológicos han documentado la plasticidad fenotípica de algunas especies de peces que les facilitan su adaptación a condiciones ambientales cambiantes. Los cíclidos son otro grupo de peces que tradicionalmente ha servido para ejemplificar la diversificación a partir del polimorfismo trófico. Entre las especies mexicanas que han servido de evidencia están *Herichthys cyanoguttatum* (Sage y Selander, 1975; Kornfield et al., 1982), *Herichthys minckleyi* (Swanson et al., 2003) y los géneros *Astatheros*, '*Cichlasoma*', *Herichthys*, *Paraneetroplus*, *Paratheraps*, *Petenia* y *Thorichthys* (Husley y García de León, 2005).

A pesar de que existen grandes avances metodológicos y analíticos en ictiología, aún existen múltiples grupos que han sido poco estudiados, como es el caso del género *Profundulus*, el que por sus características biológicas, ecológicas, evolutivas y biogeográficas representa una excelente oportunidad para emplear estas nuevas herramientas.

JUSTIFICACIÓN

En los trabajos publicados sobre la familia Profundulidae se denota que aún quedan muchas dudas y problemas taxonómicos por resolver. Uno de los más importantes es el desconocimiento acerca del número de especies y si éstas deben ser integradas en los grupos *punctatus* y *labialis*, descritos por Miller (1955), o en los subgéneros o géneros *Profundulus* y *Tlaloc*, que aunque antiguos fueron retomados por Doadrio et al. (1999a,b). Para resolver estos aspectos se hace necesario efectuar un análisis morfológico detallado que complemente los resultados moleculares; asimismo, es indispensable conocer la variación presente entre las diversas poblaciones, con énfasis en las de *P. punctatus* y *P. labialis*, que son las especies de mayor distribución y gran variación fenotípica, en las que además se cree pueden estar incluidas formas desconocidas. También, se deben incluir poblaciones de *P. balsanus*, ya que en los estudios previos se han revisado pocos ejemplares y existe la posibilidad de que pueda ser una especie válida y no sinónimo de *P. punctatus*.

Otro aspecto no resuelto es el establecimiento de las relaciones filogenéticas intraespecíficas, lo cual resulta lógico si se considera que no se ha llegado a establecer la diversidad específica dentro del género. Hasta el momento sólo se sabe de la existencia de los grupos *punctatus* y *labialis* (Miller, 1955). El primer grupo se considera representado por dos especies hermanas, *P. punctatus* y *P. guatemalensis*, las cuales son ancestros de las especies del segundo grupo, donde la especie basal es *P. hildebrandi*, en tanto que *P. labialis* y *P. candalarius* son las más recientes. No obstante, los trabajos de Doadrio et al. (1999a,b) ponen en tela de juicio las relaciones taxonómicas, dada la existencia de dos formas nuevas, además de la validez de *P. oaxacae* dentro del grupo *punctatus*.

En sus trabajos, tanto Miller (1955) como Doadrio et al. (1999a,b), han reconocido las limitaciones de algunos de sus resultados y hacen referencia a la necesidad de revisar y analizar más caracteres que corroboren o refuten sus hipótesis. En casos semejantes, los atributos empleados con mayor frecuencia para resolver

estos problemas son los osteológicos, dado que brindan la posibilidad de construir hipótesis filogenéticas, o bien suponer el tipo de procesos ecológicos y/o históricos que permitieron la diversificación de los taxa.

Por otra parte, resulta indispensable avanzar en el conocimiento taxonómico de la familia Profundulidae, partiendo del hecho de que el hábitat de algunas especies o poblaciones se encuentra en continuo deterioro, principalmente debido a las actividades antropogénicas, tal es el caso de *P. hildebrandi*, considerada en peligro de extinción (SEMARNAT, 2002) y el de algunas poblaciones de *P. oaxacae*. También se ha demostrado que algunas especies, como *Profundulus labialis*, puede ser usadas como indicadores de ambientes de buena calidad, ya que su presencia se relaciona con ambientes poco alterados, con buena calidad de agua y vegetación riparia abundante.

Desde el punto de vista biogeográfico, los estudios taxonómicos de *Profundulus* pueden ayudar a explicar los patrones y procesos de diversificación de otros grupos de peces, como los cíclidos y pecílidos, debido a que es uno de los taxa más antiguos y con mayor distribución en Mesoamérica, particularmente en el sur y sureste de México.

Es importante señalar que los trabajos de investigación sobre este taxón, cualquiera que sea su índole, deben llevarse a cabo en corto plazo, de lo contrario se estará enfrentando el problema generalizado en México y en el planeta, de la desaparición de la diversidad biológica, ahora con un grupo de peces representativo de Mesoamérica.

HIPÓTESIS

La enorme variación morfológica que poseen los componentes del género *Profundulus* ha provocado imprecisión para establecer el número de especies que lo conforman, así como de sus relaciones de parentesco, lo que ha generado cambios taxonómicos y sistemáticos constantes. Por ello, se espera que los atributos morfométricos y osteológicos manifiesten diferencias importantes entre las especies, que permitirán establecer características discriminantes, determinar patrones morfológicos y establecer sus relaciones filogenéticas.

OBJETIVO GENERAL

Analizar la variación morfológica y osteológica del género *Profundulus*, para establecer la identidad taxonómica de las especies del género, sus relaciones de similitud y filogenéticas. Asimismo, determinar sus posibles implicaciones en los procesos de diversificación y evolución del grupo.

OBJETIVO PARTICULARES

1. Conocer y comparar los patrones de variación morfológica de las especies del género *Profundulus*.
2. Buscar las características morfométricas discriminantes entre las especies del género *Profundulus*.
3. Establecer las relaciones de similitud morfológica entre las especies del género *Profundulus*.
4. Comparar las piezas óseas y buscar características cualitativas discriminantes entre las especies del género *Profundulus*.
5. Establecer las relaciones filogenéticas del género *Profundulus* a partir de los caracteres osteológicos.
6. Analizar desde el punto de vista ecomorfológico la importancia de las diferencias morfológicas y osteológicas, así como su importancia en la diversificación y evolución del grupo.

MATERIAL Y MÉTODOS

Obtención del material biológico

El material biológico se obtuvo a través de colectas en localidades registradas en trabajos previos y visitas a colecciones nacionales e internacionales. Las colecciones de las cuales se estudiaron ejemplares fueron la Colección Nacional de Peces (CNP-UNAM), Colección Nacional de Peces Dulceacuícolas Mexicanos (ENCB-IPN), Museo de Zoología de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (MZ-UNICACH), Colección de Peces de El Colegio de la Frontera Sur, San Cristóbal (ECOSC), University Michigan Museum of Zoology (UMMZ) y el Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, IPN, Oaxaca (CIDOAX). La determinación de los organismos fue corroborada con las claves de Álvarez (1970), Miller (1955) y Miller et al. (2005).

Para la captura de los organismos se utilizaron chinchorros charaleros de 2 m de largo, 1 m de altura y luz de malla de 5 mm, así como atarrayas de 2 m de altura y 10 mm de luz de malla. Los ejemplares fueron fijados en formalina al 10% para ser transportados al laboratorio, posteriormente se lavaron con agua corriente y se preservaron definitivamente en alcohol al 70%. La determinación se llevó a cabo con el uso de las claves de Miller (1955), Álvarez (1970) y Miller et al. (2005). Todo el material colectado fue depositado en la Colección de Peces del Colegio de la Frontera Sur, San Cristóbal (ECOSC).

Los números de catálogo y la cantidad de ejemplares empleados, señalados entre paréntesis, son: *Profundulus candalarius* ECOSC 3997 (19), 3998 (10); MZ-UNICACH 66 (8), 14 (13); *P. hildebrandi* ECOSC 2820 (3), 2821 (1), 3824 (2), 3825 (1), 3826 (4), 3827 (10), 3828 (8), 3829 (3), 3830 (2), 3831 (1), 3832 (1), 3834 (1), 3835 (2), 3838 (3), 3839 (1), 3924 (2), 3925 (2), 3926 (2), 4007 (1); *P. labialis* ECOSC 3927 (39), 3991 (11); *P. punctatus* ECOSC 3985 (20); ENCB-IPN 5599 (10), 5601 (10); CNP 9139 (10); *P. guatemalensis* UMMZ 775 (9), 812 (2), 3949 (9), 6681 (7), 6683 (8), 6685 (1), 6691 (9), 6701 (2), 8450 (3); *P. oaxacae* CIDOAX 186 (10), 187 (20), 188 (20).

Análisis morfométrico

Se utilizaron 50 ejemplares adultos hembras y machos por especie (300 en total), con tallas de 40 a 100 mm de longitud patrón (LP). Con el empleo de un vernier electrónico con una precisión de 0.01 mm se tomaron de cada ejemplar 11 de las medidas “tradicionales” propuestas por Hubbs y Lagler (1958): 1. Longitud cefálica, 2. Longitud de la boca, 3. Diámetro ocular, 4. Distancia interorbital, 5. Distancia predorsal, 6. Altura máxima del cuerpo, 7. Altura del pedúnculo caudal, 8. Ancho de la cabeza, 9. Distancia interpectoral, 10. Ancho de la boca y 11. Longitud del hocico (Fig. 6).

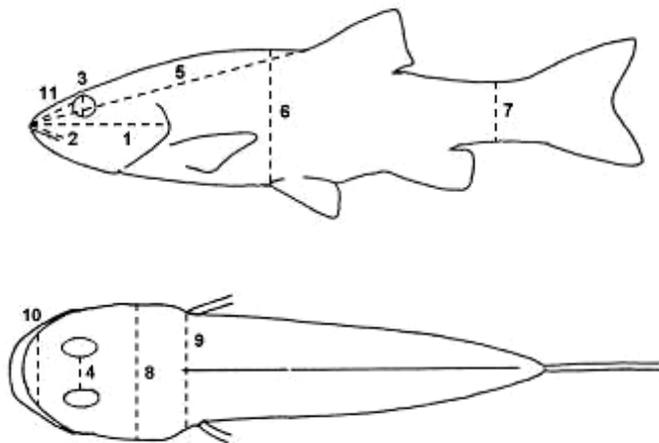


Figura 6. Medidas tradicionales utilizadas para el análisis morfométrico. Ver números en el texto.

De la misma manera se tomaron 21 medidas, siguiendo la metodología de cuadriláteros contiguos propuesta por Strauss y Bookstein (1982): 1. Margen anterior del premaxilar a la articulación del cleitro, 2. Articulación del cleitro al origen de la aleta pélvica, 3. Margen anterior del premaxilar al origen de la aleta pélvica, 4. Cleitro al occipucio, 5. Margen anterior del premaxilar al occipucio, 6. Occipucio al origen de la aleta pélvica, 7. Origen de la aleta pélvica al origen de la aleta anal, 8. Occipucio al origen de la aleta anal, 9. Origen de la aleta pélvica al origen de la aleta dorsal, 10. Occipucio al origen de la aleta dorsal, 11. Origen de la aleta dorsal al origen de la aleta anal, 12. Base de la aleta anal, 13. Origen de la aleta dorsal a la inserción posterior de la aleta anal, 14. Origen de la aleta anal a la inserción posterior de la aleta dorsal, 15.

Base de la aleta dorsal, 16. Inserción posterior de la aleta dorsal a la inserción posterior de la aleta anal, 17. Inserción posterior de la aleta anal al radio inferior de la aleta caudal, 18. Inserción posterior de la aleta dorsal al radio ventral de la aleta caudal, 19. Inserción posterior de la aleta anal al radio dorsal de la aleta caudal, 20. Inserción posterior de la aleta dorsal al radio dorsal de la aleta caudal, 21. Radio dorsal de la aleta caudal al radio ventral de la aleta caudal (Fig. 7).

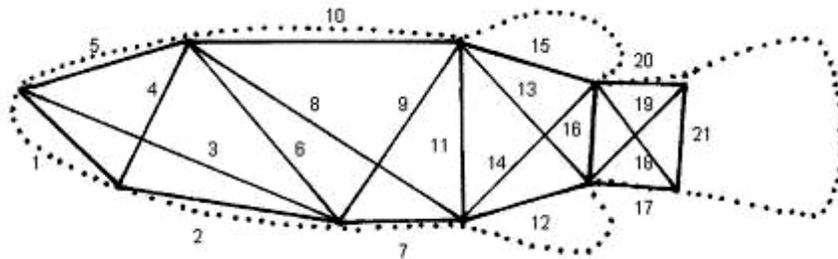


Figura 7. Medidas cruzadas utilizadas para el análisis morfométrico. Ver números en el texto.

Las 32 medidas fueron tomadas del lado izquierdo, y con el propósito de reducir el factor alométrico causado por la diferencia en el tamaño de los ejemplares (Crisci y López Armengol, 1983) se expresaron en porcentaje con respecto a la longitud patrón. Posteriormente, todas las medidas fueron transformadas a logaritmos base diez, y por separado (medidas lineales y cruzadas) se usaron en los análisis de variables canónicas (AVC) (StatSofst, 1995).

Con esto se determinó si las medidas morfológicas utilizadas son eficientes para clasificar a los individuos, separar a las especies y conocer patrones de variación morfológica. A partir de la matriz de coeficientes obtenida de los AVC se encontró cuales son las medidas más importantes para predecir los grupos, mismas que se identificaron por sobrepasar el valor absoluto 0.3 (Catena et al., 2003). A ellas se les aplicó un análisis de varianza (ANVA), con un nivel de significancia de 0.05 y la prueba de DHS (Diferencia Honestamente Significativa) de Tukey, (SPSS, 2002) con la finalidad de confirmar la presencia de diferencias interespecíficas estadísticamente

significativas. Posteriormente, con estas medidas discriminantes expresadas en proporciones se construyeron diagramas de caja, donde se graficó la media y desviación estándar (SPSS, 2002).

Para establecer las relaciones de similitud morfológica y las diferencias entre las especies se hizo un análisis de agrupamiento empleando las matrices de distancia cuadrática de Mahalanobis obtenidas de los AVC y el método de ligamiento promedio (UPGMA) (StatSoft, 1995).

Con las medidas cruzadas expresadas en proporciones y transformadas a logaritmo base diez se hizo la reconstrucción de las formas del cuerpo de las seis especies siguiendo la metodología de los cuadriláteros contiguos de Strauss y Bookstein (1982).

Análisis osteológico

Para el análisis osteológico se seleccionaron diez ejemplares sexualmente maduros (hembras y machos) de cada especie, con excepción de *Profundulus guatemalensis*, de la cual sólo se dispuso de dos organismos. Los números de catálogo y de ejemplares empleados, señalados entre paréntesis, son: *Profundulus candalarius* ECOSC 3997 (6), 3998 (4); *P. guatemalensis* UMMZ 166681 (2); *P. hildebrandi* ECOSC 2820 (1), 2821 (1), 4007 (8); *P. labialis* ECOSC 3927 (10); *P. oaxacae* CID-OAX 187 (5), 188 (5); *P. punctatus* ECOSC 3985 (10).

Los organismos fueron descamados y eviscerados, para posteriormente ser procesados siguiendo la técnica de transparentación y tinción de Hollister (1934). Con el uso de una lupa estereoscópica marca Zeiss se realizó una revisión general del esqueleto para conocer la variación intraespecífica y seleccionar que estructuras serían posteriormente analizadas.

Se desarticularon 16 piezas óseas del lado izquierdo, 14 ubicadas en el cráneo (lacrimal, premaxilar, maxilar, dentario, articular, autopalatino, mesopterigoide,

cuadrado, simpléctico, hiomandibular, preopercular, opercular, interopercular, subopercular y vómer) y una de la cintura pélvica (basipterigio). Además se observaron algunas características de vértebras, radios y espinas. De cada pieza se realizaron dibujos con el empleo de una cámara clara Zeiss y se analizó su variación intraespecífica para buscar atributos cualitativos discriminantes entre las especies.

Análisis filogenético

A partir de las diferencias osteológicas observadas en el presente estudio y algunas morfológicas mencionadas por Miller (1955) se realizó el análisis filogenético de las seis especies siguiendo la metodología cladista. Se empleó el paquete Phylip (versión 3.65; Felsenstein, 2004), con los programas Clique y Mix con el método de parsimonia de Wagner. Los caracteres fueron codificados y polarizados utilizando un grupo externo hipotético, que se construyó a partir de las características publicadas en los estudios de Parenti (1981) y Costa (1998), donde los caracteres ancestrales fueron codificados con 0 y los derivados con 1.

Análisis ecomorfológico

De los patrones morfológicos encontrados en los análisis de discriminantes, se seleccionaron aquellas especies representativas de cada uno de ellos. Estos se analizaron desde una perspectiva ecomorfológica, con el objetivo de establecer si existe alguna relación de la forma del cuerpo y estructuras alimentarias con el ambiente y el tipo de dieta. Para esto se hicieron los análisis de morfometría geométrica, morfometría de estructuras anatómicas relacionadas con la alimentación y de la dieta.

Morfometría geométrica

Se tomaron fotografías de 20 individuos de cada especie (hembras y machos adultos, lado izquierdo) con el empleo de una cámara digital (Sony DSC-S40), en cada fotografía se digitalizaron 17 puntos homólogos de anclaje ("landmarks") (Fig. 8), representados en coordenadas (x, y), obteniéndose una matriz de coordenadas para cada especie (TPSDig2 versión 2.05).

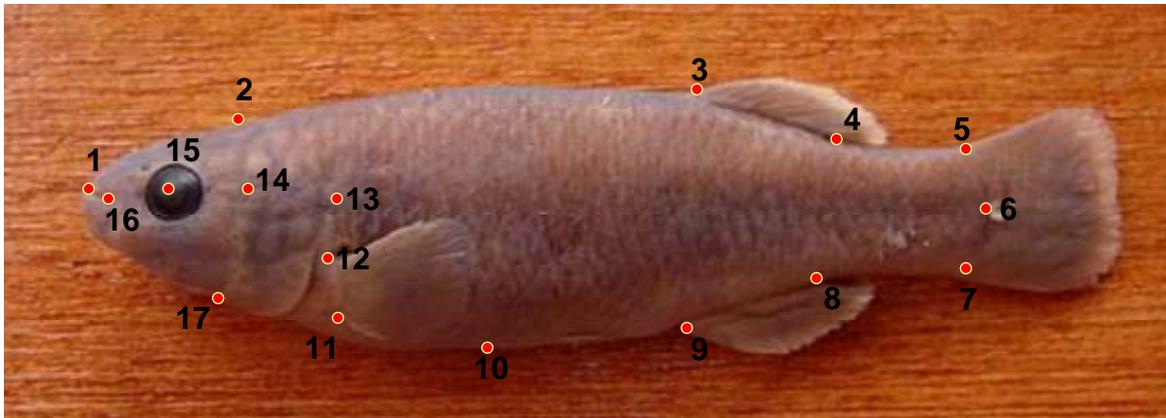


Figura 8. Puntos de anclaje “landmarks” utilizados para el análisis de morfometría geométrica.

Los puntos de anclaje son: 1. Punta de la maxila superior, 2. Punta posterior de la cresta occipital, 3. Inserción anterior de la aleta dorsal, 4. Inserción posterior de la aleta dorsal, 5. Inserción dorsal de la aleta caudal, 6. Inserción media de la aleta caudal, 7. Inserción ventral de la aleta caudal, 8. inserción posterior de la aleta anal, 9. Inserción anterior de la aleta anal, 10. Inserción de la aleta pélvica, 11. Inserción ventral de la aleta pectoral, 12. Inserción dorsal de la aleta pectoral, 13. Borde dorsal del opérculo, 14. Borde dorsal del preopérculo, 15. Punto medio del ojo, 16. Comisura de la boca, 17. Margen anterior del cleitro.

Después, para remover las diferencias en tamaño, orientación y posición de los individuos se hizo la superimposición de las coordenadas a través del análisis generalizado de Procrustes. Así mismo, se transformaron las coordenadas originales en variables de forma, para generar una configuración de consenso por especie (CoordGen6f, IMP; Sheets) (Rohlf y Slice, 1990; Rohlf, 1999).

Con las configuraciones de consenso se obtuvieron los “partial warps”, se visualizó la deformación de las formas (“thin plate spline”) y se hizo un análisis de variables canónicas (CVAGen6m, IMP). A partir del ACV se generaron las distancias cuadráticas de Mahalanobis entre los centroides de los grupos para estimar las diferencias entre las formas usando la T^2 de Hotelling con el ajuste de Bonferroni (Past

versión 1.66; Hammer et al., 2007). Con la matriz de distancia de Mahalanobis se hizo un dendrograma utilizando el método de ligamiento UPGMA para establecer las relaciones de similitud entre las formas (Rohlf y Slice, 1990; Rohlf, 1999; StatSoft, 1995).

Morfometría de las branquiespinas

Se extrajo el primer arco branquial de 10 individuos de cada especie, se tiñeron con una solución de hidróxido de potasio al 3% y alizarina. Posteriormente con una cámara clara se hicieron dibujos de cada uno, con su respectiva escala. Los dibujos fueron escaneados para posteriormente ser digitalizados. De las 10 primeras branquiespinas de la rama inferior se tomaron las medidas de ancho, alto y espacio interbranquial (Fig. 9) (TPSDig2 versión 2.05; Rohlf, 2004).

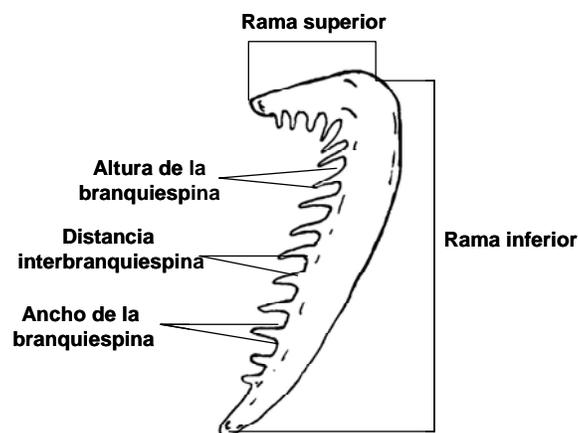


Figura 9. Medidas tomadas del primer arco branquial de *P. hildebrandi*, *P. labialis* y *P. punctatus*.

Cada medida fue expresada en porcentaje con respecto a la longitud cefálica y se obtuvo un promedio de cada medida por individuo. Los promedios fueron transformados a logaritmo base diez y posteriormente comparados por medio de un análisis de varianza (ANVA) y una prueba de Tukey para establecer diferencias significativas entre las especies (SPSS, 2002).

Posición de la boca

A partir de las imágenes utilizadas para el análisis de morfometría geométrica se determinó la posición de la boca de 20 individuos. Esto se hizo midiendo el ángulo formado por la línea horizontal que pasa por la comisura de la boca y el punto medio de la inserción de la aleta caudal, y la línea que va del punto anterior de la órbita ocular al punto anterior de la maxila superior (Winemiller, 1991) (TPSDig2 versión 2.05). Más tarde, los valores se transformaron a logaritmo base diez y se compararon por pares con la prueba de T para muestras independientes (SPSS, 2002).

Análisis de la dieta

Se seleccionaron 20 individuos de cada especie, de aproximadamente la misma talla, y se les extrajo el aparato digestivo. Con un vernier electrónico de precisión (0.01 mm) se tomó la longitud patrón del organismo y la longitud total del estomago-intestino, posteriormente estos valores fueron transformados a logaritmo base diez. Los cuales fueron graficados para observar la relación longitud patrón y longitud del intestino por especie (SPSS, 2002).

El análisis del contenido estomacal, se realizó del estómago y los dos tercios anteriores del intestino, se utilizó el método de porcentaje de composición en número (que expresa el porcentaje de cada artículo alimentario con respecto a toda la dieta) (Hyslop, 1980; Wootton, 1990). Los componentes alimentarios se clasificaron en cinco categorías y su determinación taxonómica se llevó a cabo a nivel de orden.

VARIABLES AMBIENTALES Y HÁBITAT

Se realizó una breve descripción de los hábitat de las especies a partir de datos tomados en los sitios de colecta, los cuales fueron: oxígeno disuelto, conductividad, salinidad, pH, temperatura, velocidad de corriente, tipo de sustrato, profundidad, anchura del río y presencia de vegetación ribereña y sumergida. Los parámetros relacionados con la calidad del agua se tomaron con un conductímetro y potenciómetro portátiles marca Hach (modelo sesion5 y sesion1 respectivamente) y un flujómetro

marca Flowatch. Además, esta información fue complementada con datos previamente publicados (Miller, 1950, 1955; Miller et al., 2005; Velázquez-Velázquez, y Schmitter-Soto, 2004).

