



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA

**Caracterización morfométrica del género *Eucinostomus*  
Baird and Girard en Baird, 1855 (Percoidei: Gerreidae)  
en la laguna de la Carbonera, Yucatán**

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS  
(BIOLOGÍA MARINA)**

P R E S E N T A :

**HÉCTOR IVÁN GUTIÉRREZ OLIVA**

**TUTOR PRINCIPAL**

DR. XAVIER CHIAPPA CARRARA (FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM)

**MIEMBROS DEL COMITÉ**

DR. HUGO AGUIRRE VILLASEÑOR (INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA, UNAM)

DRA. LAURA SANVICENTE AÑORVE (INSTITUTO DE CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA, UNAM)

DRA. CECILIA ELIZABETH ENRÍQUEZ ORTIZ (FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM)

DRA. MARIA EUGENIA VEGA CENDEJAS (CINVESTAV, MERIDA)

DR. DANIEL ARCEO CARRANZA (FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM)

MÉRIDA, YUCATÁN, DICIEMBRE DE 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.

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Ecología de la Unidad Académica Sisal de la UNAM gracias al financiamiento de los proyectos PAPIIT IN207609, IN213012, CONACyT (FOMIX 103229), PAPIIME (PE204012) y (PROMEP 103.5/12/2122), encaminados al conocimiento de las “Variaciones espacio-temporales de la comunidad de peces de la Boca de la Carbonera en la costa norte de Yucatán”.

## **Agradecimientos**

A la Universidad Nacional Autónoma de México y al Programa de Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología, por darme la oportunidad de continuar creciendo entre sus aulas.

Al Programa de Becas Nacionales del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el apoyo económico otorgado para la realización de esta tesis.

A mi director de tesis el Dr. Xavier Chiappa Carrara por la confianza y el apoyo académico durante esta travesía.

A los miembros del jurado Dra. Cecilia Enríquez Ortiz, Dra. Ma Eugenia Vega Cendejas, Dra. Laura Sanvicente Añorve y Dr. Hugo Aguirre Villaseñor y al Dr. Daniel Arceo, por sus valiosas observaciones y aportaciones a este trabajo.

A los técnicos académicos M. en C. Maribel Badillo Alemán, M. en C. Alfredo Gallardo Torres, M en C. Korynthia López Aguiar y M. en C. Carmen Galindo de Santiago por el apoyo técnico en campo.

A la M. en C. Maribel Badillo Alemán y al M. en C. Alfredo Gallardo Torres por el apoyo en la identificación taxonómica de los especímenes, así como la asistencia técnica en laboratorio.

Al Dr. José Gómez Valdéz y al Dr. Daniel Arceo Carranza por la asesoría a modo de charlas, que sin duda, ayudó a comprender y a desarrollar los temas de esta tesis.

A la tripulación de “Bocaneros” sin los cuales éste y muchos trabajos no serían posibles, en especial a los bocaneros más recalcitrantes Juani Tzeek y José Luis Bonilla. Un agradecimiento especial a Fernando y Enrique Mex Esquivel que facilitaron la navegación y el invaluable apoyo en campo.

A mis compañeros y hermanos sisaleños: Daniel Santana, Alejandra Arbelaez, Juani Tzeek, Melissa Silva, Ana Kiel, Diana Aguilera y Sergio Cohuo con los cuales ha sido un placer discutir “el punto”.

Y en memoria de quien aportó tanto a este proyecto, no sólo en el ámbito académico sino personal, al Dr. Gilberto Jerónimo Moreno, que ahora surca otros mares.

## Tabla de contenido

<b>Resumen</b>	<b>7</b>
<b>CAPÍTULO I. Introducción</b>	<b>10</b>
<b>Objetivos</b>	<b>13</b>
General	13
Particulares	13
<b>Marco teórico</b>	<b>14</b>
Morfometría tradicional	14
Variación morfométrica	16
Morfometría geométrica	17
Funciones empíricas ortogonales	21
Caracteres morfométricos	24
Área de Estudio	26
Aspectos generales de los gerreidos	29
Morfología de los gerreidos	29
<b>CAPÍTULO II. La Influencia del método de preservación en la morfometría de los gerreidos de la Carbonera</b>	<b>33</b>
<b>Introducción</b>	<b>33</b>
<b>Materiales y métodos</b>	<b>36</b>
Obtención de los especímenes	36
Medición de variables morfométricas a través de imágenes digitalizadas	38
Captura de imágenes	38
Procesamiento de imágenes	40
Obtención de la longitud estándar y del área	42
Digitalización de landmarks	42
Cálculo de las Funciones Empíricas Ortogonales (FEO) para longitud estándar y área	43
Cálculo de las FEO utilizando los landmarks como variables	43
<b>Resultados</b>	<b>45</b>
Variación de LE y A	45
Variación puntual de la forma	50
<b>Discusión</b>	<b>59</b>
Modos de variación	59
Variación en el tiempo	60
Variación atemporal	61
Repercusiones en el análisis morfométrico	63
<b>Conclusiones</b>	<b>64</b>
<b>CAPÍTULO III. Variabilidad morfométrica del género <i>Eucinostomus</i> en la Carbonera</b>	<b>66</b>
<b>Introducción</b>	<b>66</b>
<b>Materiales y Métodos</b>	<b>69</b>
Muestreo	69
Obtención de la información	70
Análisis morfométrico	70

<b>Resultados</b>	<b>72</b>
<b>Discusión</b>	<b>78</b>
Variabilidad entre especies	78
Variabilidad en función de la talla	79
<b>Conclusiones</b>	<b>82</b>
<b>Literatura citada</b>	<b>84</b>

## Resumen

La clasificación taxonómica de las especies resulta importante para conocer atributos que corresponden a varios niveles de organización biológica. Aquellos que intervienen directamente en la evaluación de los recursos bióticos se centran en el conocimiento de la distribución espacial y temporal de las poblaciones, o en el estudio de las interacciones ecológicas que determinan la estructura y funcionamiento de las comunidades, sólo por mencionar algunos. Dentro del grupo de los peces, la familia Gerreidae está constituida en su mayoría por especies marinas que se distribuyen en las costas de las zonas tropicales y templadas del mundo. En las lagunas mexicanas, los gerreidos están presentes tanto en los cuerpos de agua de la vertiente del Pacífico, la del golfo de México y la del mar Caribe. El sistema lagunar de la Carbonera forma parte de un conjunto de humedales costeros presente en el litoral norte de la península de Yucatán, en el que habitan al menos cuatro especies de gerreidos representadas por *Eucinostomus argenteus*, *E. harengulus*, *E. gula* y *Gerres cinereus*. Aquellas que pertenecen al género *Eucinostomus* son especies filogenéticamente cercanas y su morfometría ha resultado confusa porque los individuos presentan variaciones intra-específicas con amplitudes grandes, mismas que pocas veces han sido consideradas en las descripciones morfométricas. Además, los caracteres morfométricos que suelen emplearse difícilmente permiten cuantificar dichas variaciones por lo que las claves taxonómicas resultan inadecuadas para la identificación, basada en caracteres morfométricos, de estas tres especies. Es importante considerar que para estudiar la forma de los peces, las medidas de las estructuras corporales se obtienen de organismos que han sido preservados en soluciones de formaldehído y etanol. El proceso de preservación influye de manera diferencial en las dimensiones de los organismos y se conoce poco acerca de las variaciones en la forma que ocurren durante este proceso. En este trabajo se usaron técnicas de morfometría geométrica para analizar diez *landmarks*, que fueron ubicados bajo el esquema de Truss, mismos que permitieron aproximar la silueta de las tres especies del género *Eucinostomus* en conjunto. Se propone el uso de estos



*landmarks* como una alternativa a los caracteres morfométricos tradicionales para explicar las variaciones inter- e intra-específicas de las especies de este género. La información morfométrica fue obtenida a partir de imágenes digitales de cada organismo y las coordenadas de los *landmarks* se alinearon con el método de análisis generalizado de procrustes. Para conocer la influencia de la preservación en los cambios de la forma, se analizó un lote de 66 organismos obteniendo datos durante los primeros 30 días de preservación. En un inicio, los organismos fueron fijados en una solución de formaldehído al 10%, trasvasados después de 15 días a una solución de etanol al 70%. Se realizaron siete mediciones de cada variable con intervalos de 5 días entre cada medición. Las series de tiempo así obtenidas fueron analizadas mediante la obtención de funciones empíricas ortogonales. Como resultado de este experimento, se identificaron las bases de las aletas dorsales como la zona que es influenciada significativamente por el efecto de los agentes preservativos. En cambio, la zona del pedúnculo tiene una menor variación. Los resultados muestran que los cambios en la forma debidos a la preservación ejercen una influencia mínima para los análisis morfométricos de estas tres especies. El estudio de un segundo lote compuesto por 184 organismos (*E. argenteus*, n=70; *E. harengulus*, n=44; *E. gula*, n=70) permitió obtener los patrones de variación morfométrica mediante una matriz de covarianza construida con todas las configuraciones de landmarks. Las variaciones de la forma se descompusieron en varios componentes de los cuales los tres primeros explicaron el 64.45% de la variabilidad morfométrica. El patrón de variación que explica el componente 1 (28.95% de la varianza total) indica que existe un morfotipo que corresponde a los individuos que pertenecen a *E. gula*, mismo que es diferente del que comprende a los organismos que pertenecen a *E. harengulus* y a *E. argenteus*. El análisis de las variables canónicas y de las funciones discriminantes muestra que *E. gula* está representada por organismos más altos que los de *E. argenteus* y de *E. harengulus*. Estas diferencias entre las especies ocurren, en su mayoría, en el eje dorso-ventral de los organismos. En el componente 2 (20.06% de varianza) no se observó un patrón que permitiese la formación de grupos. En cambio, en el componente 3 (15.44% de varianza) se forman grupos en función de las clases de talla de los organismos. El análisis de las variables canónicas indicó que las diferencias que

se observan a lo largo del desarrollo ocurren en el eje antero-posterior de los organismos, coincidiendo con las mismas variables que permiten la discriminación entre las especies.

## **CAPÍTULO I. Introducción**

La importancia de los estuarios y las lagunas costeras radica en que son zonas de transición entre los ecosistemas terrestres y marinos. Debido al flujo energético y de materiales arrastrados por los sistemas dulceacuícolas hacia el mar, estos sistemas son altamente productivos (Odum, 1971). Los gradientes temporales y espaciales en estos sistemas son de escalas relativamente pequeñas, influenciados principalmente por las condiciones climáticas, el régimen de mareas, el volumen de descarga de los sistemas dulceacuícolas asociados, su geomorfología y la vegetación circundante. Es en estos ecosistemas donde la biota adaptada a las condiciones cambiantes, encuentra sitios idóneos para su reproducción, crecimiento y refugio. La composición biológica está integrada por especies de origen marino y dulceacuícola (McEachran y Fechhelm, 2005).

Muchas especies ícticas de importancia comercial, dependen de los sistemas estuarino-lagunares en algún momento de su ciclo de vida (Joyeaux y Baker-Ward, 1998). La ictiofauna desempeñan un papel importante en la estructura y funcionamiento de estos ecosistemas (Torres-Orozco, 1994), básicamente, es un punto clave en el flujo energético de los sistemas estuarino-lagunares (Yáñez-Arancibia y Nugent, 1977). En México, la riqueza específica de estos ecosistemas es de las más altas en las zonas tropicales del mundo (Fuentes-Mata, 1991). Muchas especies de importancia comercial, dependen de los sistemas estuarino-lagunares en algún momento de su ciclo de vida (Joyeaux y Baker-Ward, 1998), asimismo, en las cercanías geográficas de las lagunas costeras y estuarios, es donde se efectúa la mayor actividad pesquera del país (Torres-Orozco, 1994). En este sentido, el conocimiento de la biología básica, diversidad biológica, biología reproductiva, alimentación y ecología poblacional de las especies ícticas asociadas a estos sistemas, adquiere relevancia.

