



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA  
DE MÉXICO**

---

---

**FACULTAD DE CIENCIAS**

**ANÁLISIS POR MORFOMETRÍA GEOMÉTRICA DE  
ASTYANAX (PISCES: CHARACIDAE) EN MÉXICO**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

**BIÓLOGO**

**P R E S E N T A:**

**DANIEL ANUAR SEPÚLVEDA JIMÉNEZ**



**DIRECTOR DE TESIS:  
M. EN C. HÉCTOR SALVADOR ESPINOSA PÉREZ  
2012**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## Hoja de datos del jurado

### 1. Datos del alumno

Sepúlveda

Jiménez

Daniel Anuar

56710577

Universidad Nacional Autónoma de México

Facultad de Ciencias

Biología

404092854

### 2. Datos del tutor

M. en C.

Héctor Salvador

Espinosa

Pérez

### 3. Datos del sinodal 1

Dr.

José Jaime

Zúñiga

Vega

### 4. Datos del sinodal 2

Dra.

Leticia

Huidobro

Campos

### 5. Datos del sinodal 3

M. en C.

Gabino

De la Rosa

Cruz

### 6. Datos del sinodal 4

Dr.

Jesús

Alvarado

Ortega

### 7. Datos del trabajo escrito

ANÁLISIS POR MORFOMETRÍA GEOMÉTRICA DE *ASTYANAX* (PISCES: CHARACIDAE) EN MÉXICO

Número de páginas 51p

2012

## CONTENIDO

RESUMEN.....	1
1. INTRODUCCIÓN .....	2
2. MARCO TEÓRICO .....	4
2.1 Antecedentes.....	4
Análisis Morfológicos.....	4
Osteológicos.....	5
Genéticos.....	6
2.2 Morfometría Geométrica .....	7
3. JUSTIFICACIÓN.....	9
4. OBJETIVOS.....	9
4.1. Objetivo general. ....	9
4.2. Objetivos particulares. ....	9
5. HIPÓTESIS.....	10
5.1. Hipótesis sobre el género <i>Astyanax</i> . ....	10
5.2. Hipótesis sobre <i>Astyanax mexicanus</i> . ....	10
6. MATERIAL Y MÉTODOS .....	11
6.1. Material examinado .....	11
6.2. Obtención de datos .....	13
6.2.1. Selección de puntos de referencia.....	13
6.2.2. Digitalización de los ejemplares .....	14
6.3. Morfometría geométrica. ....	14
7. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS .....	15
7.1. Análisis de componentes principales.....	15
7.2. Función discriminante. ....	20
7.2.1. Función discriminante: <i>Astyanax aeneus</i> , <i>A. fasciatus</i> y <i>A. mexicanus</i> .....	20
7.2.2. Función discriminante entre <i>Astyanax aeneus</i> y <i>A. mexicanus</i> .....	21
7.3. Análisis de variables canónicas: <i>Astyanax aeneus</i> .....	24
7.3.1. Primer Variable Canónica.....	25
7.3.2. Segunda Variable Canónica.....	25

7.3.3. Distancia Procrustes y Mahalanobis.....	26
7.4. Análisis de variables canónicas: <i>Astyanax mexicanus</i> .....	27
7.4.1. Primer Variable Canónica.....	29
7.4.2. Segunda variable canónica.....	30
7.4.3. Tercer Variable Canónica.....	31
7.4.4. Distancia Procrustes y Mahalanobis.....	32
7.5. Análisis de variables canónicas: <i>Astyanax spp</i> .....	32
7.5.1. Primer variable canónica.....	35
7.5.2. Segunda Variable Canónica.....	36
7.5.1. Distancias Procrustes y Mahalanobis.....	37
8. DISCUSIÓN.....	39
9. CONCLUSIONES.....	41
10. SUGERENCIAS Y RECOMENDACIONES.....	42
LITERATURA CITADA.....	43
ANEXOS.....	46

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de las localidades.....	12
Figura 2. Localización de los puntos en un ejemplar de <i>Astyanax aeneus</i> .....	13
Figura 3. Curva de acumulación de los Componentes Principales. ACP; Todas las localidades.....	15
Figura 4. Primero contra segundo Componente Principal.....	16
Figura 5. Primer contra tercer componente principal. ACP.....	16
Figura 6. Deformación en el primer componente. ACP: Todas las localidades.....	17
Figura 7. Deformación en el segundo componente. ACP: Todas las localidades.....	19
Figura 8. Deformación en el tercer componente. ACP: Todas las poblaciones.....	20
Figura 9. Distribución. Función discriminante: <i>A. aeneus</i> y <i>A. mexicanus</i> .....	22
Figura 10. Distribución. Validación cruzada; <i>A. aeneus</i> y <i>A. mexicanus</i> .....	22
Figura 11. Diferencia entre las formas de <i>A. aeneus</i> y <i>A. mexicanus</i> . Función discriminante.....	23
Figura 12. Primera contra segunda Variable Canónica. AVC; <i>A. aeneus</i> .....	24
Figura 13. Deformación en la primera variable canónica. AVC: <i>A. aeneus</i> .....	25
Figura 14. Deformación en la segunda variable canónica. AVC: <i>A. aeneus</i> .....	26
Figura 15. Histograma de la variables canónicas. AVC; <i>A. mexicanus</i> .....	27
Figura 16. Primera contra segunda variable canónica. AVC; <i>A. mexicanus</i> .....	28
Figura 17. Tercer contra cuarta variable canónica. AVC; <i>A. mexicanus</i> .....	28
Figura 18. Deformación en la primera variable canónica. AVC: <i>A. mexicanus</i> .....	29
Figura 19. Deformación en la segunda variable canónica. AVC: <i>A. mexicanus</i> .....	30
Figura 20. Deformación en la tercera variable canónica. AVC: <i>A. mexicanus</i> .....	31
Figura 21. Histograma de las variables canónicas. AVC; Todas las localidades.....	33

Figura 22. Primer contra segunda variable canónica. AVC; Todas las localidades.....	34
Figura 23. Tercer contra cuarta variable canónica. AVC; Todas las localidades. ....	34
Figura 24. Deformación en la primera variable canónica. AVC: <i>Astyanax</i> spp. ....	35
Figura 25. Deformación en la segunda variable canónica. AVC: <i>Astyanax</i> spp.....	36

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Identificación y clave del material utilizado. ....	12
Tabla 2. Valores de los primeros cinco Componentes Principales. ....	15
Tabla 3. Valor de P, Función discriminante; <i>A. aeneus</i> contra <i>A. fasciatus</i> contra <i>A. mexicanus</i> ....	21
Tabla 4. Tabla de clasificación. Función discriminante; <i>A. aeneus</i> y <i>A. mexicanus</i> .....	21
Tabla 5. Eigenvalores, varianza y varianza acumulada. AVC; <i>A. aeneus</i> .....	24
Tabla 6. Distancias y valor de P (negritas) después de 10000 permutaciones.....	26
Tabla 7. Localidades utilizadas en el análisis al interior de <i>A. mexicanus</i> .....	27
Tabla 8. Eigenvalores y varianza. AVC; <i>A. mexicanus</i> . ....	27
Tabla 9. Distancias Procrustes (D.P) y Mahalanobis (D.M) y valores de P a 1000 permutaciones (negritas), AVC; <i>A. mexicanus</i> .....	32
Tabla 10. Localidades y número de observaciones. AVC; Todas las localidades. ....	32
Tabla 11. Eigenvalores y varianza. AVC; Todas las localidades.....	33
Tabla 12. Distancias Mahalanobis y valor de P (negritas) utilizando 1000 permutaciones entre los grupos.....	38

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Valores del análisis de componentes principales para todas la poblaciones .....	46
Anexo 2. Coeficientes de los primeros 7 componentes del análisis de componentes principales para el totalidad de las muestras trabajadas. ....	47
Anexo 3. Coeficientes canónicos CVA <i>Astyanax aeneus</i> .....	48
Anexo 4. Coeficientes canónicos del análisis de las poblaciones de <i>A. mexicanus</i> .....	49
Anexo 5. Coeficientes Canónicos Todas las Poblaciones.....	50
Anexo 6. Extracto de la clave de identificación de Miller (2009). ....	51

## RESUMEN

Durante la última década la diversidad dentro del género *Astyanax* en México ha sido cuestionada mediante el uso de estudios moleculares. Dependiendo del marcador molecular las conclusiones varían: los microsatélites ponen a prueba la existencia de distintas especies mientras que el citocromo B establece al menos dos linajes definidos para el territorio mexicano. El objetivo de este trabajo fue analizar la variación en la forma entre dos especies del género. Se fotografiaron 149 ejemplares correspondientes a 9 localidades; *Astyanax aeneus* (N=41) y *Astyanax mexicanus* (N=108). Se registraron 15 puntos de referencia (x,y) de la vista lateral de cada ejemplar y se alinearon mediante un análisis generalizado de Procrustes. Se efectuó un Análisis de Componentes Principales para determinar las regiones corporales con mayor variación, y se utilizó un Análisis de Función Discriminante para determinar las diferencias en la forma entre *A. mexicanus* y *A. aeneus*. También se realizó un Análisis de Variables Canónicas para determinar las diferencias al interior de cada especie. La reclasificación de la Función Discriminante fue de 99% para *A. mexicanus* y 93% para *A. aeneus*. Las diferencias en la forma concuerdan con los caracteres utilizados tradicionalmente para discriminar entre grupos, pero la morfometría geométrica aporta nueva información sobre como ocurren estos cambios.

**Palabras clave:** Characidae, *Astyanax*, *aeneus*, *mexicanus*, morfometría.

## 1. INTRODUCCIÓN

El género *Astyanax* Baird & Girard 1854 pertenece al grupo de peces de la familia Characidae. Dicha familia se caracteriza por estar compuesta de organismos dulceacuícolas primarios, lo que significa que evolucionaron en agua dulce y presentan poca o ninguna tolerancia a los cambios de salinidad (Bone & Moore, 2008). Por lo general son organismos coloridos, de cuerpos pequeños, fusiformes y comprimidos. Son depredadores con dientes generalmente bien desarrollados, y presentan tanto una aleta adiposa como aletas pélvicas (Nelson, 2006).

Esta familia está compuesta por alrededor de 154 géneros y se calcula que entre 900 y 1352 especies (Reis *et al.*, 2003; Nelson, 2006; Eschmeyer, 2012), lo cual la ubica como la cuarta familia más diversa de peces en el mundo, justo por debajo de Cyprinidae, Gobiidae y Cichilidae (Eschmeyer, 2012). Estos organismos están confinados al continente americano y su vasta mayoría tiene una distribución Neotropical. La excepción a esta distribución es *Astyanax mexicanus* (De Filippi 1853), la cual cuenta con la distribución más nórdica de todas, siendo reportada de manera natural hasta el centro y sur de Texas, Estados Unidos (Hubbs *et al.*, 2008). Para México, sólo se reconocen cinco géneros y siete especies: *Astyanax aeneus* (Günther 1860), *Astyanax altior* Hubbs 1936, *A. mexicanus*, *Bromocharanx caballeroi* Contreras-Balderas & Rivera-Teillery 1985, *Brycon guatemalensis* Regan 1908, *Hyphessobrycon compressus* (Meek 1904) y *Roeboides bouchelli* Fowler 1923.

De las especies reconocidas para el territorio mexicano, *A. mexicanus* ha sido la más estudiada, no solamente entre los carácidos mexicanos, sino también entre los peces de agua dulce de México. Esto se debe a las adaptaciones que muestran los individuos que habitan en cuevas: pérdida del color y de órganos de visión, el desarrollo de estructuras sensoriales para compensar la pérdida de este y cambios en el comportamiento social. Estas características junto a la capacidad de reproducirse con individuos de poblaciones de superficie, desarrollando híbridos que despliegan formas intermedias, han suscitado un alto interés científico ya que se pueden aplicar modelos de evolución y convergencia de caracteres. Así mismo se intenta utilizar el conocimiento adquirido sobre el desarrollo de las estructuras de visión en el campo de la medicina. Algunos ejemplos de estos estudios son los trabajos publicados por Yokoyama & Yokoyama (1990), Hassan *et al.* (1992), Baker y Montgomery (1999), Montgomery *et al.* (2001), Alunni *et al.* (2007) y Gross *et al.* (2009).



Pese al esfuerzo científico enfocado a estudiar a esta especie, la literatura sobre *Astyanax* en México resulta complicada debido a los problemas taxonómicos que presenta el género para el territorio mexicano, los cuales son consecuencia de la falta de consenso sobre la nomenclatura y validez de las especies que éste contiene. La especie *Astyanax fasciatus* (Cuvier 1819), descrita originalmente para Brasil, ha sido utilizada constantemente en estudios de biología del desarrollo para referenciar a la especie *A. mexicanus* (Yokoama & Yokoyama, 1990; Baker y Montgomery, 1999). A esta confusión se le suma que las formas ciegas de *Astyanax* originalmente fueron descritas como un género y especie distintas, *Anoptichthys hubbsi* Álvarez J. 1947, la cual actualmente es considerada como sinónimo de *Astyanax jordani* (Hubbs & Innes 1936), *A. fasciatus* y *A. mexicanus*. Esta sinonimia presentó una nueva luz ante la diversidad de *Astyanax* en el territorio nacional, lo que cuestiona la existencia de especies distintas para el género en México (Strecker, 2003; Hausdorf *et al.* 2011)

La situación anterior permite realizar la siguiente pregunta: ¿existe algún método eficiente para discriminar de manera cuantitativa entre las especies *A. aeneus* y *A. mexicanus*? Lo que conlleva la siguiente cuestión: ¿puede este método ser utilizado para clasificar a los organismos incorrectamente identificados como *A. fasciatus* dentro de una de las especies anteriores? A esto se le puede añadir: ¿es este método capaz de identificar variaciones dentro de las poblaciones que puedan indicar procesos complejos a los que son sometidas estas poblaciones, y que podría llevar a especies crípticas?

Para resolver estas preguntas, en este trabajo se realizó una revisión morfológica de diferentes localidades pertenecientes al género *Astyanax* para el territorio mexicano, para ello se utilizó la metodología de la morfometría geométrica y los análisis que se aplicaron son el análisis de Componentes Principales, de Variables Canónicas y de Función Discriminante. Para este trabajo se seleccionaron 149 ejemplares que pertenecen a nueve localidades dentro de la República Mexicana, correspondientes a siete estados del país. Los ejemplares utilizados fueron identificados como *A. mexicanus* y *A. aeneus*. En el caso de un par de las localidades el material había sido identificado como *Astyanax fasciatus* (Cuvier 1819) pero esto pudo ser un error por falta de material bibliográfico, conocimiento del grupo y falta de una bibliografía actualizada. Todo el material estudiado pertenece a la Colección Nacional de Peces del Instituto de Biología de la UNAM, en la mayoría de los casos el material se encontraba ya dentro del acervo de la colección.

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 Antecedentes

Existen numerosos trabajos sobre *Astyanax* en México, sobre todo aquellos enfocados en las poblaciones ciegas de cuevas. Los estudios sobre sistemática, morfometría y distribución de este género en México se pueden agrupar a grandes rasgos en dos grupos definidos por el tipo de análisis utilizado; los análisis morfométricos multivariados (Paulo-Maya, 1994; Valdez Moreno 1997) y los estudios genéticos (Strecker, 2003; Strecker *et al.*, 2003; Strecker *et al.* 2004, Ornelas-García *et al.*, 2008; Hausdorf *et al.*, 2011) Tanto Paulo-Maya (1994) como Valdez (1997), reconocen caracteres que varían de manera gradual a lo largo de las poblaciones estudiadas, sobre todo los caracteres merísticos, al mismo tiempo que reconocen caracteres que pueden ser utilizados para la discriminación entre grupos. Ambos estudios utilizan metodologías multivariadas tradicionales en cada uno de sus campos (morfometría y osteología). En el caso de los estudios genéticos existen dos corrientes sobre la diversidad del género en México, el grupo liderado por Strecker (Strecker *et al.* 2003, Strecker *et al.* 2004; Hausdorf *et al.*, 2011), el cual está convencido que sus datos demuestran que tanto *A. mexicanus* como *A. aeneus* tratan de la misma especie, mientras que Ornelas-García *et al.* (2008) proponen una diferenciación entre las especies basados en las distancias genéticas generadas por el ADN mitocondrial.

#### *Análisis Morfológicos*

En su trabajo, Paulo-Maya (1994) se plantea como objetivos conocer la variación geográfica de dieciocho características morfométricas y siete características merísticas a lo largo de las poblaciones de las vertientes del Golfo de México y del Pacífico. Para ello utiliza la morfometría tradicional y obtiene sus medidas basándose en los criterios de Lagler (1977). La determinación taxonómica se realizó utilizando las claves de Álvarez (1970). Como objetivos particulares se plantea la identificación de las características que permitan discriminar entidades distintas y ponderar la presencia en territorio mexicano de grupos morfológicos naturales, así como indicar su posible distribución. Para la delimitación de grupos, agrupa las cuencas hidrológicas según sus afinidades ictiofaunísticas en 13 conjuntos hidrográficos mayores.