RESULTADOS

Análisis morfométrico

La longitud patrón promedio de los ejemplares utilizados para este análisis osciló entre los 52 y 69 mm, siendo *P. candalarius* la especie con los individuos más pequeños, seguido de *P. guatemalensis*, *P. oaxacae*, *P. punctatus*, *P. labialis* y *P. hildebrandi* (Cuadro 1). A pesar de que existieron diferencias entre las tallas promedio de los ejemplares, todos fueron sexualmente maduros, por lo que se consideraron adultos.

Cuadro 1. Valores máximos, mínimos y promedio de longitud patrón de los ejemplares de *Profundulus* utilizados en el análisis morfométrico (mm).

	<i>P.</i> <i>candalarius</i>	<i>P.</i> <i>hildebrandi</i>	<i>P.</i> <i>guatemalensis</i>	<i>P.</i> <i>labialis</i>	<i>P.</i> <i>oaxacae</i>	<i>P.</i> <i>punctatus</i>
Máximo	68.03	99.08	75.51	85.24	78.46	74.58
Mínimo	41.14	48.14	43.40	50.78	42.33	46.98
Promedio	52.01	69.17	56.60	63.46	59.11	60.22

Medidas tradicionales

A partir del análisis de discriminantes con las medidas tradicionales se encontró que las dos primeras variables canónicas (AVC) explicaron el 86% del total de la variación entre las especies (I=54% y II=32%), estos ejes son estadísticamente diferentes (Lambda de Wilk's=0.00862, $F_{(55,1318)}=42.967$, $p<0.0000$). La matriz de clasificación mostró que el 87% de los organismos estuvo correctamente asignado a la especie correspondiente (*P. candalarius* 80%, *P. guatemalensis* 82%, *P. hildebrandi* 100%, *P. labialis* 90%, *P. oaxacae* 86% y *P. punctatus* 84%).

En la matriz de coeficientes del AVC aparece que las medidas más importantes para la separación de las especies en la primera variable canónica son: 11. Longitud del hocico (0.482), 3. Diámetro ocular (0.456), 6. Altura máxima

del cuerpo (0.319), 8. Ancho de la cabeza (-0.533) y 4. Distancia interorbital (-0.667); mientras que en la segunda variable fueron: 7. Altura del pedúnculo caudal (0.434), 8. Ancho de la cabeza (0.394), 6. Altura máxima del cuerpo (0.359), 1. Longitud cefálica (-0.357), 2. Longitud de la boca (-0.411) y 10. Ancho de la boca (-0.423) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Matriz de coeficientes del análisis de discriminantes (AVC) a partir de las medidas tradicionales. En negritas se señalan los eigenvalores de las medidas más importantes.

MEDIDA	VARIABLE CANÓNICA I	VARIABLE CANÓNICA II
1. Longitud cefálica	-0.167	-0.357
2. Longitud de la boca	-0.158	-0.411
3. Diámetro ocular	0.456	0.022
4. Distancia interorbital	-0.667	0.28
5. Distancia predorsal	0.229	-0.182
6. Altura máxima del cuerpo	0.319	0.36
7. Altura del pedúnculo caudal	-0.015	0.434
8. Ancho de la cabeza	-0.533	0.394
9. Distancia interpectoral	-0.189	0.055
10. Ancho de la boca	0.001	-0.423
11. Longitud del hocico	0.482	-0.255

En la representación gráfica de las dos primeras variables se observó que en el extremo positivo de la primera *P. candalarius* y *P. labialis* poseen los valores más altos de altura máxima del cuerpo, altura del pedúnculo caudal y diámetro ocular, y los menores del ancho de la cabeza y distancia interorbital; hacia la región negativa se encuentran las especies con los valores contrarios, *P. hildebrandi*, *P. oaxacae*, *P. guatemalensis*, *P. punctatus* respectivamente. Por otra parte, en la región positiva de la segunda variable se observa básicamente a todos los organismos de *P. punctatus* y *P. labialis* con los valores más grandes en altura máxima del cuerpo y ancho de la cabeza, así como los valores más pequeños de longitud cefálica, ancho y longitud de la boca, en tanto que hacia la parte negativa se ubican las especies con los valores inversos, *P. guatemalensis*, *P. candalarius*, *P. oaxacae* y *P. hildebrandi*. (Fig. 10).

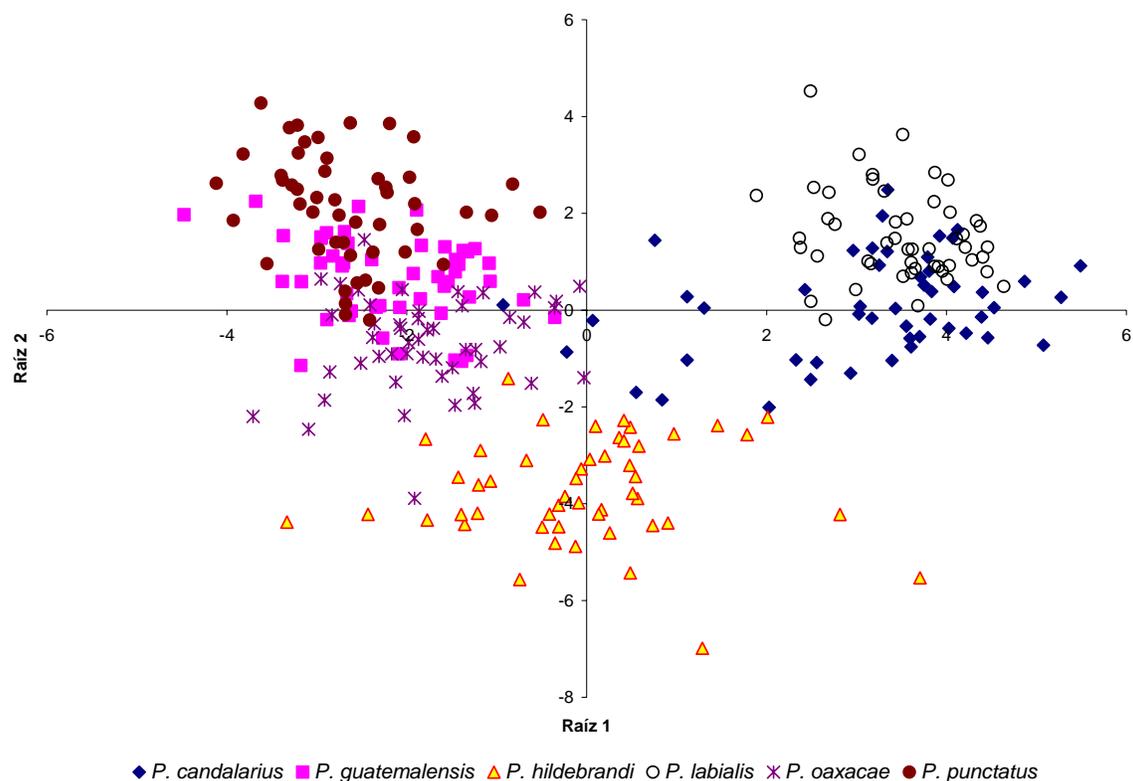


Figura 10. Gráfica de las dos primeras variables canónicas obtenidas del análisis de discriminantes con las medidas tradicionales.

A partir de las distancias cuadráticas de Mahalanobis se encontró que las diferencias entre las seis especies son significativas ($p < 0.0001$) (Cuadro 3). Mientras que las relaciones de similitud mostraron que existen dos grupos principales, uno conformado por *P. labialis* y *P. candalarius*, y otro en donde las especies más parecidas son *P. punctatus* y *P. guatemalensis*, que se unen posteriormente a *P. oaxaca* y *P. hildebrandi* en este orden (Fig. 11).

Cuadro 3. Matriz de distancias cuadráticas de Mahalanobis de las medidas tradicionales.

	<i>P. candalarius</i>	<i>P. guatemalensis</i>	<i>P. hildebrandi</i>	<i>P. labialis</i>	<i>P. oaxaca</i>	<i>P. punctatus</i>
<i>P. candalarius</i>	0	31.05	28.07	8.05	30.39	40.34
<i>P. guatemalensis</i>		0	25.6	35.78	8.13	5.29
<i>P. hildebrandi</i>			0	42.36	20.06	41.92
<i>P. labialis</i>				0	37.58	41.48
<i>P. oaxaca</i>					0	16.88
<i>P. punctatus</i>						0

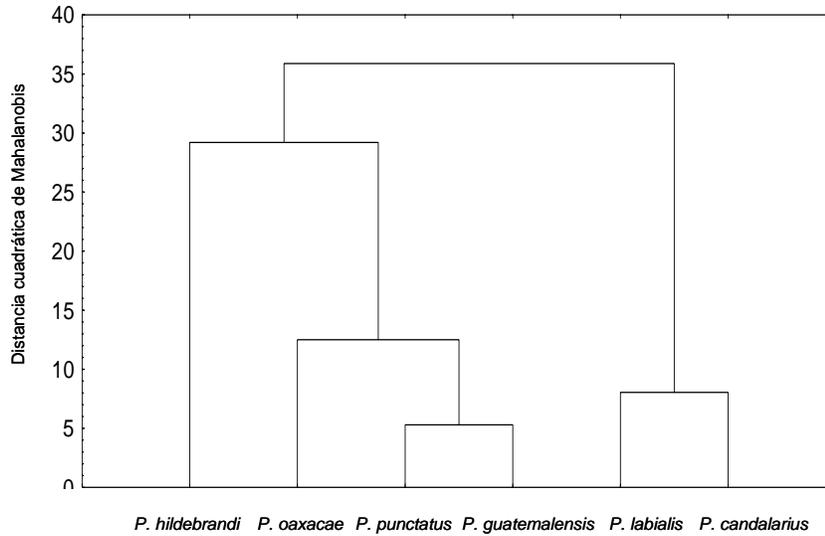


Figura 11. Dendrograma de las especies de *Profundulus* obtenido con las medidas tradicionales a partir del método de agrupamiento UPGMA.

El ANVA realizado con las nueve medidas que presentaron las mayores cargas en el AVC reveló que existen diferencias estadísticamente significativas entre por lo menos un par de especies. El análisis de DHS Tukey indicó que la longitud de la boca (2) permite distinguir a *P. labialis*, *P. candalarius*, *P. punctatus* y *P. hildebrandi*; la longitud cefálica (1) a *P. labialis*, *P. candalarius* y *P. punctatus*; el ancho de la boca (10) a *P. labialis* y *P. candalarius*; la distancia interorbital (4), la altura máxima del cuerpo (6), la altura del pedúnculo caudal (7), el ancho de la cabeza (8) y la longitud del hocico (11) a *P. hildebrandi* y el diámetro ocular (3) a *P. candalarius* (Cuadro 4).

Cuadro 4. Medidas tradicionales discriminantes y valores de F obtenidos del ANVA en las especies de *Profundulus* con $P < 0.001$, $n=50$.

MEDIDA	F	ESPECIE
1. Longitud cefálica	76.023	<i>P. candalarius</i> , <i>P. labialis</i> y <i>P. punctatus</i>
2. Longitud de la boca	132.181	<i>P. candalarius</i> , <i>P. hildebrandi</i> , <i>P. labialis</i> y <i>P. punctatus</i>
3. Diámetro ocular	11.97	<i>P. candalarius</i>
4. Distancia interorbital	154.374	<i>P. hildebrandi</i>
6. Altura máxima del cuerpo	56.909	<i>P. hildebrandi</i>
7. Altura del pedúnculo caudal	44.49	<i>P. hildebrandi</i>
8. Ancho de la cabeza	149.203	<i>P. hildebrandi</i>
10. Ancho de la boca	149.088	<i>P. candalarius</i> y <i>P. labialis</i>
11. Longitud del hocico	39.461	<i>P. hildebrandi</i>

Los diagramas de caja de las nueve medidas tradicionales expresadas en proporciones, donde se evidencian con mayor claridad las diferencias entre las especies. Con respecto a la longitud de la boca se encontró que *P. hildebrandi* presenta los valores mayores y los menores *P. labialis*. La mayor la longitud cefálica es la de *P. oaxacae*, *P. guatemalensis* y *P. hildebrandi*, reduciéndose notablemente en *P. candalarius* y *P. labialis*. El ancho de la boca también fue menor en *P. labialis* y *P. candalarius*, mientras que aumentó considerablemente en *P. hildebrandi* y *P. oaxacae*. La distancia interorbital más pequeña se observó en *P. labialis* y *P. candalarius*, mientras que las más grandes se presentaron en *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus*. La altura del cuerpo y del pedúnculo caudal fue claramente menor en *P. hildebrandi*, mientras que *P. labialis* fue la especie más alta y *P. punctatus* mostró la mayor altura del pedúnculo caudal. La cabeza más ancha fue la de *P. punctatus*, *P. guatemalensis* y *P. oaxacae*, reduciéndose notablemente en *P. candalarius* y *P. labialis*. Por último, el hocico más largo se presentó en *P. hildebrandi* y el más corto en *P. punctatus*, *P. candalarius* y *P. labialis* (Cuadro 5, Fig. 12).

Cuadro 5. Valores máximos, mínimos y promedios de las medidas tradicionales discriminantes, expresadas en porcentaje con respecto a la longitud patrón.

MEDIDA	<i>P. candalarius</i>	<i>P. guatemalensis</i>	<i>P. hildebrandi</i>	<i>P. labialis</i>	<i>P. oaxacae</i>	<i>P. punctatus</i>
1. Longitud cefálica	28.89	30.11	30.7	27.31	31.37	29.63
	24.89	26.74	25.84	24.43	26.02	25.85
	26.71	28.47	28.18	25.57	28.76	27.39
2. Longitud de la boca	7.12	7.86	9.40	6.29	9.31	7.89
	5.47	6.42	6.17	4.80	6.12	5.60
	6.19	6.99	7.64	5.59	7.22	6.47
3. Diámetro ocular	8.05	7.81	8.03	7.48	8.20	7.59
	6.04	5.39	5.57	6.11	5.60	5.89
	7.20	6.82	6.60	6.61	6.66	6.62
4. Distancia interorbital	13.36	15.2	14.32	12.76	14.49	14.58
	10.51	12.46	11.85	11.4	12.92	12.97
	12.12	13.86	12.87	12.01	13.7	13.74
6. Altura máxima	31.46	31.90	28.38	32.34	32.36	35.83
	25.53	25.58	20.79	27.52	26.65	25.73
	28.52	28.98	25.24	30.08	29.50	28.78
7. Altura del pedúnculo caudal	15.40	16.54	14.99	15.05	15.97	16.89
	12.08	13.83	11.78	13.39	12.64	13.63
	14.16	14.99	13.38	14.23	14.40	15.22
8. Ancho de la cabeza	23.48	22.22	20.26	18.99	21.84	23.45
	15.50	18.31	16.80	15.35	17.29	19.07
	17.31	20.45	18.64	17.22	20.14	20.85
10. Ancho de la boca	11.46	12.07	13.67	10.23	13.82	12.31
	8.60	10.10	9.25	7.98	10.60	9.50
	9.75	11.06	11.72	9.32	11.97	10.84
11. Longitud del hocico	10.83	10.65	16.35	9.81	11.98	10.3
	8.31	7.34	9.05	8.39	8.48	8.13
	9.22	9.51	10.5	8.97	9.73	9.22

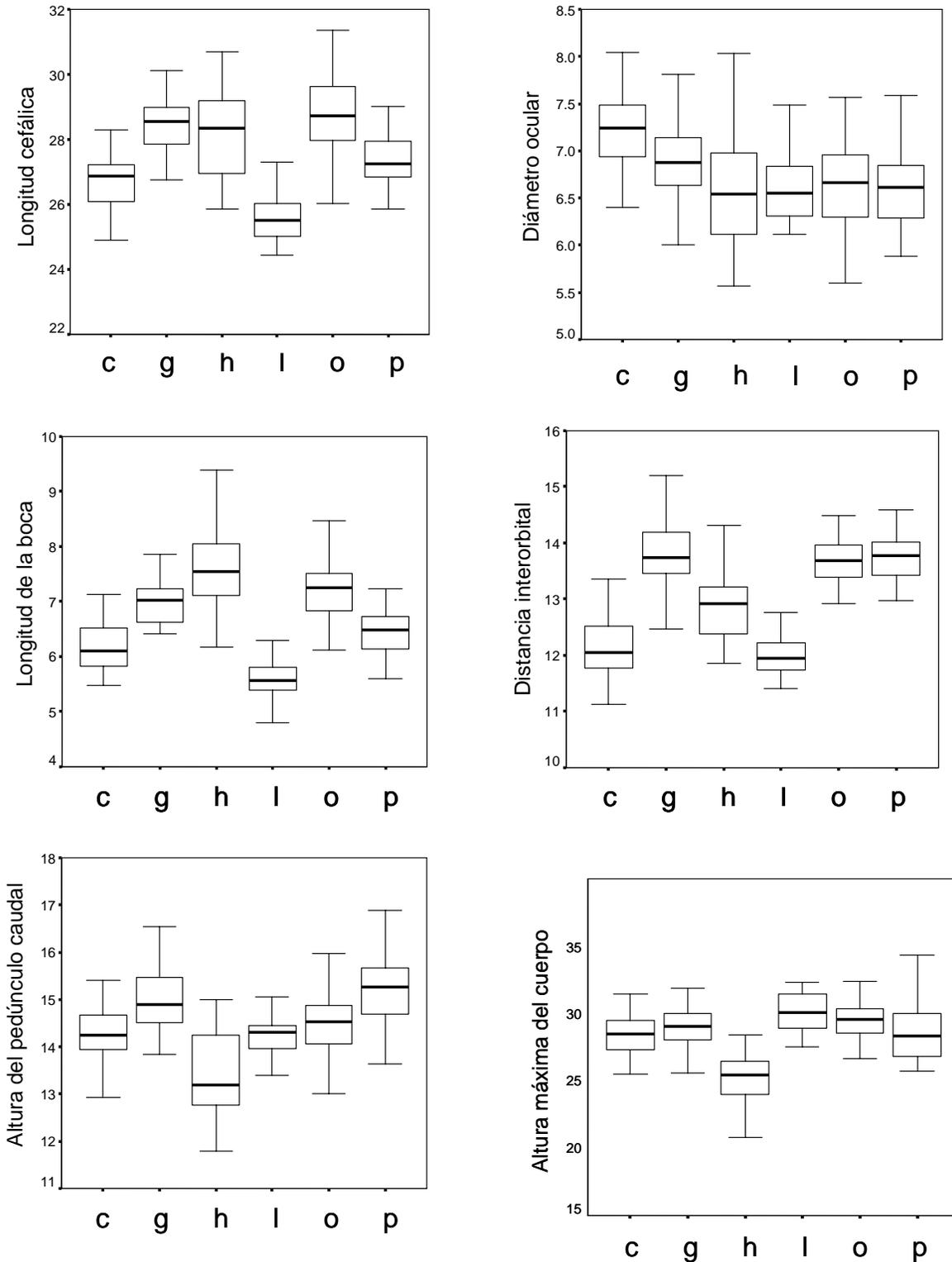


Figura 12. Diagramas de caja de las medidas tradicionales discriminantes en *Profundulus*, mostrando los cuantiles 25, 75 y mediana. Donde c= *P. candalarius*, g= *P. guatemalensis*, h= *P. hildebrandi*, l= *P. labialis*, o= *P. oaxacae*, p= *P. punctatus*.

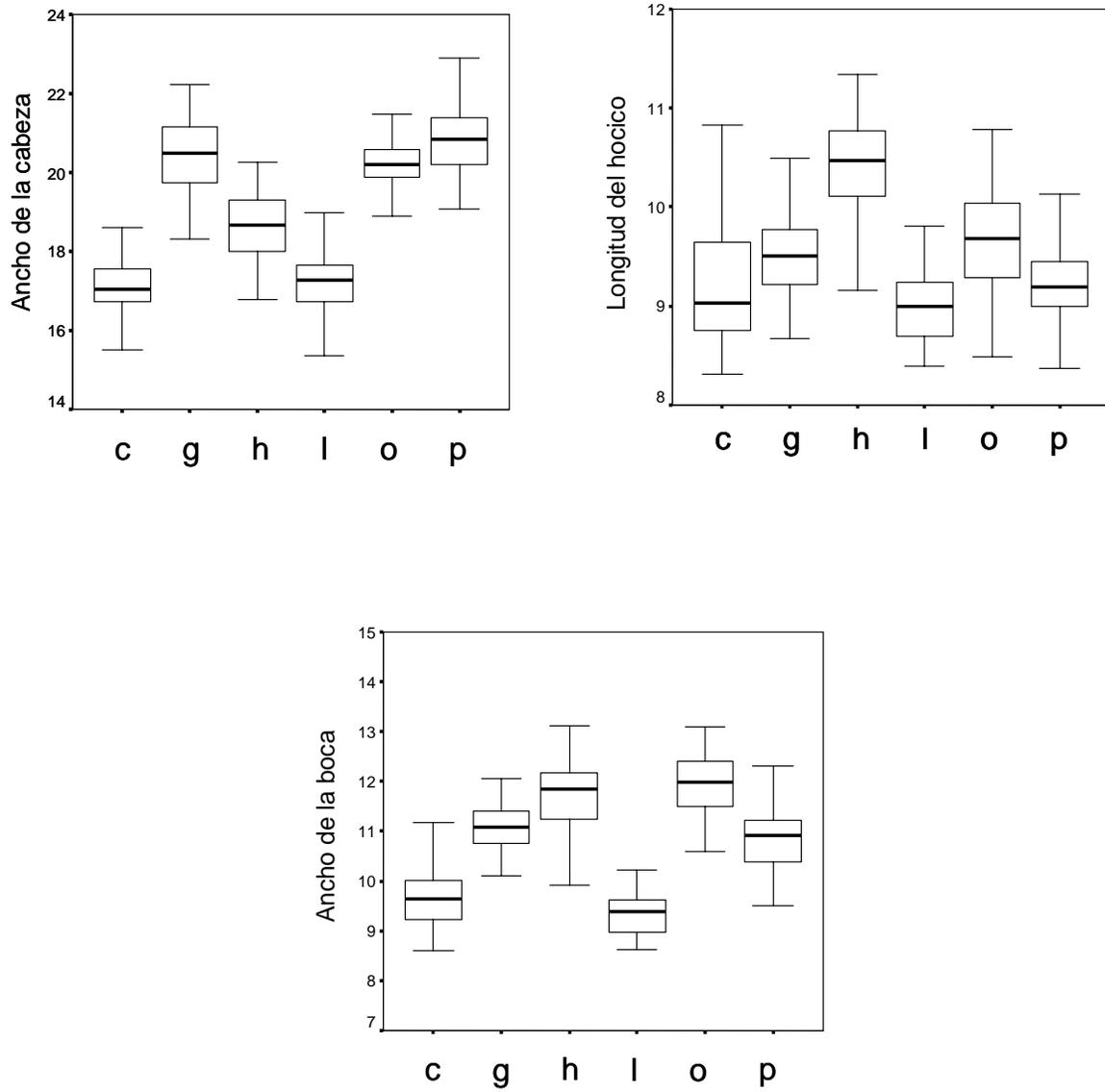


Figura 12. (Continuación)

Medidas cruzadas

Del análisis de discriminantes con las medidas cruzadas se obtuvo que las primeras dos variables canónicas explicaron el 89% del total de la variación entre las especies (I=57% y II=32%), estas variables son estadísticamente diferentes (Lambda de Wilk's=0.00334, $F_{(105,1344)}=28.289$, $p<0.0000$). La matriz de clasificación mostró que el 95% de los organismos estuvo correctamente asignado a la especie correspondiente (*P. candalarius* 90%, *P. guatemalensis* 90%, *P. hildebrandi* 100%, *P. labialis* 100%, *P. oaxacae* 96% y *P. punctatus* 94%).