El sistema lagunar de la Carbonera forma parte de un conjunto de humedales costeros presentes en el litoral norte de Yucatán, cubre un área de aproximadamente 2 km<sup>2</sup> y se encuentra conectado permanentemente al mar por una boca que se formó durante el paso del huracán Gilberto en 1988. De acuerdo con Gallardo-Torres *et al.* (2012), puede considerarse a la Carbonera como una laguna con una riqueza específica alta en relación al área que ocupa. De las 60 especies ícticas que la habitan, las que pertenecen a las familias Gerreidae, Poeciliidae y Carangidae son las mejores representadas.

La familia Gerreidae comprende en su mayoría a un grupo de peces marino costeros que se distribuyen desde la zona tropical hasta las zonas templadas del mundo y frecuentemente están asociados a fondos lodosos y arenosos (Cervigón *et al.*, 1993). De acuerdo con Nelson (2006), esta familia está constituida por 44 especies repartidas en ocho géneros. Para las lagunas mexicanas, los gerreidos están representados en la vertiente del Pacífico, en el golfo de México y el mar Caribe por igual, siendo las únicas diferencias ictiofaunísticas a nivel de especie (Torres-Orozco, 1994). En la costa oeste del Atlántico central y el golfo de México, se distribuyen 12 especies repartidas en cuatro géneros (McEachran y Fechehelm, 2005). Para la Carbonera, Gallardo-Torres *et al.* (2012), registran a *Eucinostomus argenteus* y *E. gula* como especies permanentes, *E. harengulus* como especie frecuente y *Gerres cinereus* como especie ocasional.

Las claves taxonómicas utilizadas para la identificación de gerreidos en la Carbonera (Matheson *et al.*, 1984; Castro-Aguirre *et al.*, 1999; Carpenter, 2002; McEachran y Fechhelm, 2005), se basan en caracteres morfométricos y merísticos que en ocasiones se traslapan entre especies evolutivamente cercanas. Las diferencias inter-genéricas e inter-específicas entre los gerreidos no son tan marcadas (especialmente entre juveniles) y, en términos de clasificación, el género más problemático ha sido *Eucinostomus* (Matheson *et al.*, 1984). En morfometría, los caracteres tradicionales son mediciones lineales, ángulos o proporciones de las estructuras corporales. Estos caracteres tienen la desventaja de que sólo representan una parte de la información referente a la forma o silueta de los organismos y muchas veces son redundantes al

ser medidos en un solo plano longitudinal (Strauss y Bookstein, 1982). Ruiz-Carus y Uribe-Alcocer (2003) y González-Acosta (2005), mencionan que la elaboración de claves taxonómicas por métodos de morfometría tradicional ha originado confusión en la identificación de gerreidos.

El método de Truss fue propuesto por Strauss y Bookstein (1982), como criterio para la elección de caracteres morfométricos mediante cuadrantes contiguos. A partir del método de Truss es posible archivar la geometría de las formas biológicas, así como el análisis de la información por métodos de morfometría geométrica. Este método ha resultado útil en los estudios morfométricos actuales y ha permitido detectar pequeñas variaciones en especies evolutivamente cercanas (González-Acosta *et al.*, 2007), así como variaciones dentro de la misma especie (Hard *et al.*, 1999; Fitzgerald *et al.*, 2002; Narváez *et al.*, 2005; Bronte y Moore, 2007).

En ictiología, el uso de formaldehído al 10% es utilizado con frecuencia para la preservación de los especímenes, ya que permite conservar muchas de las características morfológicas (Espinosa-Pérez, 2003). Es bien sabido que estos agentes para preservar los tejidos producen un efecto de deshidratación haciendo que los organismos disminuyan en talla a través del tiempo. No se descarta la posible influencia de la preservación en la forma, pudiendo ser éste un factor extrínseco de variabilidad morfológica.

El potencial de la morfometría geométrica no se limita a la identificación taxonómica de especies, sino que es utilizado en diferentes disciplinas como una herramienta para la identificación de variaciones intra-específicas (Cadrin, 2000).

En el presente trabajo, se propone el uso de caracteres morfométricos alternativos a los tradicionales, así como el uso de técnicas de morfometría geométrica para el análisis de la forma corporal en las especies *E. harengulus*, *E. argenteus* y *E. gula* colectadas en la Carbonera. Considerando que se trabajó únicamente con juveniles, la información generada corresponde sólo a una parte del ciclo de vida de las especies estudiadas.

## **Objetivos**

### **General**

Evaluar los caracteres morfométricos útiles para discriminar las especies del género *Eucinostomus* presentes en la laguna de la Carbonera, así como identificar posibles morfotipos en función de las tallas de los organismos presentes en dicha laguna.

### **Particulares**

Es poco conocido el efecto de la preservación en la forma de los organismos, por lo que, se planteó el primer objetivo particular para:

1. Analizar la influencia del método de preservación en la forma de los organismos a partir de la comparación con organismos en fresco.

El análisis morfométrico de las especies de *Eucinostomus*, se realizó a partir de los siguientes 2 objetivos particulares:

2. Identificar los caracteres morfométricos que mejor describen la morfología de cada especie del género *Eucinostomus* en la zona de estudio.
3. Identificar los caracteres morfométricos que permiten discriminar los morfotipos en función de la talla de las tres especies.

En el capítulo II de esta tesis se desarrolla el tema para cubrir el primer objetivo particular. El segundo y tercer objetivo, fueron desarrollados en el capítulo III de este documento.

## Marco teórico

### Morfometría tradicional

Para una mejor comprensión de su entorno, el hombre ha recurrido a nombrar y clasificar las cosas que lo rodean. La morfología de las especies y su asociación con el medio en que habitan ha sido un tema recurrente durante siglos (Richtsmeier *et al.*, 2002; Adams *et al.*, 2004). Inicialmente, los estudios morfológicos se centraban en la descripción de las estructuras observadas; las descripciones podrían ser detalladas pero no podían analizarse cuantitativamente (Toro-Ibacache *et al.*, 2010). Tras la publicación en 1917 de *On growth and form*, D'Arcy Thompson propone el uso de las matemáticas como herramienta para el estudio de la morfología, sugiriendo que la forma corporal depende de la tasa de crecimiento en los organismos y que el crecimiento ocurre en múltiples direcciones (Thompson, 1942). Si bien este enfoque considera la geometría de las estructuras morfológicas, en la década de los veinte del siglo XX resultó difícil de probar. Las variables cuantitativas utilizadas como la longitud, el ancho, la altura y los ángulos servían para describir patrones de variación morfológica en los organismos (Toro-Ibacache *et al.*, 2010). Implícitamente, estas variables cuantificaban los gradientes de crecimiento. El término alometría fue acuñado por Huxley (1932) para indicar el cambio relativo de una variable morfométrica con respecto a otra variable, que generalmente es indicativa de la talla. Las relaciones alométricas se suelen analizar con el modelo propuesto por Huxley, que contempla la relación funcional entre dos variables:

$$Y = bX^k$$

Donde: Y es la magnitud de alguna porción corporal, X la magnitud total del organismo, *b* el tamaño relativo inicial y *K* la tasa de variación o coeficiente alométrico. Los parámetros de la ecuación se suelen obtener mediante una regresión lineal de las variables transformadas a logaritmos (Cadrin, 2000; Gayon, 2000). Es a

partir de los trabajos de Huxley en la década de los treinta, que los estudios morfológicos adquieren un enfoque cuantitativo (Adams *et al.*, 2004).

Con el surgimiento de métodos estadísticos multidimensionales en la década de los treinta, se comenzó a utilizar el análisis de componentes principales, el análisis de variables canónicas y análisis de función discriminante al conjunto de mediciones corporales, dando origen a lo que hoy conocemos como morfometría tradicional (Marcus, 1990), que ha sido ampliamente utilizada en la sistemática y taxonomía de los peces.

Las mediciones corporales son descripciones cuantitativas de la longitud o tamaño de las estructura morfológicas (Fink, 1990), y pueden ser concebidas como las distancias que hay entre pares de hitos o *landmarks* que delimitan las estructuras corporales (Rohlf, 1990a). Hubbs y Lagler (1949), propuso como caracteres morfométricos un conjunto de mediciones corporales (Figura 1). Los caracteres morfométricos de mayor utilidad son estructuras homólogas que dependen de la variabilidad genética y no de las condiciones ambientales (Cailliet *et al.*, 1986).

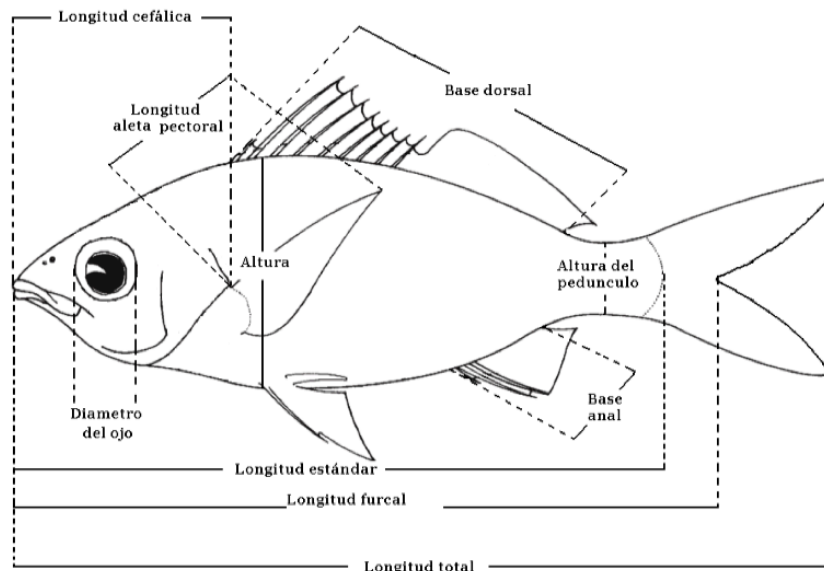


Figura 1.- **Caracteres morfométricos tradicionales.** Imagen de un ejemplar del género *Eucinostomus*, modificada de Cervigón *et al.* (1993), donde se muestran los caracteres morfométricos que se miden comunmente en peces.



Aún con la disponibilidad de información genética, fisiológica, de comportamiento y ecología de los peces, los ictiólogos continúan apoyándose en la morfometría de los peces como principal fuente de información para los estudios taxonómicos y evolutivos (Cailliet et al., 1986; Strauss y Bond, 1990).

Según Bookstein (1982), la morfometría es la fusión empírica entre la geometría y la biología. Debido a que los caracteres morfométricos tradicionales no capturan la información geométrica de los organismos (Bookstein, 1990b), algunos autores (Strauss y Bookstein, 1982; Dryden y Mardia, 1998; Richtsmeier et al., 2002; Adams et al., 2004; Zelditch et al., 2004), han numerado las desventajas del uso de estos caracteres. En resumen, se desprenden las siguientes: (1) la mayoría de los caracteres tienden a alinearse en un solo plano (plano longitudinal), obteniendo información morfométrica redundante y poca información de variabilidad morfométrica; (2) la medición de algunas dimensiones parte de un solo punto, pudiendo incurrir en errores de carácter sistemático si el primer punto no es localizado correctamente; (3) no siempre se miden caracteres homólogos, por ejemplo, todos los organismos tienen altura, pero la altura es subjetiva ya que no siempre se mide desde un mismo punto en todos los organismos; (4) no es posible la obtención de resultados gráficos y los resultados que se obtienen son fundamentalmente numéricos; (5) se presenta un problema de escala al trabajar con caracteres que son medidos en diferentes órdenes de magnitud.