Del análisis de los datos llega a la conclusión de que las medidas y conteos que emplea pueden agruparse en tres conjuntos principales:

- A) Aquellas características que proporcionan escasa información como lo son la base de la aleta dorsal, longitud de las pectorales y pélvicas, longitud cefálica, distancias orbital e interorbital y el número de radios de las aletas antes mencionadas.
- B) Las características que presentan cambios graduales a lo largo de las vertientes del Pacífico y del Golfo de Mexico, como son la altura máxima y mínima, longitud del pedúnculo caudal, distancia dorsal-anal, base de la aleta anal, distancia preorbital, distancia postorbital, longitud del dentario y radios de la aleta anal.
- C) Atributos con diferencias evidentes en una o más regiones hidrológicas comparadas.

Una vez que obtiene sus resultados propone que la modificación de algunos de los caracteres se debe ente varios factores a la ocupación de ambientes que cambian en un sentido latitudinal, lo que ocasiona una variación morfológica gradual, formando unidades discretas. Basado en este fenómeno, considera que la mayoría de las especies nominales descritas para México en realidad puedan tratarse de individuos representantes del clinal morfológico.

Basado en esto, reconoce solo a tres grupos distintos, uno que se distribuye en la vertiente estudiada, con dos grupos que se solapan con esta, distribuyéndose en las regiones del Bravo, Soto la Marina y el Balsas.

### ***Osteológicos***

Valdez-Moreno (1997) hace un estudio comparativo osteológico de diferentes poblaciones de *Astyanax* a lo largo de la vertiente del Atlántico y del Pacífico. A diferencia del trabajo de Paulo-Maya (1994), utiliza ejemplares transparentados y teñidos, y su estudio se enfoca en caracteres del cráneo. Sus resultados permiten la reconstrucción de un árbol filogenético en el que reconoce tres grupos principales, los cuales corresponden a: las poblaciones del norte, desde la cuenca del Río Bravo hasta Cucharas, Veracruz, grupo comparable a *Astyanax mexicanus*; las poblaciones sureñas, de Veracruz hacia Centroamérica, que es comparable a la distribución de *Astyanax aeneus*; y finalmente una zona de transición cuyos representantes se ubican entre los ríos Solteros y Antigua, Veracruz.

## ***Genéticos***

Los análisis genéticos para *Astyanax* en el territorio mexicano se pueden dividir a grandes rasgos en dos categorías; los que se utilizan microsatélites, (marcador de carácter nuclear); y los que emplean citocromo B, (marcador de carácter mitocondrial). Los microsatélites empleados en los estudios de *Astyanax* fueron descritos por Strecker (2003) y fueron desarrollados como una herramienta para estudiar el intercambio genético que ocurre entre las diferentes poblaciones de cueva con las poblaciones de superficie. El citocromo B, un marcador de naturaleza mitocondrial, utilizado en numerosos estudios en animales ha sido empleado también para estudiar la relación entre las diferentes poblaciones de *Astyanax* en el territorio mexicano (Strecker *et al.*, 2004; Ornelas *et al.* 2008; Hausdorf *et al.* 2011). Ornelas *et al.* (2008) reconstruyen un árbol filogenético utilizando el citocromo B y para el territorio mexicano reconoce grupos discretos. A estos clados les asigna los nombres específicos para algunas de las especies reconocidas para México del género, de esta forma, reconocen la existencia tanto de *Astyanax mexicanus*, como de *Astyanax aeneus*. Hausdorf *et al.* (2011) cuestionan los datos obtenidos por Ornelas *et al.* Para ello utilizan dos marcadores genéticos, el *Citb* y los microsatélites descritos por Strecker (2003). Utilizan tres zonas geográficas para poner a prueba sus datos, el norte de México, que incluye poblaciones de cuevas y de superficies, dos localidades cercanas al Cinturón Trans-Volcánico Mexicano, y poblaciones de la península de Yucatán. Los resultados que arroja el análisis del *Citb* concuerda a grandes rasgos con los obtenidos por Ornelas *et al.* (2008), donde se observan las mismas agrupaciones, pero las posiciones entre estas cambian ligeramente. Los microsatélites arrojan como resultados distancias menores que le citocromo B, por lo que concluyen que hay intercambio genético entre las poblaciones, por lo que basados en su concepto de especie no pueden reconocer la existencia de especies distintas.

## 2. 2 Morfometría Geométrica

La morfometría geométrica es un método multivariado desarrollado para describir las diferencias en la forma y su covariación con otras variables (Adams *et al.*, 2004; Zelditch *et al.*, 2004; Toro *et al.*, 2010). En este método se define a la forma como la información geométrica que resulta de retirar los efectos de la posición, escala y rotación (Kendall, 1977). Por lo tanto esta metodología permite el estudio cuantitativo de la forma, pero a diferencia de la morfometría multivariada tradicional, recupera la forma de los organismos, por lo que se puede generar una evaluación cualitativa de los cambios observados.

La morfometría geométrica se puede dividir en tres pasos esenciales; la obtención de datos, que se realiza mediante la localización de puntos, hitos o landmarks (en este trabajo se utiliza la palabra punto); la obtención de la información que describe la forma, que se realiza mediante ajustes en el morfoespacio, donde la posición, la escala y la rotación son eliminados, y finalmente la aplicación de análisis exploratorios y confirmatorios de covariación de la forma con factores causales. (Toro *et al.* 2010)

La base de la morfometría geométrica es la selección de los puntos. Es en las propiedades de estos que radica la fuerza de este método para hacer comparaciones entre organismos. Estos caracteres se desarrollaron como una herramienta para la morfometría tradicional. Mediante estos puntos, se desarrolló una red de medidas confiables (Strauss y Bookstein, 1982), que se genera al medir la distancia entre un punto y todos los puntos adyacentes a este. Esta metodología presenta un avance ante las medidas de la morfometría tradicional, ya que se eliminan errores de medición al triangular la posición de cada punto, y cada medida contiene información más significativa entre organismos. Los puntos, entonces se caracterizan por ser homólogos entre individuos y esta homología tiene la ventaja de ser de carácter biológico, por lo que permite establecer hipótesis de índole biológica.

Al alinear los organismos en el morfoespacio se retiran los efectos de la posición, rotación y escala, el resultado de esta alineación se puede caracterizar mediante dos índices distintos; la distancia Procrustes, que se refiere a la distancia entre dos configuraciones en el espacio de la forma de Kendall. Es aproximadamente la raíz cuadrada de las distancias cuadradas sumadas, entre distancia de puntos de referencia homólogos, cuando las configuraciones están en superposición Procrustes. El otro índice recurrente cuando se habla de la morfometría geométrica es la distancia de

Mahalanobis, la cual se refiere al cuadrado de la distancia entre dos medias dividido por la muestra conjunta de las matrices de varianza-covarianza. Ésta es una distancia estadística generalizada, el ajuste de las correlaciones entre las variables.

Una vez caracterizada la forma, algunos de los análisis que se pueden aplicar al conjunto de datos en la morfometría geométrica son el análisis de Componentes Principales, el cual es una prueba multivariada que provee un sistema de coordenadas cuyos ejes, o componentes principales, consideran la mayor cantidad de variación y no están relacionados entre ellos, el análisis de Variables Canónicas, que consiste en un análisis multivariado que encuentra nuevas variables de la forma que maximizan la separación entre grupos relativa a la variación dentro de los grupos y la Función Discriminante, método parecido al análisis de Variables Canónicas, donde se maximiza la separación solamente entre un par de grupos.

En este trabajo, dado las diferencias del número de individuos por localidad, se aplicó una prueba de Permutación. Este método fue introducido por R. A. Fisher en la década de 1930, con el fin de poner a prueba un conjunto de datos de los cuales se desconoce su distribución. Una variación de este método es el Bootstrap, pero a diferencia del anterior, en el método de Prueba de Permutación no se utiliza reemplazo (Efron & Tibshirani, 1993).

### **3. JUSTIFICACIÓN**

El género *Astyanax* para el territorio mexicano es un grupo con problemas taxonómicos muy amplios, las similitudes entre las especies y la falta de consenso sobre estas dificulta la identificación de los ejemplares de distintas regiones del país, así como del material actualmente depositado en las colecciones científicas. La problemática en su taxonomía no afecta solamente a la ictiología, sino se ve reflejada en otros campos como la parasitología y la biología de conservación, donde una mala identificación del organismo o del hospedero en el caso de la parasitología puede llevar a las conclusiones y decisiones equivocadas. Es por eso que dentro de las tareas del ictiólogo se encuentra el desarrollar métodos que permitan delimitar las especies, de manera clara y cuyas resultados trasciendan su campo de estudio y aporten información valiosa a otras ramas del estudio de la vida. De esta manera se puede llegar a tener una imagen más clara de la biodiversidad de peces que habitan en los cuerpos de agua mexicanos.

### **4. OBJETIVOS**

#### **4. 1. Objetivo general.**

El objetivo general de este trabajo es determinar si existe una diferencia significativa, desde el punto de vista de la morfometría geométrica, entre las poblaciones de *Astyanax* para el territorio mexicano, esto con el fin de identificar formas del género no descritas y establecer las distribuciones de dichas formas.

#### **4.2. Objetivos particulares.**

Determinar si existe una diferencia significativa en la forma de *Astyanax mexicanus* y *Astyanax aeneus*, con el fin de poder determinar en un futuro los intervalos de distribución.

Determinar si el material identificado históricamente como *Astyanax fasciatus* corresponde a una forma propia o pertenece a las formas de *Astyanax mexicanus* o *Astyanax aeneus*.

Determinar la diferencia en la forma entre las poblaciones de *Astyanax mexicanus* en el norte del país.

## **5. HIPÓTESIS**

### **5.1. Hipótesis sobre el género *Astyanax*.**

#### ***Hipótesis***

Existe una diferencia significativa entre la forma consenso de *Astyanax aeneus* y la forma consenso de *Astyanax mexicanus* y el material identificado como *Astyanax fasciatus* corresponde a una de estas dos formas.

#### ***Hipótesis alternativa***

Existe una diferencia significativa entre las formas de *A. aeneus*, *A. fasciatus* y *A. mexicanus*.

#### ***Hipótesis nula***

No existe ninguna diferencia significativa entre las formas correspondientes a *A. aeneus*, *A. fasciatus* o *A. mexicanus*.

### **5.2. Hipótesis sobre *Astyanax mexicanus*.**

#### ***Hipótesis***

La población de *A. mexicanus* que se distribuye en Cuatro Ciénegas es significativamente distinta en su forma del resto de poblaciones de la vertiente noreste del Atlántico mexicano.

#### ***Hipótesis alternativa***

Todas las poblaciones de *A. mexicanus* estudiadas son significativamente distintas entre sí.

#### ***Hipótesis nula.***

No existe ninguna diferencia entre las poblaciones de *A. mexicanus* para el noreste del Atlántico mexicano.



## 6. MATERIAL Y MÉTODOS

### 6.1. Material examinado

Para este estudio se utilizaron 149 ejemplares pertenecientes a la Colección Nacional de Peces del Instituto de Biología de la Universidad Nacional Autónoma de México, CNPE-IBUNAM. El material empleado contaba con una previa identificación y en la mayoría de los casos se le había asignado un número de catálogo para su ingreso al acervo de la colección.

El material utilizado corresponde en su totalidad a material colectado en localidades ubicadas dentro del territorio mexicano (Tabla 1). Las localidades de donde provienen las muestras corresponden a; Cuatro Ciéneas, Coahuila; Río San Fernando, Tamaulipas (IBUNAM-P12585, IBUNAM-P12726); Río Soto la Marina, la Pesca, Tamaulipas (IBUNAM-P12992); Río Guayalejo, Tamaulipas (IBUNAM-P12545); Río Nonoava, Ciénega de Norogachi, Chihuahua, (IBUNAM-P13329, IBUNAM-P13328, IBUNAM-P13343, IBUNAM-P13344, IBUNAM-P13351, IBUNAM-P13352, IBUNAM-P13358, IBUNAM-P13363, IBUNAM-P13370); Río Tonalá, San José Tancuchapa, Veracruz, (IBUNAM-P11903); Laguna de la Media Luna, San Luis Potosí (IBUNAM-P13964); Río Pedregal E. Carlos A Madrazo, Chiapas (IBUNAM-P11921); y Río Grande, Oaxaca (IBUNAM-P8986).

La mayor parte de los lotes habían sido asignados a dos especies validas (Miller, 2009; Eschmeyer, 2012), *Astyanax mexicanus* (De Filippi 1853) (Chihuahua, Coahuila, Tamaulipas, San Luis Potosí) y *Astyanax aeneus* (Günther 1860) (Chiapas) y en dos de los casos, el material había sido identificado como *Astyanax fasciatus* (Cuvier 1819) (Veracruz, Oaxaca). Utilizando la clave proporcionada por Miller *et al.* (2009), se revisó el material identificado como *A. fasciatus* y por las características que presentaban, se le asignó la especie de *A. aeneus*.

**Tabla 1.** Identificación y clave del material utilizado.

Clave	Localidad	Identificado como	Identificación en este estudio	Num. Ejemplares
Coah01	Cuatro Ciénegas	<i>A. mexicanus</i>	<i>A. mexicanus</i>	8
Tama01SF	Río San Fernando.	<i>A. mexicanus</i>	<i>A. mexicanus</i>	10
Tama02SM	Río Soto la Marina, La Pesca.	<i>A. mexicanus</i>	<i>A. mexicanus</i>	19
Tama03GU	Río Guayalejo.	<i>A. mexicanus</i>	<i>A. mexicanus</i>	38
Chih01	Ciénega de Norogachi, Río Nonoava.	<i>A. mexicanus</i>	<i>A. mexicanus</i>	12
Vera01	Río Tonalá, San José Tancuchapa	<i>A. fasciatus</i>	<i>A. aeneus</i>	4
SanL01	Laguna de la Media Luna.	<i>A. mexicanus</i>	<i>A. mexicanus</i>	21
Chia01	Río Pedregal. E. Carlos A. Madrazo	<i>A. aeneus</i>	<i>A. aeneus</i>	21
Oaxa01	Río Grande	<i>A. fasciatus</i>	<i>A. aeneus</i>	16

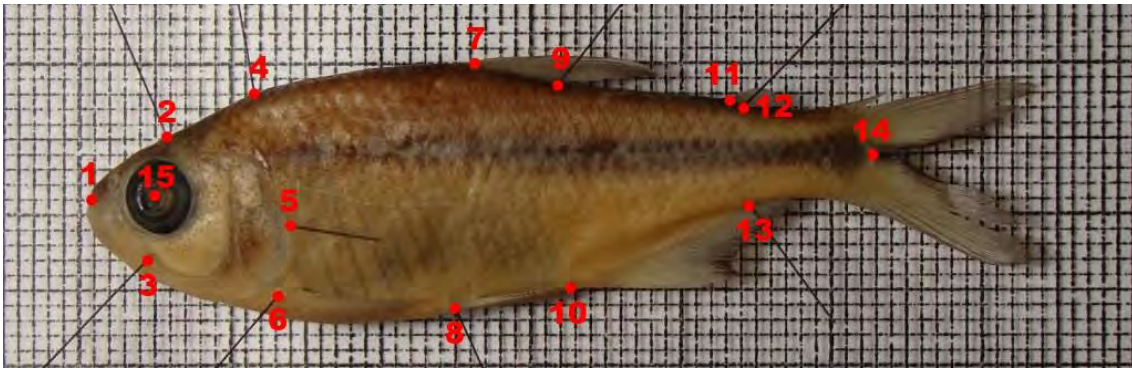


**Figura 1.** Mapa de las localidades.

## 6.2. Obtención de datos

### 6.2.1. Selección de puntos de referencia.

Para selección de puntos se modificó la metodología utilizada por Zelditch *et al.* (2000) para *Serrasalmus* y *Pygocentrus*, ambos géneros pertenecientes a la familia de *Astyanax* (Characidae). De los 16 puntos de referencia seleccionados por Zelditch *et al.* se utilizaron 14 (Figura 2), que corresponden a características homologas entre los miembros de esta familia, como son el inicio y término de las aleta dorsal, anal y adiposa, y la inserción de las aletas pectoral y pélvica. Finalmente se seleccionó un último punto en la región cefálica, en el centro del ojo, el cual contiene la posición de dicha estructura. La decisión de utilizar un punto en vez dos como utilizan Zelditch *et al.*, se basó en la naturaleza no geométrica de estos puntos, se consideró que los criterios de homología y repetitividad estaban comprometidos, por lo que se optó por utilizar un solo punto para caracterizar la posición del ojo.



**Figura 2.** Localización de los puntos en un ejemplar de *Astyanax aeneus*.

1. Punta del hocico
2. Borde anterior del puente apifisal
3. Borde posterior del hueso maxilar
4. Punta posterior del hueso supraoccipital
5. Borde posterior del hueso del opérculo, a la altura de la primera curva
6. Inserción de la aleta pectoral
7. Origen de la aleta dorsal
8. Inserción de la aleta pélvica
9. Borde posterior de la aleta dorsal
10. Origen de la aleta anal
11. Origen de la aleta adiposa
12. Borde posterior de la aleta adiposa
13. Borde posterior de la aleta anal
14. Última escama en el pedúnculo caudal.
15. Centro del ojo

En el caso de los puntos cuya posición era enmascarada por otras estructuras o su inicio o término no eran del todo claro, se marcó la posición utilizando un alfiler entomológico.