En la matriz de coeficientes del AVC se encontró que las medidas con mayor peso en la separación de las especies en el primer eje son: 13. Origen de la aleta dorsal a la inserción posterior de la aleta anal (0.981), 21. Radio dorsal de la aleta caudal al radio ventral de la aleta caudal (0.825), 8. Occipucio al origen de la aleta anal (0.428), 16. Inserción posterior de la aleta dorsal a la inserción posterior de la aleta anal (0.306), 14. Origen de la aleta anal a la inserción posterior de la aleta dorsal (-0.651) y 11. Origen de la aleta dorsal al origen de la aleta anal (-1.101); mientras que para el segundo eje son: 12. Base de la aleta anal (0.628), 9. Origen de la aleta pélvica al origen de la aleta dorsal (0.501), 1. Margen anterior del premaxilar a la articulación del cleitro (0.469), 4. Cleitro al occipucio (0.340), 20. Inserción posterior de la aleta dorsal al radio dorsal de la aleta caudal (-0.383) y 13. Origen de la aleta dorsal a la inserción posterior de la aleta anal (-0.840) (Cuadro 6).

Cuadro 6. Matriz de coeficientes del análisis de discriminantes (AVC) a partir de las medidas cruzadas. En negritas se señalan los eigenvalores de las medidas más importantes.

MEDIDA	VARIABLE CANÓNICA I	VARIABLE CANÓNICA II
1. Margen anterior del premaxilar a la articulación del cleitro	0.093	0.469
2. Articulación del cleitro al origen de la aleta pélvica	0.28	0.034
3. Margen anterior del premaxilar al origen de la aleta pélvica	-0.029	0.034
4. Cleitro al occipucio	0.219	0.34
5. Margen anterior del premaxilar al occipucio	-0.123	-0.049
6. Occipucio al origen de la aleta pélvica	-0.273	0.03
7. Origen de la aleta pélvica al origen de la aleta anal	0.037	-0.139
8. Occipucio al origen de la aleta anal	0.429	0.015
9. Origen de la aleta pélvica al origen de la aleta dorsal	0.138	0.501
10. Occipucio al origen de la aleta dorsal	-0.128	-0.262
11. Origen de la aleta dorsal al origen de la aleta anal	-1.101	-0.91
12. Base de la aleta anal	0.173	0.629
13. Origen de la aleta dorsal a la inserción posterior de la aleta anal	0.982	-0.84
14. Origen de la aleta anal a la inserción posterior de la aleta dorsal	-0.651	-0.036
15. Base de la aleta dorsal	-0.104	0.29
16. Inserción posterior de la aleta dorsal a la inserción posterior de la aleta anal	0.307	0.2
17. Inserción posterior de la aleta anal al radio inferior de la aleta caudal	-0.234	0.053
18. Inserción posterior de la aleta dorsal al radio ventral de la aleta caudal	-0.022	-0.138
19. Inserción posterior de la aleta anal al radio dorsal de la aleta caudal	-0.221	0.118
20. Inserción posterior de la aleta dorsal al radio dorsal de la aleta caudal	0.109	-0.384
21. Radio dorsal de la aleta caudal al radio ventral de la aleta caudal	0.825	-0.017

En la gráfica de la primera y segunda variable canónica se apreció que por lo menos hay tres grupos distinguibles. En la parte positiva de la primera se encuentran los organismos de *P. punctatus*, *P. guatemalensis* y *P. oaxacae*, caracterizados por presentar las medidas más grandes de 8. Occipucio al origen de la aleta anal, 13. Origen de la aleta dorsal a la inserción posterior de la aleta anal, 16. Inserción posterior de la aleta dorsal a la inserción posterior de la aleta anal y 21. Radio dorsal de la aleta caudal al radio ventral de la aleta caudal, y más

pequeñas de 11. Origen de la aleta dorsal al origen de la aleta anal y 14. Origen de la aleta anal a la inserción posterior de la aleta dorsal; hacia la parte negativa se observan las especies con los valores contrarios, *P. candalarius*, *P. labialis* y *P. hildebrandi* respectivamente. Por otra parte, en el área positiva del segundo eje claramente se agrupan los organismos de *P. hildebrandi*, con los valores más altos del 1. Margen anterior del premaxilar a la articulación del cleitro, 4. Cleitro al occipucio, 9. Origen de la aleta pélvica al origen de la aleta dorsal y 12. Base de la aleta anal, y los más bajos de 20. Inserción posterior de la aleta dorsal al radio dorsal de la aleta caudal y 13. Origen de la aleta dorsal a la inserción posterior de la aleta anal; posteriormente, en orden decreciente se distribuyen los individuos de *P. oaxacae*, *P. guatemalensis*, *P. punctatus*, *P. candalarius* y *P. labialis* (Fig. 13).

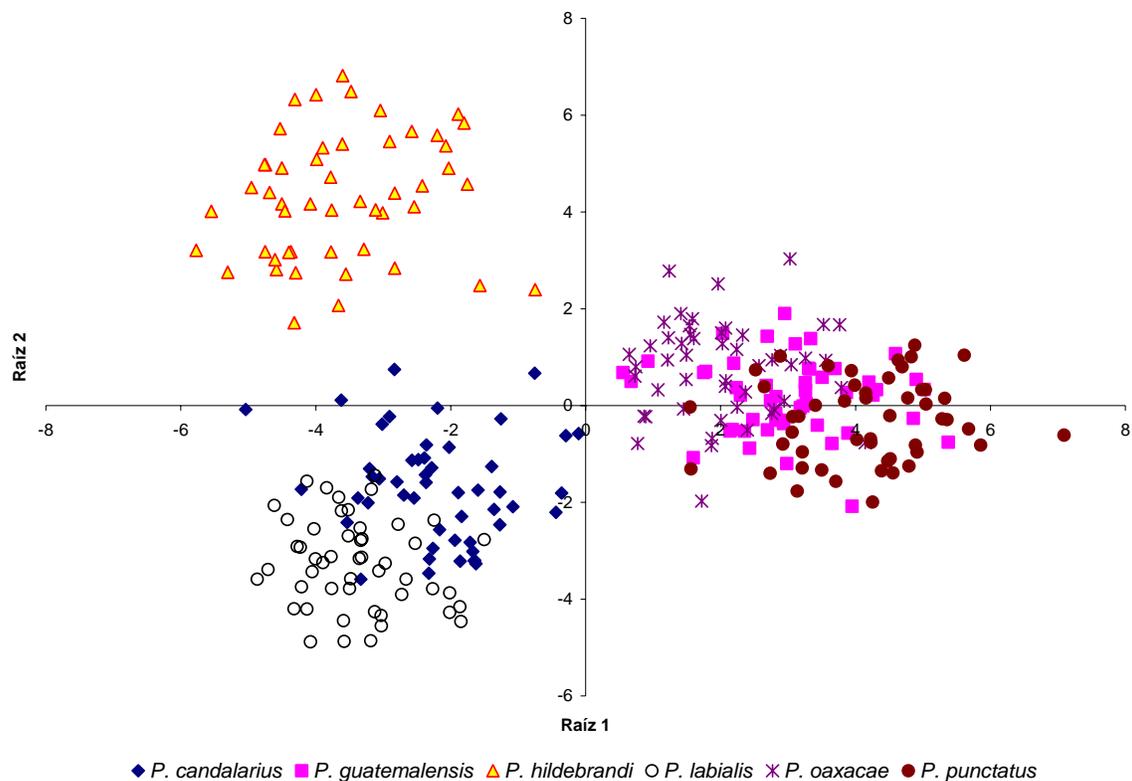


Figura 13. Gráfica de las dos primeras variables canónicas obtenidas del análisis de discriminantes con las medidas cruzadas.

A partir de las distancias cuadráticas de Mahalanobis se determinó que las diferencias entre las seis especies son significativas ($p < 0.0001$) (Cuadro 7). Las relaciones de similitud entre las especies mostraron que la especie más disímil es *P. hildebrandi*, que se une a los grupos formados por *P. labialis* y *P. candalarius*, y al de *P. guatemalensis*, *P. punctatus* y *P. oaxacae* (Fig. 14).

Cuadro 7. Matriz de distancias cuadráticas de Mahalanobis de las medidas cruzadas.

	<i>P. candalarius</i>	<i>P. guatemalensis</i>	<i>P. hildebrandi</i>	<i>P. labialis</i>	<i>P. oaxacae</i>	<i>P. punctatus</i>
<i>P. candalarius</i>	0	34.5	41.29	8.7	30.84	47.31
<i>P. guatemalensis</i>		0	64.42	57.15	11.52	6.24
<i>P. hildebrandi</i>			0	59.38	52.18	84.12
<i>P. labialis</i>				0	52.11	68.92
<i>P. oaxacae</i>					0	16.32
<i>P. punctatus</i>						0

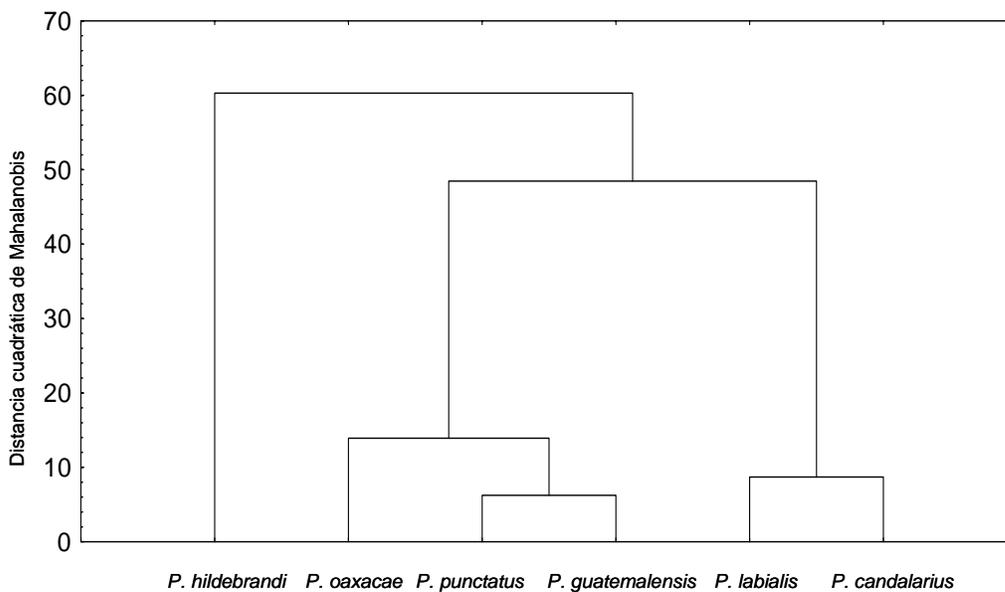


Figura 14. Dendrograma de las especies de *Profundulus* obtenido con las medidas cruzadas a partir del método de agrupamiento UPGMA.

El ANVA realizado con las 11 medidas que presentaron las mayores cargas en el AVC demostró que existen diferencias estadísticamente significativas entre por lo menos un par de especies. El análisis de DHS Tukey permitió reconocer que la medida 1. Margen anterior del premaxilar a la articulación del cleitro separa a *P. labialis*, *P. candalarius* y *P. hildebrandi*, la 11. Origen de la aleta dorsal al origen de la aleta anal a *P. hildebrandi* y *P. labialis*, la 13. Origen de la aleta dorsal a la inserción posterior de la aleta anal y 21. Radio dorsal de la aleta caudal al radio ventral de la aleta caudal a *P. hildebrandi* y *P. punctatus*, la 4. Cleitro al occipucio y 9. Origen de la aleta pélvica al origen de la aleta dorsal a *P. labialis*, y la 8. Occipucio al origen de la aleta anal, 16. Inserción posterior de la aleta dorsal a la inserción posterior de la aleta anal y 14. Origen de la aleta anal a la inserción posterior de la aleta dorsal a *P. hildebrandi* (Cuadro 8).

Cuadro 8. Medidas cruzadas discriminantes y valores de F obtenidos del ANVA en las especies de *Profundulus* con $P < 0.001$, $n=50$.

MEDIDA	F	ESPECIE
1. Margen anterior del premaxilar a la articulación del cleitro	77.582	<i>P. candalarius</i> , <i>P. hildebrandi</i> y <i>P. labialis</i>
4. Cleitro al occipucio	44.326	<i>P. labialis</i>
8. Occipucio al origen de la aleta anal	36.433	<i>P. hildebrandi</i>
9. Origen de la aleta pélvica al origen de la aleta dorsal	30.633	<i>P. labialis</i>
11. Origen de la aleta dorsal al origen de la aleta anal	50.217	<i>P. hildebrandi</i> y <i>P. labialis</i>
12. Base de la aleta anal	22.315	Ninguna
13. Origen de la aleta dorsal a la inserción posterior de la aleta anal	90.33	<i>P. hildebrandi</i> y <i>P. punctatus</i>
14. Origen de la aleta anal a la inserción posterior de la aleta dorsal	8.186	Ninguna
16. Inserción posterior de la aleta dorsal a la inserción posterior de la aleta anal	32.604	<i>P. hildebrandi</i>
20. Inserción posterior de la aleta dorsal al radio dorsal de la aleta caudal	21.911	<i>P. hildebrandi</i>
21. Radio dorsal de la aleta caudal al radio ventral de la aleta caudal	117.812	<i>P. hildebrandi</i> y <i>P. punctatus</i>

Los diagramas de caja de las 11 medidas cruzadas expresadas en proporciones evidencian con mayor claridad las diferencias entre las especies. La distancia más grande del margen anterior del premaxilar a la articulación del cleitro es la de *P. hildebrandi* y la menor la de *P. labialis*. Situación contraria se observó en la longitud del origen de la aleta dorsal al origen donde *P. labialis* fue la que presentó la mayor distancia, mientras que *P. hildebrandi* la más corta. Del origen de la aleta dorsal a la inserción posterior de la aleta anal se determinó que *P. punctatus* tiene la mayor longitud y *P. hildebrandi* la menor; lo mismo se encontró para la distancia entre el radio dorsal de la aleta caudal al radio ventral de la aleta caudal.

La menor longitud entre el cleitro y el occipucio se observó en *P. labialis*, mientras que la mayor fue la de *P. punctatus*, *P. oaxacae* y *P. guatemalensis*. La distancia más grande entre el origen de la aleta pélvica y el origen de la aleta dorsal se determinó para *P. labialis*. La longitud más corta del occipucio al origen de la aleta anal y de la inserción posterior de la aleta dorsal a la inserción posterior de la aleta anal fue la de *P. hildebrandi*. Por último, la mayor longitud del origen de la aleta anal a la inserción posterior de la aleta dorsal se encontró en *P. labialis* (Cuadro 9, Fig. 15).

Cuadro 9. Valores máximos, mínimos y promedios de las medidas cruzadas discriminantes, expresadas en porcentaje con respecto a la longitud patrón.

MEDIDAS	<i>P.</i> <i>candalarius</i>	<i>P.</i> <i>guatemalensis</i>	<i>P.</i> <i>hildebrandi</i>	<i>P.</i> <i>labialis</i>	<i>P.</i> <i>oaxacae</i>	<i>P.</i> <i>punctatus</i>
1. Margen anterior del premaxilar a la articulación del cleitro	25.72 20.81 23.57	27.90 22.66 24.90	27.68 20.83 24.53	26.49 20.74 23.24	23.8 16.59 19.39	26.96 21.49 23.89
4. Cleitro al occipucio	20.9 17.53 18.96	22.73 18.3 20.77	22.48 16.8 19.56	19.57 16.84 18.36	23.17 17.55 20.57	23.56 18.49 20.66
8. Occipucio al origen de la aleta anal	52.21 46.49 49.06	52.74 46.28 49.39	50.19 41.93 46.15	53.05 46.04 49.74	52.76 45.66 48.92	51.92 46.8 49
9. Origen de la aleta pélvica al origen de la aleta dorsal	35.45 27.17 31.05	33.39 26.98 30.54	33.6 26.29 30.39	36.31 30.15 33.92	32.84 27.27 30.38	37.77 27.43 31.57
11. Origen de la aleta dorsal al origen de la aleta anal	28.68 21.31 25.34	25.91 21.61 24.00	24.69 20.08 22.55	29.23 25.10 26.73	26.31 21.69 24.4	29.98 21.74 24.74
12. Base de la aleta anal	17.78 12.26 14.99	19.37 12.84 15.52	18.93 13.42 16.36	16.73 13.41 14.84	19.4 13.34 17.07	19.11 13.61 16.36
13. Origen de la aleta dorsal a la inserción posterior de la aleta anal	28.18 21.47 24.81	29.24 23.42 25.82	24.84 19.69 22.13	27.21 23.53 24.91	28.25 22.39 26.12	30.09 23.61 27.08
14. Origen de la aleta anal a la inserción posterior de la aleta dorsal	28.79 22.4 25.73	28.1 21.83 24.67	28.62 20.36 25.2	28.94 24.99 26.37	28.23 21.57 25.61	28.86 22.46 25.26
16. Inserción posterior de la aleta dorsal a la inserción posterior de la aleta anal	17.07 12.71 15.61	18.71 14.37 16.11	16.48 12.86 14.47	18 14.71 16.1	17.27 13.84 15.47	18.87 14.34 16.47
20. Inserción posterior de la aleta dorsal al radio dorsal de la aleta caudal	23.88 18.76 20.49	22.36 16.83 19.58	22.22 15.67 18.81	23.13 18.67 20.92	22.12 17.64 19.65	21.82 17.8 19.51
21. Radio dorsal de la aleta caudal al radio ventral de la aleta caudal	22.61 18.43 20.16	20.12 13.85 17.82	23.79 16.86 20.42	22.19 18.20 20.24	17.67 14.16 15.92	19.39 15.30 17.25

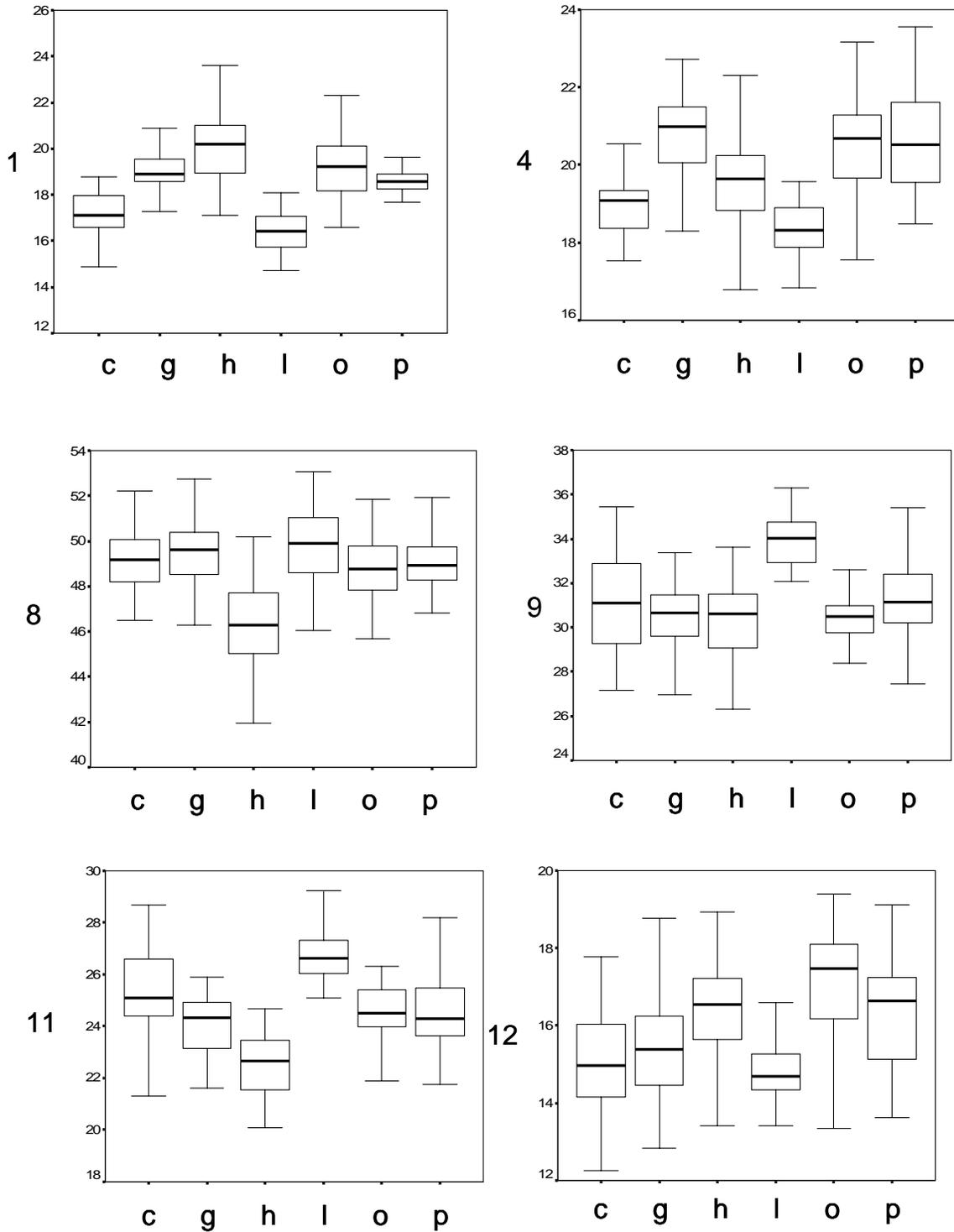


Figura 15. Diagramas de caja de las medidas cruzadas discriminantes en *Profundulus*, mostrando los cuantiles 25, 75 y mediana. Números corresponden a las medidas, c= *P. candalarius*, g= *P. guatemalensis*, h= *P. hildebrandi*, l= *P. labialis*, o= *P. oaxacae*, p= *P. punctatus*.

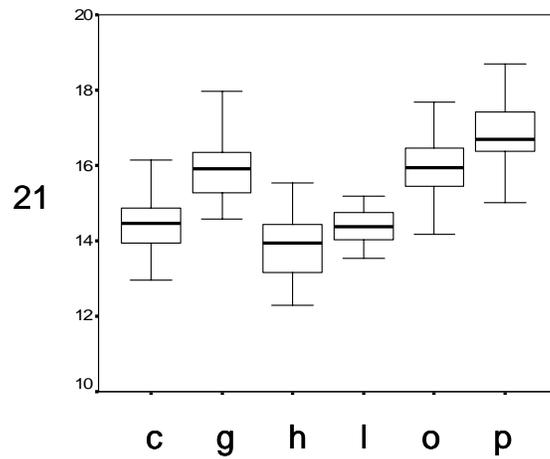
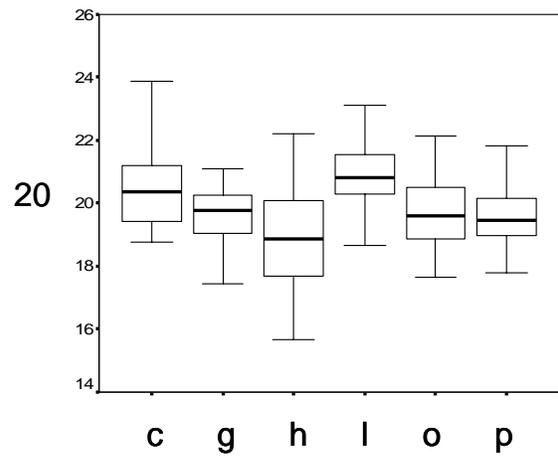
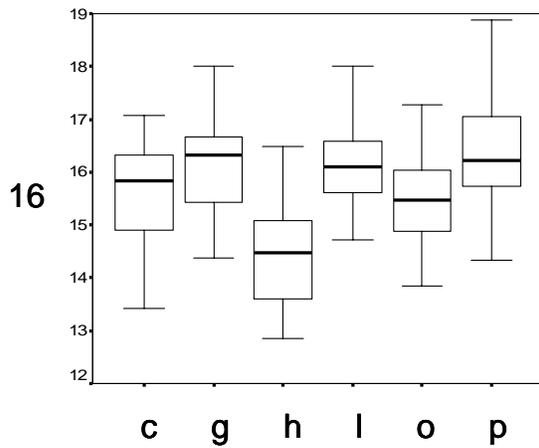
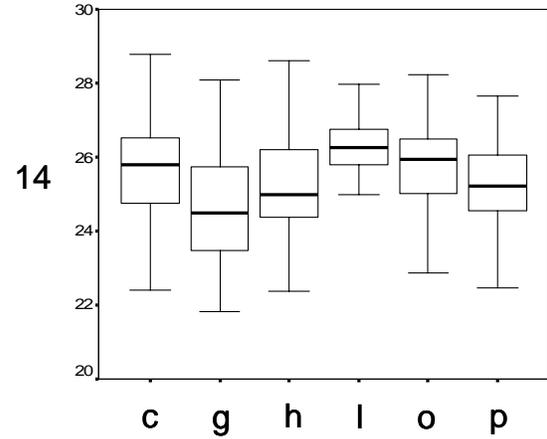
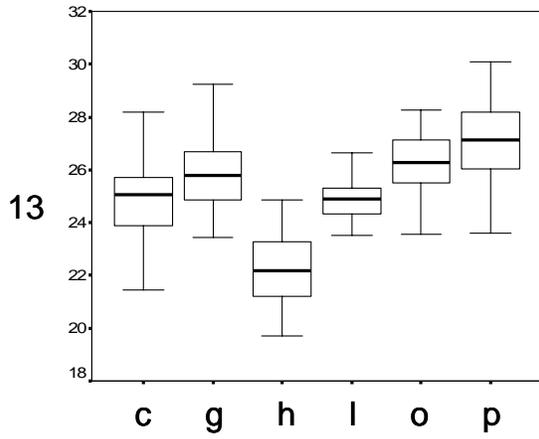


Figura 15. (Continuación).