### **Variación morfométrica**

La variación morfológica o la aparición de morfotipos específicos, pueden surgir de manera inmediata como una respuesta del genoma a estímulos ambientales (Klingenberg, 1996; Walker, 1997; Zelditch *et al.*, 2004; Fulton *et al.*, 2005). En ictiología se evidencian algunas diferencias morfológicas como producto de una respuesta a las condiciones ambientales, sin que esto implique necesariamente diferencias en el genoma (Barlow, 1961; Allendorf *et al.*, 1987; Albertson *et al.*, 2003). Es posible encontrar una estrecha relación entre la morfología y la función ecológica de cada especie, de igual manera, las condiciones ambientales ejercen una influencia

en la selección morfotipos adaptados a ambientes específicos. Un ejemplo de lo anterior, son las especies de cíclidos en el lago Malawi donde sus aparatos bucales presentan adaptaciones en función de sus hábitos alimenticios (Albertson y Kocher , 2001), otro ejemplo es el aportado por Fulton *et al.* (2005), donde la forma de las aletas pectorales se correlaciona con las condiciones físicas dentro del arrecife. Las variabilidad morfológica expresa diferencias en el genoma, diferencias en el ambiente o una combinación entre ambos factores (Thompson, 1991, Helfman *et al.*, 2009).

La estabilidad en el desarrollo de los organismos se refleja en su capacidad para producir un fenotipo ideal (Zakharov, 1992). Se ha observado que aún cuando el genoma y las condiciones ambientales son constantes, se pueden presentar variaciones fenotípicas que son desviaciones en las trayectorias del desarrollo o del fenotipo ideal (Lajus y Alekseev, 2004; Benítez y Parra, 2011). En organismos de simetría bilateral las diferencias entre el lado derecho y lado izquierdo son pequeñas, ya que el genoma y las condiciones ambientales son las mismas, sin embargo, estas diferencias existen y pueden ser mayores bajo condiciones ambientales particulares (Lucentini *et al.*, 1998; Lens *et al.*, 2002). Las diferencias fenotípicas entre ambos lados de los organismos siguen patrones de variación aleatorios, lo cual es un factor adicional de variación morfológica, conocida como asimetría fluctuante (Klingenberg y McIntyre, 1998; Benítez y Parra, 2011). La asimetría fluctuante es utilizada como herramienta para medir la estabilidad en el desarrollo (Klingenberg y McIntyre, 1998; Mardia *et al.*, 2000).

### **Morfometría geométrica**

Debido a las limitantes que presenta la morfometría tradicional y a partir del avance tecnológico alcanzado en cómputo, ha surgido una alternativa para la obtención de información y el análisis geométrico de las formas biológicas (Bookstein, 1982; Fink, 1990; Rohlf y Bookstein, 1990; Dryden y Mardia, 1998; Richtsmeier *et al.*, 2002; Adams *et al.*, 2004; Zelditch *et al.*, 2004). Esta alternativa se basa en el concepto de “forma” propuesto por Kendall (1977), que retoma el enfoque geométrico planteado inicialmente, dando origen a lo que se conoce como morfometría geométrica.

Los landmarks son hitos localizados espacialmente sobre las formas biológicas, que en conjunto (configuración de landmarks) permiten capturar la geometría bidimensional o tridimensional de las estructuras morfológicas. La información geométrica es obtenida a partir del registro de coordenadas bidimensionales (X, Y) o coordenadas tridimensionales ( X, Y, Z) que describen la ubicación espacial de los landmarks (Fink, 1990). La morfometría geométrica se basa en métodos matemáticos que permiten darle un tratamiento estadístico a las formas biológicas capturadas en las configuraciones de landmarks, siendo posible el estudio de la variación y covariación en las formas biológicas (Bookstein *et al.*, 1985; Bookstein, 1991). Una técnica básica consiste en la comparación de las formas al superimponer las configuraciones de landmarks, midiendo las diferencias en la posición de cada landmark con respecto a sus homólogos (Rohlf, 1990a; Rohlf, 1999).

Para la digitalización de landmarks se han utilizado tabletas digitalizadoras, escáner, cámaras fotográficas y de video (Fink, 1990; Rohlf, 1990b). Independientemente del equipo utilizado para la obtención de coordenadas, es difícil que las estructuras sean posicionadas en un mismo origen y con la misma orientación, además de que normalmente se emplean organismos de diferentes tallas. De acuerdo con la definición de Kendall (1977), la forma está dada por las propiedades de una configuración de landmarks que no cambian por efectos de la escala, posición y orientación (Bookstein, 1989b).

### ***Método de mínimos cuadrados generalizado***

Los métodos de superimposición rotan, trasladan y escalan al conjunto de coordenadas de cada configuración de landmarks. Existen varios métodos y las diferencias dependen del procedimiento matemático aplicado en la remoción de información ajena a la forma. El método más utilizado es el análisis general procrusteano, también conocido como método de mínimos cuadrados generalizado, su principal atributo es el criterio para minimizar las diferencias entre las configuraciones de landmarks mediante un proceso iterativo (Zelditch *et al.*, 2004).

El procedimiento para la transformación de coordenadas por el método de mínimos cuadrados es descrito en tres pasos por Rohlf (1990b). Apoyándonos en la explicación de los términos “centroide” y “tamaño del centroide” revisados en Bookstein (1991), Dryden y Mardia (1998) y Zelditch *et al.* (2004), se puede resumir de la siguiente forma:

1. La posición del centroide (centro geométrico) en el plano X, Y se obtiene al promediar las coordenadas X y Y respectivamente de la configuración de landmarks, restando el centroide a las coordenadas de cada landmark, se traslada el centroide al punto de origen en el plano cartesiano (0, 0).
2. Se calcula el tamaño del centroide a partir de la raíz cuadrada de la sumatoria de las distancias cuadradas de cada landmark al centroide. Dividiendo el tamaño del centroide entre las coordenada de cada landmark, se escalan las coordenadas a unidades de tamaño de centroide
3. Minimizar las diferencias cuadradas entre cada landmark homólogo rotando las coordenadas. Inicialmente el conjunto de configuraciones son alineadas con respecto a una referencia, que en un principio es la primera configuración, minimizando las distancias cuadradas entre landmarks homólogos. Se inicia un proceso iterativo que promedia a todas las configuraciones, tomando este valor como nueva referencia y las configuraciones son alineadas nuevamente. Se recalcula el promedio y se vuelven a alinear las configuraciones hasta que el promedio calculado ya no cambia.

Debido a que cada configuración de landmarks tiene su propio tamaño de centroide, las distancias entre landmarks homólogos son muy grandes (distancias procrusteanas parciales), por lo que se ajustan los tamaños de centroide hasta que se obtienen las “distancias procrusteanas completas” (Zelditch *et al.*, 2004).

Removiendo los factores ajenos a la forma de Kendall, las distancias procrusteanas capturan la variabilidad entre las configuraciones de landmarks (Adams *et al.*, 2004). La proyección de las distancias procrusteanas en un espacio tangencial permite

estudiar la forma a partir del análisis de componentes principales o análisis de las deformaciones relativas, el análisis de variables canónicas y otros análisis para la prueba de hipótesis como son el análisis multidimensional de varianza, regresión múltiple y varias pruebas no paramétricas (Toro-Ibacache *et al.*, 2010).

### ***Visualizando la forma***

La técnica de *Thin-Plate Spline* desarrollada por Bookstein (1991), es una función de interpolación entre landmarks, que toma el desplazamiento relativo de cada landmark con respecto a la forma promedio. Esta técnica se fundamenta en la analogía física de superponer placas de metal delgadas, cada una contiene una configuración de landmarks en su superficie y se hacen coincidir los landmarks homólogos en una placa que permanece fija. Al hacer coincidir los landmarks de una placa delgada sobre una placa fija, la placa debe sufrir una torsión. Entre más parecida sea la configuración de landmarks la energía de torsión es menor y al contrario cuando las configuraciones son muy distantes. Utilizando las coordenadas procrusteanas, la placa fija es tomada como la forma promedio de todas las configuraciones, por lo que las deformaciones de cada configuración de landmarks resultan de su comparación con una configuración promedio. La obtención de las deformaciones relativas son el equivalente al análisis de componentes principales aplicado a las distancias procrusteanas, obteniendo las deformaciones parciales como vectores propios y las deformaciones relativas que son los componentes principales (Bookstein, 1989a; Zelditch *et al.*, 2004).

Algunas deformaciones no requieren de energía, las cuales equivalen a la rotación o deslizamiento de la placa. A estas deformaciones se les conoce como deformaciones uniformes o afines. Las deformaciones uniformes conllevan a una expansión o contracción y describen las deformaciones del mismo componente (Zelditch *et al.*, 2004). Para visualizar esto de manera gráfica, es de utilidad representar una cuadrícula sobre la superficie de la placa: si al sobreponer la configuración de landmarks la malla mantiene su paralelismo, se habla de deformaciones uniformes. En el caso donde las deformaciones ocurren en zonas específicas y se pierde el paralelismo en la malla, estas deformaciones son llamadas no uniformes o no afines.

## **Funciones empíricas ortogonales**

La estadística multivariable o multidimensional es una herramienta utilizada para el análisis simultáneo de más de dos variables, las cuales, actúan sinérgicamente sobre cada uno de los objetos de estudio (Hair *et al.*, 1999; McGarian *et al.*, 2000). Uno de los objetivos en la estadística multidimensional es la reducción del número de variables que expliquen un fenómeno. Esta reducción dimensional es posible ya que muchas de las variables están correlacionadas entre sí. El análisis de los componentes principales (ACP), es utilizado para la identificación de patrones de variación simultánea entre los campos observados (Von Storch y Zwiers, 2001) y considera la posibilidad de representar la información con un número menor de variables (Manly, 1986; McGarian *et al.*, 2000; Peña, 2002).

Para el estudio de campos en que la información se presenta en arreglos bidimensionales, (por ejemplo las series de tiempo, donde una dimensión está representada por los puntos espaciales y la otra por el tiempo) el ACP es conocido en ciencias de la tierra como análisis de las funciones empíricas ortogonales (FEO), y en ciencias sociales como análisis factorial (Emery y Thomson, 2004). A diferencia del ACP convencional, en el análisis de las FEO es posible identificar patrones de variación espacial (FEO) y temporal (coeficientes de las FEO), resumiendo la variabilidad en modos estadísticos de variación (Von Storch y Zwiers, 2001; Emery y Thomson, 2004).

### ***Cálculo de las FEO y sus respectivos coeficientes***

Dada una matriz de datos con  $n$  mediciones temporales en  $m$  sitios de muestreo de un campo, se tienen  $m$  series de tiempo con longitud  $n$ . A continuación, se describe el procedimiento para el cálculo de las FEO de dichas series de tiempo, utilizando la terminología empleada por Von Storch y Zwiers (2001).

El centrado de la información nos permite trabajar con la variación contenida en los datos (Manly, 1986; McGarian *et al.*, 2000). El cálculo de las FEO se basa en el análisis de los valores anómalos contenidos en cada serie, para lo cual en un inicio, se calculan

las anomalías ( $\vec{X}'_i$ ) extrayendo el valor promedio de cada serie ( $\vec{\mu}_t$ ) a cada uno de sus elementos ( $\vec{X}_i$ ).