### **6.2.2. Digitalización de los ejemplares**

Una vez seleccionados los puntos que mejor describían la forma, se digitalizaron los ejemplares. Para ello se generó una imagen por ejemplar sobre un fondo de papel milimétrico, utilizando una cámara digital Sony Cyber-shot Modelo DSC-H50 de 9.1 mega píxeles. Las imágenes digitales de los ejemplares fueron agrupadas por localidad utilizando el programa tpsUtil (Rohlf, 2004a), el cual genera un archivo de formato y terminación tps que contiene una relación entre los identificadores de cada ejemplar y la ubicación en el disco duro de su archivo digital.

Una vez agrupados los ejemplares por localidad, se extrajeron las coordenadas de cada punto de referencia, este procedimiento se realizó utilizando el programa tpsDig2 (Rohlf, 2004b). Esta aplicación utiliza como base el archivo generado por el tpsUtil, el cual contiene las imágenes seleccionadas por localidad. Este programa extrae las coordenadas de cada punto expresadas como una coordenada (x,y), utilizando como referencia la esquina inferior izquierda de la imagen. El programa añade el número de puntos de referencia (lm), así como su posición relativa en la imagen como una lista en el archivo tps.

### **6.3. Morfometría geométrica.**

Una vez digitalizados los puntos de referencia utilizando el programa TPSdig2 (Rohlf, 2004b), los archivos resultantes fueron ingresadas al programa MorphoJ (Klingenberg, 2011). Mediante este programa los efectos de escala, rotación y traslación fueron eliminados al aplicar un ajuste Procrustes alineado por el eje principal. La elección de este ajuste sobre otros se basa en la naturaleza no simétrica de los datos. Este programa también fue utilizado para generar el análisis de Componentes Principales, de Variables Canónicas, de Función Discriminantes y generar las rejillas de deformación.

## 7. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE RESULTADOS

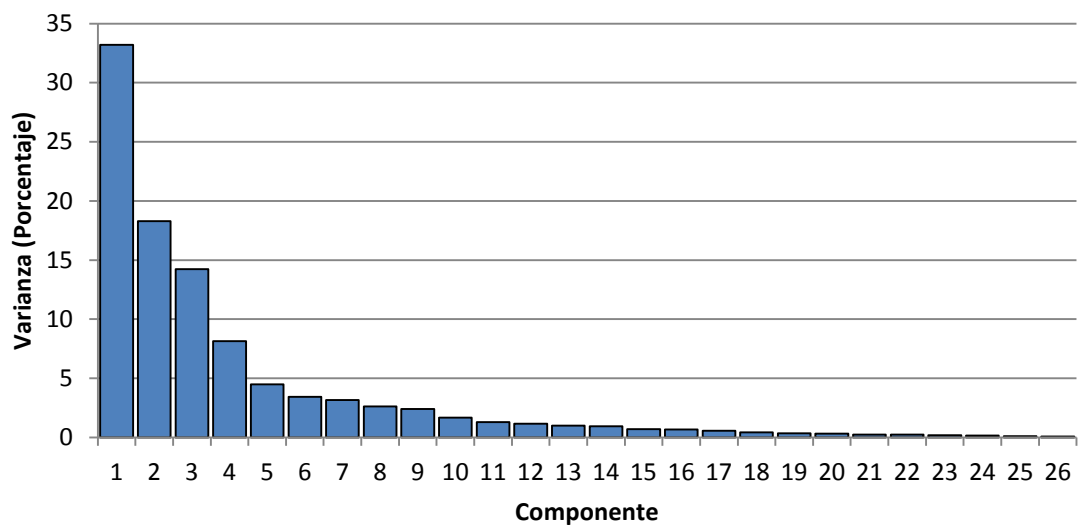
### 7.1. Análisis de componentes principales.

Una vez realizado el ajuste Procrustes se aplicó un análisis de Componentes Principales utilizando todos los individuos de la muestra (149 ejemplares). Este análisis de ordenación tiene un carácter exploratorio y se caracteriza por realizar una comparación de cada individuo con el total de la muestra, independientemente de la categoría a la que esté asignado, por lo que no pone a prueba los grupos asignados *a priori*.

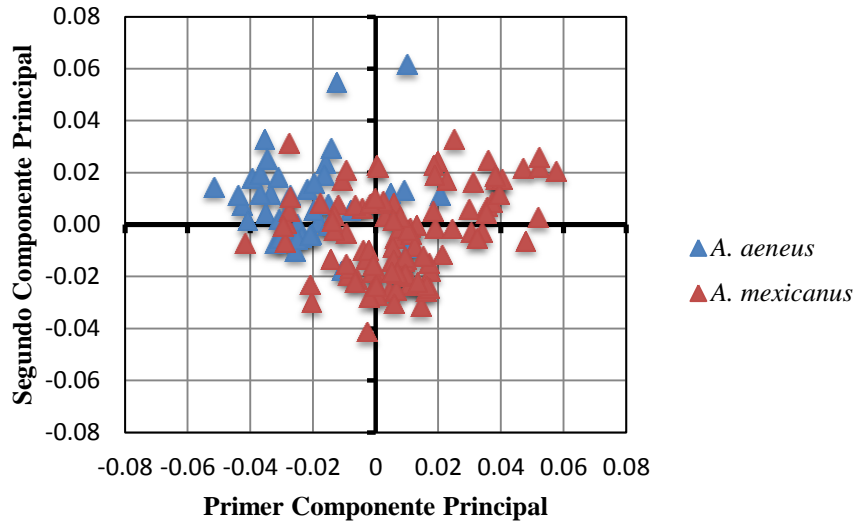
Este análisis dio como resultado 26 componentes principales que explican el 100% de la variación (Anexo 1). Sólo los tres primeros componentes explican más del 10% de la variación cada uno y los tres en conjunto explican el 65.719% (Tabla 2). De los restantes 23 componentes, 22 explican menos del 5% de la variación cada uno (Figura 3).

**Tabla 2.** Valores de los primeros cinco Componentes Principales.

Componente	Eigenvalor	% de la Varianza	% Acumulativo
1	0.00055244	33.191	33.191
2	0.00030452	18.295	51.486
3	0.00023689	14.232	65.719
4	0.00013561	8.148	73.866
5	0.00007461	4.483	78.349

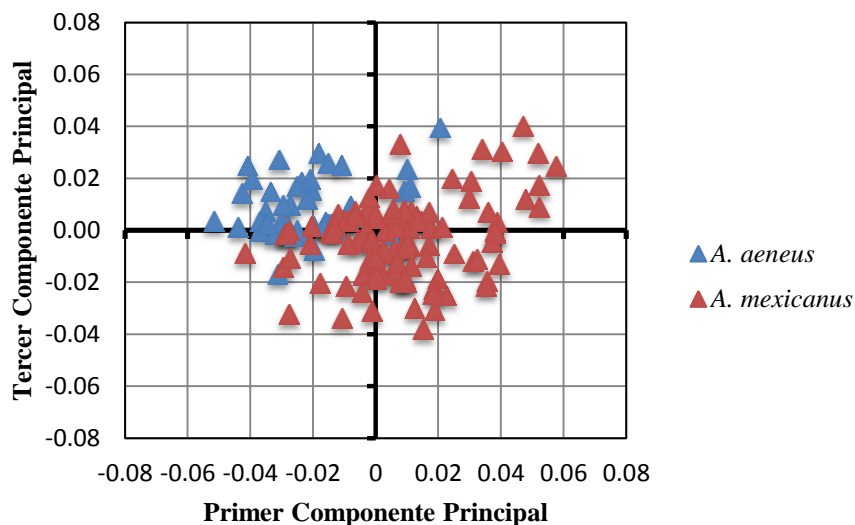


**Figura 3.** Curva de acumulación de los Componentes Principales. ACP; Todas las localidades.



**Figura 4.** Primero contra segundo Componente Principal.

En la Figura 4 se observa la gráfica resultante de contrastar los valores individuales del primer contra el segundo componente. Con fines de visualización, se asignó un color para cada categoría, las cuales fueron basadas en la identificación realizada al inicio de este trabajo, contando *A. aeneus* con 41 observaciones y *A. mexicanus* con 108. Aunque este tipo de análisis no pone a prueba diferencias entre grupos, se observa que existe una tendencia a la separación entre las distribuciones de las dos categorías.

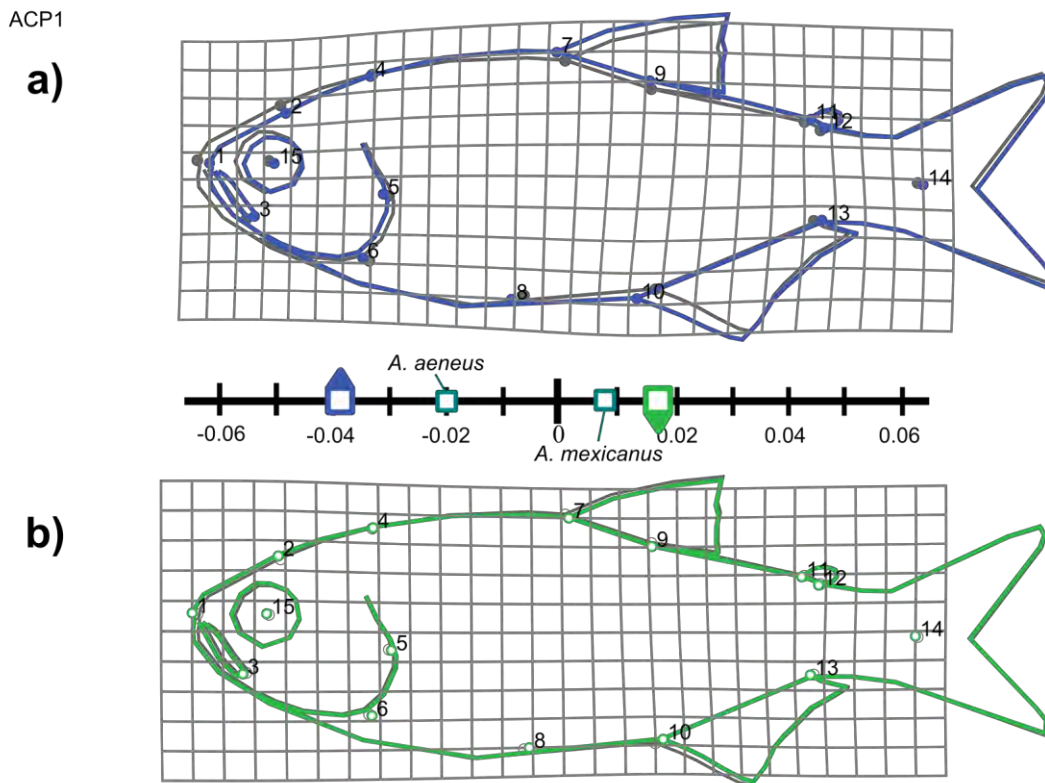


**Figura 5.** Primer contra tercer componente principal. ACP.



### 7.1.1. Primer Componente Principal

El primer Componente Principal explica el 33.191% de la variación al interior de la muestra. Este componente agrupa cambios relacionados con la longitud y posición relativa de la aleta anal (punto 10 y 13), así como la distancia y posición de la aleta pélvica (punto 8) con la aleta pectoral (punto 6) (Figura 6). También se observan ligeros cambios en la región cefálica (puntos 1, 2 y 3).



**Figura 6.** Deformación en el primer componente. ACP: Todas las localidades.

Al analizar la dispersión de los ejemplares en la gráfica del primer contra segundo Componente Principal (Figura 4), se observa una tendencia de la categoría *A. aeneus* a presentarse en la región negativa del eje. Los cambios que caracterizan esta región (Figura 6, a) son un corrimiento a la región anterior del inicio de la aleta anal (punto 10), lo cual lo coloca por delante del término de la aleta dorsal (punto 9). También se caracteriza por un corrimiento hacia la región caudal del término de la aleta anal (punto 13), lo cual lo coloca en un plano vertical, más cercano al término (punto 12) que al inicio (punto 11) de la aleta adiposa. Así mismo la inserción de la pélvica (punto 8) presenta un corrimiento hacia la región anterior del ejemplar. Su posición cualitativa con respecto a otros puntos no cambia, pero su corrimiento indica una disminución en la distancia entre la inserción de la

aleta pélvica y la inserción de la aleta pectoral (punto 6). Otro cambio presente es la disminución en el tamaño cefálico representado por cambios en los puntos 1, 2 y 3.

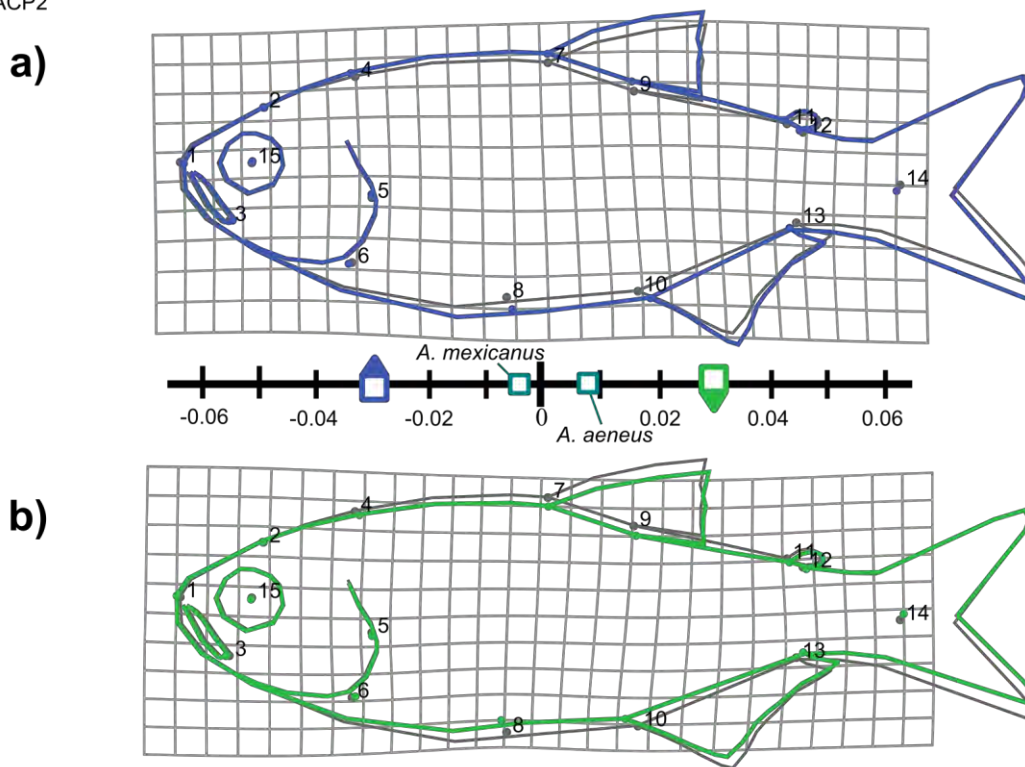
En la región positiva del eje se agrupan en su mayoría los individuos de la categoría *A. mexicanus*. Los cambios en esta región (Figura 6, b) se caracterizan por la posición del inicio de la aleta anal (punto 10) por detrás del término de la aleta dorsal (punto 9), un aumento en la distancia entre la inserción de la aleta pélvica (punto 8) y la inserción de la aleta pectoral (punto 6).

### **7.1.2. Segundo Componente Principal.**

El segundo Componente Principal explica el 18.295% de la variación total de la muestra. La desviación de las categorías desde el centro del eje es menor que en el componente anterior; *A. aeneus* presenta un desplazamiento hacia la región positiva mientras que *A. mexicanus* hacia la negativa. Este componente agrupa cambios en la altura de los individuos que se observa en la covariación de dos regiones; la dorsal, representada por los puntos 7 y 9 (inicio y término de la aleta dorsal) y la ventral, por los puntos 8 y 10 (inserción de la aleta pélvica e inicio de la aleta anal). En la región negativa, estas regiones presentan una expansión entre sí (Figura 7, a), lo que resulta en individuos de cuerpos más altos, mientras que en la región positiva presentan una contracción, lo que se expresa en individuos de cuerpos más delgados (Figura 7, b).