Cuadriláteros contiguos

La reconstrucción de las formas corporales de las especies corroboró los patrones y las diferencias morfométricas encontradas a través de los AVC y ANVA. De esta manera, se puede apreciar que existen tres morfos, cuyas características principales están determinadas por la altura del cuerpo, del pedúnculo caudal y la posición de la boca. El primer morfo, donde se encuentran *P. candalarius* y *P. labialis*, muestra el cuerpo más alto y la posición de la boca dirigida hacia la región ventral; en el segundo, formado por *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus*, no es tan alto como el anterior y la posición de la boca es terminal; por último, el de *P. hildebrandi*, es el que tiene el cuerpo menos alto y la posición de la boca está orientada hacia el dorso (Fig. 16).

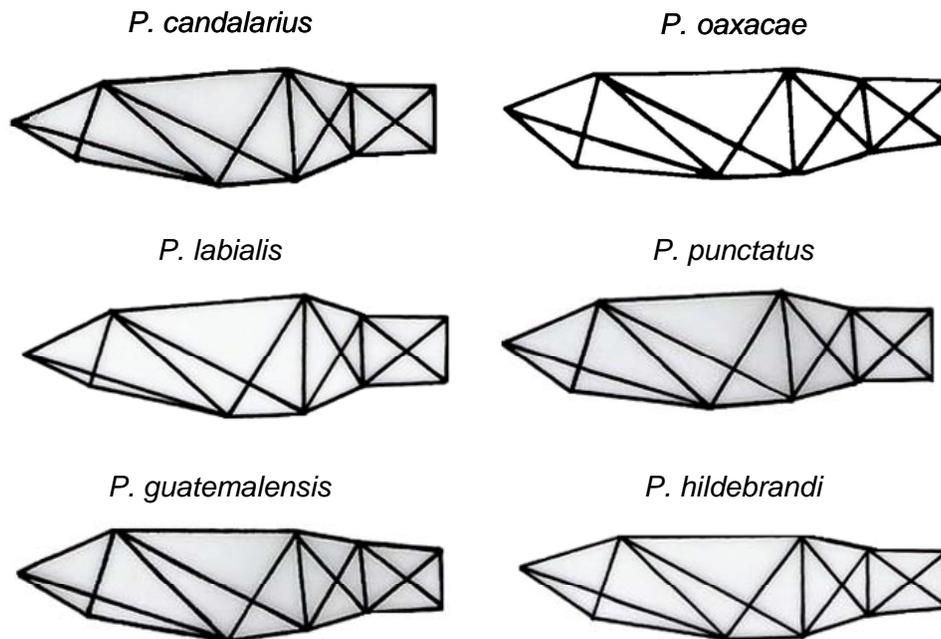


Figura 16. Reconstrucción de las formas del cuerpo de las especies de *Profundulus* a partir del método de cuadriláteros contiguos.

Asociadas a la altura del cuerpo se encuentran varias medidas como son: del occipucio al origen de la aleta pélvica (6), del occipucio al origen de la aleta anal (8), del origen de la aleta pélvica al origen de la aleta dorsal (9) y del origen

de la aleta dorsal al origen de la aleta anal (11). Mientras que la posición de la boca está relacionada con las medidas: del margen anterior del premaxilar a la articulación del cleitro (1) y del margen anterior del premaxilar al occipucio (5).

Análisis osteológico

A partir de la revisión de las estructuras óseas se encontraron 13 características cualitativas importantes para separar grupos o especies. Estas se encontraron en ocho piezas que pertenecen al esqueleto axial y dos del apendicular (Cuadro 10, Fig. 17 y 18).

Cuadro 10. Clasificación de las piezas óseas analizadas en las especies de *Profundulus*.

ESQUELETO AXIAL		REGIÓN	HUESO
	Neurocráneo	Etmoidea	Vómer
		Esfenoidea	Lagrimon
	Branquiocráneo	Oral	Premaxilar
			Dentario
			Articular
			Mesopterigoides
			Cuadrado
		Opercular	Interopérculo
ESQUELETO APENDICULAR			
	Cintura pélvica		Basipterigios
	Aleta dorsal		Pterigióforos

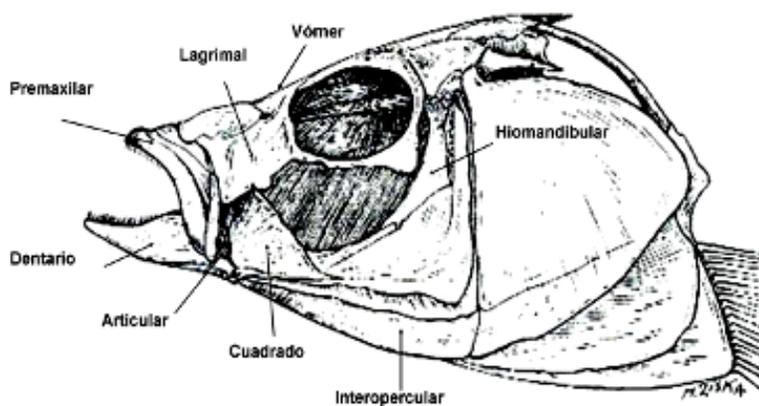


Figura 17. Estructuras utilizadas para el análisis osteológico de las especies de *Profundulus*.

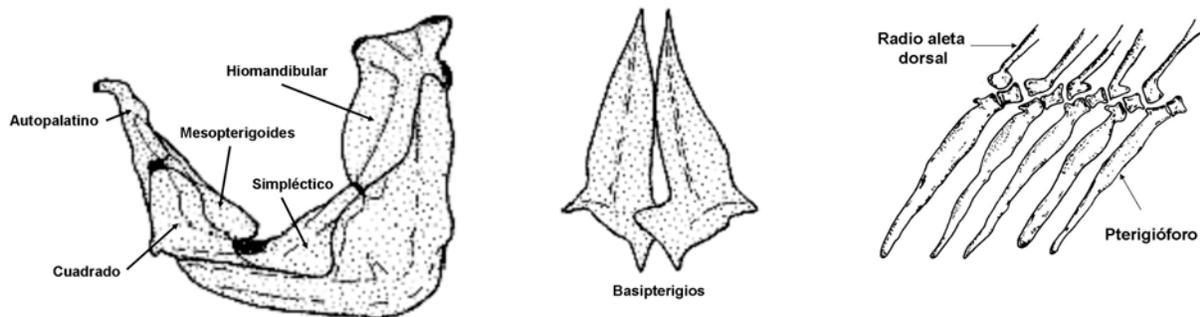


Figura 18. Estructuras utilizadas para el análisis osteológico de la suspensión mandibular, basipterigios y pterigióforos de las especies de *Profundulus*.

A continuación se presentan las descripciones de las 10 piezas óseas y las diferencias cualitativas observadas en cada una de ellas.

Vómer. Es de forma triangular, ligeramente cóncavo dorsalmente. En *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus* la pieza es más triangular y cóncava dorsalmente, mientras que en *P. candalarius*, *P. hildebrandi* y *P. labialis* la punta distal se adelgaza y dorsalmente es casi plana, semejante a una “Y” (Fig. 19).

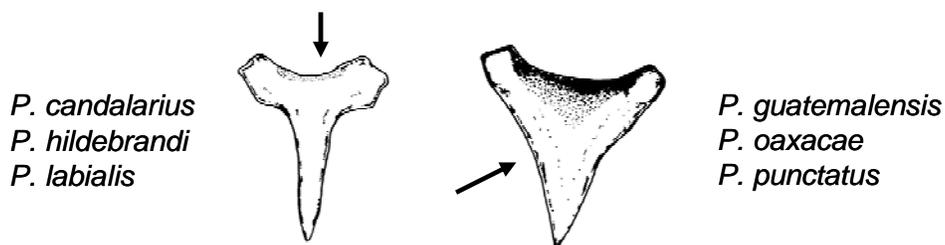


Figura 19. Vómer de las especies de *Profundulus*.

Lacrimal. Es de forma rectangular, su cara interna es cóncava y dorsalmente presenta el canal de la línea lateral que va del borde superior al vértice inferior derecho. Se encontró que en *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus* el vértice mencionado se prolonga hacia atrás, dando al margen inferior una mayor

longitud. En cambio, *P. candalarius*, *P. hildebrandi* y *P. labialis* no presentan esta característica, por lo que la pieza es más simétrica (Fig. 20).



Figura 20. Lacrimal de las especies de *Profundulus*.

Premaxilar. Es laminar y tiene forma de “Z” invertida, la parte inferior está ligeramente curvada hacia adentro. Se observó que la base del proceso ascendente es más ancho en *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus*, y se va adelgazando hacia la región distal, en el resto de las especies la base es más estrecha y su amplitud se mantiene a todo lo largo. En *P. hildebrandi* el vértice superior izquierdo de la pieza (punta distal de la premaxila) se prolonga dorsalmente, característica que no es evidente en el resto de las especies (Fig. 21).

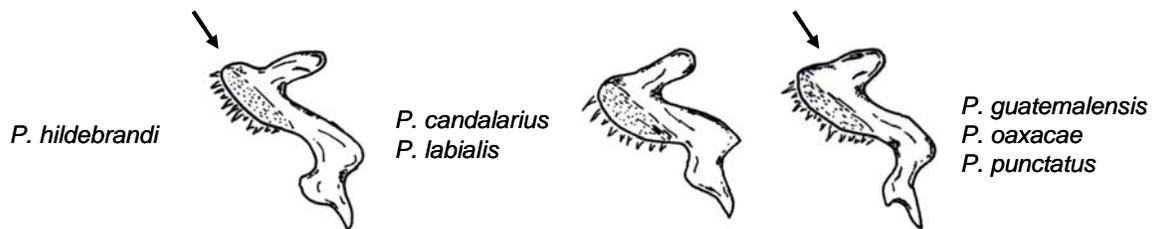


Figura 21. Premaxilar de las especies de *Profundulus*.

Dentario. Es de forma triangular con un proceso coronoide alto, ligeramente cóncavo. Sobre el margen dorsal están dispuestas varias hileras de dientes cónicos. En *P. labialis* y *P. candalarius* esta pieza es notablemente más corta y

alta, mientras que en *P. hildebrandi*, *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus* es más larga (Fig. 22).

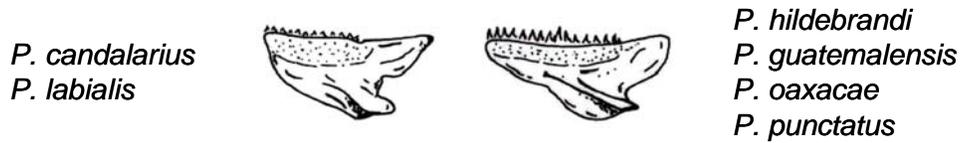


Figura 22. Dentario de las especies de *Profundulus*.

Articular. Es de forma triangular, la parte anterior es alargado y en la posterior se forman los procesos coronoides y ventral. En la cara interna presenta un proceso articular de forma tubular. En *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus* el proceso ventral es prácticamente dos veces más grande que el observado en *P. hildebrandi*, *P. labialis* y *P. candalarius*. Se encontró que en *P. hildebrandi*, *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus* el proceso articular de la cara interna forma un ángulo de casi 90 grados con respecto al proceso coronoides, mientras que en *P. labialis* y *P. candalarius* el ángulo es notablemente menor (Fig. 23).

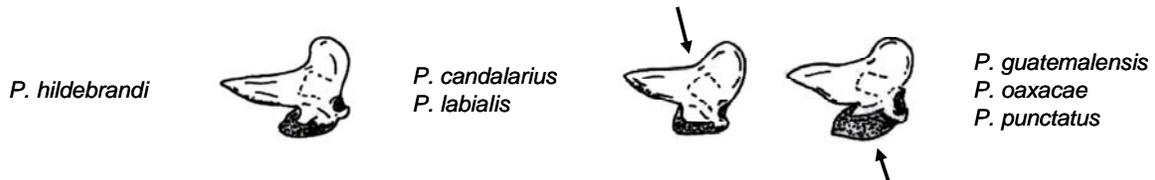


Figura 23. Articular de las especies de *Profundulus*.

Mesopterigoides. Pertenece al conjunto pterigo-cuadrado y es de forma alargada. En su parte anterior es espiniforme, mientras que la posterior es laminar; sobre el borde dorsal anterior existe un surco que articula con el autopalatino. En *P. labialis* este surco es más profundo que en el resto de las especies (Fig. 24).

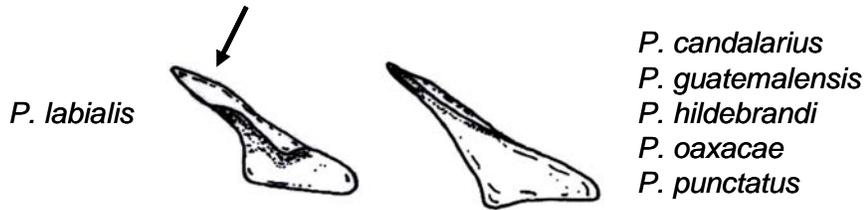


Figura 24. Mesopterygoides de las especies de *Profundulus*.

Cuadrado. Conforman el conjunto pterigo-cuadrado y tienen forma de abanico. El borde ventral es más grueso y se prolonga hacia la región posterior formando una espina; mientras que el margen posterior es redondeado o cóncavo. En *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus* se encontró que el margen posterior es cóncavo, mientras que en las otras especies es recto o convexo (Fig. 25).



Figura 25. Cuadrado de las especies de *Profundulus*.

Interopérculo. De forma ovalada y laminar, la parte anterior es notablemente más angosta que la posterior. En la parte anterior del borde dorsal existe una prolongación espiniforme. En *P. labialis*, *P. candalarius* y *P. hildebrandi* dicha prolongación es mayor que en *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus* (Fig. 26).

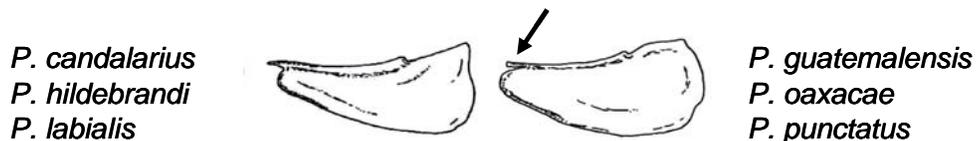


Figura 26. Interopérculo de las especies de *Profundulus*.

Basipterigio. Es de forma triangular con el ápice en dirección anterior, la cara ventral presenta una quilla que recorre todo lo largo de la pieza. En el borde

posterior interno se forma un proceso espiniforme que se dirige hacia atrás denominado proceso medio. En *P. punctatus*, *P. oaxacae* y *P. guatemalensis* este proceso es notablemente más corto que lo observado en *P. hildebrandi*, *P. candalarius* y *P. labialis* (Fig. 27).

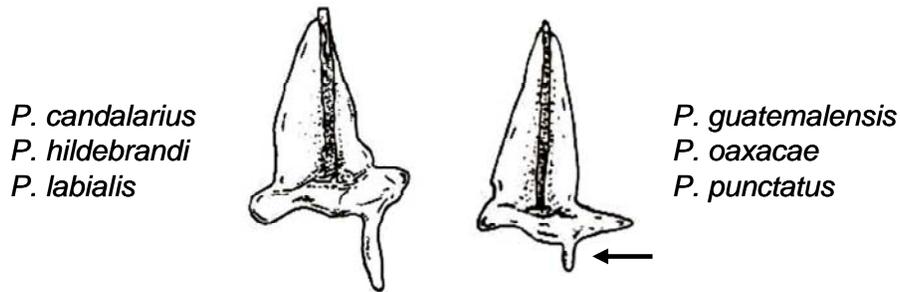


Figura 27. Basipterigio de las especies de *Profundulus*.

Pterigióforos. Son una serie de huesos que sostienen a las aletas dorsal y anal, son de forma alargada y aplanados lateralmente, la parte distal se adelgaza para formar una punta. En *P. oaxacae* los pterigióforos de la aleta dorsal principalmente se presentan aserraciones de tamaño muy variables, que no se aprecian en ninguna de las otras especies (Fig. 28).

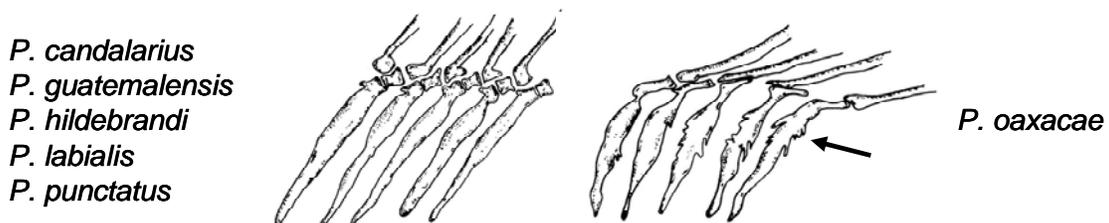


Figura 28. Pterigióforo de las especies de *Profundulus*.

Análisis filogenético

A partir de las 13 características osteológicas antes descritas y cuatro morfológicas citadas anteriormente por Miller (1955) se elaboró la matriz para el análisis filogenético (Cuadro 11) que se realizó con el paquete Phylip (versión 3.65), con los programas Clique y Mix con el método de parsimonia de Wagner.

Cuadro 11. Matriz de caracteres osteológicos y morfológicos utilizados para el análisis filogenético. 0=estado ancestral; 1=derivado. Ver explicación de los caracteres en el texto.

Especie/caracter	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
Ancestro hipotético	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>P. candalarius</i>	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1
<i>P. guatemalensis</i>	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0
<i>P. hildebrandi</i>	0	0	1	1	0	0	0	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1
<i>P. labialis</i>	0	0	0	0	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1
<i>P. oaxacae</i>	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0
<i>P. punctatus</i>	1	1	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	0	0

La codificación de los estados de carácter se hizo utilizando el grupo externo hipotético donde el valor de cero se asignó al estado ancestral y el uno al derivado, quedando de la siguiente manera: 1=vértice posterior derecho del lagrimal corto (0), largo (1); 2=base del proceso ascendente del premaxilar angosto (0), ancho (1); 3=extremo distal del premaxilar corto (0), alargado (1); 4=dentario corto (0), alargado (1); 5=proceso ventral del articular pequeño (0), grande (1); 6=proceso articular recto (0), formando un ángulo de más de 90° (1); 7=surco del borde dorsal del mesopterigoides poco profundo (0), profundo (1); 8=margen posterior del cuadrado recto (0), cóncavo (1); 9=prolongación del interopercular corta (0), larga (1); 10=proceso medio del basipterigio corto (0), largo (1); 11=vómer triangular (0), en forma de “Y” (1); 12=borde dorsal del vómer cóncavo (0), plano (1); 13=bordes de los pterigióforos lisos (0), aserrados (1); 14=escamas preorbitales escasas (0), abundantes (1); 15=mancha humeral presente (0), ausente (1); 16=mitad de la aleta caudal cubierta con escamas (0), menos de la mitad de la aleta caudal con escamas (1); 17=hembras con dimorfismo sexual ausente (0), presente (1).

El análisis de parsimonia por el método de Wagner generó tres árboles con una longitud de 18 pasos y seis nodos. Las topologías de los tres árboles básicamente fueron las mismas sólo variaron las relaciones dentro del clado E, formado por *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus*. (Fig. 29a, b, c)

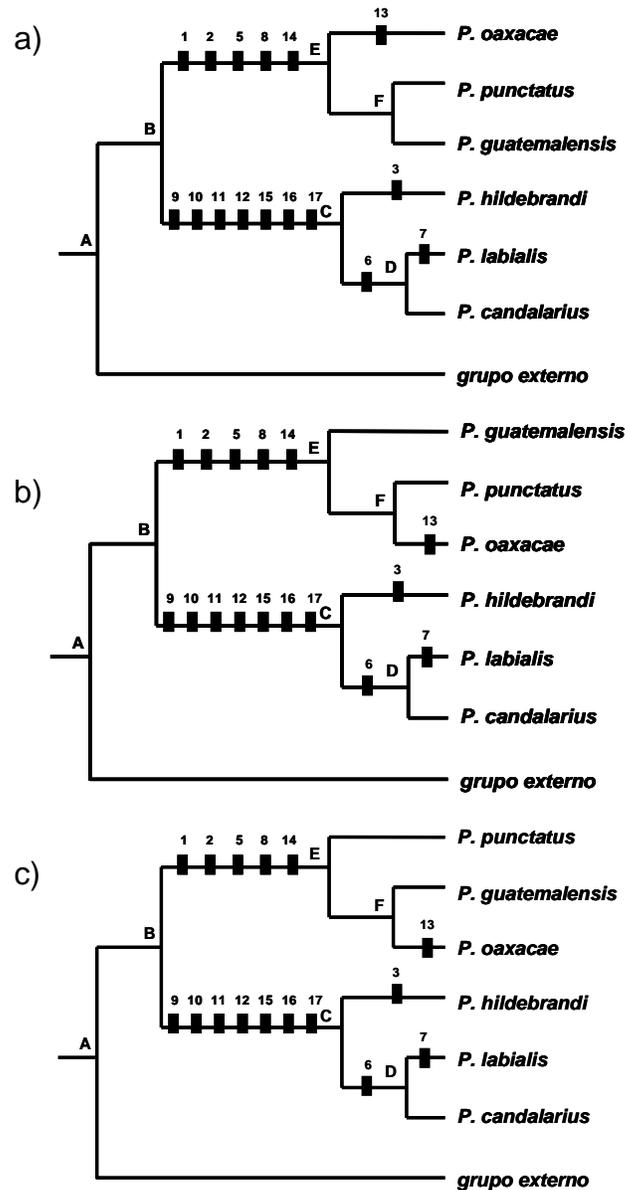


Figura 29. Cladogramas de las relaciones filogenéticas de las especies de *Profundulus* obtenido con el método de parsimonia de Wagner.

De esta manera, el grupo interno está conformado por dos clados, el primero de ellos representado por *P. labialis* y *P. candalarius* como especies hermanas, y *P. hildebrandi* en la base; y el segundo clado quedó integrado por *P. oaxacae*, *P. punctatus* y *P. guatemalensis*, sin embargo, sus relaciones de parentesco son poco claras, *P. oaxacae* es la única especie con una autapomorfia.

Revisando la topología por nodo y taxa terminales se encontró que el nodo C está definido por siete sinapomorfias: 9. Prolongación del interopercular larga, 10. Proceso medio del basipterigio largo, 11. Vómer en forma de “Y”, 12. Borde dorsal del vómer plano, 15. Mancha humeral ausente, 16. Menos de la mitad de la aleta caudal con escamas, 17. Hembras con dimorfismo sexual. El nodo D por una: 6. Proceso articular formando un ángulo de más de 90°; el E por cinco: 1. Vértice posterior derecho del lagrimal largo, 2. Base del proceso ascendente del premaxilar ancho, 5. Proceso ventral del articular grande, 8. Margen posterior del cuadrado cóncavo, 14. Escamas preorbitales abundantes. De la misma manera, las especies terminales que mostraron caracteres autapomórficos fueron *P. hildebrandi* (3. extremo distal del premaxilar alargada), *P. labialis* (7. surco del borde dorsal del mesopterigoides profundo) y *P. oaxacae* (13. bordes de los pterigióforos aserrados).