Cuando se analizan campos con diferentes ordenes de magnitud, se recomienda trabajar con las anomalías estandarizadas ( $\vec{X}'_i^{est}$ ), que son calculadas dividiendo las anomalías entre la desviación estándar de su respectiva serie ( $\sigma_{\vec{X}_t}$ ), lo que permite trabajar con los datos en unidades de desviación estándar (Mitchum, 1993).

$$\vec{X}'_t = \vec{X}_t - \vec{\mu}_t$$

**Ecuación 1**

*Anomalías*

$$\vec{X}'_t^{est} = \frac{\vec{X}_t - \vec{\mu}_t}{\sigma_{\vec{X}_t}}$$

**Ecuación 2**

*Anomalías estandarizadas*

Se construye la matriz de anomalías, con las observaciones espaciales en las filas y las variaciones temporales en las columnas. La información es resumida en una matriz de varianza-covarianza en la que  $s$  representa al espacio y  $t$  al tiempo:

$$C_{(s,t)} = \frac{1}{n-1} \sum_{i=1}^n (X'_{is} - \bar{X}'_s) (X'_{it} - \bar{X}'_t)$$

**Ecuación 3**

Debido a que la matriz de varianza-covarianza es simétrica y construida con valores reales, es posible descomponerla en sus valores y vectores propios (Mitchum, 1993). La ecuación 4 representa de forma simplificada lo descrito por Von Storch y Zwiers (2001), donde: la sumatoria de los  $n$  valores propios representan el total de la varianza contenida en  $\vec{X}'_i$ , que se descompone en vectores  $\vec{F}_i$ , al proyectar ortogonalmente a  $\vec{X}'_i$  en un arreglo de vectores  $\vec{e}_i$ .

$$\vec{X}'_t = \sum_{i=1}^n \vec{Y}_i \vec{e}_i$$

**Ecuación 4**

Los vectores  $\vec{e}_i$  o FEO son los vectores propios que representan la variación atemporal y están asociados a un valor propio ( $\lambda$ ). Los vectores  $\vec{Y}_i$  son los coeficientes de las FEO, también conocidos como los componentes principales y representan la variación temporal. Los primeros valores propios, distintos de cero son equivalentes al número de FEO que se pueden determinar (Manly, 1986; McGarian *et al.*, 2000; Peña, 2002). Si los componentes son ordenados por el tamaño de los valores propios, entonces el primer componente es el que representa la mayor varianza (Manly, 1986). Es común que las primeras FEOs se relacionen con el proceso físico que se analiza, principalmente la primera (Von Storch y Zwiers, 2001). Es conveniente notar que al trabajar con  $m$  series de tiempo, se da seguimiento a la evolución temporal de una sola variable y que las mediciones de una misma serie están correlacionadas.

### ***Rotación de las FEO***

Es posible romper la varianza en diferentes modos o componentes, que son ortogonales y que sumados explican el total de la variación (Ecuación 4). Por lo que es posible reconstruir la matriz de anomalías originales mediante las FEO, y sus respectivos coeficientes. Al separar la varianza en modos de variación, se puede reconstruir parcialmente la variación, que es explicada en cada modo (Von Storch y Zwiers, 2001). La rotación de las FEO es utilizada para remover el carácter ortogonal de los vectores propios, y permite dar una interpretación física de los resultados (Mitchum, 1993; Von Storch y Zwiers, 2001).



## Caracteres morfométricos

Ya se ha mencionado que la morfometría tradicional presenta algunas limitantes y que Strauss y Bookstein (1982) propusieron el método de Truss para la elección de caracteres morfométricos. El método de Truss captura la silueta o geometría de los organismos a partir de una serie de cuadrantes contiguos, limitados por estructuras corporales homólogas que permiten la localización de estructuras morfológicas de manera objetiva (Figura 2).

De acuerdo con Strauss y Bookstein (1982), el método de Truss permite: a) la estimación de la variabilidad morfométrica en los ejes horizontal y vertical ya que considera distancias corporales cruzadas; b) digitalizar la ubicación de los landmarks para un análisis por métodos de morfometría geométrica o el cálculo de distancias entre pares de landmarks para un análisis morfométrico tradicional; c) la disminución de errores en la medición de variables morfométricas, ya que los landmarks se pueden registrar digitalmente y verificar con posterioridad; d) la visualización de la forma promedio de un grupo de individuos por métodos gráficos; e) la visualización de tendencias de crecimiento y alometría dentro de las poblaciones debido a que las distancias cruzadas son pequeñas, siendo también posible observar cambios de forma en cada cuadrante por separado; y f) la eliminación de variables redundantes, dejando únicamente las que dan indicio de cambio en la forma.

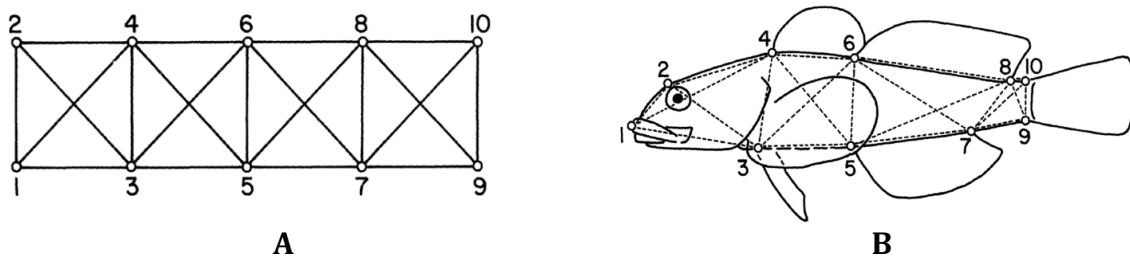


Figura 2.- **Método de Truss.** División teórica de la forma en cuadrantes, imagen tomada de Strauss y Bookstein (1982); A) constitución teórica de un objeto a partir de 4 cuadrantes, limitados por 10 landmarks; B) constitución de un organismo a partir de los mismos 4 cuadrantes, situando a cada landmark en puntos homólogos.

En la actualidad, los trabajos de morfometría no se limitan a la identificación y clasificación de las especies. En gran medida se debe a la implementación de los caracteres morfométricos empleados y a nuevas metodologías para la extracción y análisis de la información contenida en dichos caracteres. En peces, el método Truss ha dado buenos resultados para la identificación de variabilidad morfométrica entre grupos de especies cercanas (Turan, 1999; Bronte y Moore, 2007), identificación de stocks (Winans, 1984; Hard *et al.*, 1999; Cadrin, 2000; Narváez *et al.*, 2005) y variaciones influenciadas por las condiciones ambientales (Fitzgerald *et al.*, 2002). En contraposición con los caracteres tradicionales que no aportan la información necesaria para identificar dichas diferencias (Pineda *et al.*, 2004).

## Área de Estudio

La península de Yucatán es una plataforma parcialmente emergida, constituida por rocas carbonatadas y evaporíticas del Mesozoico Tardío y Cenozoico (Comisión Nacional del Agua, 2002). Es posible identificar tres épocas climáticas: la época de "Nortes" en invierno, caracterizada por el paso de frentes fríos provenientes de latitudes altas, son sistemas de baja temperatura que acarrear agua (lluvias), y vientos intensos del Noroeste y Norte. Esta temporada abarca aproximadamente de noviembre a febrero mientras que el paso de cada frente frío es del orden de días; la temporada de secas, es ocasionada por sistemas de alta presión del Atlántico norte que ocasionan condiciones anticiclónicas impidiendo la formación de nubes (Logan *et al.*, 1969). Esta temporada dura de marzo a junio; y la temporada de lluvias durante los meses de julio a octubre, donde predominan las ondas del este. Es durante este tiempo que las depresiones tropicales del Atlántico forman tormentas tropicales y huracanes que comúnmente afectan a la península.

La laguna de la Carbonera forma parte del sistema de humedales costeros presente en la costa noroccidental de Yucatán. Este sistema, al igual que el resto de la península, tiene una geología cárstica y se encuentra conectado de forma permanente al mar por una estrecha boca que se formó con el paso del huracán Gilberto en 1988. La laguna tiene una longitud de ~4.1 km en la sección paralela a la línea de costa y de ~3.5 km en la parte más ancha, perpendicular a la costa (Figura 3). La laguna de la Carbonera es somera, con profundidades que oscilan entre 0.25 y 0.75 m por lo que es altamente influenciada por las características atmosféricas locales. La temperatura de la columna de agua tiene una amplitud de variación anual de ~8 °C, con valores mínimos cercanos a ~20 °C en febrero y los máximos de ~28 °C, en junio (Chiappa-Carrara *et al.*, 2012). La salinidad tiene una alta variabilidad estacional, con valores mínimos promedio de ~20 en la época de lluvias, y máximos situados en ~40 que ocurren preferentemente en la época cálida y seca (Jerónimo *et al.*, 2012). El régimen hidrológico está determinado por el aporte de agua marina, y en menor grado, por las variaciones

estacionales en el flujo de los afloramientos de agua subterránea, la precipitación y las escorrentías provenientes de la sabana yucateca y el manglar que bordean al sistema.

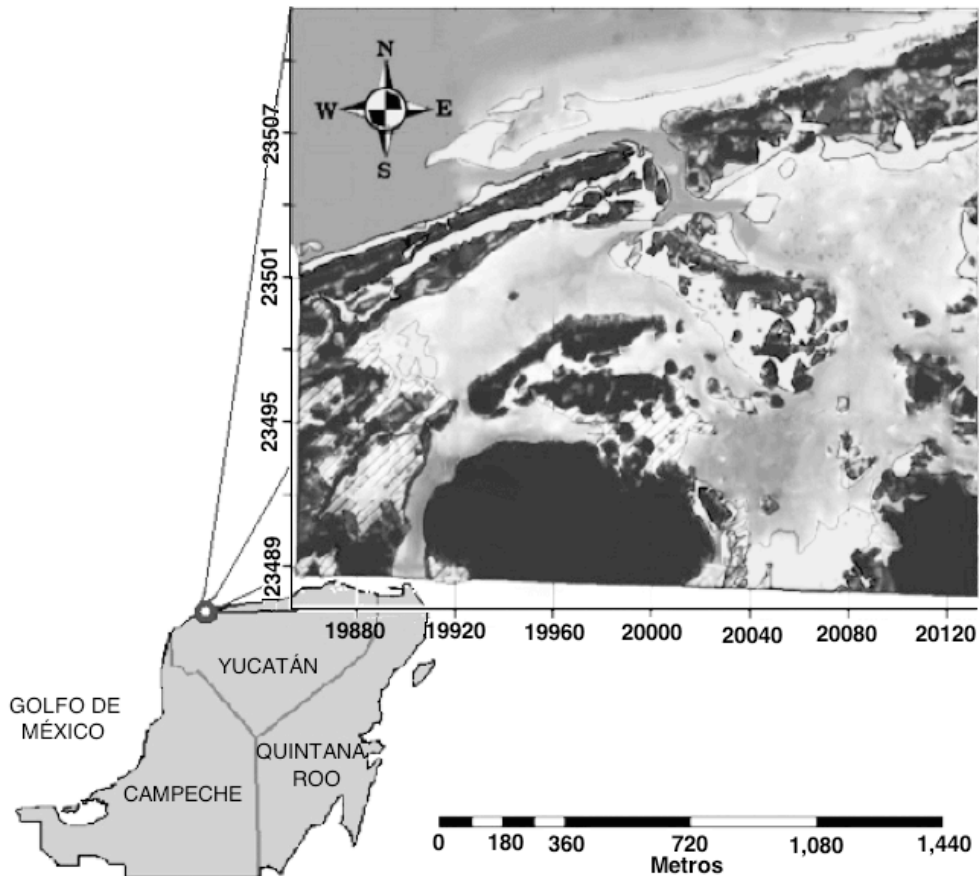


Figura 3.- **Laguna de la Carbonera.** Ubicada al norte de Yucatán, los tonos oscuros representan la superficie cubierta por la vegetación, en gris la superficie cubierta de agua y los tonos más blancos la superficie cubierta por arena y zonas de inundación.