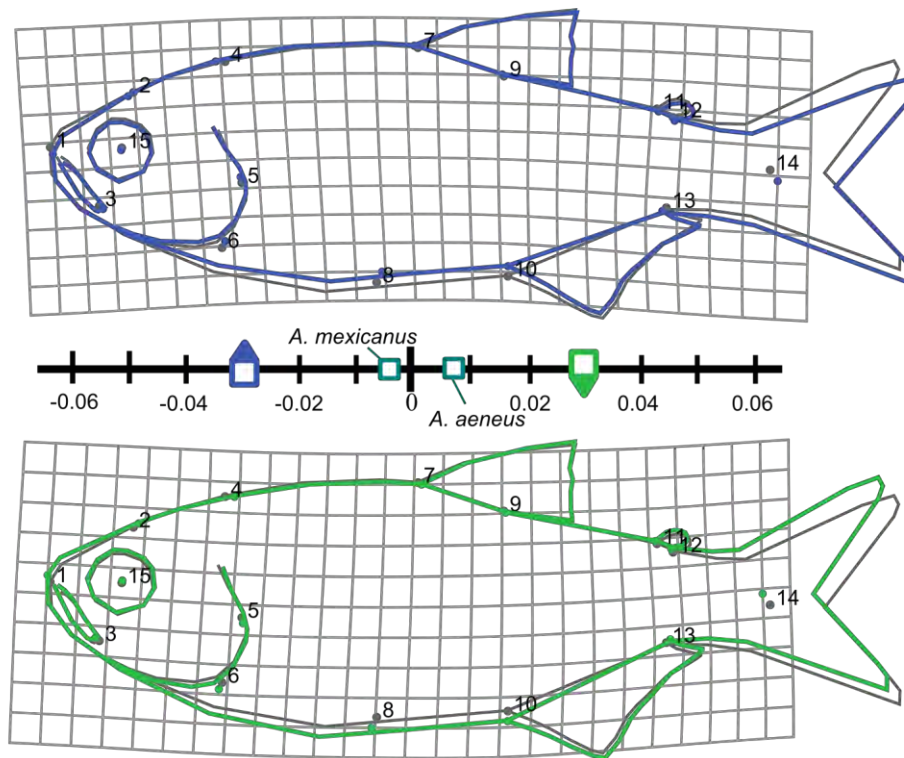
ACP2



**Figura 7.** Deformación en el segundo componente. ACP: Todas las localidades.

### 7.1.3. Tercer Componente Principal

El tercer componente explica el 14.232% de la variación total de la muestra. En la región negativa del eje (Figura 8, a) se observan cambios en los puntos 6, 8 y 10 (inserción de la aleta pectoral, de la pélvica e inicio de la aleta anal), localizados en la región ventral, y en el punto 14 (última escama en la aleta caudal). Los puntos en la región ventral sufren una contracción, lo que significa individuos de vientre más delgados y el cambio en el punto 14 indica un ligero arqueamiento hacia la región dorsal. En la región positiva del eje (Figura 8, b), el arqueamiento ocurre hacia la región ventral, lo que resulta en individuos de vientres más abultados.



**Figura 8.** Deformación en el tercer componente. ACP: Todas las poblaciones.

## 7.2. Función discriminante.

### 7.2.1. Función discriminante: *Astyanax aeneus*, *A. fasciatus* y *A. mexicanus*.

Una vez caracterizada la variación al interior de la muestra, se realizó un análisis entre categorías, utilizando el análisis de Función Discriminante, que a diferencia del análisis de Componentes Principales permite poner a prueba la pertenencia de las observaciones dentro de las categorías asignadas *a priori*, y a diferencia del análisis de Variables Canónicas maximiza las diferencias entre pares de categorías. Se aplicó este análisis en dos ocasiones modificando en cada una las categorías contenidas dentro del único clasificador (*Especie*).

En el primer análisis el clasificador *Especie* contenía tres categorías que concordaban con la identificación previa de los organismo; *A. mexicanus* (n=108), *A. aeneus* (n=21) y *A. fasciatus* (n=20). Este análisis dio como resultado que no existe una diferencia significativa entre las categorías *A. aeneus* y *A. fasciatus*. (T-cuadrada: 2093.8950, P=0.3800), pero si existen diferencias significativas tanto entre *A. aeneus* con *A. mexicanus* (T-cuadrada: 519.1389, P<0.0001) como entre *A. fasciatus* con *A. mexicanus*. (T-cuadrada: 170.8299, P<0.0001)

**Tabla 3.** Valor de P, Función discriminante; *A. aeneus* contra *A. fasciatus* contra *A. mexicanus*

	<i>A. fasciatus</i>	<i>A. mexicanus</i>
<i>A. fasciatus</i>	-	P<0.0001
<i>A. aeneus</i>	P=0.3800	P<0.0001

A partir de este resultado se agruparon los individuos de *A. fasciatus* con los de *A. aeneus* para el resto del trabajo. Esta decisión se basó tanto en el resultado obtenido anteriormente, como en la re-identificación realizada al inicio de este trabajo.

### 7.2.2. Función discriminante entre *Astyanax aeneus* y *A. mexicanus*.

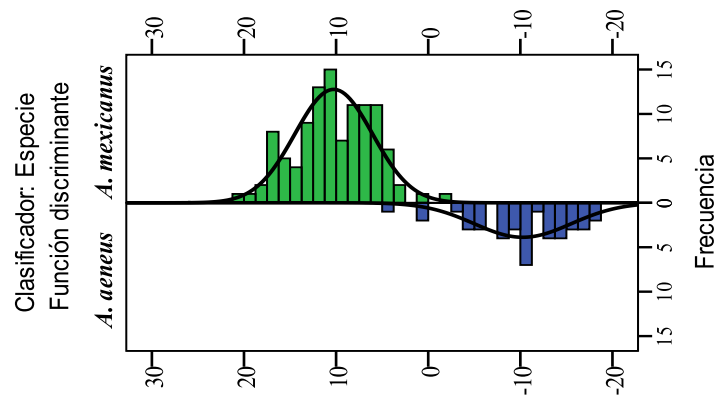
Para el segundo análisis Función Discriminante se utilizaron 149 ejemplares, los cuales fueron clasificados dentro de dos categorías según la especie; *A. mexicanus* (n=108) y *A. aeneus* (n=41), categoría que a partir de este punto incluye a los organismos identificados erróneamente como *A. fasciatus* y los cuales fueron reidentificados basándose en Miller *et al.* (2009).

Este análisis da como resultado una reclasificación de *A. mexicanus* dentro de su misma categoría del 99% y de *A. aeneus* del 93% utilizando la función discriminante (Tabla 4). Los mismos valores se obtienen cuando se realiza la validación cruzada utilizando la regla de clasificación de Fisher.

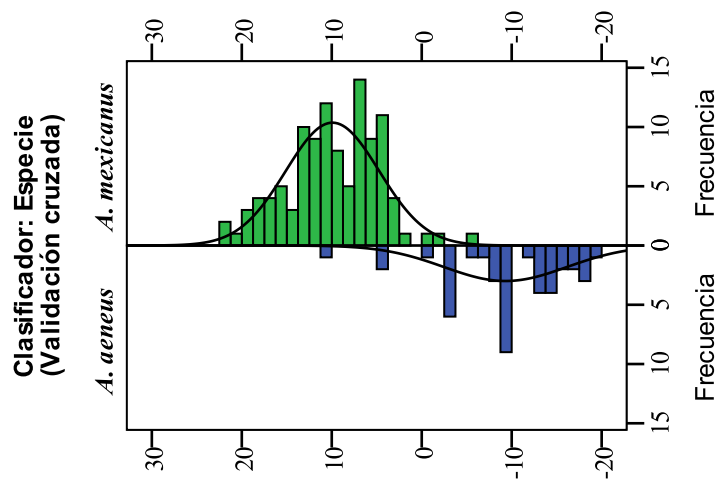
**Tabla 4.** Tabla de clasificación. Función discriminante; *A. aeneus* y *A. mexicanus*

	<i>A. aeneus</i>		<i>A. mexicanus</i>		Total	
	Función discriminante	Validación cruzada	Función discriminante	Validación cruzada	Función discriminante	Validación cruzada
<i>A. aeneus</i>	38 93%	38 93%	3 7%	3 7%	41 100%	41 100%
<i>A. mexicanus</i>	1 1%	1 1%	107 99%	107 99%	108 100%	108 100%

Respecto a la distancia entre grupos, la distancia Procrustes entre categorías fue de 0.03645321, mientras que la distancia Mahalanobis de 4.5301. Al realizar una prueba de T-cuadrada para poner a prueba la similitud entre distribuciones de las categorías (Figura 9 y Figura 10) se observaron diferencias significativas (T-cuadrada: 609.8588, P <0.0001). Para confirmar los resultados se realizó la misma prueba utilizando 1000 y 2000 permutaciones, los cuales arrojaron resultados similares, (Distancia Procrustes, P<0.0001, Distancia Mahalanobis P<0.0001).



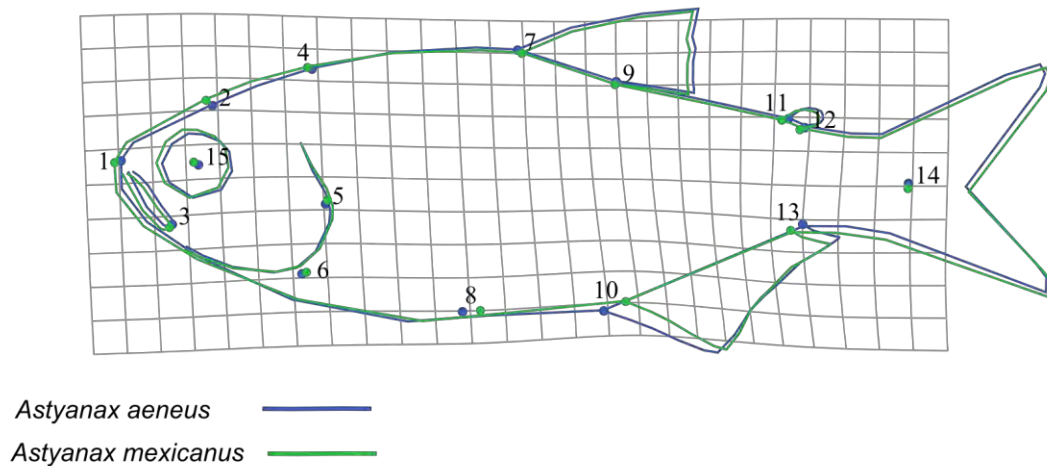
**Figura 9.** Distribución. Función discriminante: *A. aeneus* y *A. mexicanus*



**Figura 10.** Distribución. Validación cruzada; *A. aeneus* y *A. mexicanus*.

Para visualizar los cambios en la forma entre categorías se generó una rejilla de deformación (Figura 11). En la gráfica resultante se observa que el cambio de mayor magnitud se presenta en los puntos 10 y 13 (inicio y término de la aleta anal) y el punto 8 (inserción de la aleta pélvica). Otros puntos que sufren cambios de considerable magnitud son los puntos 1 y 2, ubicado en la región cefálica y el punto 7 (inicio de la aleta dorsal).

Función discriminante



**Figura 11.** Diferencia entre las formas de *A. aeneus* y *A. mexicanus*. Función discriminante.

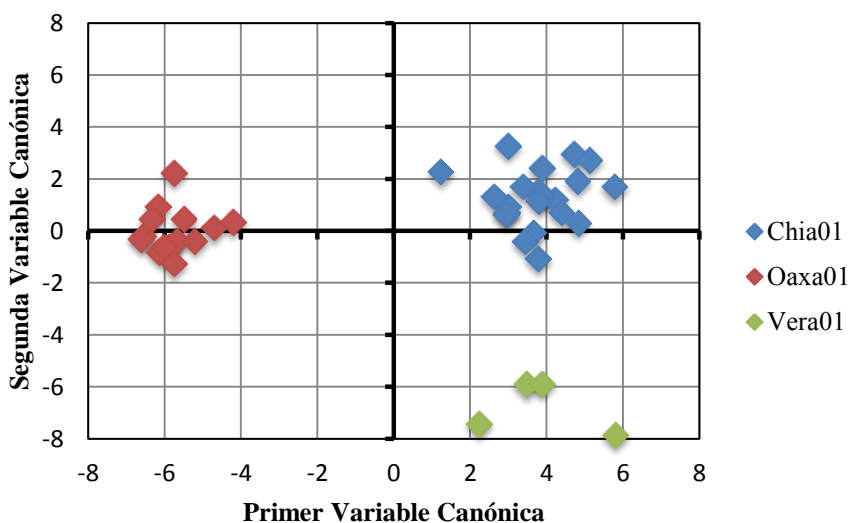
Respecto a la dirección de los cambios, en la forma promedio *A. mexicanus* se observa que los puntos 10 y 13 disminuyen la distancia entre ellos, lo que indica una aleta anal de menor tamaño. A estos cambios está asociado el cambio en la posición del inicio de la aleta anal (punto 10) con respecto al término de la aleta dorsal (punto 9); en *A. mexicanus* se posiciona por detrás de este último, mientras que en *A. aeneus* por delante. El término de la aleta anal en *A. mexicanus* se localiza más cercano al inicio de la aleta adiposa (punto 11), mientras que en *A. aeneus* se localiza hacia el final de esta (punto 12). Finalmente en *A. mexicanus* la inserción de la aleta pélvica (punto 8) sufre un corrimiento hacia la región caudal, lo que indica una mayor distancia entre la inserción de la aleta pectoral y pélvica.

### 7.3. Análisis de variables canónicas: *Astyanax aeneus*

Una vez establecidas las diferencias entre especies, se realizó un análisis al interior de estas. Con este fin se utilizó la localidad como clasificador al interior de la especie y dado que éste estaba compuesto de tres categorías o más se realizó un análisis de Variables Canónicas. Las categorías resultantes al interior de *Astyanax aeneus* fueron: Chiapas (n=21), Oaxaca (n=16) y Veracruz (n=4). Dadas las tres categorías el análisis dio como resultado dos variables canónicas que explican el 100% de la variación (Tabla 5).

**Tabla 5.** Eigenvalores, varianza y varianza acumulada. AVC; *A. aeneus*

Variable canónica	Eigenvalor	% Varianza	% Var. Acumulado
1	24.15641474	80.754	80.754
2	5.75719248	19.246	100

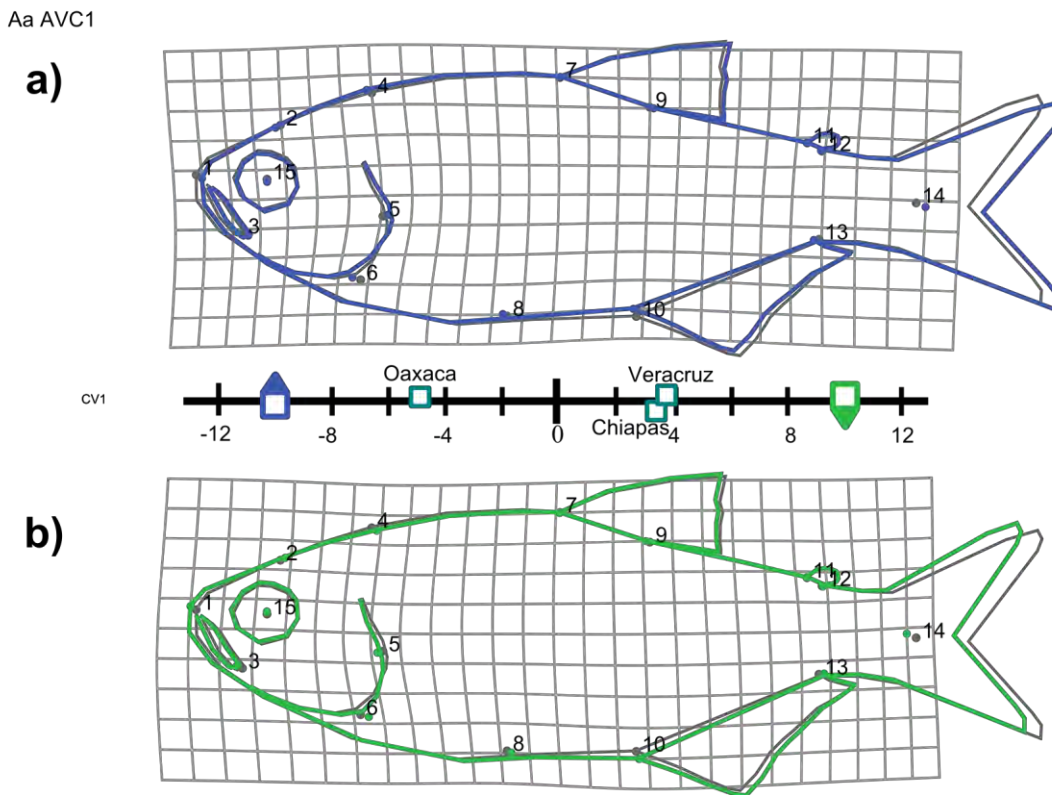


**Figura 12.** Primera contra segunda Variable Canónica. AVC; *A. aeneus*

Al igual que en el análisis de Componentes Principales, se utilizaron las puntuaciones en cada componente para construir una gráfica de dos dimensiones de la primer contra la segunda Variable Canónica (Figura 12).

### 7.3.1. Primer Variable Canónica

La primer variable explica el 80.7% de la variación. En ésta las localidades de Chiapas y Veracruz se agrupan en la región positiva del eje, mientras que Oaxaca se localiza en la parte negativa. Los cambios en la forma en la parte negativa (Figura 13, a) se caracterizan por la expansión del punto 14, lo que resulta en una aleta caudal ligeramente arqueada hacia la región ventral, una contracción en la punta del hocico (punto 1), una contracción del vientre a la altura del inicio de la alteña anal (punto 10) y el corrimiento hacia la parte anterior de la inserción de la aleta pectoral (punto 6). La región positiva (Figura 13, b) da como resultado organismos ligeramente más altos a la altura del inicio de la aleta anal y de hocico ligeramente más largo.