Análisis ecomorfológico

Morfometría geométrica

A partir de los resultados del análisis morfométrico se determinó que entre las seis especies de *Profundulus* existen tres morfos, uno representado por *P. hildebrandi*, otro por *P. candalarius* y *P. labialis*, y el último por *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus*. De los cuales se seleccionaron a *P. hildebrandi*, *P. labialis* y *P. punctatus* como representantes de cada morfo para el análisis de morfometría geométrica.

Inicialmente, la superimposición de procrustes evidenció que existe variación entre las especies, principalmente en la región cefálica y puntos relacionados con la altura del cuerpo (Fig. 30).

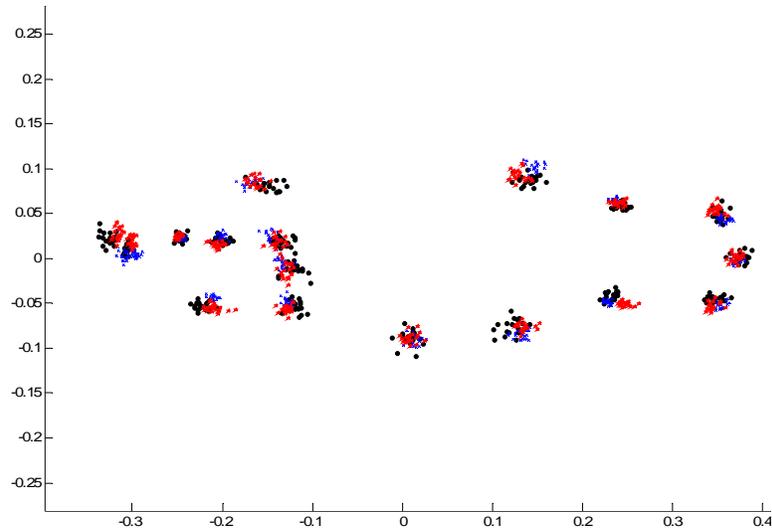


Figura 30. Gráfica de la superimposición procrustes de *P. hildebrandi*, *P. labialis* y *P. punctatus*.

En el ACV realizado a partir de los “partial warps” (generados por el método de superimposición de procrustes) se encontró que los dos primeros ejes son estadísticamente diferentes (Lambda de Wilk’s=0.0003487, $F=49.5$, $p<0.0000$) y explican el 100% de la variación entre los morfos (especies). El primer eje explicó el 51.86% de la varianza, mientras que el segundo el 48.12%.

En la representación grafica de ambos ejes se observó que los tres morfos se separan notablemente. En la región positiva del primer eje se ubican *P. labialis* y *P. hildebrandi*, y hacia la parte negativa *P. punctatus*. Mientras que en el segundo eje hacia el extremo positivo esta *P. labialis*, seguido hacia la zona negativa por *P. punctatus* y *P. hildebrandi*, respectivamente (Fig. 31).

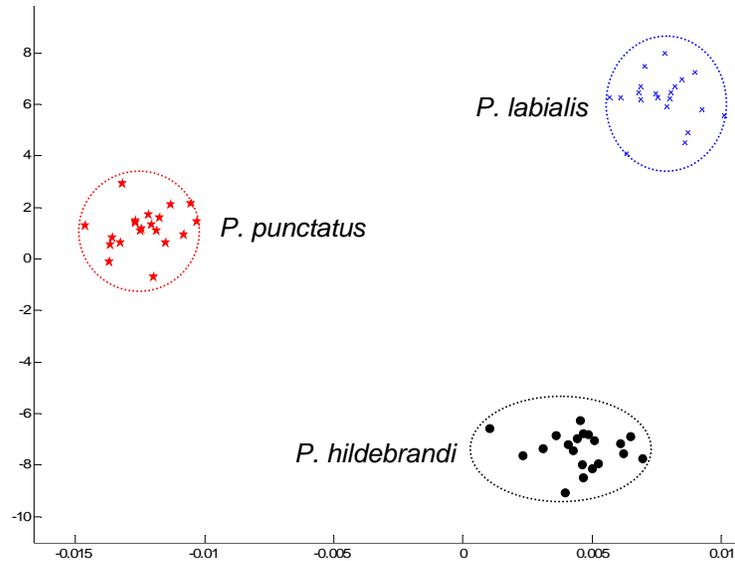
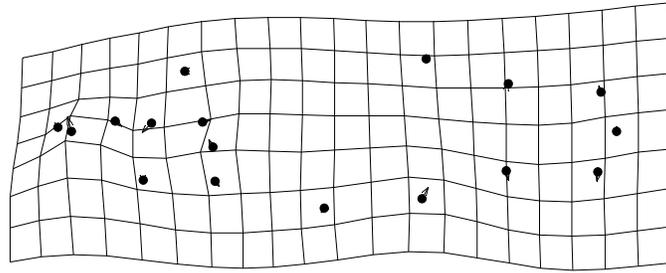
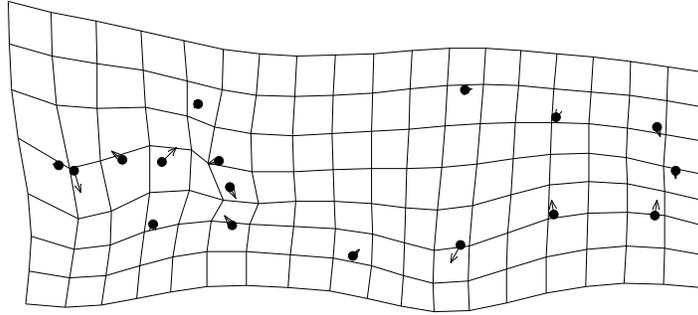


Figura 31. Gráfica de las dos primeras variables canónicas obtenidas del análisis de discriminantes con los “partial warps” de la superimposición de procrustes.

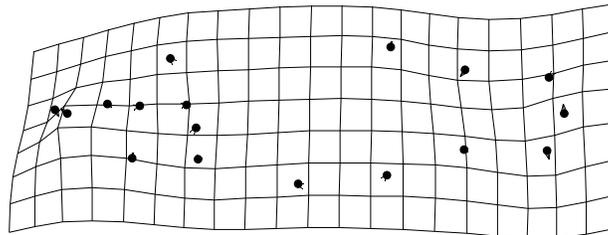
En las gradillas de deformación se apreció que sobre el primer eje hay un desplazamiento importante de los puntos de anclaje “landmarks” de la cabeza (13, 14, 15, 16), de la altura del cuerpo (9) y del pedúnculo caudal (8, 5, 7). Por su parte, sobre el segundo eje se encontró que la máxima deformación también es en la región cefálica, (1, 15, 16 y 17), en el pedúnculo caudal (4, 6, 7, 8) y la altura del cuerpo (3). Como se aprecia, en ambos ejes la deformación se presentó en las mismas regiones del cuerpo pero cambia la dirección de desplazamiento de los puntos, siendo prácticamente en sentido opuesto (Fig. 32).



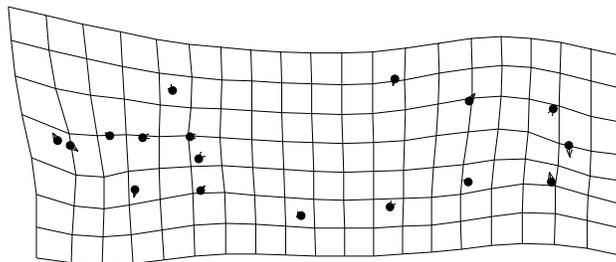
a) Variable canónica 1 parte positiva



b) Variable canónica 1 parte negativa



c) Variable canónica 2 parte positiva



d) Variable canónica 2 parte negativa

Figura 32. Gradillas de deformación de las formas de *Profundulus* sobre las dos primeras variables canónicas del análisis de discriminantes.

Por otra parte, la prueba de T^2 de Hotelling con las distancias cuadráticas de Mahalanobis después del ajuste de Bonferroni demostró que existen diferencias significativas entre los tres morfos ($p < 0.0001$) (Cuadro 12). Sin embargo, el parecido morfológico es más estrecho entre *P. hildebrandi* y *P. labialis* (Fig. 33).

Cuadro 12. Matriz de distancias cuadráticas de Mahalanobis obtenida del método de superimposición de procrustes.

	<i>P. hildebrandi</i>	<i>P. labialis</i>	<i>P. punctatus</i>
<i>P. hildebrandi</i>	0	304.2012	318.2056
<i>P. labialis</i>		0	324.1868
<i>P. punctatus</i>			0

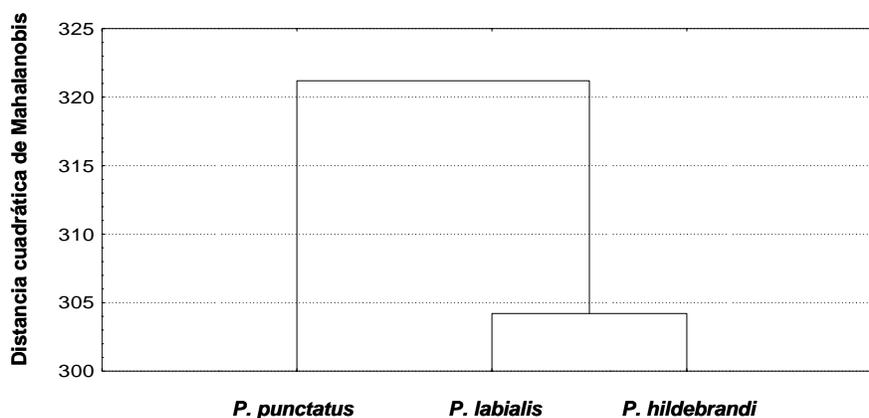


Figura 33. Dendrograma obtenido a partir de las distancias cuadráticas de Mahalanobis con los “partial warps” de la superimposición de procrustes.

Morfometría de las branquiespinas

El ANVA de las tres medidas tomadas de las branquias demostró que hay diferencias estadísticamente significativas entre por lo menos un par de especies. La prueba de DHS de Tukey indicó que la longitud de las branquiespinas difiere significativamente entre las tres especies; el ancho es diferente en *P. labialis* y *P. punctatus*; y la distancia interbranquiespinas sólo es diferente en *P. hildebrandi* (Cuadro 13).

Cuadro 13. Resultados del análisis de varianza con las medidas de las branquiespinas.

MEDIDA	F	ESPECIES
Longitud de las branquiespinas	21.029	<i>P. hildebrandi</i> , <i>P. labialis</i> y <i>P. punctatus</i>
Ancho de las branquiespinas	5.544	<i>P. labialis</i> y <i>P. punctatus</i>
Distancia interbranquiespina	34.918	<i>P. hildebrandi</i>

La especie con las branquias más largas es *P. punctatus* ($x=3.82$), seguida de *P. hildebrandi* ($x=3.25$) y *P. labialis* ($x=2.63$) respectivamente. Con las branquias más anchas está *P. labialis* ($x=1.34$), después *P. hildebrandi* ($x=1.28$) y por último, *P. punctatus* ($x=1.18$). La distancia interbranquial fue mayor en *P. hildebrandi* ($x=1.22$), y disminuyó considerablemente en *P. punctatus* ($x=0.69$) y *P. labialis* ($x=0.63$) (Fig. 34).

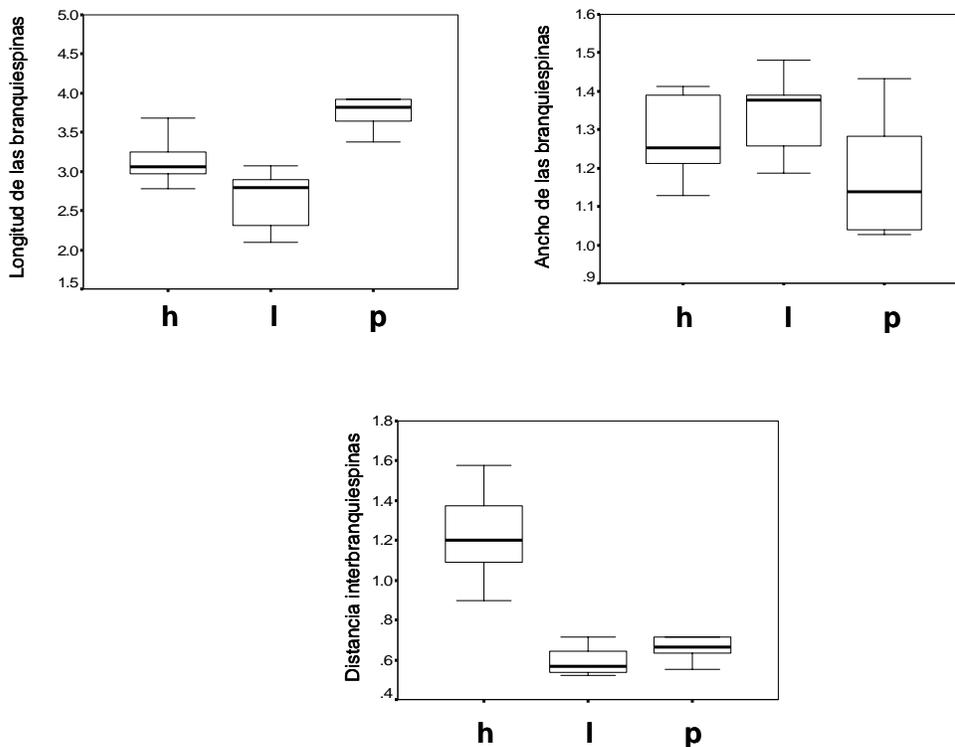


Figura 34. Diagramas de caja de las medidas de las branquiespinas, mostrando los cuantiles 25, 75 y mediana. Donde h= *P. hildebrandi*, l= *P. labialis* y p= *P. punctatus*.

Posición de la boca

En las pruebas de T para comparar los ángulos de la boca entre pares de especies se encontró que *P. hildebrandi* y *P. punctatus* no difieren significativamente, sin embargo, estas dos si son diferentes de *P. labialis*. *Profundulus labialis* tiene el mayor ángulo de la boca ($x=34.41^\circ$), después *P. punctatus* ($x=18.30^\circ$) y por último *P. hildebrandi* ($x=17.62^\circ$). De esta manera, se observa que la posición de la boca en *P. labialis* está orientada hacia la parte ventral de la cabeza, mientras que en *P. punctatus* y *P. hildebrandi* va de posición terminal a ligeramente dorsal respectivamente (Cuadro 14, Fig. 35).

Cuadro 14. Resultados de las pruebas de T por pares de especies para la posición de la boca.

	t	gl.	sig.
<i>P. hildebrandi</i> - <i>P. labialis</i>	-10.042	38	0.000
<i>P. hildebrandi</i> - <i>P. punctatus</i>	-0.048	38	0.962
<i>P. labialis</i> - <i>P.puncatus</i>	7.378	38	0.000

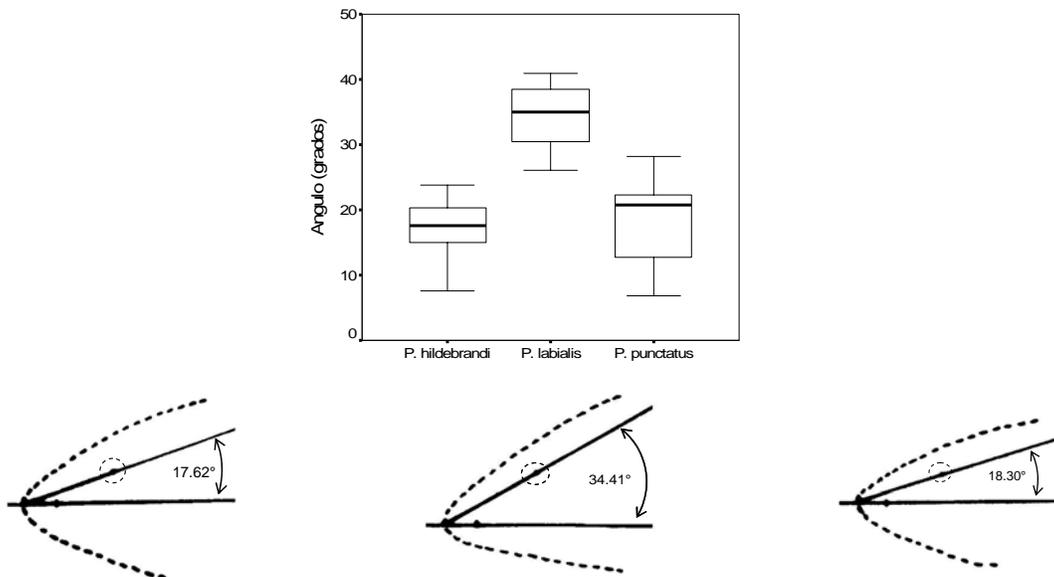


Figura 35. Diagramas de caja del ángulo de la boca, mostrando los cuantiles 25, 75 y mediana; y dibujos de la posición de la boca de *P. hildebrandi*, *P. labialis* y *P. punctatus*.

Análisis de la dieta

La relación entre la longitud patrón del organismo y la longitud total del estómago-intestino evidenció diferencias entre las especies. *P. hildebrandi* presentó los tractos digestivos más cortos y *P. labialis* los más largos, mientras que *P. punctatus* ocupó un lugar intermedio. Aparentemente las diferencias son más evidentes en los organismos de tallas menores y conforme los organismos crecen éstas se reducen (Fig. 36).

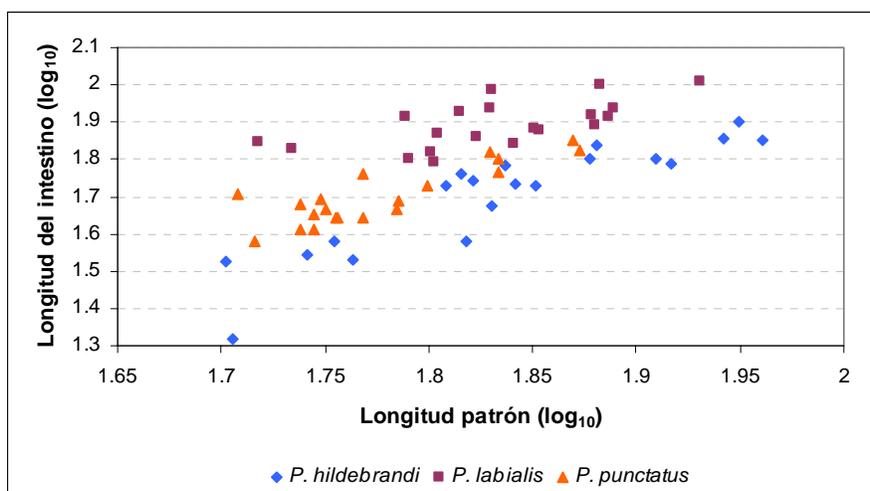


Figura 36. Gráfica de la relación longitud del intestino y la longitud patrón de *P. hildebrandi*, *P. labialis* y *P. punctatus*.

Con respecto al análisis de la dieta, se hizo una revisión de algunos contenidos estomacales y se establecieron cinco categorías alimentarias: algas, vegetales superiores, moluscos, insectos y materia orgánica no identificable.

Se encontró que *P. hildebrandi* consume principalmente insectos (81%), seguido de moluscos (10%, bivalvos) y algas (7.9%). Los órdenes encontrados en orden de importancia fueron Odonata (larvas), Coleoptera (larvas y adultos), Diptera (adultos), Hymenoptera (adultos), Isopoda (adultos), Psocoptera (adultos), Chilopoda (adultos), Dictyoptera (adultos), Hemiptera (adultos), Lepidoptera (larvas) y Tricoptera (larvas).

La dieta de *P. labialis* tuvo una gran cantidad de materia orgánica no identificable (63.89%), insectos del orden Efemeroptera (21.7%, larvas), algas (9.56%) y vegetales superiores (4.85%). Es importante mencionar que en la materia orgánica se encontró una gran cantidad de algas diatomeas y aparentemente restos de material vegetal.

Por último, en *P. punctatus* se encontraron insectos (51%), algas (22.6%), vegetales superiores (19.75%), materia orgánica no identificable (5.9%) y moluscos (0.23%, bivalvos). Dentro de los órdenes de insectos identificados se encuentran en orden de importancia Coleoptera (adultos), Lepidoptera (larvas y adultos) e Hymenoptera (adultos) (Fig. 37).

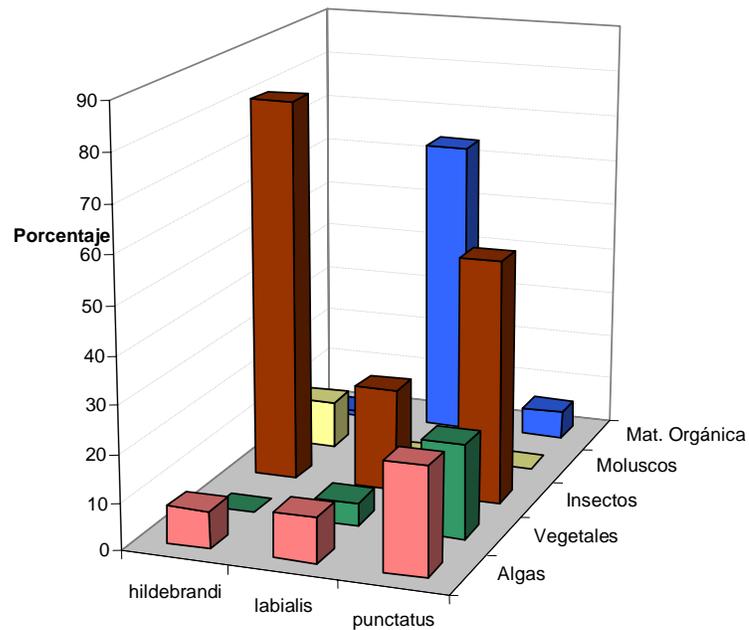


Figura 37. Gráfica de la composición de la dieta expresada en proporciones de *P. hildebrandi*, *P. labialis* y *P. punctatus*.

Variables ambientales y hábitat

A partir de las observaciones en los sitios de colecta se puede decir que *P. hildebrandi* habita tanto en ambientes lénticos y lóticos no muy grandes con profundidades moderadas, donde la velocidad de corriente va de nula a rápida, aunque aparentemente los individuos son más abundante en aguas quietas (pozas) o de corriente lenta (remansos). El tipo de sustrato que se encontró en los cuerpos de agua es muy variable, puede ser fangoso, arenoso, con grava y cantos rodados hasta rocas de tamaño grande; sin embargo, con frecuencia se encuentra una combinación de estos. Una característica importante asociada a la presencia y abundancia de los organismos fue la existencia de vegetación riparia y/o acuática.

Con respecto a *P. labialis*, se observó que básicamente habita en sistemas lóticos poco anchos y de baja profundidad, con velocidad de corriente de moderada a rápida; las crías frecuentemente se encuentran en las orillas mientras que los adultos son más abundantes en la zona media donde la corriente es mayor. El tipo de sustrato fue básicamente de cantos rodados, con algunas pequeñas zonas de grava y/o rocas de tamaño mayor. La vegetación sumergida fue escasa y la ribereña puede ir de poca a abundante.

Profundulus punctatus habita ambientes lóticos de poca profundidad, anchos con velocidad de corriente muy variable, sin embargo, fue más común encontrar individuos a las orillas de los ríos en sitios con corriente lenta (remansos) o nula (pozas). El tipo de sustrato que predominó fueron los cantos rodados y piedras de tamaño mayor, con cierta cantidad de grava y arena. La vegetación ribereña y sumergida fue prácticamente inexistente.

Con respecto a las variables de calidad del agua no se encontraron diferencias aparentemente importantes; sin embargo, se aprecia que los intervalos entre los valores máximos y mínimos de algunos parámetros puede variar notablemente, principalmente entre los sitios de colecta de *P. labialis* (Cuadros 15 y 16).

Cuadro 15. Lista de los sitios donde se tomaron los datos ambientales y parámetros físicos-químicos del agua.