De acuerdo con Jerónimo *et al.* (2012), por sus características hidrológicas, esta laguna se puede dividir en cuatro zonas: la zona cercana a la boca con mayor influencia marina; la zona de mezcla al oeste de la boca, donde se mezcla el agua dulce de origen subterráneo con la marina; la zona de dominio de agua dulce hacia el sur, influenciada por el aporte de agua dulce permanente proveniente de un cenote; y la zona al este de la boca, controlada por las mareas.

Estas características permiten la existencia de una gran variedad de micro-hábitats y estructuras ambientales en las que proliferan los estadios larvales y juveniles de especies de peces dulceacuícolas y estuarinos típicos de estos estuarios tropicales

(Vega-Cendejas, 2004; Vega-Cendejas y Hernández de Santillana, 2004; Arceo-Carranza y Vega-Cendejas, 2009). Aunado a lo anterior, la ictiofauna marina que habita en las zonas aledañas a la Carbonera, también utiliza la laguna como refugio cuando se presentan condiciones adversas en el ambiente marino, como son los eventos de marea roja (Chiappa-Carrara *et al.*, 2012).

La laguna de la Carbonera se encuentra geográficamente adyacente a la Reserva Estatal del Palmar, que es un área natural protegida creada para la conservación de la biodiversidad costera. Sin embargo, la reserva no cuenta con un sistema acuático permanente y comunicado con el mar, por lo que la Carbonera juega un papel ecológicamente importante en el ciclo de vida de varias especies de peces.

### **Aspectos generales de los gerreidos**

La familia Gerreidae es un grupo de peces óseos que se distribuyen en aguas tropicales del mundo, son conocidos con el nombre de mojarras y están asociados a fondos que van desde lodosos a arenosos (Nelson, 2006). Son en su mayoría especies marinas, encontrándose en profundidades de hasta 70 metros asociadas a ambientes costero estuarinos, aguas salobres y en ocasiones, ingresan a sistemas dulceacuícolas (Carpenter, 2001; Mc Eachran y Fechhelm, 2005; Nelson, 2006). La familia Gerreidae está constituida por 44 especies divididas en 8 géneros *Diapterus*, *Eucinostomus*, *Eugerres*, *Gerres*, *Parequula*, *Pentaprion*, *Ulaema* y *Xystaema* (Nelson, 2006), de los cuales *Diapterus*, *Eucinostomus*, *Eugerres*, *Gerres* habitan en la región del Atlántico central y el golfo de México aportando 12 especies (Mc Eachran y Fechhelm, 2005).

El espectro trófico de los gerreidos es variado y es un tema frecuentemente abordado en el estudio de los ecosistemas costeros, básicamente por su alta representación en estos sistemas (Carr y Adams, 1973; Aguirre-León y Yáñez-Arancibia, 1984; Vega-Cendejas *et al.*, 1994; Aguirre-León y Díaz-Ruiz, 2000). Su dieta está constituida por pequeños crustáceos, poliquetos, anfípodos, bivalvos, copépodos, foraminíferos, isópodos, nematodos, ostrácodos, moluscos, insectos, rotíferos y detritus. (Kerschner *et al.*, 1985; Teixeira y Helmer, 1997). Las variaciones en los componentes de su dieta dependen de la ontogenia, época climática y localidad (Aguirre-León y Yáñez-Arancibia, 1984; Aguirre-León y Díaz-Ruiz, 2000).

### **Morfología de los gerreidos**

Los gerreidos son peces de tamaño pequeño a mediano (longitud estándar máxima de 41 cm), oblongas u ovaladas en el perfil lateral y de cuerpo moderadamente delgado a ancho (Mc Eachran y Fechhelm, 2005). Según Cervigón *et al.* (1993) y McEachran y Fechhelm (2005), parte de la cabeza está cubierta por escamas cicloideas y el resto del cuerpo con escamas ctenoideas, el margen del opérculo completo a fuertemente serrado y carente de espinas. Las aletas pectorales en los flancos son largas y

puntiagudas. La aleta pélvica se inserta por debajo y en posición posterior a la base de la aleta pectoral, con una espina y 5 radios. Poseen una sola aleta dorsal larga con 9 o 10 espinas y de 9 a 17 radios. Las bases de las aletas dorsal y anal están rodeadas por una vaina escamosa. La aleta anal es más corta que la aleta dorsal, tiene de 2 a 6 espinas y de 6 a 18 radios. La aleta caudal está bifurcada. La boca es terminal, ligeramente oblicua y pequeña, con dientes viliformes y en forma de bandas estrechas. Una característica morfológica de las mojarras es un aparato bucal protractil, que les permite la captura de infauna asociada a fondos lodosos y arenosos. Presentan vejiga natatoria que se extiende hasta la base de las espinas de la aleta anal. Poseen 24 vértebras, 10 precaudales y 14 caudales.

En taxonomía es común el uso de caracteres merísticos y morfométricos tradicionales para la clasificación e identificación de los gerreidos, un claro ejemplo de lo anterior, son las claves taxonómicas de Matheson *et al.* (1984), Castro-Aguirre *et al.* (1999), Carpenter (2001), Mc Eachran y Fechhelm (2005), empleadas frecuentemente para estas especies. La elaboración de claves taxonómicas por métodos de morfometría tradicional han originado problemas en la identificación de gerreidos (Ruiz-Carus y Uribe-Alcocer, 2003; González-Acosta, 2005). Esto es debido a que la magnitud de las diferencias inter-específicas es pequeña y los caracteres morfométricos tradicionales no permiten identificar la variación. En los esfuerzos por dar solución a este problema, se han explorado nuevos caracteres morfométricos basados en una perspectiva geométrica.

De la Cruz-Agüero y Galván-Magaña (1993), a partir de la profundidad corporal, longitud de la segunda espina anal, amplitud interorbital y la longitud de la base anal, proponen una ecuación que ayuda para la identificación de las especies *Eucinostomus dowii*, *E. gracilis*, *E. currani*, *E. entomelas*. La principal limitante en este caso es que no se considera la ontogenia de las especies, ya que sólo se utilizaron organismos de 77.1 a 131.1 mm.

Para la descripción morfométrica del género *Eugerres* se han propuesto 10 landmarks basados en el método de Truss (Figura 4) obteniéndose 21 caracteres morfométricos

a partir de las distancias entre pares de landmarks y sirviendo las distancias entre los landmarks 1-10, 3-7 y 3-8 para la discriminación entre las especies *Eugerres awlae*, *E. basilianus* y *E. plumieri* (González-Acosta, 2005). Burnes-Romo (2009) considera que el empleo de esta metodología es útil para la distinción de individuos, formas y/o especies con caracteres morfológicos similares, como es el caso de algunos miembros de la familia Gerreidae.

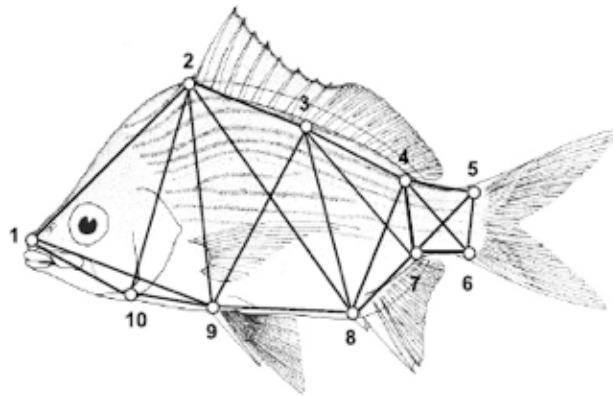


Figura 4.- **Caracteres morfométricos propuestos para el género *Eugerres* (González-Acosta, 2005).** Los vértices de cada cuadrante corresponden a los 10 landmarks propuestos para este género. (1) punta superior de la premaxila, (2) base de la primera espina dorsal, (3) base del primer radio dorsal, (4) base del último radio dorsal, (5) borde posterior dorsal del pedúnculo caudal, (6) borde posterior ventral del pedúnculo caudal, (7) base del último radio anal, (8) base de la primera espina anal, (9) base de la primera espina de la aleta pélvica y (10) margen anterior del istmo.

Dentro de la familia Gerreidae, el género *Eucinostomus* es considerado de los más problemáticos para la taxonomía (Matheson *et al.*, 1984; Castro-Aguirre *et al.*, 1999).

Una característica discriminante entre las especies del género *Eucinostomus* es la disposición de escamas que bloquean parcial o totalmente el surco premaxilar (Aguirre-León y Yáñez-Arancibia, 1984; Matheson *et al.*, 1984 y Carpenter, 2002). En la práctica, este criterio es claramente diferenciable para la especie *E. gula* que tiene el canal completamente obstruido y no para las especies *E. harengulus* y *E. argenteus* donde el surco está parcialmente cerrado (Figura 5).

Este criterio ha sido empleado para la identificación de gerreidos de la Carbonera, sin embargo, debido al manejo de los organismos (transporte y preservación en



formaldehído), estas escamas en ocasiones son alteradas. Para los casos en que no es posible la identificación con este criterio, se recurre a la utilización de otros caracteres morfométricos, que en el caso de juveniles de *E. argenteus* y *E. harengulus* frecuentemente se traslapan.

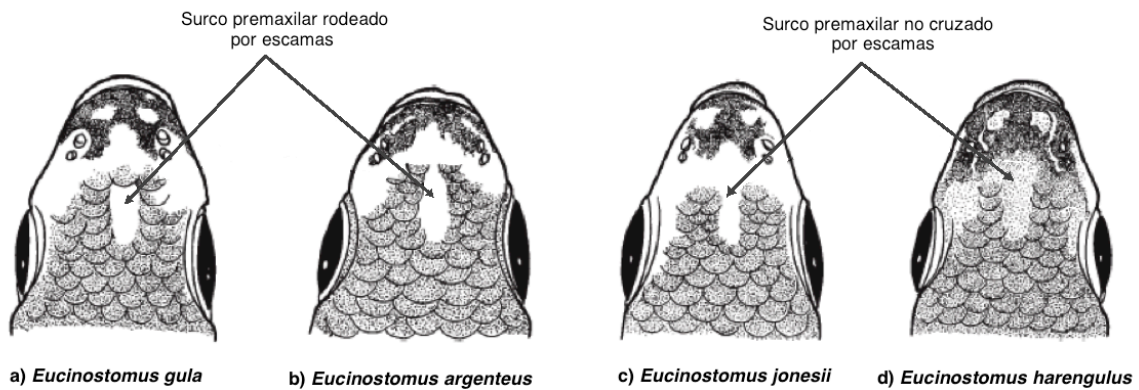


Figura 5.- Vista dorsal de la cabeza de cuatro especies del género *Eucinostomus* (Carpenter, 2002). Disposición de escamas que delimitan el surco premaxilar.

## **CAPÍTULO II. La Influencia del método de preservación en la morfometría de los gerreidos de la Carbonera**

### **Introducción**

La morfología de los organismos aporta información acerca de las relaciones evolutivas y/o funcionales de las especies, poblaciones e individuos. La información morfométrica a menudo es obtenida de organismos que han sido preservados por periodos de tiempo prolongados. Entre los métodos para preservar el material íctico se utilizan, la inmersión en agentes químicos fijadores y conservadores, así como la desecación y congelación de los organismos inmediatamente después de ser capturados. En ictiología, la fijación se realiza con una solución de formaldehido y la conservación suele ocurrir en etanol a diferentes concentraciones, puesto que ésta es la mejor opción para los estudios morfológicos (Espinosa-Pérez, 2003).