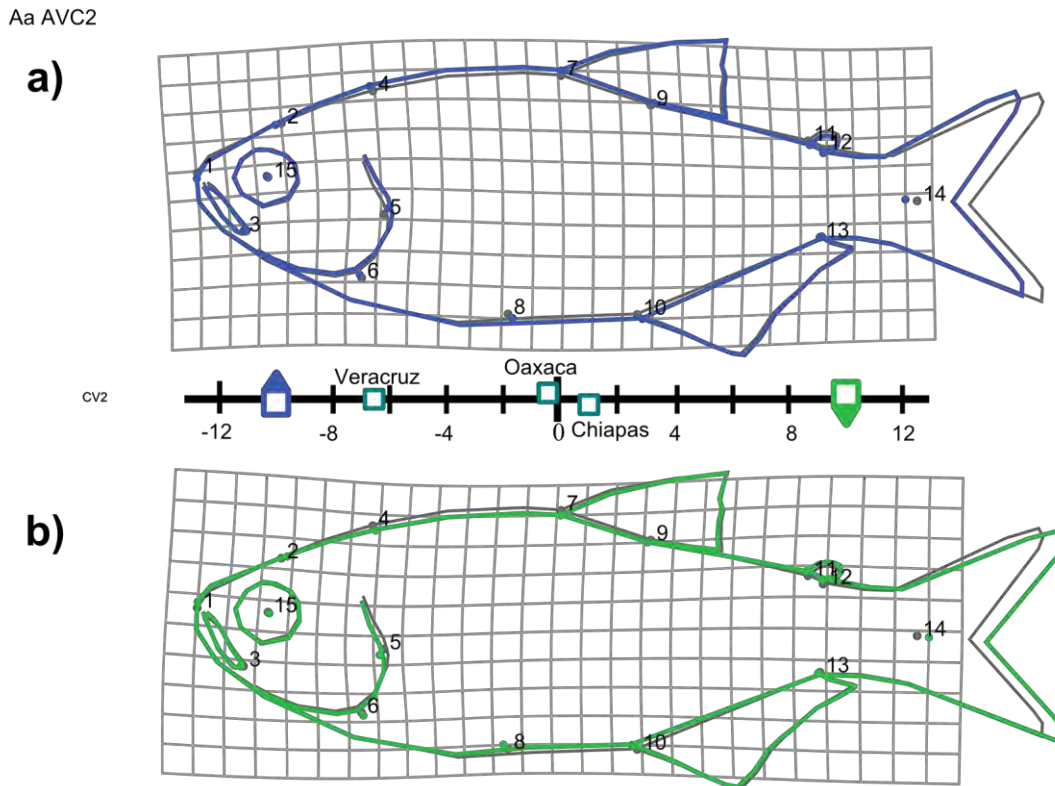


**Figura 13.** Deformación en la primera variable canónica. AVC: *A. aeneus*.

### 7.3.2. Segunda Variable Canónica.

La segunda Variable Canónica explica 19.24% de la variación, lo que acumulado con el primer componente resulta en el 100%. En esta variable las categorías Chiapas y Oaxaca se agrupan cerca de la forma consenso de la muestra mientras que Veracruz se recorre hacia la parte negativa del eje (Figura 12). El cambio de mayor magnitud se observa en la región caudal, en la región negativa del

eje sufre una contracción (Figura 14, a) y en la positiva una expansión (Figura 14, b). También se observa un ligero cambio en la altura de los individuos, en la región negativa, son más altos, expresado como cambios en los puntos 4 y 7 en la región dorsal y 6, 8 y 10 en la región ventral.



**Figura 14.** Deformación en la segunda variable canónica. AVC: *A. aeneus*.

### 7.3.3. Distancia Procrustes y Mahalanobis.

De este análisis también se obtuvieron las distancias Procrustes y Mahalanobis. Se realizó una prueba con 10000 y 20000 permutaciones para poner a prueba las diferencias significativas. En la prueba utilizando las distancias Procrustes, el grupo de Veracruz no presentó diferencias significativas con los ejemplares de Chiapas ni Oaxaca (Tabla 6). Estos resultados contrastan con las distancias Mahalanobis, las cuales fueron todas significativas.

**Tabla 6.** Distancias y valor de P (negritas) después de 10000 permutaciones.

	Chiapas		Oaxaca	
	Procrustes	Mahalanobis	Procrustes	Mahalanobis
Oaxaca	0.0226	9.7761		
	<b>0.0006</b>	<b>&lt;.0001</b>		
Veracruz	0.0189	8.0694	0.0288	11.8741
	<b>0.3945</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>0.0172</b>	<b>&lt;.0001</b>



#### 7.4. Análisis de variables canónicas: *Astyanax mexicanus*.

Al igual que en *A. aeneus*, se realizó un análisis al interior de *A. mexicanus* utilizando el análisis de Variables Canónicas y la localidad como clasificador. En total se utilizaron 108 individuos correspondientes a seis localidades (Tabla 7).

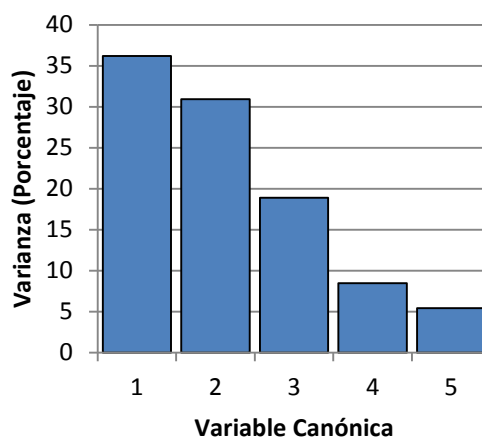
**Tabla 7.** Localidades utilizadas en el análisis al interior de *A. mexicanus*.

Localidad	Núm. de ejemplares
Chih01	12
Coah01	8
SanL01	21
Tama01SF	10
Tama02SM	19
Tama03GU	38

Este análisis dio como resultado cinco Variables Canónicas que explican el 100% de la variación al interior de la muestra (Tabla 8). Las tres primeras variables acumuladas explican el 86% de la variación y al menos 18% en forma individual.

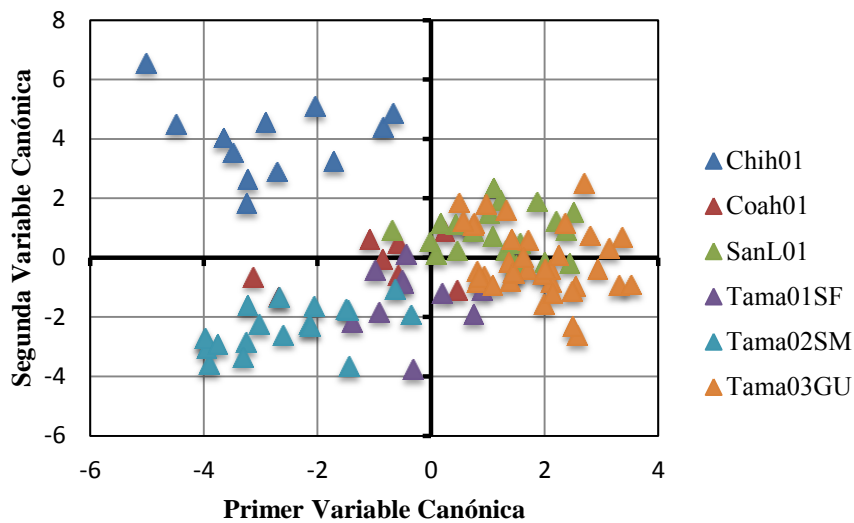
**Tabla 8.** Eigenvalores y varianza. AVC; *A. mexicanus*.

Variable canónica	Eigenvalor	Varianza (%)	% Acumulativo
1	3.8588151	36.199	36.199
2	3.29852638	30.943	67.142
3	2.01751315	18.926	86.068
4	0.90426405	8.483	94.551
5	0.58090808	5.449	100



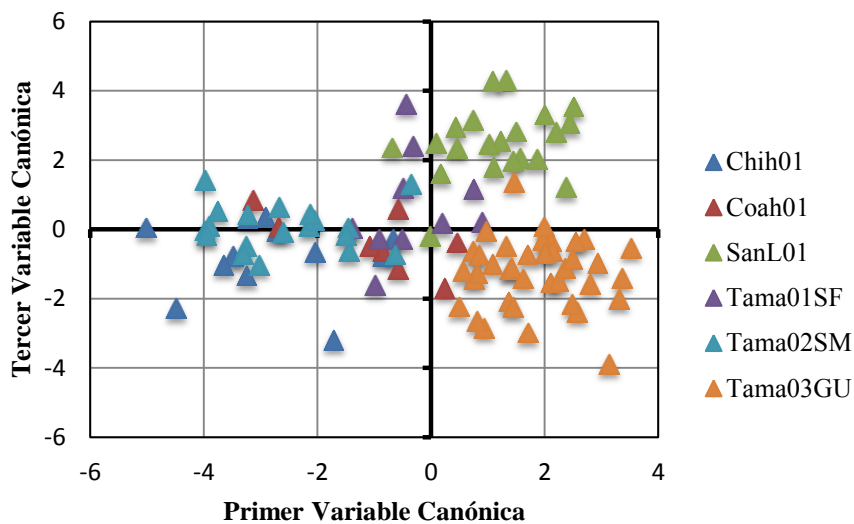
**Figura 15.** Histograma de las variables canónicas. AVC; *A. mexicanus*.

A partir de estos resultados se generaron dos gráficas contrastando dos ejes cada una; la primer variable contra la segunda (Figura 16) y la primera contra la tercera (Figura 17).



**Figura 16.** Primera contra segunda variable canónica. AVC; *A. mexicanus*.

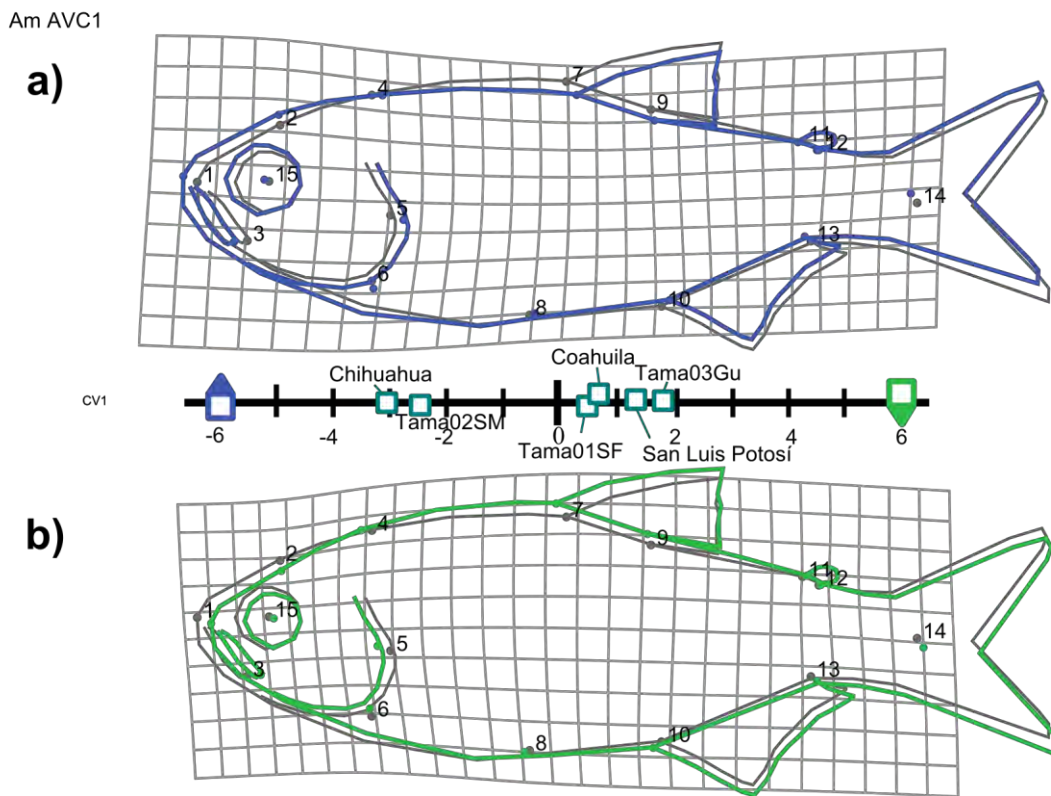
A continuación se observan el gráfico resultante de contrastar las puntuaciones de la tercera y cuarta Variable Canónica.



**Figura 17.** Primera contra tercera Variable Canónica. AVC; *A. mexicanus*

### 7.4.1. Primer Variable Canónica

La primera Variable Canónica explica el 36.199% de la variación de la muestra. Las localidades en este componente se agrupan de la siguiente manera (Figura 16); en el lado negativo, Chihuahua y Soto la Marina, Tamaulipas; y ligeramente desviado hacia el lado positivo el resto de las localidades. La forma de los organismos que se localizan en la parte negativa del eje (Figura 18, a) es de cabeza más ancha y cuerpos de menor altura respecto a la configuración consenso. Esto se ve expresado como la expansión de los puntos en la región cefálica (puntos 1, 2, 3 y 4), mientras que el cambio en la altura se refleja con mayor claridad en la aleta dorsal (puntos 7 y 9), la cual además sufre un corrimiento hacia la parte posterior del organismo. En el lado positivo del eje (Figura 18, a) los cambios ocurren en la dirección contraria. Este componente se puede resumir como la covariación que existe entre el tamaño de la cabeza con el resto del cuerpo, a cabezas de mayor tamaño, cuerpos más pequeños y viceversa, lo que concuerda con el crecimiento alométrico de muchos carácidos.

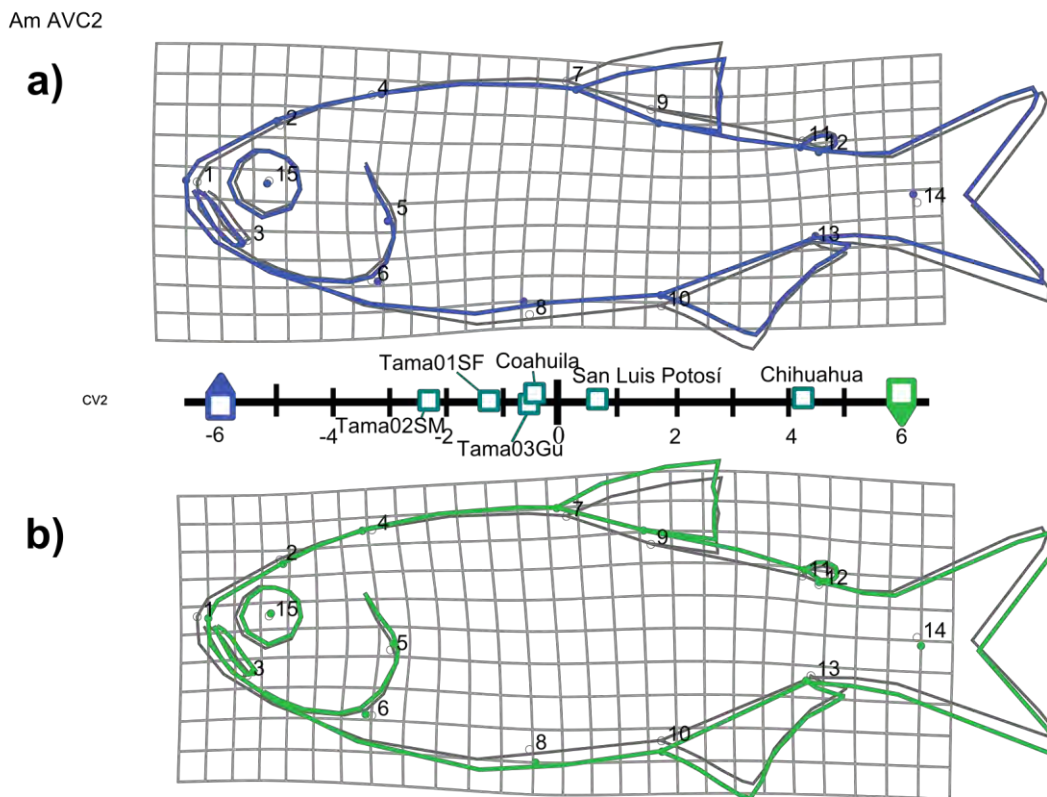


**Figura 18.** Deformación en la primera variable canónica. AVC: *A. mexicanus*.

### 7.4.2. Segunda variable canónica

La segunda Variable Canónica explica el 30.9% de la variación. En esta variable Chihuahua se separa del resto en el lado positivo del eje, mientras que Soto la Marina, Tamaulipas se localiza en el extremo negativo, pero sin presentar una separación tan marcada como Chihuahua con el resto de las localidades.