ESPECIE	LOCALIDAD	COORDENADAS	ALTITUD (MSNM)
<i>P. hildebrandi</i>	Arroyo Ma. Eugenia, atrás de ECOSUR	16° 42' 55", 92° 37' 28"	
<i>P. hildebrandi</i>	Puente Río Fogótico, San Cristóbal de Las Casas, Chiapas	16° 43' 59", 92° 36' 54"	
<i>P. hildebrandi</i>	Arroyo Moxviquil, San Cristóbal de Las Casas, Chiapas	16° 45' 09", 92° 37' 50"	
<i>P. hildebrandi</i>	Arroyo Ma. Eugenia, La Albarrada, San Cristóbal de Las Casas, Chiapas	16° 42' 37", 92° 37' 32"	
<i>P. hildebrandi</i>	Río Fogótico, El Arcotete, San Cristóbal de Las Casas, Chiapas	16° 45' 57", 92° 31' 43"	
<i>P. labialis</i>	Río Villa las Rosas, Chiapas	16°21'42", 92°24'22"	1100
<i>P. labialis</i>	Cascadas El Chiflón, Chiapas	16°11'24", 92°16'17"	1100
<i>P. labialis</i>	Río Blanco, Chiapas	16°18'27", 92°29'15"	639
<i>P. labialis</i>	Baños del Carmen, Chiapas	16°24'55", 92°42'38"	450
<i>P. labialis</i>	San Francisco El Epazote, Chiapas	16°35'43", 92°57'42"	455
<i>P. punctatus</i>	Río Puente Urbina, carretera a Pijijiapan, Chiapas	15°43'26", 93°15'20"	55
<i>P. punctatus</i>	Río en el Puente Pijijiapan, Chiapas	15°41'46", 93°12'40"	69
<i>P. punctatus</i>	Río en el Puente Novillero, Chiapas	15°29'59", 92°56'31"	77
<i>P. punctatus</i>	Río en el Puente Mapastepec, Chiapas	15°27'09", 92°52'39"	79
<i>P. punctatus</i>	Río en el Puente Bonanza, Chiapas	15°21'55", 92°43'55"	65

Cuadro 16. Valores de las variables ambientales tomadas en los sitios de colecta de las especies.

PARÁMETROS	<i>P. hildebrandi</i>	<i>P. labialis</i>	<i>P. punctatus</i>
Sólidos totales disueltos (mg/l)	ND	28.5 - 1862	31.8 - 66.44
Salinidad (‰)	0.1 - 0.3	0.2 - 1.9	0.0 - 0.1
Conductividad (µS/cm)	82.4 - 448	359 - 3760	72.5 - 145.1
Oxígeno disuelto (mg/l)	4.6 - 8.85	6 - 8.3	7.5 - 10.6
pH	7.5 - 8.3	6.8 - 8.72	8.75 - 9.26
Temperatura del agua (°C)	12.6 - 15.9	20 - 29.4	27.2 - 28.7
Velocidad de corriente (m/s)	ND	0.3 - 1	0.1 - 0.6
Profundidad (m)	0.2 - 1.06	0.05 - 0.6	0.1 - 1
Ancho del río (m)	1.87 - 8.18	3.0 - 12	6.0 - 50

DISCUSIÓN

Análisis morfométrico

A pesar que el uso de medidas cruzadas ha sido poco empleado en peces mexicanos, en el presente trabajo su eficacia quedó de manifiesto en el análisis de variables canónicas donde resultaron ser las medidas más precisas para clasificar a los organismos de *Profundulus* en la especie establecida *a priori*; además, las medidas mostraron menos variación, reduciendo la dispersión de los individuos en el espacio multivariado. Generalmente las medidas tradicionales evidencian diferencias morfológicas predecibles, las cuales en la mayoría de los casos están relacionadas únicamente con uno o dos ejes del cuerpo y con frecuencia son medidas altamente correlacionadas. En cambio, las cruzadas buscan diferencias geométricas a través de todo el cuerpo y permiten hacer inferencias que van más allá de la separación de especies (Strauss y Bookstein, 1982; Wood y Bain, 1995; Zelditch et al., 2004).

Es importante reconocer que aunque las evidencias aquí mostradas sugieren que las medidas cruzadas son más eficientes para la separación y clasificación de las especies, el uso de las tradicionales es una herramienta fundamental y de gran importancia para corroborar la identificación de taxa, por tal motivo es recomendable que se utilicen ambas de manera complementaria (Rauchenberger, 1988; Paulo-Maya y Trujillo-Jiménez, 2000; Barbour, 2002).

Sin importar el origen de las medidas (tradicionales o cruzadas) se evidenció que las seis especies pueden ser diagnosticadas con alto grado de confiabilidad, además se reconocieron tres grupos morfológicos claramente distintos, los cuales básicamente están definidos por medidas relacionadas con el tamaño de la cabeza y la posición de la boca, así como la altura del cuerpo. Uno de estos grupos lo conforman *Profundulus labialis* y *P. candalarius*, con cuerpo alto y delgado, boca y cabeza pequeña; otro por *P. hildebrandi*, que es la forma

menos alta, con boca y cabeza grande; y por último el de *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus* que tienen la altura del cuerpo intermedia pero la boca y cabeza grande (Cuadros 2 y 6; Figs. 10 y 13).

De esta manera, cada especie puede ser considerada como una entidad taxonómica válida ya que en la mayoría de los casos existen medidas estadísticamente discriminantes que permiten reconocerlas. *P. hildebrandi* presentó el mayor número de medidas diferentes (seis tradicionales y siete cruzadas), seguida de *P. labialis* (tres tradicionales y cuatro cruzadas), *P. candalarius* (cuatro tradicionales y una cruzada) y *P. punctatus* (dos tradicionales y dos cruzadas). Para *P. guatemalensis* y *P. oaxacae* no se encontraron medidas exclusivas, a pesar que en los análisis multivariados el porcentaje de certeza en su clasificación fue alto, incluso por arriba de otras especies (Cuadros 4 y 8); sin embargo, estas especies se pueden separar a través de la combinación de varias medidas.

Profundulus guatemalensis tiene seis medidas que se solapan con otras especies (tradicionales: 7. altura del pedúnculo caudal, 10. ancho de la boca; cruzadas: 1. margen anterior del premaxilar a la articulación del cleitro, 12. base de la aleta anal, 14. origen de la aleta anal a la inserción posterior de la aleta dorsal, 16. inserción posterior de la aleta dorsal a la inserción posterior de la aleta anal), no obstante, el resto de las especies pueden ser discriminadas con el empleo de otras medidas. En este mismo caso se encuentra *P. oaxacae*, que manifiesta cinco medidas que se sobreponen con otras especies (tradicionales: 7. altura del pedúnculo caudal, 10. ancho de la boca; cruzadas: 12. base de la aleta anal, 14. origen de la aleta anal a la inserción posterior de la aleta dorsal, 16. inserción posterior de la aleta dorsal a la inserción posterior de la aleta anal). De esta manera, las seis especies pueden ser identificadas de manera confiable con el uso de las medidas utilizadas en este trabajo.

Con respecto a las agrupaciones observadas en los análisis uni y multivariados, éstas fueron corroboradas a partir de los análisis de similitud donde quedó claro el parecido morfológico existente entre *P. labialis* y *P. candalarius*; en el par formado por *P. guatemalensis* y *P. punctatus* que posteriormente se unen a *P. oaxacae*; y por último el representado por *P. hildebrandi*. La posición en los dendrogramas de esta última especie no se mantuvo constante en las agrupaciones, con las medidas tradicionales se unió al trío de *P. oaxacae*, *P. punctatus* y *P. guatemalensis*; mientras que con las medidas cruzadas se separó completamente de los dos grupos (Figs. 11 y 14). Esta última relación de similitud quizá sea la más probable considerando que las medidas cruzadas demostraron ser más precisas que las tradicionales.

El parecido morfológico encontrado entre las especies podría ser una primera aproximación para suponer relaciones de parentesco, considerando que recientemente se ha sugerido que los datos morfométricos son útiles para construir filogenias (Hillis, 1987; Hillis y Wiens, 2000; Wiens, 2004); sin embargo, existe la probabilidad de que la semejanza de algunos de estos atributos sean convergencias, principalmente las expresadas por *P. hildebrandi* ya que se considera presenta un alto grado de especialización trófica (Miller, 1950, 1955).

Al respecto, una de las características más novedosas y útiles del uso de medidas cruzadas es que permite explorar la relación entre la morfología de los organismos y algunos procesos ecológicos, lo cual puede a su vez servir para entender eventos de diversificación de los taxa. Los estudios de morfología funcional han sido utilizados con frecuencia en otros grupos de peces, donde se ha demostrado su valor para explicar la relación entre el hábitat y la expresión fenotípica de las especies (Gatz, 1981; Wood y Bain, 1995; Martin-Smith, 1998; Blake, 2004).

Mediante la construcción de las formas corporales de las seis especies de *Profundulus* con las medidas cruzadas, se encontraron nuevamente tres patrones

morfológicos. A pesar de que las diferencias no son muy grandes es posible observar como la altura del cuerpo, del pedúnculo caudal y la posición de la boca permiten reconocer estos morfos. El primero está representado por organismos altos con la boca dirigida hacia la región ventral como *P. labialis* y *P. candalarius*; sin embargo, en la primera especie es más notable su orientación hipognata. En el segundo, se encuentran los peces menos altos y con la boca en posición terminal; *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus*. El último patrón morfológico se representa por individuos con la menor altura, alargados y la boca orientada hacia el dorso, característico de *P. hildebrandi* (Fig. 16).

La construcción de estas formas da una idea general sobre cómo la morfología de los organismos puede estar relacionada con el ambiente donde viven y el tipo de alimentación. Se ha documentado que generalmente las especies altas y delgadas de forma hidrodinámica suelen encontrarse en corrientes rápidas, mientras que aquellas de cuerpos anchos o redondeados habitan principalmente zonas con poca o nula corriente (Matthews, 1998; Ward et al., 2003). Por otra parte, la posición ventral de la boca en la mayoría de los casos se asocia a una conducta alimentaria bentónica, cuando esta dirigida hacia el dorso con un tipo de alimentación que se lleva a cabo en la superficie del agua, mientras que bocas en posición terminal son funcionales en diversos niveles de la columna de agua (Norton, 1991; Winemiller, 1991; Wood y Bain, 1995; Matthews, 1998; Blake, 2004). En otros grupos de peces se ha observado que existe variación de la altura del cuerpo y la posición de la boca dependiendo del hábitat (Langerhans et al., 2003).

Aunque los resultados morfométricos hasta aquí presentados pueden hacer algunas inferencias morfofuncionales sería prematuro considerarlas concluyentes, por lo que éstas ideas e hipótesis fueron retomadas posteriormente para ser analizadas desde el punto de vista ecomorfológico.

Análisis osteológico

A través de la revisión de las estructuras óseas se encontraron 13 características cualitativas importantes para reconocer grupos o especies, tres de ellas en dos piezas del esqueleto axial y diez en siete estructuras del esqueleto apendicular (Cuadro 10). Fue muy clara la separación de las seis especies en dos grupos, uno integrado por *P. candalarius*, *P. hildebrandi* y *P. labialis*, y otro por *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus* (Figs. 19 a 28). Las diferencias osteológicas observadas entre estos grupos son notables y difícilmente se pueden atribuir al gradiente de variación natural que exhiben los caracteres.

Las evidencias osteológicas se suman a las morfológicas y moleculares para considerar que *Profundulus* está integrado por dos grupos naturales (Miller, 1955 y Doadrio et al., 1999a, b). En el primero de los grupos las diferencias entre *P. candalarius* y *P. labialis* fueron mínimas, únicamente un atributo permitió separarlas, mientras que *P. hildebrandi* mostró varias características que la hacen notablemente distinta, incluso algunas de ellas compartidas con los miembros del otro grupo. Por su parte, en el segundo grupo las diferencias osteológicas prácticamente no existen, solamente *P. oaxacae* pudo ser diagnosticada por presentar los bordes anterior y posterior de los pterigióforos de las aletas dorsal y anal aserrados. Es importante mencionar que la revisión de *P. guatemalensis* se hizo a partir de sólo tres ejemplares por lo que sería conveniente incluir un mayor número para corroborar lo aquí presentado.

A pesar de que no existen estudios osteológicos previos sobre todas las especies de *Profundulus*, existen antecedentes que pueden ser analizados y comparados con lo encontrado en este trabajo. El uso de caracteres osteológicos de las especies de *Profundulus* básicamente ha servido para establecer las relaciones filogenéticas entre categorías taxonómicas por arriba del nivel de especie (Uyeno y Miller, 1962; Parenti, 1981; Costa, 1998). Sin embargo, los estudios realizados no incluyeron a todas las especies o bien el número de

estructuras óseas revisadas fue reducido. Quizá la diagnosis de referencia del género y de algunas especies sean lo más detallado y confiable que exista al respecto (Miller, 1950; Hubbs, 1924 en Uyeno y Miller, 1962).

El análisis de la bibliografía reveló que pese a haber revisado prácticamente las mismas piezas, existen discrepancias en los resultados y las conclusiones generadas. Esta situación se explica, porque algunos autores se percataron de la variación que existe en los huesos de las especies de los dos grupos de *Profundulus* (Uyeno y Miller, 1962; Miller, 1955), mientras que otros aparentemente no las observaron (Parenti, 1981, Costa, 1998).

Entre las estructuras utilizadas con mayor frecuencia para agrupar a las especies de *Profundulus* y diferenciarlas de otros géneros están el vómer, etmoides, etmoides lateral, premaxilar, pterigióforos y cuadrado. Sin duda, estas son las piezas óseas cuya variación interespecífica ha generado confusiones en la interpretación de las relaciones de parentesco con otros géneros y familias. Debido a su importancia taxonómica se consideró necesario analizar cuál es la problemática que ha generado la variación de estas piezas y la trascendencia de su interpretación.

En el caso del vómer los resultados aquí mostrados revelan que hay dos formas, una presenta forma de “V” (*P. guatemalensis*, *P. oaxacae*, *P. punctatus*) y otra en forma de “Y” (*P. candalarius*, *P. hildebrandi*, *P. labialis*). Esto fue notado por Uyeno y Miller (1962), quienes lo consideraron en sus respectivos trabajos. Sin embargo, Parenti (1981) parece omitir esta diferenciación y generaliza para el género la forma de “V”; mientras que Costa, determinó que la forma de “Y” como un carácter apomórfico del género y la familia.

El etmoides manifiesta una situación similar, aunque en el presente trabajo no se revisó con detalle esta estructura debido a las condiciones de transparentación de los peces, se detectaron diferencias entre los dos grupos

antes mencionados, lo cual fue corroborado con la revisión del trabajo de Uyeno y Miller (1962) donde se mencionó que el etmoides en *P. punctatus* y *P. guatemalensis* es pequeño, y por el contrario en *P. candalarius*, *P. hildebrandi* y *P. labialis* es grande. A pesar de esto, Parenti (1981) nuevamente consideró que el etmoides pequeño es representativo del género, mientras que Costa (1998) lo ilustró de tamaño grande.

Con respecto al etmoides lateral, la característica principal que se reportó anteriormente es la presencia de un proceso distal en la porción anterior que forma una fosa profunda, la que ha sido definida por todos los autores como un carácter apomórfico del género. Sin embargo, en las observaciones que se realizaron durante este trabajo esta característica parece más evidente en *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus*.

El tamaño y ancho de proceso ascendente del premaxilar fue considerado determinante para separar a *Profundulus* de *Fundulus* (Miller, 1955), en la primera es corto y amplio mientras que en la segunda es mucho más largo y estrecho. Por su parte, Parenti (1981) reconoció tres formas diferentes, una donde el proceso es corto y amplio (*Profundulus* y aplochélidos), otro donde es largo y estrecho (*Fundulus*), y por último uno afilado o triangular (resto de los Cyprinodontiformes), no obstante, afirmó que este patrón de tamaño es variable en otros grupos de peces. Esta situación también fue advertida por Costa (1998) y bajo estas circunstancias determinó que el proceso ascendente debe ser codificado utilizando más atributos como la altura, ancho y forma; lo cual lo llevó a considerar que el proceso ascendente del premaxilar en *Profundulus* debe ser codificado como largo y estrecho. En el presente estudio, se observó que el proceso ascendente tiene aproximadamente la misma altura en las seis especies, pero en *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus* la base es más amplia y se adelgaza hacia la punta que es redondeada. Mientras que en *P. candalarius*, *P. hildebrandi* y *P. labialis* el ancho de la base es constante a lo largo de la pieza, y también presenta la punta redondeada.

De acuerdo con Costa (1998), el proceso medio del pterigióforo es largo; sin embargo, en este trabajo se logró observar que la longitud del proceso es notablemente mayor en *P. candalarius*, *P. hildebrandi* y *P. labialis*. De la misma manera, este mismo autor juzgó que el margen posterior del cuadrado es cóncavo para las seis especies y aquí se encontró que esto se presenta sólo en *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus*, y que en *P. candalarius*, *P. hildebrandi* y *P. labialis* es convexo.

Hasta aquí se han mencionado exclusivamente algunas de las diferencias encontradas en las piezas que se han utilizado para establecer las relaciones de *Profundulus* con otros taxa, no obstante, también se encontraron patrones de variación importantes en el lacrimal, dentario, articular e interopercular.

Como se pudo apreciar, existe una enorme discrepancia en la apreciación e interpretación de las formas de los huesos, que ha llevado a relacionar a *Profundulus* con diferentes géneros, por lo que se sugiere examinar los resultados aquí presentados y volver a analizar los previamente utilizados para precisar el estatus taxonómico de este taxón y sus relaciones de parentesco dentro del orden Cyprinodontiformes.

Desde el punto de vista funcional se conoce que los huesos que forman parte o están relacionadas con la boca, pueden ser determinantes en el mecanismo de alimentación de los peces, así como en el tipo de dieta (Caldecutt y Adams, 1998; Kassam et al., 2004). Generalmente los estudios que abordan este tema no analizan cada pieza por separado sino de manera conjunta, esto facilita el entendimiento de la relación entre la forma y la función (Hulsey y García de León, 2005).

Dicha situación es evidente en *Profundulus*, donde las características encontradas en el premaxilar, dentario, articular, mesopterigoides, cuadrado e interopercular, determinan la posición y tamaño de la boca, las que a su vez se

relacionan con la conducta alimentaria y la alimentación de las especies. En cíclidos neotropicales y en organismos de *Gasterosteus aculeatus* se ha documentado que los aparatos mandibular y opercular determinan la máxima protusión de la boca y en consecuencia el tipo de presas consumidas (Caldecutt y Adams, 1998; Hulsey y García de León, 2005).

Las diferencias encontradas en *Profundulus* con respecto a la longitud del proceso medio del basipterigio de las aletas pélvicas, pueden relacionarse con la fuerza y precisión de los movimientos que ejecutan en su respectivo hábitat (Webb, 1982; Blake, 2004). Las especies que presentaron este proceso con la mayor longitud (*P. candalarius*, *P. hildebrandi* y *P. labialis*) es probable que necesiten mayor fuerza en la inserción de esta estructura en la musculatura corporal, lo que permitirá tener potencia para realizar movimientos rápidos y dirigidos, condiciones necesarias en zonas de corriente rápida (Blake, 2004), que es donde generalmente se encuentran estos organismos. Por el contrario, las especies con el proceso corto no necesitan mucha fuerza en estos apéndices ya que el medio donde viven no lo demanda, por lo que la inserción del proceso medio es débil.

Esta hipótesis debe ser corroborada con estudios posteriores en otros grupos de peces o en laboratorio, pues hasta el momento es poco lo que se ha documentado sobre estas estructuras y su importancia funcional (Bell y Harris, 1985). Por ejemplo, en *Gasterosteus aculeatus* se dice que el número de las estructuras óseas que forman la cintura pélvica se relaciona con la ausencia o presencia de depredadores, un mayor número de éstos exige a los peces tener estructuras más complejas, lo que brinda mayor fuerza en estos apéndices y favorece el rápido desplazamiento ante un ataque (Bell et al., 1993), y para *Pseudecheneis sulcatus* se ha documentado que la cintura pélvica tiene una función importante en la adherencia al sustrato, lo que le permite habitar en zonas de corriente (Saxena, 1962).

En el caso de la información osteológica es probable que las relaciones de similitud evidencien relaciones de parentesco; porque tradicionalmente se sabe que las características óseas son de enorme valor en el quehacer sistemático, a pesar de que actualmente se estén desarrollando herramientas novedosas en la biología molecular. Muchas de las clasificaciones actuales de vertebrados tienen su origen en atributos osteológicos, los cuales han mostrado su consistencia a través del tiempo y han permitido además establecer relaciones de parentesco en muchos grupos, incluyendo los peces (Gregory, 1933). Recientemente, los estudios osteológicos también son de gran utilidad para abordar aspectos relacionados con especialización trófica y demostrar su importancia en la diversificación de algunos taxa (Meyer, 1987; Strauss, 1990; Mabee et al., 2000).

Se reconoce que algunas estructuras relacionadas con la alimentación pueden mostrar cierto grado de convergencia entre diferentes grupos, y esto podría confundir la interpretación de las relaciones filogenéticas (Gregory, 1933). Como en *Profundulus hildebrandi*, que presenta algunas características de la boca muy parecidas a las de *P. punctatus* y *P. guatemalensis*. Sin embargo, características como la longitud del proceso medio del basipterigio, la forma del interopercular y del vómer no dejan lugar a dudas que esta especie está relacionada directamente con *P. candalarius* y *P. labialis*.

Es importante analizar aquellos caracteres que aparentemente están manifestando convergencia, ya que ayudan a reconocer posibles procesos adaptativos y de diversificación del grupo; situación que es bastante común en los peces y la cual ha sido documentada en múltiples ocasiones con los cíclidos (Kassam et al., 2004; Hulsey y García de León, 2005). Así mismo, es necesario explorar como varían los huesos en forma y tamaño durante el crecimiento de los peces, ya que se sabe que puede determinar su estado final, procesos como la alometría y heterocronía pueden tener implicaciones muy importantes en la expresión fenotípica (Barlow, 1961; Meyer, 1987; Strauss, 1990; Parichy et al., 1992; Smith y Skulason, 1996; Mabee et al., 2000; Piersma y Drent, 2003). Se

debe destacar que el fenotipo de los organismos es producto de la historia evolutiva y adaptaciones recientes al ambiente local; no obstante, la importancia de ambos factores aún es controversial (Radhekshmi y Polly, 2005).

Análisis filogenético

A pesar que el género *Profundulus* representa uno de los taxa ancestrales dentro de los ciprinodóntidos (Uyeno y Miller, 1962; Parenti, 1981), existe poca información sobre las relaciones filogenéticas entre sus especies. Básicamente el uso de algunos representantes de este género ha servido para establecer relaciones de parentesco entre jerarquías taxonómicas superiores.

Tal es el caso de Uyeno y Miller (1962) que emplearon a *P. candalarius*, *P. guatemalensis*, *P. hildebrandi*, *P. labialis* y *P. punctatus* para determinar las relaciones de *Empetrichthys erdesi*. Parenti (1981) revisó a *P. guatemalensis*, *P. labialis* y *P. punctatus* como parte de su análisis filogenético y biogeográfico de los Cyprinodontiformes. Costa (1998), en su estudio filogenético y clasificación de los Cyprinodontiformes utilizó a *P. candalarius*, *P. guatemalensis* y *P. labialis*. Dentro de este contexto están los trabajos de Shane et al. (2004), Webb et al. (2004) con godeidos y el de Hrbek et al. (2007) con pecílidos, quienes emplearon a *P. labialis* como especie representante del género.

Los únicos trabajos formales sobre la filogenia entre las especies de *Profundulus* son los de Miller (1955) y Doadrio et al. (1999a,b). El primero se basó en el conocimiento y experiencia que el autor tenía de los caracteres morfológicos y la distribución de las especies (Fig. 3); mientras que el segundo se realizó con el uso de datos moleculares bajo la perspectiva cladista (Fig. 5). De esta manera, la filogenia de *Profundulus* que aquí se presenta es la primera basada en caracteres osteológicos siguiendo la metodología cladista.