Se ha observado que la preservación en formaldehido y etanol produce una variación en el tamaño de los peces que es explicada como un proceso de deshidratación de los tejidos al estar inmersos en el agente fijador (Quiñonez-Velázquez y Chaumillon, 1996; Fey y Hare, 2005; Nadeau *et al.*, 2008). Para describir el comportamiento de la talla en función del tiempo de preservación, se han propuesto modelos que explican el “efecto de encogimiento” en larvas y juveniles bajo la influencia del formaldehido y etanol en diferentes concentraciones (Jennings, 1991; Hjörleifsson y Klein-MacPhee, 1992; Fox, 1996; Fey y Hare, 2005; Buchheister y Wilson, 2005). También existen estudios en los que la variación en la talla es contraria al patrón de disminución habitual (Billy, 1982). En otros casos se presentan ambos comportamientos, fluctuando hasta recuperar dimensiones comparables a las de los organismos en fresco (Paradis *et al.*, 2007). Es en este sentido que el comportamiento de la talla depende del tipo de preservador, su concentración, el tiempo de exposición y otros factores biológicos como la talla y la especie, por lo que no se puede generalizar la reducción de talla como efecto de la preservación. Algo que parece más constante es el

hecho de que la mayor variación ocurre durante los primeros días, inclusive dentro de las primeras horas de haberse iniciado el proceso de preservación (Sagnes, 1997).

En pocos trabajos que están encaminados a corregir las dimensiones en talla y peso, que luego son incorporadas para el estudio de las poblaciones (Jennings, 1991), se considera la variación en otras estructuras corporales que pudieran afectar la morfología de los organismos. Sagnes (1997) estudió la influencia de la preservación (formaldehído al 4%) sobre 28 mediciones corporales, evidenciando una disminución en la magnitud de la mayoría de las longitudes y un aumento en la anchura de los organismos. El cambio diferencial en la magnitud de las estructuras morfológicas, da como resultado variaciones en la forma, producto de la preservación.

La reciente evolución de los métodos morfométricos ha dado paso al uso de nuevas herramientas para la obtención de información, se utilizan fotografías, cámaras de video, escáners y tabletas digitalizadoras para obtener la silueta de los organismos (Fink, 1990). Básicamente, la silueta de los organismos es proyectada sobre un plano y se obtiene la información mediante la ubicación cartesiana de landmarks homólogos.

En ictiología es común observar un “efecto de arqueo” en los organismos que ya han sido preservados. Debido a que en morfometría geométrica se extrae la información a partir de una silueta proyectada, se debe valorar la influencia del arqueo en los peces para la obtención de los datos morfométricos (Strauss y Bond, 1990). Adams (1999) propone tres métodos para remover la variabilidad causada por el arqueo de estructuras articuladas, haciendo énfasis en la importancia de esta corrección para los estudios morfométricos; sin embargo, se conoce poco acerca de la influencia de la preservación en este efecto. Según Valentin *et al.* (2008), el arqueo en peces está mayormente influenciado por la contracción muscular post mortem y la preservación de organismos congelados ejerce poca influencia.

Dentro del grupo de los gerreidos, la morfometría del género *Eucinostomus* ha resultado confusa y, en ocasiones, insuficiente para la clasificación taxonómica de las especies. Esto se debe en parte, a que las diferencias morfométricas interespecíficas

son pequeñas y los caracteres morfométricos empleados no permiten cuantificarlas. Bajo el supuesto de que la preservación causa variaciones morfométricas, ya sea por el efecto de encogimiento diferencial en las estructuras corporales o el efecto de arqueo, en este trabajo se analizó la variación morfométrica durante 30 días de preservación en organismos del género *Eucinostomus*, así como su posible impacto para la identificación de los morfotipos característicos de las especies *E. argenteus*, *E. harengulus* y *E. gula*.

## **Materiales y métodos**

La metodología de rutina que se emplea para la preservación de especímenes en el laboratorio de Ecología de la UNAM campus Sisal consiste en: fijación con formaldehído al 10% inmediatamente después de la colecta y el mantenimiento de los organismos en dicha solución durante los siguientes 15 días; posteriormente los organismos son trasvasados a una solución de etanol al 70% y almacenados para futuros trabajos.

Para analizar la influencia de la preservación en organismos del género *Eucinostomus*, recolectados en la laguna la Carbonera, Yucatán, se dio seguimiento a la forma corporal de 66 organismos mediante el uso de imágenes digitales. Una ventaja de este tipo de datos es la capacidad de almacenamiento, procesamiento y la extracción de información con el uso de programas de cómputo. Se obtuvieron variables que permiten medir la evolución morfométrica de los especímenes. Posteriormente se explicarán los atributos de estas variables y el intervalo en que fueron medidas. Se analizaron las series de tiempo y se obtuvieron los patrones de variación simultánea a partir del análisis de funciones empíricas ortogonales.

### **Obtención de los especímenes**

Para la recolecta de los organismos se utilizó un chinchorro playero de 40 m de longitud, caída de 1 m y una abertura de malla de 1.25 cm (Permiso de pesca de fomento No. DGOPA/04031/310510. 1940). Se realizaron arrastres en las estaciones 1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 11 y 12 propuestas para el proyecto dentro de la laguna la Carbonera (Figura 6).

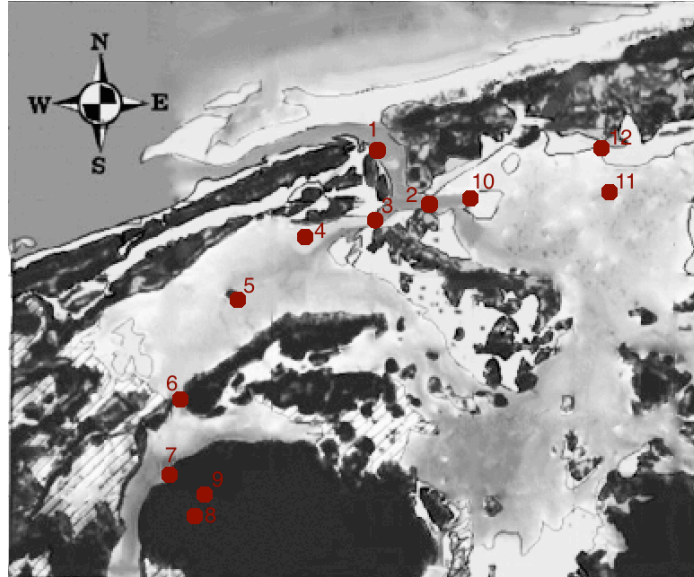


Figura 6.- Estaciones de muestreo propuestas en el proyecto “Variaciones espacio-temporales de la comunidad de peces de la Carbonera en la costa norte de Yucatán”.

Para este experimento se realizaron dos recolectas, el tamaño de muestra se dio en función de la abundancia de los organismos. En la primera recolecta se obtuvieron 24 organismos del género *Eucinostomus*, en las estaciones 2, 3, 10 y 11. En la segunda recolecta se capturaron 42 organismos del mismo género, en las estaciones 2, 3, 10 (Tabla 1).

Tabla 1.- **Tamaño de muestra de organismos en fresco.** Las columnas representan al lote 1 con fecha de colecta del 15 de marzo de 2011, lote 2 con fecha del 8 de agosto de 2011, y la última columna con el total de organismos colectados por especie y el total de organismos del género *Eucinostomus* utilizados para el experimento. Las filas representan al número de individuos de cada especie.

<b>Especie</b>	<b>Lote 1</b>	<b>Lote 2</b>	<b>Total</b>
<i>E. harengulus</i>	18	20	<b>38</b>
<i>E. argenteus</i>	4	2	<b>6</b>
<i>E. gula</i>	2	20	<b>22</b>
<b>Total</b>	<b>24</b>	<b>42</b>	<b>66</b>

## **Medición de variables morfométricas a través de imágenes digitalizadas**

Para el traslado del material biológico hasta el laboratorio así como para la obtención de la imagen inicial, los organismos se preservaron en frío, lo que asegura que la imagen inicial de cada organismo permitiera obtener la información morfométrica antes de iniciar el proceso de preservación. Después de capturar la primera imagen, los peces fueron inmersos en una solución de formaldehído al 10% y, al término de 15 días, fueron cambiados a una solución de etanol al 70%. La captura de imágenes se realizó con una periodicidad de 5 días entre cada imagen, contados a partir del momento en que se sometieron a la preservación. Se obtuvieron 7 imágenes correspondientes a la imagen del organismo en fresco, imagen al día 5, 10, 15, 20, 25 y 30 de cada organismo.

Se capturaron las imágenes del lote 1 con una cámara digital Canon PowerShot G11, de 10 megapíxeles; para el lote 2 se utilizó una cámara digital Nikon (Coolpix 110) de 12.1 megapíxeles. Los motivos por los que se utilizaron cámaras distintas son ajenos al diseño de este experimento y se dieron en función de la disponibilidad del equipo dentro del laboratorio. Una vez capturada la imagen de una cuadrícula de dimensiones conocidas al inicio de cada sesión fotográfica, se calculó la equivalencia de píxeles por centímetro de cada imagen, permitiendo escalar todas las mediciones obtenidas a unidades de centímetro. Se contempló también el uso de métodos de morfometría geométrica y la transformación de la información a unidades procrusteanas. De esta manera se analizaron los datos de ambos lotes en conjunto.

### **Captura de imágenes**

Cada organismo fue posicionado sobre uno de sus flancos y con la finalidad de que las imágenes registraran el mayor número de atributos morfométricos, se utilizaron alfileres para la extensión de aletas. Esto se realizó sobre una superficie plana y con fondo color verde, que permitió identificar los límites corporales de cada organismo (Figura 7) para extraer la silueta del organismo sobre un eje perpendicular al plano sagital de los peces. Debido a que todos los registros se efectuaron en puntos situados en los límites corporales del pez, la silueta así capturada posee los mismos atributos

independientemente del lado sobre el cual se obtienen las variables. Por lo tanto, se capturaron las imágenes de uno de los costados de cada organismo de forma variable.

Una vez posicionados se capturó la imagen de cada organismo apoyando la cámara sobre un tripié a una distancia cámara-objeto de 35 cm, siendo cuidadoso de mantener la misma distancia para todas las imágenes capturadas en una misma sesión fotográfica. Una sesión fotográfica consistió en la captura de imágenes individuales de todos los organismos en un mismo día.

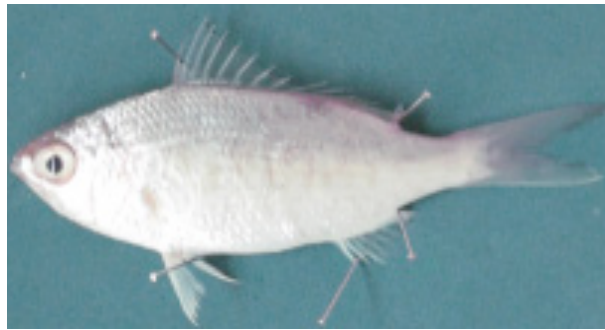


Figura 7.- **Posicionamiento de organismos para la captura de imágenes.** Imagen de *Eucinostomus* con las aletas extendidas. La extensión de aletas es útil para facilitar la localización del inicio y fin de las mismas, además de otras estructuras corporales de referencia dentro de cada imagen.

### ***Variables***

Para conocer la respuesta de la talla al proceso de preservación, se dio seguimiento a la longitud estándar de los organismos (LE), que mide la variación en un solo plano longitudinal. Para la variabilidad en la forma, se propuso cuantificar el área que proyecta cada organismo en posición lateral (A), permitiendo capturar la información de la silueta lateral de los organismos.