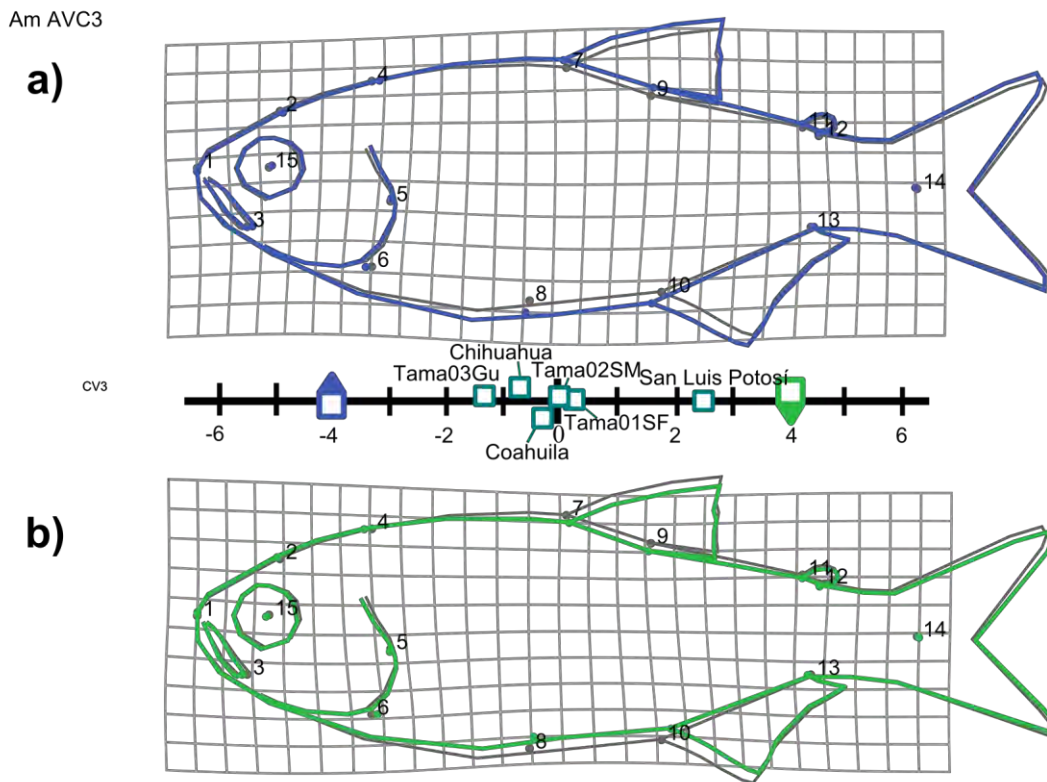
La forma en la región positiva (Figura 19, b) se caracteriza por individuos más altos; la región dorsal (puntos 7 y 9) y la ventral (puntos 8 y 10) sufren una expansión, mientras que en la región positiva, sufren una contracción (Figura 19, a). Esto se resume como los organismos de Chihuahua son más altos que el resto de las localidades.



**Figura 19.** Deformación en la segunda variable canónica. AVC: *A. mexicanus*.

### 7.4.3. Tercer Variable Canónica

Esta Variable Canónica explica el 18.926% de la variación. La localidad San Luis Potosí se separa del resto al situarse en la parte positiva, mientras que las demás categorías se localizan cercanas al centro. La forma en la parte negativa del eje (Figura 20, a) se caracteriza por cambios en la altura y a diferencia de la variable anterior, también se presenta una covariación con cambios en el inicio de la aleta anal. Los cambios se observan como una expansión entre la región dorsal (puntos 7 y 9) y la región ventral (puntos 8 y 10) y el corrimiento del inicio de la aleta anal hacia la región anterior (punto 10). La región positiva, donde se localiza San Luis Potosí, se caracteriza por individuos de menor altura (menor distancia entre puntos 7 y 9 con 8 y 10), además de una aleta anal de menor tamaño (Figura 20, b).



**Figura 20.** Deformación en la tercera variable canónica. AVC: *A. mexicanus*.

#### 7.4.4. Distancia Procrustes y Mahalanobis.

Para establecer si existen diferencias significativas entre categorías se aplicó una prueba de T-cuadrada utilizando 1000 permutaciones. Se realizó este análisis utilizando tanto las distancias Procrustes como las distancias Mahalanobis. Para ambas se encontraron diferencias significativas entre todos los pares de categorías (Tabla 9).

**Tabla 9.** Distancias Procrustes (D.P) y Mahalanobis (D.M) y valores de P a 1000 permutaciones (negritas), AVC; *A. mexicanus*

	Chih01		Coah01		SanL01		Tama01SF		Tama02SM	
	D.P	D.M.	D.P	D.M.	D.P	D.M.	D.P	D.M.	D.P	D.M.
<b>Coah01</b>	0.0335	5.5674								
	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>								
<b>SanL01</b>	0.0283	6.1378	0.026	4.7596						
	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>0.0005</b>	<b>&lt;.0001</b>						
<b>Tama01SF</b>	0.0463	6.607	0.0264	3.9685	0.03	4.4338				
	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>0.012</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>				
<b>Tama02SM</b>	0.0432	6.5298	0.0343	4.3593	0.0398	5.5748	0.0459	4.2484		
	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>0.0004</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>		
<b>Tama03GU</b>	0.0246	6.2732	0.0296	4.2232	0.0261	3.9546	0.0371	4.1894	0.05	5.2068
	<b>0.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>

#### 7.5. Análisis de variables canónicas: *Astyanax* spp.

Finalmente se aplicó un análisis de Variables Canónicas entre todas las poblaciones con el fin de observar cómo se comportaba la muestra al no utilizar la especie como clasificador. En este análisis se incluyeron 149 individuos los cuales correspondían a nueve localidades (Tabla 10), las cuales fueron utilizadas como categorías dentro de la variable clasificatoria.

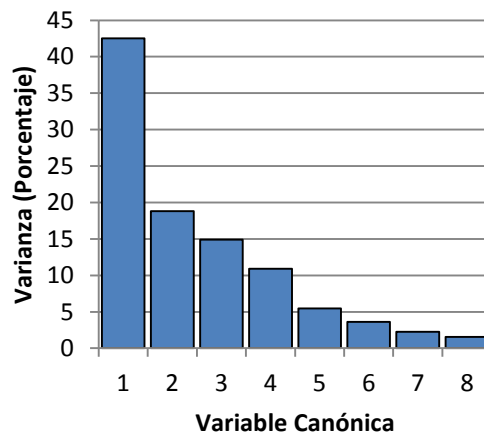
**Tabla 10.** Localidades y número de observaciones. AVC; Todas las localidades.

Grupo	Observaciones
Chia01	21
Chih01	12
Coah01	8
Oaxa01	16
SanL01	21
Tama01SF	10
Tama02SM	19
Tama03GU	38
Vera01	4

Este análisis arroja ocho Variables Canónicas (Categorías menos uno) que explican el 100% de la variación al interior de la muestra (Tabla 11 y Figura 21). De las ocho variables, solo 4 explican más del 5% de la variación y entre las primeras cuatro variables explican el 87% de esta. La primera variable explica casi la misma variación que las tres variables que le siguen combinadas.

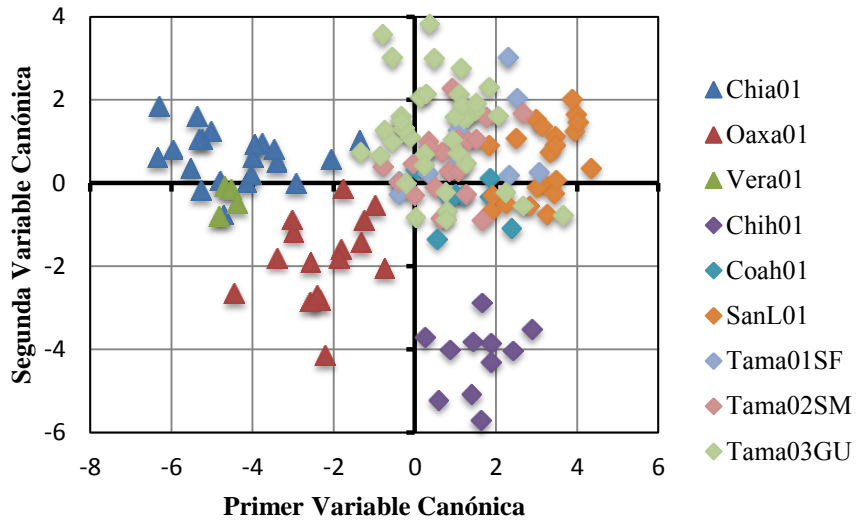
**Tabla 11.** Eigenvalores y varianza. AVC; Todas las localidades.

Variable	Eigenvalor	% de la Varianza	% Acumulativo
1	6.23211802	42.542	42.542
2	2.75355445	18.797	61.339
3	2.18418673	14.91	76.249
4	1.59582447	10.894	87.142
5	0.79923493	5.456	92.598
6	0.52731394	3.6	96.197
7	0.32979016	2.251	98.449
8	0.22725433	1.551	100

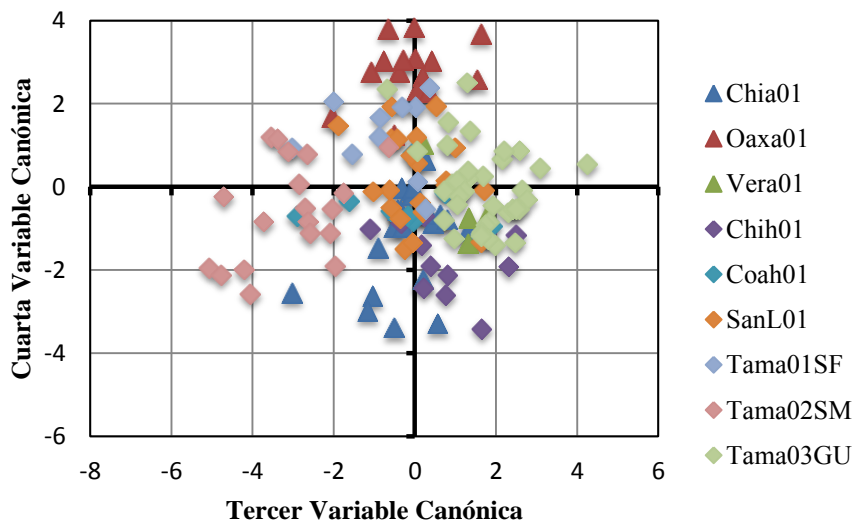


**Figura 21.** Histograma de las variables canónicas. AVC; Todas las localidades.

Dado que sólo las primeras cuatro Variables Canónicas explican más del 5% de la variación cada una, sólo se utilizaron estas para contrastar y analizar los cambios. Como en los análisis anteriores, se generó una gráfica de la primera contra segunda variable (Figura 22) y de la tercera contra la cuarta (Figura 23).



**Figura 22.** Primer contra segunda variable canónica. AVC; Todas las localidades.



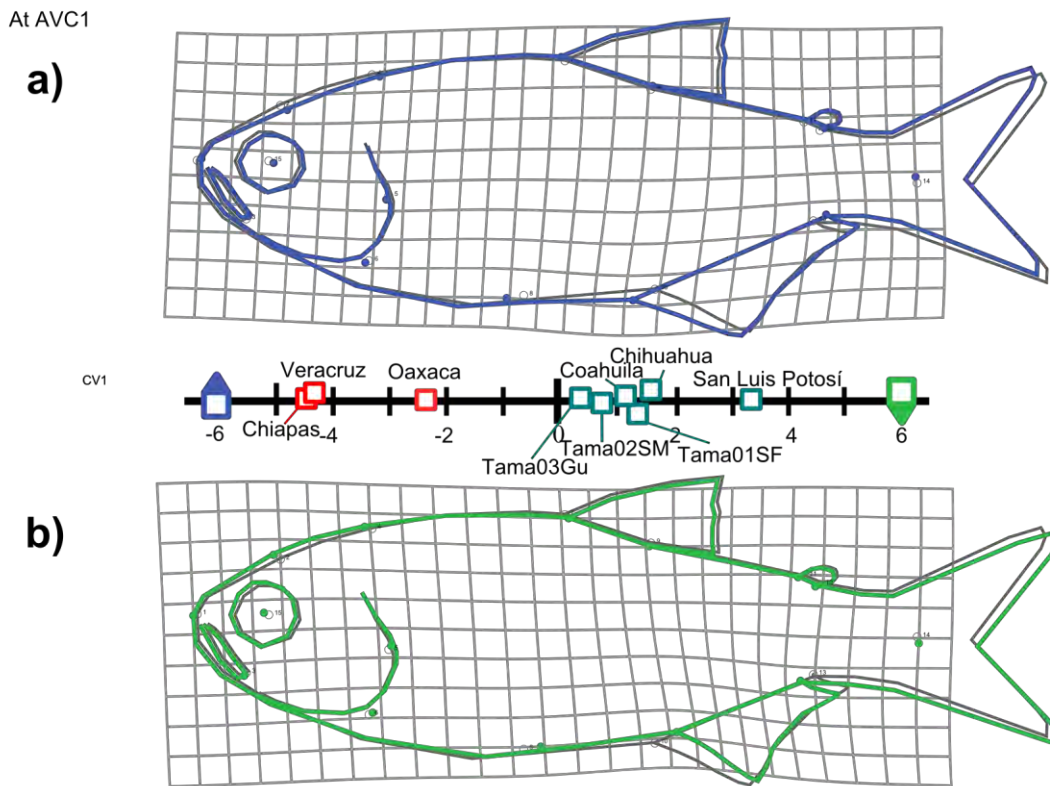
**Figura 23.** Tercer contra cuarta variable canónica. AVC; Todas las localidades.



### 7.5.1. Primer variable canónica

La primera variable explica el 42.542% de la variación. Las categorías en esta variable se distribuyen de la siguiente manera; en la región negativa se encuentran Chiapas, Oaxaca y Veracruz, y en la región positiva Chihuahua, Coahuila, San Luis Potosí y las tres localidades de Tamaulipas.

La región negativa (Figura 24, a) se caracteriza por un aumento en el tamaño de la aleta anal (puntos 10 y 13), expresado como un cambio en la misma dirección, pero en sentidos contrarios. Este cambio también posiciona al inicio de la aleta anal (punto 10) por delante del término de la aleta dorsal (punto 9). Otro cambio importante se presenta en la inserción de la aleta pélvica (punto 8), el cual presenta un corrimiento hacia la región anterior de los organismos. En la región positiva (Figura 24, b), la aleta anal es de menor tamaño y la inserción de la pélvica se recorre hacia la región posterior.

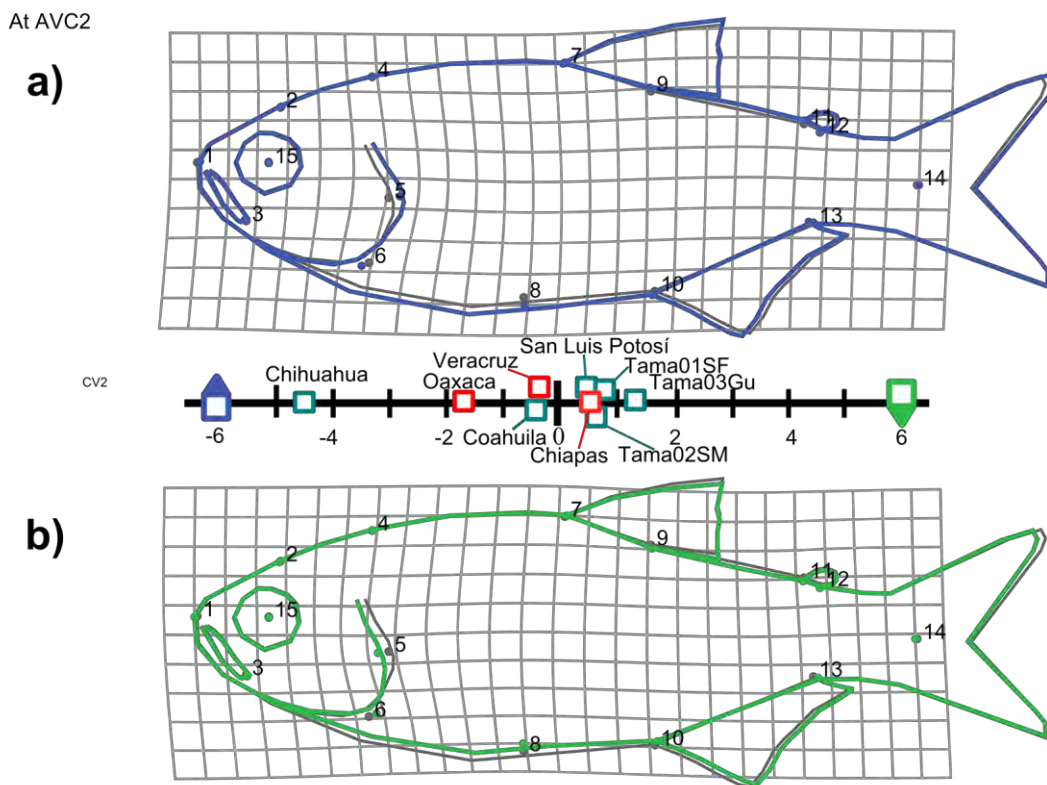


**Figura 24.** Deformación en la primera variable canónica. AVC: *Astyanax spp.*

### 7.5.2. Segunda Variable Canónica

La segunda variable explica el 18.797% de la variación, lo que representa menos de la mitad de la variación que explica la primera variable (42.5%). En esta variable Chihuahua es la categoría con mayor separación, ubicándola en el extremo del lado negativo del eje. También se observa que la categoría Oaxaca sufre un corrimiento hacia esta región pero sin presentar la magnitud de cambio mostrada por la categoría Chihuahua. El resto de las categorías se ubican cerca del centro del eje.