Se determinó que las seis especies se agrupan en dos clados (Figs. 29 y 30). El primero de ellos conformado por *P. guatemalensis*, *P. punctatus* y *P. oaxacae* definido por cinco sinapomorfías, que son: vértice posterior derecho del lagrimal largo (1), base del proceso ascendente del premaxilar ancho (2), proceso ventral del articular grande (5), margen del cuadrado cóncavo (8) y escamas preorbitales abundantes (14); *P. oaxacae*, está caracterizada por sólo una apomorfía, bordes de los pterigióforos aserrados (13). Por otra parte, el segundo clado quedó integrado por *P. candalarius*, *P. hildebrandi* y *P. labialis*, cuyos caracteres sinapomórficos fueron siete: prolongación del interopercular larga (9), proceso medio del basipterigio largo (10), forma del vómer en “Y” (11), forma dorsal del vómer plana (12), mancha humeral ausente (15), escamas de la aleta caudal escasas (16), hembras con dimorfismo sexual (17); a su vez *P. candalarius* y *P. labialis* son especies hermanas por presentar como carácter sinapomórfico la orientación del proceso articular angulado (6), además *P. labialis* se distingue por tener como carácter autopomórfico el canal del borde dorsal del mesopterigoides profundo (7); mientras que *P. hildebrandi* se ubicó en la base del clado, presenta como autopomorfía la punta distal del premaxilar alargada (3). De esta manera el único carácter plesiomórfico lo representó la forma del dentario (4), el cual se encontró que es largo en *P. hildebrandi* y las especies del primer clado.

A partir de estos resultados se confirma la hipótesis filogenética de que el género está formado por dos grupos naturales como lo señalaron Miller (1950, 1955) y Doadrio *et al.* (1999a,b). También se corroboró que dentro del grupo labialis *P. candalarius* y *P. labialis* son especies hermanas, y que *P. hildebrandi* esta en la base del clado, un aspecto interesante es que esta última mostró un carácter plesiomórfico con los miembros del otro clado, que permite suponer que la expresión morfológica de ciertas características no es producto de las relaciones de parentesco, sino que pueden ser el resultado de factores de tipo ecológico. Esto podría explicar porque en los análisis de similitud con los datos morfométricos *P. hildebrandi* no se agrupó directamente con *P. candalarius* y *P.*

labialis, además de mostrar la mayor cantidad de diferencias con respecto al resto de las especies.

Por otra parte, a pesar de que en este estudio no se incluyeron todas las formas del grupo *punctatus* que Doadrio et al. (1999) propusieron, los resultados aquí presentados coinciden en que *P. oaxacae*, *P. guatemalensis* y *P. punctatus* forman un grupo monofilético, donde es difícil definir aquellas que son hermanas y cual debe ser colocada en la base. Al respecto, Doadrio et al. (1999a) mostraron evidencias moleculares para sugerir que el origen de estas últimas fue posterior al de *P. oaxacae*, contradiciendo la hipótesis de Miller (1955), quien mencionó que *P. guatemalensis* es la especie ancestral de este grupo. Aquí es importante destacar que en nuestro análisis no se encontraron caracteres sinapomórficos para el grupo de *P. guatemalensis* y *P. punctatus*; y que *P. oaxacae* sólo mostró una característica apomórfica, es decir, son especies muy parecidas desde el punto de vista osteológico. Pese a ello se considera que la apomorfía encontrada en *P. oaxacae* es de trascendencia para apoyar la idea de que esta especie debe ser colocada en la base del clado, como lo sugiere Doadrio et al. (1999a), además puede ayudar para precisar el estatus taxonómico de las poblaciones de *Profundulus* de la cuenca del río Balsas, consideradas por Miller (1955, 2005) sinónimo de *P. punctatus* y por Doadrio et al. (1999a) como especie válida y hermana de *P. oaxacae*. Las relaciones de parentesco entre las especies de este clado y su poca diferenciación morfológica pueden explicar porque a través del análisis morfométrico fue tan difícil encontrar variables discriminantes para cada una de ellas, particularmente en *P. guatemalensis* y *P. oaxacae*.

Se puede notar que las diferencias entre los dos grupos son notables y quizá puedan ser utilizadas para precisar la clasificación en categorías superiores, incluso para decidir si la familia *Profundulidae* es válida, y si los grupos naturales *labialis* y *punctatus* o subgéneros *Profundulus* y *Tlaloc*, pueden ser considerados géneros. Este último respetando la asignación de *Tlaloc labialis* hecha por Álvarez y Carranza (1951).

Un aspecto importante de destacar y sin pasar por alto los principios filosóficos, teóricos y metodológicos de cada escuela (fenetista y cladista), es la semejanza observada entre el cladograma generado a partir de las características osteológicas y los dendrogramas obtenidos de los datos morfométricos (Figs. 11, 14, 29, 30). Ambos tipos de análisis coincidieron en las agrupaciones presentadas. Por un lado, el grupo de *P. guatemalensis*, *P. punctatus* y *P. oaxacae*, y por otro entre *P. labialis* y *P. candalarius*. Esto sugiere que el fenotipo de estas especies está reflejando sus relaciones filogenéticas; sin embargo en el caso de *P. hildebrandi* no es tan evidente, pues no se ligó con las especies que filogenéticamente le corresponderían (*P. labialis* y *P. candalarius*), confirmando la idea de que la expresión fenotípica de algunas de sus características morfológicas pudiera estar siendo afectado por factores ecológicos.

A pesar de que recientemente los datos morfométricos han sido utilizados con mayor frecuencia para establecer relaciones de parentesco, en el caso de *Profundulus* esta posibilidad debe ser considerada con cautela, ya que la expresión fenotípica de algunos de ellos podrían ser convergente o paralela, lo que llevaría a hacer interpretaciones erróneas (Rohlf, 1998).

Análisis ecomorfológico

A partir de los comentarios hechos por algunos investigadores y los resultados aquí presentados, sobre la posibilidad de que la expresión fenotípica de algunas características de las especies de *Profundulus* está siendo promovida por factores ecológicos (Miller, 1950, 1955), se buscó establecer cuál es la relación entre la morfología de los organismos y su ambiente.

Se retomaron los resultados de los análisis uni y multivariados como punto de partida, donde se reconocieron tres patrones morfológicos y se seleccionó una especie representativa de cada uno de ellos para ser analizada bajo la perspectiva ecomorfológica (Figs. 10 y 13). De esta manera, *P. hildebrandi*

correspondió al morfo menos alto y con la boca orientada dorsalmente, *P. punctatus* caracterizó a las formas con altura intermedia y boca en posición terminal y *P. labialis* como la forma más alta y con boca hipognata.

En el análisis de morfometría geométrica se mostró que los tres grupos representan formas diferentes y que las partes del cuerpo que cambian de una a otra forma son principalmente la cabeza, la altura del cuerpo y del pedúnculo caudal. La interpretación de la dirección e importancia del desplazamiento de los puntos de anclaje “landmarks” entre las formas es difícil de interpretar, ya que se debe recordar que a través de esta técnica lo que se analiza es la morfología en conjunto y no puntos aislados (Zelditch et al., 2004). Sin embargo, es muy probable que la deformación en la región de la cabeza esté determinada por los puntos ubicados en la punta de la maxila superior y en la comisura de la boca. De la misma manera, los cambios en la altura del cuerpo y del pedúnculo caudal fueron provocados por el desplazamiento de los puntos colocados en la parte posterior de las aletas dorsal y anal, y en el pedúnculo caudal (Fig. 33).

En *P. hildebrandi* se observó que el punto ubicado en la premaxila se desplaza hacia arriba, mientras que el de la comisura de la boca hacia abajo, lo que provoca que la posición de la boca se oriente dorsalmente; los puntos colocados en la parte posterior del cuerpo tienen un desplazamiento que reduce las diferencias en altura entre la parte anterior y posterior. Por el contrario, en *P. labialis* el punto de la premaxila se mueve hacia abajo y el de la comisura de la boca hacia arriba, determinando la posición ventral de la boca; mientras que los puntos posteriores tienen un desplazamiento que hace notablemente más alto el cuerpo que el pedúnculo caudal. En *P. punctatus* el punto de la premaxila permanece sin desplazamiento y sólo el de la comisura de la boca se mueve hacia abajo, que indica que a pesar de tener la boca en dirigida dorsalmente la deformación no es tan notable como en *P. hildebrandi*; por otra parte, los puntos posteriores reducen la altura del pedúnculo caudal, pero aumentan la altura del cuerpo. Estadísticamente se demostró que la posición de la boca no difiere

significativamente entre *P. punctatus* y *P. hildebrandi*, pero, entre éstas dos y *P. labialis* si es diferente. Además, en el análisis morfométrico con las medidas tradicionales se demostró que *P. hildebrandi* tiene la boca más larga y ancha de estas tres especies (Fig. 36).

La forma del cuerpo y la posición de la boca son características que tradicionalmente se han asociado con el tipo de hábitat y dieta de las especies (Langerhans et al., 2003). Por ejemplo, las especies altas y delgadas son hidrodinámicamente más eficientes para soportar las corrientes de agua rápidas; los cuerpos deprimidos se asocian con sitios donde la velocidad de corriente es lenta o nula, la cual no representa un problema para llevar a cabo las actividades primordiales (Winemiller, 1991; Matthews, 1998, Ward et al., 2003). Con respecto a la boca, se conoce que el tamaño está relacionado con la talla de los componentes alimenticios que los peces pueden atrapar (Rodríguez-Ruiz y Granado-Lorencio, 1988). De la posición se ha encontrado que las bocas ventralmente dispuestas en la mayoría de los casos se asocian a una conducta alimentaria bentónica; las dirigidas hacia el dorso con un tipo de alimentación que se lleva a cabo en la superficie del agua, mientras que bocas en posición terminal son funcionales en diversos niveles de la columna de agua (Wootton, 1990; Norton, 1991; Winemiller, 1991; Winemiller et al. 1995; Wood y Bain, 1995; Matthews, 1998; Blake, 2004). Estas diferencias son importantes para explicar los casos de simpatria reportados para *P. labialis* con *P. punctatus* y *P. guatemalensis*, aunque en realidad no se sabe con certeza si existen entre ellas interacciones ecológicas fuertes.

Con respecto a las branquiespinas, se encontró que *P. punctatus* tiene en promedio 18 (Miller, 1955), son las más largas, con la menor anchura y distancia entre ellas. *Profundulus labialis* también tiene en promedio 18 (Miller, 1955) siendo más cortas, más anchas y poco separadas. Por último, *P. hildebrandi*, tiene 16 en promedio (Miller, 1955), con la longitud intermedia con respecto a las otras especies pero con la mayor separación (Cuadro 13, Fig. 35).

Estas características de las branquiespinas se han relacionado con el mecanismo y tipo de alimentación de los peces. Se sabe que organismos filtradores poseen elevado número de branquiespinas, las cuales son largas y la distancia entre ellas es corta (Matsumoto y Kohda, 2001); esto favorece la retención de artículos alimentarios que posteriormente pasan al esófago. Por el contrario, los peces ramoneadores o succionadores tienen pocas branquiespinas, que son cortas y ampliamente espaciadas, ya que la forma en que atrapan y procesan su alimento básicamente se realiza con estructuras de la boca y faríngeas (Wootton, 1990). Considerando el número y la morfología de las branquiespinas de *P. hildebrandi* se sugiere que se alimenta de organismos de tamaño grande que no necesitan ser filtrados, estos son capturados y procesados por otras estructuras. Mientras que *P. labialis* y *P. punctatus* quizá recurran con mayor frecuencia a la filtración como mecanismo de alimentación; no obstante, este comportamiento se considera poco probable porque los grupos netamente filtradores presentan un número mayor de branquiespinas, tal es el caso de los clupeidos que llegan a tener más de 30 y se alimentan básicamente de plancton (Miller et al., 2005).

Aunque la morfología de las branquiespinas no permitió inferir directamente sobre los hábitos de alimentación de estas tres especies, la relación entre la longitud del tubo digestivo y la longitud patrón de los organismos dio información interesante. En las tres especies el tamaño del estómago es igual pero la longitud del intestino cambia. *Profundulus hildebrandi* presentó el tubo digestivo más corto, seguida de *P. punctatus*, mientras que *P. labialis* tuvo el más largo. Esta diferencia es más evidente en las primeras etapas de crecimiento de los organismos y se reduce conforme aumentan de tamaño (Fig. 37).

Se ha documentado que el tamaño del estómago e intestino está directamente relacionado con la dieta de los organismos. Peces carnívoros u omnívoros presentan estómagos grandes y fuertes que permiten procesar el alimento, mientras que los herbívoros tienen estómagos pequeños (Wootton,

1990). Esta situación se invierte con el tamaño del intestino, ya que en carnívoros y omnívoros es corto, mientras que en los herbívoros es mucho más largo para facilitar la degradación del material vegetal. Entonces, se determinó que la tendencia de *P. hildebrandi* es carnívora, mientras que en *P. punctatus* y *P. labialis* esta tendencia disminuye.

El análisis del contenido estomacal de las tres especies confirmó que los resultados previamente discutidos tienen sustento (Fig. 38). La dieta de *P. hildebrandi* presentó gran cantidad y diversidad de invertebrados, entre los que destacan los insectos, crustáceos y moluscos, aunque ocasionalmente se encontraron algas. Esta fue la especie con la mayor diversidad de invertebrados, los cuales se distribuyen prácticamente en toda la columna de agua. Es interesante comentar que algunos de los organismos que son estrictamente terrestres (dípteros, himenópteros, quilópodos, psocópteros, dictiópteros) (Ward, 1992) y que pudieron caer accidentalmente al cuerpo de agua y ser consumidos por los peces en las capas superficiales. De manera general, estos grupos de invertebrados pueden encontrarse en sistemas lóticos y lénticos, aunque tienden a encontrarse en zonas litorales o pozas con escasa corriente y abundante vegetación acuática sumergida (odonatos, coleópteros, lepidópteros) (Ward, 1992). Miller (1950) además reportó la presencia de vegetales y consideró a la especie como omnívora. En un trabajo más reciente, Velázquez-Velázquez y Schmitter-Soto (2004) mencionan que entre su dieta se encuentran larvas de insectos y crustáceos. De acuerdo con la dieta reportada para esta especie se puede clasificar como omnívora con tendencia a la entomofagia.

En *P. labialis* se encontró una gran cantidad de materia orgánica que no se pudo identificar, sin embargo, en ella había gran cantidad de algas diatomeas, lo que evidencia que el origen del alimento es bentónico. El segundo componente más importante fueron los insectos, pero sólo se encontraron larvas de efemerópteros (organismos bentónicos que viven principalmente en ambientes lóticos bien oxigenados) (Ward, 1992). Las algas que fueron el tercer componente

en importancia, mientras que las plantas superiores fueron ocasionales. Miller et al. (2005) mencionan que en los contenidos estomacales de esta especie observaron odonatos acuáticos y larvas de coleópteros. De tal manera, se puede concluir que esta especie también es omnívora, con tendencia a consumir una mayor proporción de grupos vegetales asociados al sustrato.

Para *P. punctatus* se observó que los insectos son importante fuente de alimento, aunque también se encontraron abundantes restos de algas y vegetales superiores, así como, algunos moluscos bivalvos. Los grupos de insectos encontrados se distribuyen en casi toda la columna de agua y en diversos ambientes, incluso algunos ajenos al cuerpo de agua (coleópteros, lepidópteros e himenópteros) (Ward, 1992). Miller et al. (2005) también reportaron moluscos gasterópodos. Esto mostró que la especie es omnívora, pero a diferencia de las dos especies anteriores, su dieta no presenta una tendencia clara hacia un recurso en particular.

Referente a los parámetros ambientales y físico-químicos del agua se encontró que varían mucho entre sitios y especies (Cuadro 16). Esto dificultó la interpretación de las relaciones entre estas variables con la morfología de los organismos. El parámetro que más claramente se pudo asociar fue la velocidad de corriente, existe una tendencia a ser más fuerte en los sitios donde habita *P. labialis*, es decir, esta especie se encuentra con mayor frecuencia en zonas de corriente rápida. Aunque las otras variables no muestren relación directa con la morfología del cuerpo y trófica de las especies no se deben descartar en trabajos futuros, ya que quizá un análisis más detallado pueda demostrar su importancia.

Las colectas y observaciones de campo permitieron reconocer que los organismos de *P. hildebrandi* se encuentran con mayor frecuencia en zonas de abundante vegetación ribereña y sumergida, donde la velocidad de corriente es moderada a nula, tal como pozas o remansos y donde el tipo de sustrato puede ir de fangoso a rocoso. Esto corroboró lo reportado por Velázquez-Velázquez y

Schmitter-Soto (2004). El caso de *P. punctatus* es semejante al de *P. hildebrandi*, generalmente habita zonas de poca corriente con sustrato muy variable, pero, la vegetación tanto sumergida como ribereña es escasa. Por último, se observó que *P. labialis* preferentemente se localiza en zonas de corriente fuerte con sustrato rocoso y abundante vegetación ribereña.

Basado en el análisis ecomorfológico se puede decir que *P. hildebrandi* se caracteriza por ser una especie poco alta, alargada, con cabeza y boca ancha y ligeramente orientada hacia arriba. Tiene en promedio 16 branquiespinas, que son delgadas, cortas y espaciadas. Presenta un intestino corto respecto a la longitud patrón y su dieta principalmente se basa en invertebrados, donde destacan por abundancia y diversidad los insectos. Esta podría ser considerada como una especie omnívora con tendencia a la entomofagia. Puede encontrarse en hábitats lénticos y lóticos, pero en estos últimos es más común en zonas con velocidad de corriente lenta, como pozas y remansos, con abundante vegetación sumergida y riparia.

Por su parte, *P. labialis* es una especie con el cuerpo alto y con el pedúnculo caudal deprimido, cuerpo y cabeza delgados, y boca pequeña en posición ventral. Presenta en promedio 18 branquiespinas cortas, anchas y poco separadas. Su intestino es largo con respecto a la longitud patrón y a pesar de tener una dieta omnívora, se observó que hay una tendencia hacia el consumo de insectos y material vegetal asociado al bentos. Este taxón se encuentra básicamente en sistemas lóticos y los adultos prefieren las zonas de corriente rápida y sustrato rocoso. En estos sitios es frecuente observar vegetación ribereña y/o sumergida.

Por último, *P. punctatus* presenta una morfología intermedia entre las dos anteriores. Es más alta que *P. hildebrandi*, su cabeza y boca son anchas, está última se ubica en posición terminal. Con 18 branquiespinas en promedio, las cuales son largas, delgadas y muy juntas. El tamaño del intestino con respecto a

la longitud patrón es prácticamente intermedio entre las otras dos especies, lo mismo sucede con la dieta que incluyó un porcentaje similar entre los artículos alimentarios de origen animal y vegetal, por lo que también se puede considerar omnívora, pero sin una tendencia clara. Es más frecuente observarla en hábitat lóticos; sin embargo, dentro de estos prefiere zonas de corriente moderada a lenta, como remansos y pozas. La mayoría de estos sitios no presentaron vegetación sumergida ni ribereña.

Las relaciones encontradas entre la morfología y el ambiente tienen implicaciones ecológicas importantes, y puede ser útil en el desarrollo de estrategias para la conservación de las especies y su hábitat. Se ha documentado que si se identifican gremios tróficos en comunidades de peces y su relación con el hábitat es posible prever cuáles serán las consecuencias biológicas si este último se modifica (Martin-Smith, 1998). Por ejemplo, se sabe que las prácticas agrícolas inadecuadas, la acumulación de sustancias tóxicas, el sobrepastoreo y el ineficiente uso del agua han producido una aceleración en las tasas de acumulación de sedimentos y contaminantes, lo que ha afectado notablemente la dinámica de las comunidades ícticas (De la Vega Salazar, 2003). Uno de los primeros resultados de estas perturbaciones se evidencia en el sustrato de los ríos y particularmente sobre el gremio de las especies con hábitos bentónicos, las cuales al enfrentarse a condiciones negativas en su hábitat como la disminución de oxígeno disuelto, acumulación de sedimento, materia orgánica y una alta concentración de nutrientes pueden tener problemas poblacionales e incluso desaparecer. En el caso particular de *Profundulus*, si el hábitat se modifica por asolvamiento es probable que las poblaciones de *P. labialis* y *P. candalarius* sean las más susceptibles cambiar o desaparecer, debido a que aparentemente sus hábitos son bentónicos. De esta manera, el estudio morfométrico de *Profundulus* no sólo se puede interpretar desde el punto de vista taxonómico y ecológico funcional, sino que puede ser complemento de trabajos relacionados con el diseño de estrategias para la conservación y manejo de las especies y de su hábitat (Martin-Smith, 1998).

Origen y diversificación

Con los resultados presentados y la información de los trabajos previos es posible dar una hipótesis sobre el origen y diversificación del género. Es probable que este haya ocurrido en el Mioceno, cuando un “stock” ancestral marino, con distribución en la vertiente atlántica penetró a la bahía de Amatique (ahora Altiplano de Chiapas y Guatemala). Durante este tiempo, con el levantamiento de la Sierra Madre Oriental, la Sierra Madre del Sur, la Sierra Madre de Chiapas y el Núcleo Central de Centroamérica, se cerró la bahía de Amatique y se dio el primer evento de vicarianza, separando a los representantes ancestrales de los grupos *punctatus* y *labialis*.

Después de esta separación cada grupo siguió su propia historia. Las evidencias moleculares (Doadrio et al., 1999a,b) señalan que durante el Mioceno los primeros representantes del grupo *punctatus* pudieron haber quedado aislados en las tierras altas de la Sierra de Juárez en Oaxaca (cuenca del Atoyac), para distribuirse posteriormente hacia el Río Balsas mediante las conexiones de las cabeceras de los ríos. La conexión parece haberse dado también hacia el sur, ampliando su distribución hacia las partes altas de la cuenca del Río Coatzacoalcos y recientemente a la parte oeste del Grijalva. Aparentemente, en esta última cuenca se dio el paso de la vertiente del Golfo a la del Pacífico, a través de una zona de bajo relieve ubicada en las cercanías a Cintalapa, Chiapas (Rizo de Oro), que ha permitido el paso reciente de otros grupos de peces (cíclidos y pecílidos) y anfibios (Campbell, 1999).

Una vez alcanzada la costa del Pacífico durante el Plioceno-Pleistoceno, el linaje llegó a Guatemala a través de las fluctuaciones en los niveles del mar y a la coalescencia de ríos costeros. Su presencia en la cuenca del Río Motagua, posiblemente se realizó a través de la cuenca del Lago Amatitlán, la cual se sabe ha servido de puente entre ambas vertientes en tiempos recientes (Miller, 1955).

Por otra parte, el grupo *labialis* parece haberse originado en el Altiplano de Chiapas, como consecuencia del levantamiento ocurrido durante el Mioceno. Durante este periodo y el Pleistoceno se formó la cuenca de San Cristóbal de Las Casas, aislando a la población que dio origen a *P. hildebrandi*. Al mismo tiempo se dio la diferenciación de *P. labialis* y su posterior dispersión hacia las cuencas Grijalva-Usumacinta, Polochic y Motagua, favorecida por las constantes comunicaciones que se dieron entre las cabeceras de sus ríos. Durante el Pleistoceno se formó una planicie de baja elevación que va desde Comitán a la Trinitaria (Johnson, 1989), en donde probablemente quedó atrapada la población de *P. labialis* que dio origen a *P. candalarius*.

Es importante mencionar que, aunque la posible explicación sobre el origen y diversificación del género *Profundulus* en Centroamérica parece estar sustentada por numerosos trabajos de tipo geológico y biogeográfico de otros grupos biológicos, sigue siendo necesario contar con más información que permita precisar algunas hipótesis biogeográficas que se tienen sobre los componentes de *Profundulus*, particularmente de aquellos con distribuciones amplias.

Estado de conservación

Profundulus es un taxón considerado como uno de los más antiguos de Centroamérica. La amplia distribución de algunas de sus especies tiene implicaciones biogeográficas muy valiosas que pueden ser útiles para resolver dudas sobre el origen y diversificación de muchos otros grupos ícticos de la región. Además, al ser un grupo con enorme variación morfológica y aparentes adaptaciones tróficas puede servir para entender algunos procesos de diversificación biológica.