Los landmarks son ubicaciones puntuales, situadas homológamente en las estructuras corporales de los organismos, que permiten describir las formas biológicas mediante el registro de las coordenadas cartesianas de cada landmark (Fink, 1990). Las técnicas de morfometría geométrica analizan la información capturada en las configuraciones de landmarks (Bookstein *et al.*, 1985; Bookstein, 1991). Adicionalmente a la LE y A se analizó la variación de diez landmarks ubicados de acuerdo con el método de Truss



(Figura 8), mismos que fueron utilizados para el análisis morfométrico de organismos del género *Eugerres* por González-Acosta (2005).

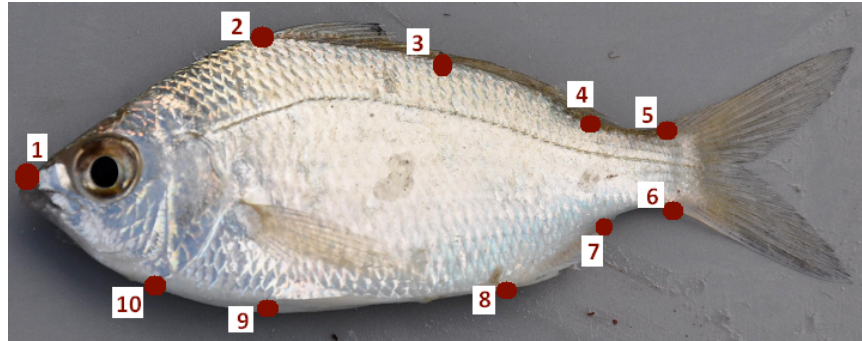


Figura 8- Landmarks seleccionados a partir del método de Truss como propuesta para las especies de *Eucinostomus* en la laguna de la Carbonera. Se muestra la ubicación de los 10 landmarks que se analizaron por métodos de morfometría geométrica: (1) punta superior de la premaxila, (2) base de la primera espina dorsal, (3) base del primer radio dorsal, (4) base del último radio dorsal, (5) borde posterior dorsal del pedúnculo caudal, (6) borde posterior ventral del pedúnculo caudal, (7) base del último radio anal, (8) base de la primer espina anal, (9) base de la primer espina de la aleta pélvica y (10) margen anterior del istmo.

### Procesamiento de imágenes

En este trabajo se analizó la influencia de la preservación en la silueta de los peces delimitada por el tejido muscular y óseo. Debido a que las aletas son estructuras frágiles y que pueden ser afectadas por la manipulación durante la recolecta y el manejo en el laboratorio, no se contempló la variación de estas estructuras, aunque sirvieron como referencia para la ubicación de landmarks.

Para la obtención de LE y A las imágenes fueron editadas con el programa PhotoShop V. 12.0, con la finalidad de remover aletas, ojos y los alfileres. Esta fase de edición previa al procesamiento fue necesaria ya que no se encontró un algoritmo capaz de remover adecuadamente las estructuras antes mencionadas. Utilizando la paquetería de procesamiento de imágenes del programa Matlab V. 7.8 (The MathWorks, 2009) se diseñaron programas computacionales (subrutinas) que permitieron la binarización de imágenes, identificación y medición de objetos.

El primer paso para el procesamiento de imágenes fue el establecimiento de un criterio discriminante entre el objeto a ser medido y el fondo verde sobre el que se posicionó a los organismos. El criterio utilizado fue el valor numérico de pixel en una de las bandas que componen a la imagen (banda del verde, rojo y azul). Utilizando la función “improfile” podemos obtener los valores de pixel en cada una de las tres bandas que componen a las imágenes. Trazando una trayectoria sobre cualquiera de las imágenes (Figura 9A), se obtuvo un gráfico con los valores de pixel en cada banda a lo largo de la trayectoria trazada sobre la imagen (Figura 9B), esto permitió observar que los pixeles con mayor valor son los referentes al organismo. Como se observa en la Figura 9B, la diferencia más marcada entre el organismo y el fondo se presenta en la banda del rojo por lo que fue esta banda la que se utilizó para la binarización de la imagen. Para todas las imágenes, se estandarizó el umbral discriminante con valor de 110 en la banda del rojo.

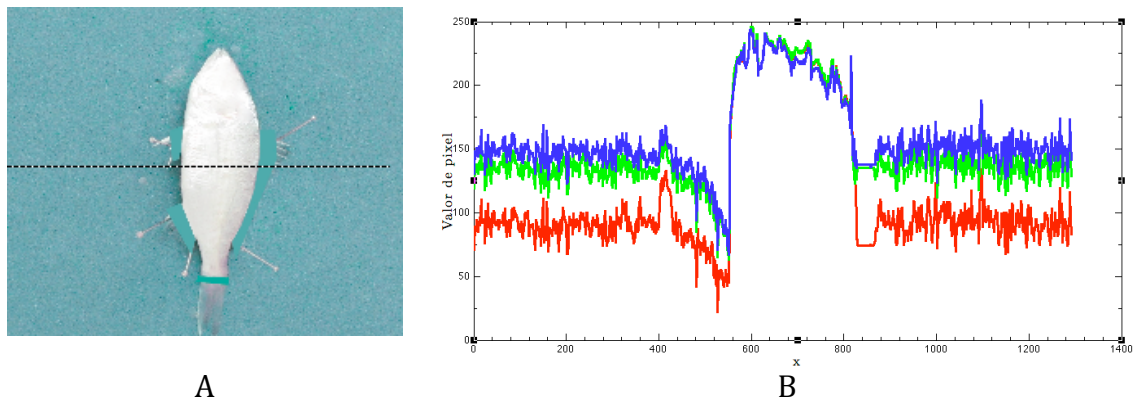


Figura 9.- **Perfil de la imagen descompuesta en tres bandas.** (A) Imagen de un organismo después de la remoción de estructuras que no se cuantificaron, la línea que cruza es la trayectoria trazada sobre la imagen; (B) valores de pixel en cada una de las bandas, en el eje X de la gráfica, la distribución espacial de la trayectoria trazada en la imagen a; en el eje Y, los valores de pixel registrados a lo largo de la trayectoria.

La binarización de las imágenes consistió en que los valores de pixel superiores a 110 fueron transformados a 0 y los inferiores de 110 a 1. Una vez binarizada la imagen (Figura 10a), se utilizó la función “bwselect” para aislar el objeto a medir a partir de su selección interactiva (Figura 10B).

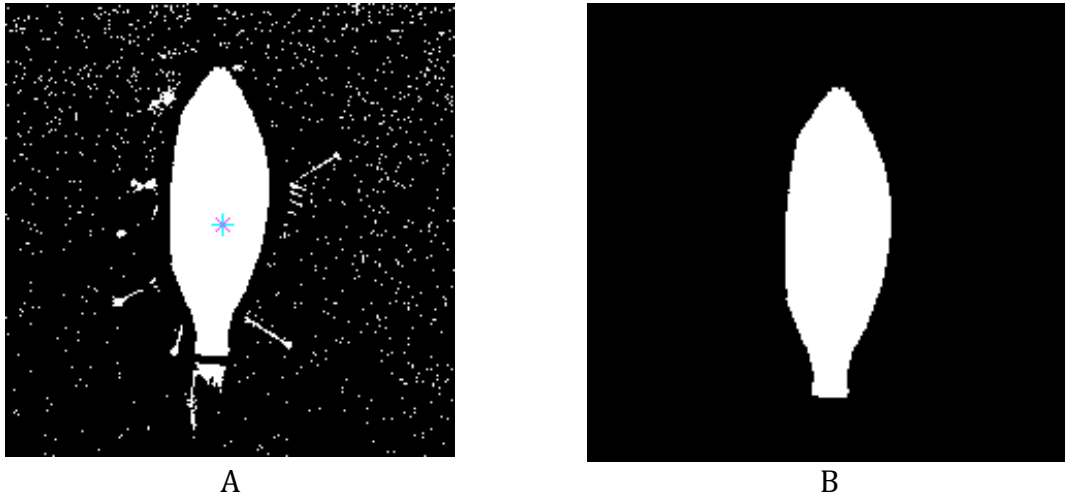


Figura 10.- **Selección del objeto a medir.** (A) La función “bwselect” permite aislar el objeto apartir de la imagen binarizada, por medio del cursor se puede aislar el objeto de interes, aún cuando en el resto de la imagen existan pixeles con valores superiores 110; (B) visualización de los pixeles seleccionados.

### **Obtención de la longitud estándar y del área**

Para la medición de LE se contaron los pixeles correspondientes al eje mayor del objeto seleccionado de cada imagen y para la obtención de A se cuantificaron todos los pixeles 0 de cada imagen. Se escalaron las mediciones obtenidas a unidades de centímetro y se guardaron las mediciones.

### **Digitalización de landmarks**

La digitalización consistió en el registro de las coordenadas (X, Y) correspondientes a la ubicación espacial de cada uno de los 10 landmarks propuestos. Se trabajó con las imágenes usadas para el monitoreo de la LE y A antes de ser editadas y procesadas. Para la digitalización de los 10 landmarks se utilizó el programa tpsDig (Rohlf, 2004). Las coordenadas obtenidas fueron trasladadas, escaladas y rotadas para remover los factores ajenos a la forma según el método de mínimos cuadrados generalizado, obteniendo las coordenadas, conocidas como coordenadas procrusteanas. La transformación de coordenadas se realizó con el programa MorphoJ V. 1.04a (Klingenberg, 2011).

## **Cálculo de las Funciones Empíricas Ortogonales (FEO) para longitud estándar y área**

Para identificar la variación morfométrica en función del tiempo de preservación, se construyeron dos matrices: una para los datos de LE y la otra para A. Las dimensiones de cada una de las matrices corresponden a 66 organismos en las filas y en las columnas 7 mediciones temporales, es decir, 66 series de tiempo de cada una de las variables. Debido a que se trabajó con dos variables de diferente orden de magnitud, se analizaron las anomalías estandarizadas de ambas matrices.

Se descompusieron las anomalías estandarizadas según Von Storch y Zwiers (2001), obteniendo los valores propios o valores de  $\lambda$  (varianza explicada por sus respectivos vectores propios), las FEO (vectores propios que representan la variación atemporal) y los componentes principales (vectores propios que representan la variación temporal). De acuerdo con los valores de  $\lambda$  se seleccionaron las FEO que explicaron el mayor porcentaje de variación de cada variable y en función de las amplitudes de variación temporal, se identificaron los modos de variación asociados a la preservación. Mediante la regresión lineal entre las FEO de cada variable, asociadas al tiempo de preservación, se obtuvieron los coeficientes de correlación de Pearson, con la finalidad de identificar una posible relación entre las tasas de variación de LE y A.

Eligiendo las FEO, así como los componentes principales asociados a la preservación de peces, se rotaron las FEO. Reconstruyendo las anomalías asociadas al proceso de preservación, se observó el sentido y la magnitud de la variación.

## **Cálculo de las FEO utilizando los landmarks como variables**

La ubicación espacial de cada landmark dentro de un plano bidimensional está dada en función de coordenadas X, Y. Para la identificación puntual de la variación, se trabajó con las coordenadas procrusteanas de cada uno de los 10 landmarks. Se calcularon las anomalías de cada landmark, extrayendo los valores promedio de sus respectivas series de tiempo, independientemente para las coordenadas X y Y. Cada landmark se consideró como una variable compleja, donde los números reales fueron las coordenadas X y los imaginarios fueron las coordenadas Y. De esta manera se

trabajó con 10 matrices de números complejos (una para cada landmark), con 66 series de 7 mediciones temporales cada una. Se utilizó el método de Von Storch y Zwiers (2001) para matrices complejas, separando la variación total en modos de variación. Se obtuvieron los valores propios ( $\lambda$ ) y sus respectivos vectores (FEO y componentes principales) de cada landmark. De igual forma que para las variables LE y A, se identificaron los modos de variación que explican la influencia de la preservación en los peces.