La forma en la región negativa (Figura 25, a) se caracteriza por individuos de mayor altura, lo que se puede observar en los cambios que presenta la inserción de la aleta pélvica, la cual tiene una expansión hacia la región ventral, mientras que en la región positiva, los individuos son de menor altura (Figura 25, b).



**Figura 25.** Deformación en la segunda variable canónica. AVC: *Astyanax* spp.

### **7.5.3. Tercer y cuarta Variable Canónica**

La tercer variable explica cambios al interior de *Astyanax mexicanus*, mientras que la cuarta al interior de *A. aeneus*. Esto se observa en la Figura 23, donde en el eje de la tercera variable, las localidades pertenecientes a *A. mexicanus* sufren una mayor dispersión en el eje que las de *A. aeneus*, mientras que en la cuarta variable el fenómeno es el inverso.

### **7.5.1. Distancias Procrustes y Mahalanobis**

Se aplicó una prueba de T-cuadrada con 1000 permutaciones entre pares de localidades para determinar si existían diferencias significativas entre categorías. En el análisis se utilizaron tanto la distancia Procrustes como la distancia Mahalanobis. Se encontraron diferencias significativas para la mayoría de los pares (Tabla 12) y esta diferencia aumentaba al utilizar la distancia Mahalanobis. La excepción fue Veracruz, la cual no presentaba diferencias con Chiapas en ambas distancias, ni en la distancia Procrustes con Oaxaca.

**Tabla 12.** Distancias Mahalanobis y valor de P (negritas) utilizando 1000 permutaciones entre los grupos

	Chia01		Chih01		Coah01		Oaxa01		SanL01		Tama01SF		Tama02SM		Tama03GU	
	D.P.	D.M.	D.P.	D.M.	D.P.	D.M.	D.P.	D.M.	D.P.	D.M.	D.P.	D.M.	D.P.	D.M.	D.P.	D.M.
<b>Chih01</b>	0.0467	8.1479														
	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>														
<b>Coah01</b>	0.0374	6.5554	0.0335	5.4948												
	<b>0.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>												
<b>Oaxa01</b>	0.0226	5.3712	0.0477	6.7275	0.0402	5.7755										
	<b>0.0003</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>										
<b>SanL01</b>	0.0485	7.789	0.0283	5.9852	0.026	4.2922	0.0478	6.6997								
	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>0.0008</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>								
<b>Tama01SF</b>	0.045	6.5636	0.0463	6.588	0.0264	3.9656	0.0412	5.3539	0.0301	3.5657						
	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>0.0137</b>	<b>0.0004</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>						
<b>Tama02SM</b>	0.0578	6.2903	0.0432	6.6188	0.0343	4.3573	0.0628	5.9703	0.0398	4.6948	0.0459	4.1109				
	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>0.0003</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>				
<b>Tama03GU</b>	0.0334	5.7609	0.0246	6.2088	0.0296	4.0013	0.0324	5.4603	0.0261	3.9269	0.0371	3.8428	0.05	4.8347		
	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>		
<b>Vera01</b>	0.0188	3.5748	0.0443	8.1582	0.0375	7.0973	0.0288	5.3789	0.0484	8.4225	0.0488	7.2675	0.0584	7.5099	0.0308	6.2362
	<b>0.3921</b>	<b>0.031</b>	<b>0.0004</b>	<b>0.0006</b>	<b>0.008</b>	<b>0.002</b>	<b>0.017</b>	<b>0.0002</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>0.001</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>0.0002</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>0.002</b>	<b>&lt;.0001</b>

## 8. DISCUSIÓN

*Similitud entre el análisis de Componentes Principales, análisis de Variables Canónicas y la Función Discriminante.*

Al contrastar los resultados obtenidos de los análisis que utilizaron la totalidad de las localidades (análisis de Componentes Principales, de Variables Canónicas utilizando todas las localidades y Función discriminante) se observa que los tres análisis dieron resultados similares. En el análisis de Componentes Principales, las diferencias entre *Astyanax aeneus* y *A. mexicanus* ocuparon el primer componente (33.2%), al igual que en el análisis de Variables Canónicas (42.5%) y en ambos casos estos componentes/variables explican un porcentaje mucho mayor (en algunos casos hasta el doble) que el componente/variable que les sigue. Contrastando con esto, la Función Discriminante obtuvo el 99% de reclasificación de *A. mexicanus* y el 93% de *A. aeneus*. En estos tres análisis las principales diferencias se encontraron en la longitud de la aleta anal (puntos 10 y 13), lo que afecta de manera directa la posición de la inserción de esta estructura y en la inserción de la aleta pélvica (punto 8), la cual en *A. mexicanus* se localiza más cercana al inicio de la aleta dorsal en el plano horizontal. Estos cambios concuerdan con las características que utilizan Miller *et al.* (2009) en sus claves taxonómicas. El aumento en la longitud de la aleta anal tiene un impacto directo sobre su punto de inserción, en *A. aeneus* la inserción se localiza por delante del término de la aleta dorsal, mientras que en *A. mexicanus* se localiza por detrás. Este es uno de los principales caracteres utilizados en la discriminación entre especies y su importancia se ve reflejada en los tres análisis. También se puede destacar que el aumento en la longitud de la aleta anal no tiene un impacto en la longitud de la región caudal. Respecto a la diferencia en la reclasificación de *A. aeneus* contra la de *A. mexicanus*, la naturaleza del cambio en la forma explica porque en este último el valor es más alto, la forma de *A. mexicanus* está contenida dentro de la de *A. aeneus*, (aleta anal de menor tamaño) por lo que los ejemplares con una aleta anal de menor tamaño son reclasificados dentro de la forma de *A. mexicanus*.

Otro cambio importante es la inserción de la aleta pélvica. Este carácter está referenciado de manera indirecta en los caracteres utilizados por Miller *et al.* (2009) para diferenciar entre especies y en la descripción original de *A. mexicanus* (de Filippi, 1853). En ambas publicaciones, la aleta pectoral nunca se extiende más allá de la inserción de la aleta pélvica, mientras que en *A. aeneus* sí. Este carácter cualitativo es ambiguo y dependiendo del observador y del estado del individuo puede o no

cumplirse, especialmente para *A. aeneus*. A esto se le suma las observaciones de Paulo-Maya (1994) quien al comparar entre varias localidades de *Astyanax* determina que no existe una diferencia significativa en la longitud de la aleta pectoral, por lo que el carácter mencionado por Miller *et al.* y de Filippi depende no de la longitud, sino de la posición. Esto se ve reflejado en los tres análisis, en donde la inserción de la aleta pélvica en *A. mexicanus* se localiza por detrás de la inserción de *A. aeneus*, lo que aumenta la distancia entre la inserción de la aleta pectoral y la pélvica.

#### *Diferencias al interior de las categorías.*

En el caso de *A. aeneus*, no se encontraron diferencias marcadas en la forma por localidad. La primera Variable Canónica explica el 80% de la variación y esta agrupa a las localidades de Chiapas y Veracruz, separándolas de Oaxaca. Geográficamente, la distancia entre las localidades de Chiapas y Veracruz es menor que con Oaxaca, por lo que un intercambio genético entre localidades explicaría las similitudes entre estas.

En *A. mexicanus* se encontraron diferencias en la forma mucho más marcadas entre localidades. Las dos primeras Variables Canónicas explican el 36.1% y el 30.9% de la variación y es el único análisis donde el primer y segundo componente explican una cantidad similar de variación. Las localidades cuya forma cambia de manera marcada son Chihuahua y San Luis Potosí. La forma de Chihuahua se caracteriza por ser más alta que el resto de *A. mexicanus*, pero aún conserva los caracteres diagnósticos de esta especie. Esta localidad también se caracteriza por una mayor distancia geográfica con el resto de las localidades, por lo que es fácil asumir que existe un aislamiento genético con el resto de la especie, lo que ha llevado a desarrollar una forma propia especialmente adaptada a las condiciones de la localidad. Aun no es claro el origen de esta población, si es natural o producto de una translocación, por lo que se recomienda realizar más estudios. La otra localidad con un cambio marcado en la forma es San Luis Potosí, la cual se caracteriza por una aleta anal de un tamaño aún menor que el resto de las localidades. Es interesante que el otro extremo de ese componente sea el Río Guayalejo en Tamaulipas, la cual se localiza más al norte, pero es la localidad más al sur en la vertiente del Golfo de México de *A. mexicanus* utilizada en este estudio. De las tres localidades de Tamaulipas, entre más al norte se localicen, menor es el tamaño de la aleta anal, por lo que la forma de San Luis Potosí contrasta con esta tendencia.

## *Astyanax aeneus* vs. *Astyanax mexicanus*

Mientras que en Sudamérica la diversidad de carácidos aumenta cada año, en México las especies válidas han disminuido en la última década. Hausdorf *et al.* (2011) consideran que las distancias genéticas entre las poblaciones de *Astyanax* en el territorio mexicano utilizando microsatelites como el marcador genético no soportan la separación de este grupo en dos especies distintas. Es claro que el concepto de especie que utilizan es el biológico, el entrecruzamiento entre las localidades que utiliza niega la existencia de dos especies basándose en esos criterios. Es importante reconocer que *A. aeneus* y *A. mexicanus* tienen un ancestro común reciente, por lo que la posibilidad de entrecruzamiento no se puede descartar. Paulo-Maya (1994), Valdéz-Moreno (1997) y Ornelas *et al.* (2008) reconocen diferencias en morfometría, osteología y en cit-B entre dos linajes, uno al norte, que concuerda con *A. mexicanus* y uno al sur, con *A. aeneus*. En este trabajo las diferencias en la forma también se corroboran utilizando morfometría geométrica y dadas las diferencias que se en la forma, la osteología y el cit B, se reconoce la existencia de dos especies distintas.

## 9. CONCLUSIONES

Este trabajo es un primer acercamiento a las diferencias entre grupos al interior de *Astyanax* para el territorio mexicano utilizando la morfometría geométrica. A diferencia de otros trabajos morfométricos, se utilizó estadística multivariada no solo para describir las variaciones entre las formas, sino para encontrar diferencias significativas utilizando caracteres cuantitativos. En el mismo rubro, se utilizaron análisis que permiten poner a prueba las diferencias entre grupos, como es el análisis de Variables Canónicas y la Función Discriminante.

La morfometría geométrica permite encontrar diferencias al interior de grupos y poner estas diferencias a una prueba cuantitativa. Este es el caso de *Astyanax* en el territorio mexicano, este método permite confirmar que los caracteres utilizados para discriminar entre grupos son observados utilizando este método. Al utilizar la morfometría geométrica este último carácter (la aleta pectoral alcanzando o no la inserción de la aleta pélvica) no se pudo poner a prueba de manera geométrica, ya que la posición del término de la aleta pectoral no es un carácter de esencia geométrica y no cumple los criterios de homología al seleccionar los puntos, sin embargo la morfometría geométrica arroja nueva luz sobre este carácter.

## 10. SUGERENCIAS Y RECOMENDACIONES

Si bien se aplicaron métodos estadísticos que permiten poner a prueba hipótesis utilizando pocos organismos (metodología de las permutaciones), se recomienda utilizar una muestra de mayor tamaño para cada localidad, así como aumentar el número de localidades utilizadas para análisis posteriores, sobre todo en Veracruz. La ventaja del método aquí utilizado, es su repetitividad. La morfometría geométrica es un método cuantitativo multivariado, por lo que se pueden añadir nuevas poblaciones para su posterior estudio.

El uso de la morfometría geométrica ha aumentado en la última década gracias al desarrollo de nuevas técnicas, tanto de adquisición de datos, como de su análisis y visualización. Polly (2008) hace una revisión de la morfometría geométrica y su integración con análisis evolutivos. Al igual que Klingenberg (2011), consideran que la cuantitividad de este método permite utilizar esta herramienta para responder preguntas relacionadas con los fenotipos de los organismos. Gracias a esta visión, se ha podido integrar la morfometría geométrica con el desarrollo evolutivo. Esta nueva corriente de pensamiento, y la integración con otras disciplinas, permite utilizar la morfometría geométrica para resolver preguntas más amplias. En el caso de *Astyanax*, sería interesante unir la morfometría geométrica con análisis de marcadores moleculares.



## LITERATURA CITADA

- Adams, D.C., F.J. Rohlf y D.E. Slice.** 2004. Geometric morphometrics: Ten years of progress following the 'revolution'. *Italian Journal of Zoology* 71: 5-16.
- Alunni, A., A. Menuet, E. Candal, J.B. Pénigault, W.R. Jeffery y S. Rétaux.** 2007. Developmental mechanisms for retinal degeneration in the blind cavefish *Astyanax mexicanus*. *The Journal of Comparative Neurology* 505: 221–233.
- Baker, C.F. y J.C. Montgomery.** 1999. The sensory basis of rheotaxis in the blind Mexican cave fish, *Astyanax fasciatus*. *Journal of Comparative Physiology A* 184: 519–527.
- Bone, Q. y R.H. Moore.** 2008. *Biology of Fishes*. Taylor & Francis. 450 p.
- Bookstein, F.L.** 1991. *Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology*. Cambridge University Press. Cambridge, United Kingdom. 456p.
- Bookstein, F.L.** 1996. Combining the tools of geometric morphometrics. En: Marcus L.F., M. Corti, A. Loy, G.J.P. Naylor y D.E. Slice (eds.) *Advances in Morphometrics*. Plenum Press, New York: 131–151.
- Efron, B. y R.J. Tibshirani.** 1993. *An introduction to the bootstrap*. Chapman and Hall.
- Eschmeyer, W.N. (ed.)** *Catalog of Fishes* electronic version (23 febrero 2012). <http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>
- Gross, J.B., R. Borowsky y C.J. Tabin.** 2009. A novel role for Mc1r in the parallel evolution of depigmentation in independent populations of the cavefish *Astyanax mexicanus*. *PLoS Genet* 5: e1000326.
- Hassan, E.S., H. Abdel-Latif y R. Biebricher.** 1992. Studies on the effects of Ca<sup>++</sup> and Co<sup>++</sup> on the swimming behavior of the blind Mexican cave fish. *Journal of Comparative Physiology A* 171:413-419.
- Hausdorf, B., H. Wilkens y U. Strecker.** 2011. Population genetic patterns revealed by microsatellite data challenge the mitochondrial DNA based taxonomy of *Astyanax* in Mexico (Characidae, Teleostei) *Molecular Phylogenetics and Evolution* 60: 89–97.
- Hubbs, C., R.J. Edwards y G.P. Garrett.** 2008. *An Annotated Checklist of the Freshwater Fishes of Texas, with Keys to Identification of Species*. Texas Academy of Science. Disponible en <http://www.texasacademyofscience.org/>
- Kendall, D.G.** 1977. The diffusion of shape. *Advances in Applied Probability* 9 (3): 428-430.

- Klingenberg, C.P.** 2011. MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources* 11: 353-357.
- Lagler, K.F., J.E. Bardach, R.R. Miller y D.R.M. Passino.** 1977. *Ichthyology*. John Wiley & Sons. New York. 506 p.
- Mayden, R.L.** 1997. A hierarchy of species concepts: the denouement in the saga of the species problem of outstanding interest. En: Claridge M.F., H.A. Dawah, M.R. Wilson (Eds.) *Species: the Units of Biodiversity*. Chapman and Hall, London: 381–424.
- Miller, R.R., W.L. Minckley y S.M. Norris.** 2009 *Peces Dulceacuícolas de México*. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad, El Colegio de la Frontera Sur, Sociedad Ictiológica Mexicana, A.C, Desert Fishes Council. México 559p.
- Montgomery, J., C.S. Coombs y C.F. Baker.** 2001. The mechanosensory lateral line system of the hypogean form of *Astyanax fasciatus*. *Environmental Biology of Fishes* 62 (2001): 87–96
- Nelson, J.S.** 2006. *Fishes of the world*. Wiley, Hoboken. 624p.
- Ornelas-García, C.P., O. Domínguez-Domínguez y I. Doadrio.** 2008. Evolutionary history of the fish genus *Astyanax* Baird & Girard (1854) (Actinopterygii, Characidae) in Mesoamerica reveals multiple morphological homoplasies. *BMC Evolutionary Biology* 8: 340.
- Paulo-Maya, J.** 1994. Análisis morfométrico del género *Astyanax* (Pisces: Characidae) en México. Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional. México, Distrito Federal.
- Polly P.D.** 2008. Developmental dynamics and G-Matrices: can morphometric spaces be used to model phenotypic evolution? *Evolutionary Biology* 35: 83–96.
- Reis, R.E., S.O. Kullander y C.J. Ferraris.** 2003. *Checklist of Freshwater Fishes of South and Central America*. Edipucrs, Porto Alegre. 742 p.
- Rohlf, F.J.** 2004a. *tpsUtil, file utility program, version 1.26*. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- 2004b. *tpsDig, digitize landmarks and outlines, version 2.0*. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- Strauss R.E. y F.L. Bookstein.** 1982. The truss: body form reconstructions in morphometrics. *Systematic Zoology*; 31:113-135.
- Strecker, U.** 2003. Polymorphic microsatellites isolated from the cave fish *Astyanax fasciatus*. *Molecular Ecology Notes* 3: 150–151.