A pesar del enorme valor que representan los taxa con estas características, especies como *P. hildebrandi* y *P. candalarius*, endémicas a las cuencas de San Cristóbal de Las Casas y Comitán, Chiapas, respectivamente

(Velázquez-Velázquez y Schmitter-Soto, 2004), y diversas poblaciones de *P. labialis*, *P. punctatus*, *P. oaxacae* y *P. guatemalensis* están siendo fuertemente afectadas por las actividades antropogénicas como la deforestación, desarrollo urbano, sobreexplotación de los recursos hídricos y contaminación por descargas residuales. Bajo estas circunstancias, es importante diseñar estrategias para evitar su desaparición y obtener la mayor cantidad de información de su biología; así mismo, conservar uno de los grupos de peces representativos de Centroamérica, mantener su hábitat y los procesos biológicos de los cuales forma parte.

Como parte de las estrategias se sugiere hacer una separación de las especies, en aquellas de amplia distribución y las restringidas; en ambos casos el quehacer taxonómico es indispensable. Se propone inicialmente conocer su área de distribución, analizar la variación intra e interespecífica (morfológica y molecular) para delimitar con precisión los taxa, establecer las relaciones filogenéticas e interpretarlas desde el punto de vista evolutivo, ecológico y biogeográfico.

Las especies de amplia distribución quizá sean las menos afectadas por las alteraciones ambientales; sin embargo, se deben hacer estudios que involucren aspectos poblacionales, principalmente de variabilidad genética, que en el peor de los escenarios ambientales podría ayudar a decidir que poblaciones son prioritarias para su conservación o manejo.

Para *P. hildebrandi*, *P. candalarius* y *P. oaxacae*, que presentan distribuciones restringidas, se recomienda además llevar a cabo estudios de genética de poblaciones, hacer trabajos sobre las historias de vida, así como de los factores bióticos y abióticos que las puedan estar afectando. Al mismo tiempo, sería útil mantener organismos *ex situ*, que podrían ser utilizados para fines científicos, futuras repoblaciones, programas educativos o como banco de germoplasma.

Sin duda, *Profundulus* es uno de los muchos grupos de peces que merecen ser estudiados a detalle, ya que brinda la oportunidad de aplicar muchas técnicas taxonómicas tradicionales y recientes, cuyos resultados pueden ser de gran valor para entender la historia evolutiva de la biota del sur y sureste de México, así como de gran parte de Centroamérica, la cual es considerada sistemáticamente compleja (Lundberg, 1998).

CONCLUSIONES

La metodología y análisis propuestos para llevar a cabo el presente trabajo permitieron cumplir con los objetivos planteados.

El uso de medidas cruzadas (cuadriláteros contiguos) demostró mayor precisión para clasificar y separar a las especies de *Profundulus*, mientras que las medidas tradicionales evidenciaron diferencias puntuales a nivel cefálico y de la boca. De esta manera se determinó que nueve medidas tradicionales y 11 cruzadas pueden ser utilizadas como herramienta para reconocer a las seis especies de *Profundulus*, además de validar su estatus taxonómico.

De acuerdo al parecido morfológico, se encontraron dos grupos, uno integrado por *P. candalarius* y *P. labialis*, y otro formado por *P. oaxacae*, *P. guatemalensis* y *P. punctatus*, donde estas dos últimas son las más parecidas. Por su parte, *P. hildebrandi*, a través de las medidas tradicionales se agrupó con este último grupo y con las medidas cruzadas se separó de ambos grupos.

Se observó que dentro del género existen tres patrones morfológicos el primero está representado por *P. candalarius* y *P. labialis* que son las especies más altas, con cabeza y boca pequeña orientada ventralmente; el segundo por *P. guatemalensis*, *P. oaxacae*, *P. punctatus* con altura intermedia y cabeza y boca grande dispuesta en posición terminal; por último el de *P. hildebrandi*, con la menor altura, cabeza y boca grande dirigida dorsalmente.

La revisión osteológica reveló la existencia de 13 características cualitativas importantes para reconocer especies y grupos. Estos atributos permitieron diagnosticar dos grupos naturales, uno formado por *P. candalarius*, *P. hildebrandi* y *P. labialis*, y otro por *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus*. Además se encontraron características únicas para *Profundulus hildebrandi*, *P.*

labialis y *P. oaxacae*. Se sugiere que el estatus taxonómico de la familia y el género sea revisado considerando las evidencias osteológicas aquí presentadas.

La existencia de los dos grupos naturales fue corroborada a través del análisis filogenético, se demostró *P. labialis* y *P. candalarius*, son especies hermanas, y *P. hildebrandi* debe ser ubicada en la base de este clado. Mientras que *P. guatemalensis*, *P. oaxacae* y *P. punctatus* forman un grupo monofilético, donde las relaciones de parentesco son poco claras; sin embargo, el análisis osteológico y las evidencias moleculares sugieren que *P. oaxacae* podría estar en la base del clado.

Se observó gran coincidencia entre las relaciones de similitud morfológica y las filogenéticas, solo *P. hildebrandi* mostró inconsistencias, aparentemente producto de la especialización trófica.

La diversificación del género fue promovida por diversos eventos de vicarianza, sin embargo, las evidencias muestran que parte de la expresión fenotípica de la forma del cuerpo y algunas estructuras alimentarias están determinadas por factores ecológicos.

Profundulus hildebrandi se caracteriza por presentar una forma alargada, con cabeza y boca ancha, esta última orientada ligeramente hacia arriba; su dieta y morfología trófica indicaron que es una especie omnívora con tendencia a la entomofagia y preferentemente habita en ambientes lénticos con abundante vegetación sumergida y riparia. *Profundulus labialis* tiene cuerpo alto y pedúnculo caudal deprimido, cuerpo y cabeza delgados, y boca pequeña en posición ventral; su morfología trófica y dieta indican que es una especie omnívora con tendencia a ingerir insectos y material vegetal asociado al bentos; básicamente se encuentra en zonas de corriente rápida. *Profundulus punctatus* es alta, con cabeza y boca ancha; está última, se ubica en posición terminal; su morfología trófica y dieta la

ubican como omnívora; es frecuente observarla en hábitat lóticos donde la velocidad de corriente va de moderada a lenta.

De esta manera, a partir del presente trabajo se generó nueva información sobre la variación y patrones morfológicos de las especies que integran el género *Profundulus*; así mismo, se establecieron sus relaciones filogenéticas a partir de características osteológicas; y se demostró que existe una relación entre la morfología de los organismos y el ambiente donde habitan.

A pesar de que se tiene conocimiento importante sobre la taxonomía y sistemáticas de *Profundulus*, es necesario seguir avanzando en otro tipo de investigaciones, principalmente relacionadas con aspectos de la biología, genética y ecología de las especies. Esta información nueva aunada a la que hasta el momento se ha generado, servirá para entender, manejar y conservar estos peces.

LITERATURA CITADA

- Álvarez, J. 1970. Peces Mexicanos (Claves). Secretaría de Industria y Comercio, Instituto Nacional de Investigaciones Biológico Pesqueras, Serie de Investigaciones Pesqueras, México. 166 p.
- Álvarez, J. y J. Carranza. 1951. Descripción de un género nuevo de peces Ciprinodontidos procedentes de Chiapas (México). *Ciencia* 11(1-2):40-42.
- Barbour, C. 2002. *Chirostoma contrerasi* (Atherinopsidae, Menidiinae), una nueva especie del lago de Chapala, México. In: Lozano-Vilano M. L. (ed.), Libro Jubilar en Honor al Dr. Salvador Contreras Balderas. Universidad Autónoma de Nuevo León, Monterrey, 325 p.
- Barlow, G. W. 1961. Causes and significance of morphological variation in fishes. *Systematic Zoology* 10:105-117.
- Bell, M. A. and E. I. Harris. 1985. Developmental osteology of the pelvic complex of *Gasterosteus aculeatus*. *Copeia* 3:789-792.
- Bell, M. A., G. Orti, J. A. Walker and J. P. Koenings. 1993. Evolution of pelvic reduction in threespine stickleback fish: A test of competing hypotheses. *Evolution* 47(3):906-914.
- Blake, R. W. 2004. Fish functional design and swimming performance. *Journal of Fish Biology* 65:1193–1222.
- Bookstein, F. L., B. Chernoff, R. Elder, J. M. Humphries, Jr., G. R. Smith and R. E. Strauss. 1985. Morphometrics in evolutionary biology. Special Publication. The Academy of Natural Sciences of Philadelphia. 277 p.

- Caldecutt, W. J. and D. C. Adams. 1998. Morphometrics of trophic osteology in the threespine stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *Copeia* (4):827-838.
- Campbell, J. A. 1999. Distribution patterns of amphibians in Middle America. In: Duellman W. D. (ed.), *Patterns of distribution of amphibians*. Johns Hopkins, Baltimore, p. 111-210.
- Catena, A., M. M. Ramos y H. M. Trujillo. 2003. *Análisis Multivariado. Un manual para investigadores*. Biblioteca Nueva, S. L., Madrid. 413 p.
- Chernoff, B. and R. R. Miller. 1981. Systematics and variation of the aztec shiner, *Notropis sallei*, a cyprinid fish from Central Mexico. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 94(1):18-36.
- Costa, W. J. E. M. 1998. Phylogeny and Classification of the Cyprinodontiformes (Euteleostei: Atherinomorpha): A Reappraisal. In: Malabarba, L. R., R. E. Reis, R. P. Vari, M. S. Lucena and C. A. S. Lucena (eds.), *Phylogeny and classification of Neotropical fishes*. EDIPUCRS, Porto Alegre, p. 537-560.
- Crisci, J. V. y M. F. López Armengol. 1983. *Introducción a la Teoría y Práctica de la taxonomía numérica*. Organización de Estados Americanos. Washington. 132 p.
- De la Vega Salazar, M. Y. 2003. Situación de los peces dulceacuícolas en México. *Ciencias* 72:20-30.
- Doadrio, I., J. A. Carmona, E. Martínez and A. de Sostoa. 1999a. Genetic variation and taxonomic analysis of the subgenus *Profundulus*. *Journal of Fish Biology* 55:751-766.

- Doadrio, I., F. Morcillo, J. A. González-Carmona, y A. de Sostoa. 1999b. Sistemática molecular de la familia Profundulidae (Actinopterygii, Cyprinodontiformes). Memorias del XV Congreso Nacional de Zoología, Tepic, Nayarit, México. p. 108-109.
- Felsenstein, J. 2004. PHYLIP (Phylogeny Inferences Package) version 3.6. Distributed by the autor. Department of Genome Sciences, University of Washington, Seattle.
- Gatz, A. J. Jr. 1979. Community organization in fishes as indicated by morphological features. *Ecology* 60(4):711-718.
- Gatz, A. J. Jr. 1981. Morphologically inferred niche differentiation in stream fishes. *American Midland Naturalist* 106(1):10-21.
- González, D. A. A. 2001. Osteología comparada del aparato branquial en especies del género *Chirostoma* Swainson (Pisces:Atherinopsidae). Tesis de maestría. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, IPN. México, D.F. 78 p.
- González-Acosta, A. F. 2005. Estudio sistemático y biogeográfico del género *Eugerres* (Perciformes:Gerreidae). Tesis Doctoral. CICIMAR, IPN. México. 206 p.
- Greenfield, D. W. 1985. Review of the *Gambusia yucatana* complex (Pisces: Poeciliidae) of Mexico and Central America. *Copeia* 2:368-378.
- Gregory, W. K. 1933. Fish skulls: a study of the evolution of natural mechanisms. *Transaction America of the American Philosophical Society* 23(2):75-481.
- Hammer, Ø., D. A. T. Harper and P. D. Ryan. 2007. PAST - PAleontological STatistics, ver. 1.66. March 19, 2007, 81 p.

- Hankison, S. J., M. J. Childress, J. J. Schmitter-Soto y M. B. Ptacek. 2006. Morphological divergence within and between the Mexican sailfin mollies, *Poecilia velifera* and *Poecilia petenensis*. *Journal of Fish Biology* 68:1610–1630.
- Hillis, D. M. 1987. Molecular versus morphological approaches to systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* 18:23-42.
- Hillis, D. M. and J. J. Wiens. 2000. Molecules versus morphology. Conflicts, artifacts, and misconceptions. In: Wiens J. J. (ed.), *Phylogenetic Analysis of morphological data*. Smithsonian Institution Press, Washington, p. 1-19.
- Hollister, G. 1934. Clearing and dyeing fish bone study. *Zoologica* 12(10):89-102.
- Hrbek, T., J. Seckinger, and A. Meyer. 2007. A phylogenetic and biogeographic perspective on the evolution of poeciliid fishes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 43:986–998.
- Hubbs, C. L. and K. L. Lagler. 1958. *Fishes of the Great Lakes Region*. Second edition. *Canbrook Institute of Science Bulletin* 26:1-213.
- Hulsey, C. D. and F. J. García de León. 2005. Cichlid jaw mechanics: linking morphology to feeding specialization. *Functional Ecology* 19:487–494.
- Hyslop, E. J. 1980. Stomach contents analysis-a review of methods and their applications. *Journal of Fish Biology* 17:411-429.
- Jensen, R. J. and C. D. Barbour. 1981. A phylogenetic reconstruction of the Mexican cyprinid fish genus *Algansea*. *Systematic Zoology* 30(1):41-57.

- Johnson, J. D. 1989. A biogeographic analysis of the herpetofauna of northwestern Nuclear Central America. Milwaukee Public Museum. Contributions in Biology and Geology 76:1-66.
- Kassam, D., D. C. Adams and K. Yamaoka. 2004. Functional significance of variation in trophic morphology within feeding microhabitat-differentiated cichlid species in Lake Malawi. *Animal Biology* 54(1):77-90.
- Kornfield, I., D. C. Smith, P. S. Gagnon and J. N. Taylor. 1982. The cichlid fish of Cuatro Ciénegas, Mexico: direct evidence of conspecificity among distinct trophic morphs. *Evolution* 36:658-664.
- Langerhans, R. B., C. A. Layman, A. K. Langerhans and T. J. Dewitt. 2003. Habitat-associated morphological divergence in two Neotropical fish species. *Biological Journal of the Linnean Society* 80:689-698.
- Lundberg, J. G. 1998. The temporal context for the diversification of neotropical fishes. In: Malabarba, L. R., R. E. Reis, R. P. Vari, M. S. Lucena y C. A. S. Lucena (eds.), *Phylogeny and classification of Neotropical fishes*. EDIPUCRS, Porto Alegre, p. 49-68.
- Lyons, J., O. J. Polaco and P. A. Cochran. 1996. Morphological variation among the Mexican lampreys (Petromizontidae: *Lampetra*: subgenus *Tetrapleurodon*). *The Southwestern Naturalist* 41(4):365-374.
- Mabee, P. M., K. L. Olmstead and C. C. Cabbage. 2000. An experimental study of intra-specific variation, developmental timing, and heterochrony in fishes. *Evolution* 54(6):2091-2106.
- Martin-Smith, K. M. 1998. Relationships between fishes and habitat in rainforest streams in Sabah, Malaysia. *Journal of Fish Biology* 52:458-482.

- Matsumoto, K. and M. Kohda. 2001. Differences in gill raker morphology between two local populations of a benthophagous filter-feeding fish, *Goniistius zonatus* (Cheilodactylidae). *Ichthyological Research* 48:269-273.
- Matthews, W. J. 1998. *Patterns in freshwater fish ecology*. Blackwell and Science, Massachussets. 855 p.
- Meyer, A. 1987. Phenotypic plasticity and heterochrony in *Cichlasoma managuense* (Pisces: Cichlidae) and their implications for speciation in cichlid fishes. *Evolution* 41(6):1357-1369.
- Meyer, A. and C. Lydeard. 1993. The evolution of copulatory organs, internal fertilization, placentae and viviparity in killifishes (Cyprinodontiformes) inferred from a DNA phylogeny of the tyrosine kinase gene x-src. *Proceedings of Royal Society of London* 254:153-162.
- Miller, R. R. 1950. *Profundulus hildebrandi*, a new cyprinodontid fish from Chiapas, Mexico. *Copeia* 1:22-30.
- Miller, R. R. 1955. A systematic review of the Middle American fishes of the genus *Profundulus*. *Miscellaneous Publications Museum of Zoology, University of Michigan* 92:1-64.
- Miller, R. R., W. L. Minckley and S. M. Norris. 2005. *Freshwater fishes of Mexico*. University of Chicago Press, Chicago. 652 p.
- Norton, S. F. 1991. Capture success and diet of cottid fishes: the role of predator morphology and attack kinematics. *Ecology* 72(5):1807-1819.

- Parenti, L. R. 1981. A phylogenetic and biogeographic analysis of Cyprinodontiform fishes (Teleostei, Atherinomorpha). *Bulletin of American Museum of Natural History* 168:335-557.
- Parichy, D. M., H. B. Shafer and M. Mangel. 1992. Heterochrony as a unifying theme in the evolution and development. *Evolution* 46(4):1252-1254.
- Parker, A. 1997. Combining molecular and morphological data in fish systematics: examples from the Cyprinodontiformes. In: T. D. Kocher and C. A. Stepien (eds), *Molecular systematics of fishes*. Academic Press, San Diego. p. 163-188.
- Paulo, M. J. 1994. Análisis morfométrico del género *Astyanax* (Pisces: Characidae) en México. Tesis de Maestría. Escuela Nacional de Ciencias Biológicas, I P N. México, D. F. 61 p.
- Paulo-Maya, J. y P. Trujillo-Jiménez. 2000. Nueva especie de *Ilyodon* (Cyprinodontiformes : Goodeidae) de la cuenca del río Balsas, México. *Revista de Biología Tropical* 48(2/3):465-472.
- Piersma, T. and J. Drent. 2003. Phenotypic flexibility and the evolution of organismal design. *Trends in Ecology and Evolution* 18(5):228-233.
- Radhekshmi, C. and P. D. Polly. 2005. Phylogenetic and environmental components of morphological variation: Skull, mandible, and molar shape in marmots (Marmota, Rodentia). *Evolution* 59(11):2460-2472.
- Rauchenberger, M. 1988. A new species of *Allodontichthys* (Cyprinodontiformes: Goodeidae), with comparative morphometrics for the genus. *Copeia* 2:433-441.

- Rodríguez-Ruiz, A. y C. Granado-Lorencio. 1987. Estudio morfológico del aparato mandibular en cinco especies del género *Chirostoma* (Pisces: Atherinidae). *Revista de Biología Tropical* 35(1):97-106.
- Rodríguez-Ruiz, A. y C. Granado-Lorencio. 1988. Características del aparato bucal asociadas al régimen alimenticio en cinco especies coexistentes del género *Chirostoma* (Lago de Chapala, México). *Revista Chilena de Historia Natural* 61:35-51.
- Rohlf, F. J. 1990. Morphometrics. *Annual Reviews Ecology and Systematics* 21:299-316.
- Rohlf, F. J. 1998. On applications of geometric morphometrics to studies of ontogeny and phylogeny. *Systematic Biology* 47(1):147-158.
- Rohlf, F. J. 1999. Shape statistics: Procrustes superimpositions and tangent spaces. *Journal of Classification* 16:197–223.
- Rohlf, F. J. 2004. tpsDig, digitize landmarks and outlines, version 2.0. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- Rohlf, F. J. and D. E. Slice. 1990. Extensions of the Procrustes method for the optimal superimposition of landmarks. *Systematic Zoology* 39:40–59.
- Sage, R. D. and R. K. Selander. 1975. Trophic radiation through polymorphism in cichlid fishes. *Proceedings of the Natural Academy of Sciences* 72(11):4669-4673.
- Saxena, S. C. 1962. On the pelvic girdle and fin of a hill stream sisorid fish, *Pseudecheneis sulcatus*. *Copeia* 3:656-657.

- Schmitter-Soto, J. J. 1998. Diagnosis of *Astyanax altior* (Characidae), with a morphometric analysis of *Astyanax* in the Yucatan Peninsula. *Ichthyological Exploration of Freshwaters* 8(4):349-358.
- Schoener, T. W. 1974. Resource partitioning in ecological communities. *Science* 185:27-39.
- SEMARNAT-2002. Norma Oficial Mexicana. NOM-059-ECOL-2001, Protección ambiental-especies nativas de México de flora y fauna silvestres-categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-lista de especies en riesgo. *Diario Oficial de la Federación*. 6 de marzo de 2002. México.
- Shane A. W., J. A. Graves, C. Macias-Garcia, A. E. Magurran, D. O Foighil and M. G. Ritchie. 2004. Molecular phylogeny of the livebearing Goodeidae (Cyprinodontiformes). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 30:527–544.
- Sheets, H. D. CoordGen6f, CVAGen6m, disponible en IMP. Dept. of Physics, Canisius College, Buffalo, NY 14208, Dept. of Geology, SUNY at Buffalo, Buffalo NY 14260. website www.canisius.edu/~sheets/morphsoft.html
- Smith, T. B. and S. Skulason. 1996. Evolutionary significance of resource polymorphisms in fishes, amphibians, and birds. *Annual Review of Ecology and Systematic* 27:111-133.
- Soria-Barreto, M. y J. Paulo-Maya. 2005. Morfometría comparada del aparato mandibular en especies de *Chirostoma* (Atheriniformes: Atherinidae) del Lago de Pátzcuaro, Michoacán, México. *Hidrobiológica* 15(2 especial):123-130.
- SPSS, Inc. 2002. SPSS Base 11.5 for Windows User's Guide. SPSS, Chicago IL.

- StatSoft, Inc. 1995. Statistica for Windows (Computer program Manual). StatSoft. Inc., Tulsa, Oklahoma.
- Strauss, R. E. 1990. Heterochronic variation in the developmental timing of cranial ossifications in poeciliid fishes (Cyprinodontiformes). *Evolution* 44(6):1558-1567.
- Strauss, R. E. and C. E. Bond. 1990. Taxonomic methods: Morphology. In: Schreck C. B and P. B. Moyle (eds.), *Methods for fish biology*. American Fisheries Society. Maryland, p. 109-140.
- Strauss, R. E. and L. F. Bookstein. 1982. The truss: body form reconstructions in morphometrics. *Systematic Zoology* 31(2):113-135.
- Swanson, B. O., A. C. Gibb, J. C. Marks and D. A. Hendrickson. 2003. Trophic polymorphism and behavioral differences decrease intraspecific competition in a cichlid, *Herichthys minckleyi*. *Ecology* 84(6):1441-1446.
- Uyeno, T. and R. R. Miller. 1962. Relationships of *Empertrichthys erdisi*, a Pliocene Cyprinodontid fish from California, with remarks on the Fundulinae and Cyprinodontinae. *Copeia* 3:520-532.
- Velázquez-Velázquez, E. and J. J. Schmitter-Soto. 2004. Conservation status of the San Cristóbal pupfish *Profundulus hildebrandi* Miller (Teleostei: Profundulidae) in the face of urban growth in Chiapas, Mexico. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 14:201-209.
- Wainwright, P. C. and S. M. Reilly. 1994. *Ecological Morphology. Integrative organismal biology*. University of Chicago Press, Chicago. 367 p.

- Ward , J. V. 1992. Aquatic insect ecology. 1 Biology and habitat. John Wiley & Sons, Inc. EUA. 438 pp.
- Ward L. D., A. A. Schultz and P. G. Matsonb. 2003. Differences in swimming ability and behavior in response to high water velocities among native and nonnative fishes. *Environmental Biology of Fishes* 68: 87–92.
- Webb, P. W. 1982. Locomotorn patterns in Actinopterygian evolution. *BioScience* 32(5):338-339.
- Wiens, J. J. 2000. Phylogenetic. Analysis of morphological data. Smithsonian Institution Press. Washington, 220 p.
- Wiens, J. J. 2004. The role of morphological data in phylogeny reconstruction. *Systematic Biology* 53(4):653-661.
- Winemiller, K. O. 1991. Ecomorphological diversification in lowland freshwater fish assemblages from five biotic regions. *Ecological Monographs* 61(4):343-365.
- Winemiller, K. O., L. C. Kelso-Winemiller and A. L. Brenkert. 1995. Ecomorphological diversification and convergence in fluvial cichlid fishes. *Environmental Biology of Fishes* 44:235-261.
- Wood, B. M. and M. B. Bain. 1995. Morphology and microhabitat use in stream fish. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 52:1487-1498.
- Wootton, J. C. 1990. Ecology of teleost fish. Chapman and Hall. EUA. 423 pp.
- Zelditch, M. L., D. L. Swiderski, H. D. Sheets and W. L. Fink. 2004. Geometric morphometrics for biologist: a primer. Elsevier Academic Press, New York. 443 p.