- Strecker, U., L. Bernachez y H. Wilkens.** 2003. Genetic divergence between cave and surface populations of *Astyanax* in Mexico (Characidae, Teleostei). *Molecular Ecology* 12 (2003): 699–710.
- Strecker, U., U.H. Faúndez y H. Wilkens.** 2004. Phylogeography of surface and cave *Astyanax* (Teleostei) from Central and North America based on cytochrome b sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 33: 469–481.
- Taylor, E. B, J.W. Boughman, M. Groenenboom, M. Sniatynski, D. Schluter y J.L. Gow.** 2006. Speciation in reverse: morphological and genetic evidence of the collapse of a three-spined stickleback (*Gasterosteus aculeatus*) species pair. *Molecular Ecology* 15: 343-355.
- Toro, I.M.V., S.G. Manriquez y G.I. Suazo.** 2010. Morfometría geométrica y el estudio de las formas biológicas: de la morfología descriptiva a la morfología cuantitativa. *International Journal of Morphology* 28(4): 977-990.
- Valdez-Moreno, M.E.** 1997. Estudio comparativo osteológico del género *Astyanax* en diversas cuencas de México. Tesis de Maestría. Universidad Nacional Autónoma de México, México
- Yokoyama, R. y S. Yokoyama.** 1990. Convergent evolution of the red- and green-like visual pigment genes in fish, *Astyanax fasciatus*, and human. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 87: 9315-9318.
- Zelditch, M.L.H., D. Sheets y W. Fink.** 2000. Spatiotemporal reorganization of growth rates in the evolution of ontogeny. *Evolution* 54(4): 1363–1371.
- Zelditch, M.L., D.L. Swiderski, H.D. Sheets y W.L. Fink.** 2004. *Geometric Morphometrics for Biologists: a Primer*. Elsevier Academic Press, London. 416p.

## ANEXOS

### Anexo 1. Valores del análisis de componentes principales para todas la poblaciones

<b>Componente</b>	<b>Eigenvalor</b>	<b>% de la Varianza</b>	<b>% Acumulativo</b>
1	0.00055244	33.191	33.191
2	0.00030452	18.295	51.486
3	0.00023689	14.232	65.719
4	0.00013561	8.148	73.866
5	0.00007461	4.483	78.349
6	0.0000571	3.431	81.78
7	0.00005246	3.152	84.931
8	0.00004345	2.611	87.542
9	0.00004003	2.405	89.947
10	0.00002772	1.666	91.613
11	0.00002152	1.293	92.906
12	0.00001932	1.161	94.067
13	0.00001642	0.986	95.053
14	0.00001561	0.938	95.991
15	0.00001173	0.705	96.695
16	0.000011	0.661	97.356
17	0.00000927	0.557	97.913
18	0.00000715	0.43	98.342
19	0.00000591	0.355	98.698
20	0.00000538	0.323	99.021
21	0.00000406	0.244	99.265
22	0.00000381	0.229	99.495
23	0.00000294	0.177	99.671
24	0.00000251	0.151	99.822
25	0.00000184	0.111	99.933
26	0.00000112	0.067	100

**Anexo 2.** Coeficientes de los primeros 7 componentes del análisis de componentes principales para el totalidad de las muestras trabajadas.

	<b>PC1</b>	<b>PC2</b>	<b>PC3</b>	<b>PC4</b>	<b>PC5</b>	<b>PC6</b>	<b>PC7</b>
<b>x1</b>	-0.322761	-0.127217	-0.091376	0.334509	0.032199	-0.084966	-0.053334
<b>y1</b>	0.073303	0.047703	0.249564	0.18065	-0.165161	-0.02012	0.019078
<b>x2</b>	-0.140053	-0.033365	0.182789	0.193626	0.009829	0.028624	0.000882
<b>y2</b>	0.20763	0.011552	0.132191	-0.09176	-0.147711	0.045715	0.027306
<b>x3</b>	-0.213102	-0.12022	-0.132747	-0.027324	-0.067553	-0.081114	-0.128026
<b>y3</b>	-0.070999	-0.009102	0.11048	0.23004	-0.013894	0.006046	0.124322
<b>x4</b>	0.050494	0.155138	0.335005	-0.193998	0.012702	0.039178	0.173714
<b>y4</b>	0.043831	-0.124403	-0.008066	-0.249742	-0.050838	0.068401	-0.25213
<b>x5</b>	0.150986	0.009275	0.041341	-0.459033	-0.289735	0.007147	0.090142
<b>y5</b>	-0.04442	-0.119015	-0.199882	-0.033776	0.133324	-0.031471	0.147197
<b>x6</b>	0.169676	0.118125	-0.111134	-0.249543	-0.22654	0.332888	-0.15857
<b>y6</b>	-0.074812	0.037165	-0.232373	0.109109	0.016263	0.051126	-0.044112
<b>x7</b>	0.225036	0.015686	0.130345	-0.073969	0.337324	-0.63472	-0.189649
<b>y7</b>	-0.22196	-0.314885	-0.070905	-0.286492	0.099553	0.005833	-0.143943
<b>x8</b>	0.331583	-0.194852	-0.189184	0.111089	0.141996	0.064216	0.667704
<b>y8</b>	0.10028	0.421755	-0.37555	0.055056	0.080223	0.022548	-0.258927
<b>x9</b>	0.041893	0.075351	0.059616	-0.178085	0.363752	-0.166499	-0.063288
<b>y9</b>	-0.222391	-0.342647	-0.056431	-0.164089	0.108764	0.041137	0.03853
<b>x10</b>	0.488593	-0.444485	-0.005944	0.371632	-0.062696	0.172524	-0.40964
<b>y10</b>	0.244972	0.248226	-0.353931	0.035223	0.131113	-0.046751	0.05497
<b>x11</b>	-0.172527	0.087538	-0.055291	0.039642	0.195158	0.233151	0.060128
<b>y11</b>	-0.071752	-0.12895	0.092224	-0.043098	-0.076641	-0.099248	0.077489
<b>x12</b>	-0.111695	0.11745	-0.059588	-0.005654	0.157868	0.215499	0.032071
<b>y12</b>	-0.058241	-0.063956	0.120384	-0.001731	-0.076783	-0.126421	0.062653
<b>x13</b>	-0.213849	0.241053	0.142224	0.100383	0.078825	0.274079	-0.089082
<b>y13</b>	-0.018471	0.184756	0.116166	0.025502	0.111169	-0.011485	0.094613
<b>x14</b>	-0.143201	0.125142	-0.266587	0.116799	-0.600947	-0.423403	0.089687
<b>y14</b>	0.04823	0.211753	0.395064	0.176987	-0.052343	-0.012167	-0.088131
<b>x15</b>	-0.141074	-0.024619	0.02053	-0.080075	-0.082183	0.023399	-0.022739
<b>y15</b>	0.0648	-0.059953	0.081066	0.05812	-0.097037	0.106857	0.141085

**Anexo 3.** Coeficientes canónicos CVA *Astyanax aeneus*

	CV1	CV2
<b>x1</b>	-511.5877	-4.9738
<b>y1</b>	-36.4019	242.935
<b>x2</b>	336.3709	28.058
<b>y2</b>	-208.4665	-117.2595
<b>x3</b>	104.219	-234.6713
<b>y3</b>	592.8783	-268.8331
<b>x4</b>	34.958	152.5409
<b>y4</b>	61.3364	-289.0073
<b>x5</b>	51.1401	-165.7647
<b>y5</b>	12.9613	-21.8678
<b>x6</b>	146.7321	-44.4521
<b>y6</b>	-20.9922	-109.2464
<b>x7</b>	-98.751	89.2245
<b>y7</b>	-443.081	329.8741
<b>x8</b>	19.771	-186.517
<b>y8</b>	151.8922	43.7005
<b>x9</b>	-98.2972	-144.5122
<b>y9</b>	665.854	-207.8795
<b>x10</b>	-4.4496	89.7568
<b>y10</b>	-255.4234	290.155
<b>x11</b>	-94.0243	-0.6551
<b>y11</b>	119.996	220.5305
<b>x12</b>	36.0794	91.5386
<b>y12</b>	-295.8289	127.8962
<b>x13</b>	190.2424	-124.7275
<b>y13</b>	66.9027	-390.8993
<b>x14</b>	-70.8362	86.6079
<b>y14</b>	-47.3585	6.2605
<b>x15</b>	-41.567	368.5469
<b>y15</b>	-364.2685	143.6413

**Anexo 4.** Coeficientes canónicos del análisis de las poblaciones de *A. mexicanus*

	<b>CV1</b>	<b>CV2</b>	<b>CV3</b>	<b>CV4</b>	<b>CV5</b>
<b>x1</b>	105.0922	159.1704	220.8092	-53.4817	-9.8637
<b>y1</b>	58.8192	-28.9764	79.2532	101.106	78.9108
<b>x2</b>	-170.855	-29.7541	-174.29	-1.9176	19.3298
<b>y2</b>	-110.329	71.1286	88.5275	-46.9103	87.9955
<b>x3</b>	71.6228	9.7743	-64.241	104.119	25.435
<b>y3</b>	-147.837	23.0337	-97.5526	-48.8306	-174.561
<b>x4</b>	11.8857	-69.8351	-40.7325	36.9119	-31.7049
<b>y4</b>	-16.3542	-5.2007	49.8949	26.6142	-62.3726
<b>x5</b>	-153.792	164.1368	-56.0757	-56.3779	-50.8648
<b>y5</b>	-61.1897	37.6959	49.4727	18.8491	6.9141
<b>x6</b>	79.8035	-17.6635	68.1995	67.7957	14.9303
<b>y6</b>	29.9241	-43.9569	-62.5034	-25.9629	74.9013
<b>x7</b>	-20.0388	-51.7197	35.9173	45.4516	-34.4087
<b>y7</b>	173.2836	-121.874	-62.76	26.9229	-145.034
<b>x8</b>	5.3885	70.6184	11.7725	9.486	1.9122
<b>y8</b>	-4.5378	-16.5101	-2.0875	-9.4299	-45.3971
<b>x9</b>	19.1666	-17.6877	-61.4396	-46.5594	73.12
<b>y9</b>	-119.629	153.8831	-37.2264	-80.9503	155.3499
<b>x10</b>	34.0258	-18.0852	18.8628	24.0771	-0.2184
<b>y10</b>	2.2954	-35.9721	64.8293	-47.6221	69.6713
<b>x11</b>	37.8038	-54.8145	45.0923	22.6116	84.8333
<b>y11</b>	-76.4407	50.7179	-13.3737	27.9605	48.1755
<b>x12</b>	-106.118	15.0003	-8.8357	-23.9436	-131.805
<b>y12</b>	97.6947	-81.9503	90.9099	153.321	-54.2028
<b>x13</b>	60.0429	2.6174	-22.5402	-38.1364	61.7057
<b>y13</b>	-57.8044	-70.4842	-100.453	-35.6981	-157.245
<b>x14</b>	-4.8152	27.154	7.1085	-14.2939	-32.3032
<b>y14</b>	-8.3682	33.8436	1.3639	-61.2726	79.1585
<b>x15</b>	30.7877	-188.912	20.3928	-75.7427	9.9023
<b>y15</b>	240.4728	34.6221	-48.2946	1.9038	37.7361

## Anexo 5. Coeficientes Canónicos Todas las Poblaciones

	<b>CV1</b>	<b>CV2</b>	<b>CV3</b>	<b>CV4</b>	<b>CV5</b>	<b>CV6</b>	<b>CV7</b>	<b>CV8</b>
<b>x1</b>	190.8721	-75.0681	20.6819	162.3517	-84.4107	-11.1346	-10.0226	-51.3195
<b>y1</b>	4.0342	4.1162	-15.5375	-20.5426	-59.1721	56.4387	-135.873	53.0339
<b>x2</b>	-183.573	-52.5207	-51.5902	-125.022	13.7972	-13.2618	0.4053	85.6083
<b>y2</b>	174.4428	-29.0259	-71.1944	-55.7633	54.5728	-98.866	20.7862	16.5312
<b>x3</b>	-11.6513	-6.6611	89.561	8.0262	77.0431	85.1213	-46.208	-4.5076
<b>y3</b>	-145.293	-95.5315	-19.0397	-53.5747	-45.6598	31.0069	116.0435	-75.6656
<b>x4</b>	-20.7104	44.0716	-14.2326	-19.2197	72.1749	18.3283	63.7034	26.5031
<b>y4</b>	-90.045	-39.584	-62.328	80.0014	-40.1057	68.9305	-54.4544	-51.8818
<b>x5</b>	-26.2067	-268.661	5.4664	28.5861	-7.7865	0.1505	4.1033	-57.4249
<b>y5</b>	27.522	-49.5953	-34.8463	-60.6873	-26.0681	-19.4128	-4.1473	2.9196
<b>x6</b>	2.7639	95.4859	13.8107	-50.1481	-70.5089	30.4212	-8.2035	-5.6373
<b>y6</b>	32.4607	12.4072	18.7092	-23.3173	91.5527	-76.4847	-30.2073	1.5422
<b>x7</b>	10.6863	18.2592	-37.7651	11.2025	-3.8918	79.8585	6.8281	-13.1372
<b>y7</b>	18.1159	225.566	45.6796	63.9268	8.8036	80.7352	114.77	-44.8058
<b>x8</b>	56.7083	-12.9857	57.5833	-52.171	-7.0557	-14.0964	23.0814	-35.9124
<b>y8</b>	-45.5644	3.7485	-17.8223	-15.0068	-52.3582	11.8028	34.0495	-20.6027
<b>x9</b>	-19.0629	2.703	10.1613	70.1135	84.6601	-81.3152	-45.5861	5.3018
<b>y9</b>	-77.2238	-201.252	59.3053	-103.048	10.1475	-108.565	-58.716	25.1637
<b>x10</b>	24.7262	29.8776	-25.5042	-3.5079	0.4826	9.345	-1.4352	-19.2163
<b>y10</b>	85.3296	67.1557	-16.6803	67.7046	22.1232	-48.9931	-15.8343	71.5935
<b>x11</b>	31.0745	30.8444	-17.9402	-7.5229	10.1987	17.9076	-67.2544	-13.2092
<b>y11</b>	48.5969	-67.5978	18.0464	-159.571	-80.6389	34.3893	-0.3708	100.468
<b>x12</b>	-41.1332	-56.0824	-43.1243	-38.4925	-84.9203	-2.4598	49.998	18.7085
<b>y12</b>	54.1526	156.3296	-65.9742	136.3556	107.187	54.8791	-60.4823	37.0598
<b>x13</b>	-29.0458	44.276	62.7878	14.1181	-2.359	-50.2167	-26.8316	-40.1223
<b>y13</b>	-153.839	-89.0467	-40.2179	45.6275	-19.9978	73.7575	85.2713	-81.7488
<b>x14</b>	19.174	-29.4507	-0.2493	30.3315	12.3847	16.3633	52.064	53.5352
<b>y14</b>	12.5023	-19.3241	11.2719	-17.6641	-0.7594	-73.3936	-34.6961	-37.3324
<b>x15</b>	-4.6227	235.9115	-69.6465	-28.6458	-9.8086	-85.0113	5.3578	50.8299
<b>y15</b>	54.8085	121.6344	190.628	115.5596	30.3729	13.7754	23.861	3.7257



**Anexo 6.** Extracto de la clave de identificación de Miller (2009).

---

6a (5b). Extremo de la base de la dorsal, muy por delante del origen de la aleta anal; radios anales, por lo general 19-23, medias 20-22, (excepto en las cabeceras del río Verde, S.L.P., y el río Jía Oax., donde la media es de 19); la punta de la pectoral no alcanza la inserción de la pélvica. Vertiente del Atlántico, de la cuenca del río Bravo hacia el sur hasta el río Tacotalpa (cuenca del alto Grijalva), Tab.; vertiente del Pacífico, cuenca del alto río Balsas.....*Astyanax mexicanus*

6b. Extremo de la base de la dorsal, encima del origen de la aleta anal; radios anales, por lo general 23-27, medias 24-25; la pectoral se extiende hacia atrás más allá de la inserción de la pélvica.....7

7a (6b). Altura del cuerpo, 25-38% LP (en especímenes de LP > 6 cm), longitud cefálica 24-32% LP; radios anales modalmente 26. Vertiente del Atlántico, del bajo río Papaloapan hacia el sur; vertiente del Pacífico, del río Armería hacia el sur.....*Astyanax aeneus*

---