Se rotaron las FEO de cada landmark asociadas al proceso de preservación, obteniendo una porción de la variación total en coordenadas procrusteanas. Graficando las coordenadas resultantes de la rotación de las FEO, fue posible visualizar el sentido de la variación en cada landmark.

Uno de los objetivos en la morfometría es la identificación de patrones de variación o grupos morfométricos (morfotipos). La morfometría de los organismos, corresponde a la configuración completa de landmarks que integran la silueta de cada organismo. Se trabajó con 2 arreglos matriciales: la matriz 1 de variación total, correspondiente a las coordenadas procrusteanas originales; y la matriz 2 de variación parcial, obtenida al extraer de la matriz 1 la variación resultantes de la rotación de las FEO, removiendo así el factor “preservación” de la variación total. Se realizó un análisis de componentes principales a las matrices de varianza-covarianza calculadas a partir de la matriz 1 y la matriz 2. Se compararon de forma gráfica los grupos formados en ambas matrices, mostrando la posible repercusión de la preservación en la identificación de grupos morfométricos.

## Resultados

### Variación de LE y A

En los 66 organismos de *Eucinostomus* analizados, la LE mínima registrada fue de 27.1 mm y la máxima de 98.8 mm. En la Figura 11 se muestran los valores promedio de la LE y A obtenidos con los 66 organismos en cada tiempo de observación. Los promedios de los valores obtenidos en un mismo tiempo no aportan suficiente información sobre las variaciones entre los organismos. La desviación estándar refleja en su mayor parte la variación por la talla o especie y aunque se intuye que una parte de dicha variabilidad está en función del tiempo, no es posible cuantificarla.

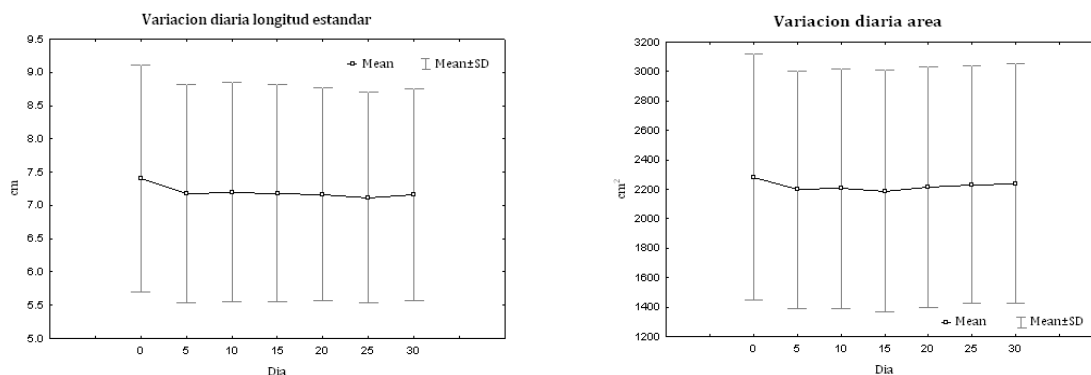


Figura 11.- Perfil de los valores promedio por día. En el centro de cada línea vertical los valores promedio de la LE y A en los 66 organismos en un mismo día. La línea que une a las medias indica la tendencia de los valores promedio en el tiempo. Las líneas verticales representan la desviación estándar que muestra la variabilidad existente entre los 66 organismos por cada día de observación.

Al trabajar con las anomalías estandarizadas, ambas variables se escalaron a unidades de desviación estándar permitiendo observar las tendencias de LE y A en un mismo gráfico. En la Figura 12, se muestran las variaciones promedio correspondientes a cada día de observación en LE y A. La tendencia inicial es similar en ambas variables durante el periodo en que los organismos están inmersos en formaldehído, sin embargo, durante el periodo de etanol la tendencia de A cambia mostrando un aumento en su magnitud. Estos resultados muestran indicios de que las variables no siguen un mismo patrón de variación durante todo el tiempo que duró el experimento.

En la Figura 13 se muestra el promedio de las variaciones de cada individuo. Si bien no se obtiene información de la variación simultánea de los 66 organismos en el tiempo, es posible observar que las variaciones de LE y A siguen diferentes tendencias o inclusive, pueden ser opuestas entre individuos. Lo anterior es una muestra del impacto diferencial que ocurre en cada una de las variables, como consecuencia de la preservación, y que ocurre en función de cada individuo.

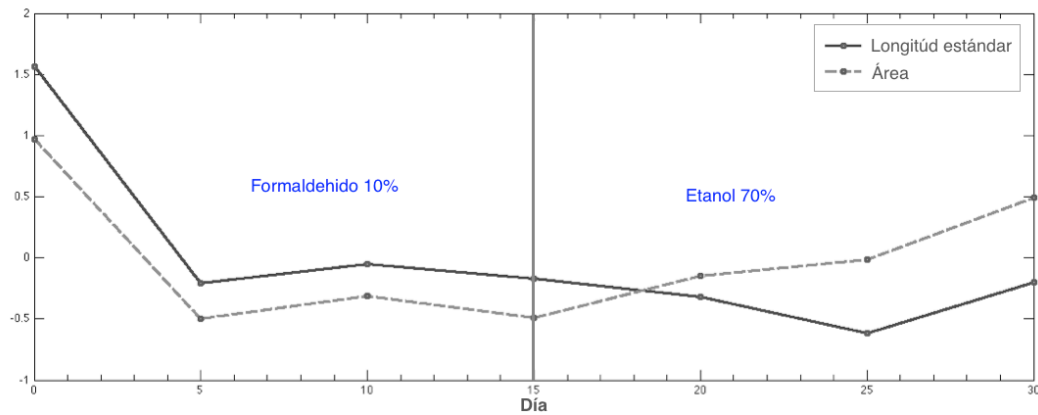


Figura 12.- Perfil del promedio de las anomalías estandarizadas por día. La LE representada por la línea continua tiende a disminuir en función del tiempo, mostrando un aumento del día 25 al 30. En el caso de A representada por la línea discontinua presenta un cambio en la tendencia a partir del día 15.

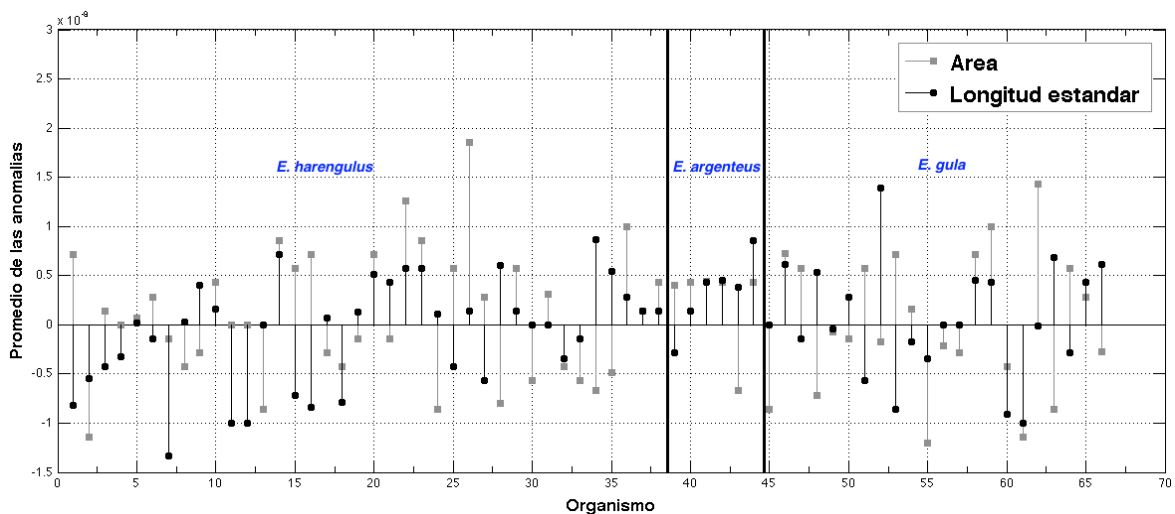


Figura 13.- Promedio de las anomalías estandarizadas por organismo y especie. Notemos que cada tallo del diagrama equivale al promedio de variación de cada serie de tiempo en cada una de las variables. De forma visual se muestra que la variación promedio de la LE y el A no están correlacionadas.

Descomponiendo las anomalías estandarizadas se obtuvieron 6 modos de variación que engloban el total de la variación generada durante el experimento. En la Tabla 2 se enlistan los valores propios ( $\lambda$ ) correspondientes a los modo de variación de LE y A.

Tabla 2.- **Valores propios ( $\lambda$ ) de LE y A.** Expresados como porcentaje de la varianza total y porcentaje de varianza acumulada, correspondiente a la variación explicada por sus respectivos vectores propios.

Modo de variación	Longitud estándar (LE)		Área (A)	
	%	% acumulado	%	% acumulado
1	62.52	62.52	38.73	38.73
2	12.67	75.18	17.77	56.50
3	9.03	84.21	15.37	71.87
4	6.01	90.22	12.45	84.32
5	5.50	95.72	9.29	93.61
6	4.28	100.00	6.39	100.00

El modo 1 de variación explicó para la LE el 62.52% del total de la varianza y para A el 38.73%. En la Figura 14 se muestran las FEO (vectores propios atemporales) y las series de tiempo asociadas al modo 1 para ambas variables.

Ordenando las FEO del modo 1 por especie (Figura 14A), se puede observar un comportamiento aleatorio de LE y A que es independiente de la especie. En algunos casos se observan similitudes en las amplitudes de ambas variables, pero en otros casos la tendencia es inversa. En la Figura 14B se muestran las FEO ordenadas en función de la talla, observándose menor variación de la LE en organismos de menor talla ( $LE < 70$  mm) en comparación con la variación de A. En organismos mayores de 80 mm, la variación de A es menor a la observada en la LE. El coeficiente de correlación entre ambos vectores propios fue de 0.016, indicando una baja correlación entre las tendencias que siguen las dos variables.

Las series de tiempo asociadas al modo 1 en ambas variables (Figura 14C) indican una mayor variación durante los primeros 5 días, periodo en el que los organismos permanecen bajo la influencia del formaldehído. La amplitud de variación sigue una tendencia similar en ambas variables durante el tiempo en que los peces son inmersos



en formaldehído. En el periodo en que los peces son inmersos en etanol, la variación de LE continua disminuyendo gradualmente mostrando una amplitud de variación menor a la mostrada al inicio del experimento. En el caso de A la amplitud de variación durante el periodo del etanol, tiende hacia el punto inicial del experimento.

Recordando que las FEO se calcularon a partir de las anomalías estandarizadas, los valores obtenidos con la rotación de las FEO del modo 1 son de igual manera adimensionales. En la Figura 15 se muestran las anomalías estandarizadas explicadas por el modo 1, mostrando el comportamiento de las variables en torno al valor promedio de cada pez (que corresponde al valor de cero en la gráfica).

En el caso de la LE (Figura 15A), se observa una tendencia de encogimiento de los organismos, que es mayor durante los primeros 5 días del experimento. A partir del día 15, cuando se resiente la influencia del etanol, la talla de los organismos continúa disminuyendo hasta alcanzar un límite inferior el día 25. Para el día 30 se presenta un aumento en talla que se aproxima a los valores observados para el día 20. Es posible la existencia de diferencias en el grado de encogimiento que dependen de la talla de los organismos y se observa un mayor cambio en los organismos más grandes.

De acuerdo con la Figura 15B, la disminución en magnitud del área es mayor durante los primeros 5 días y disminuye con menos intensidad hasta el día 15, cuando se observan los valores más bajos. A partir del día 15, la magnitud del área tiende a aumentar gradualmente hasta el día 30.

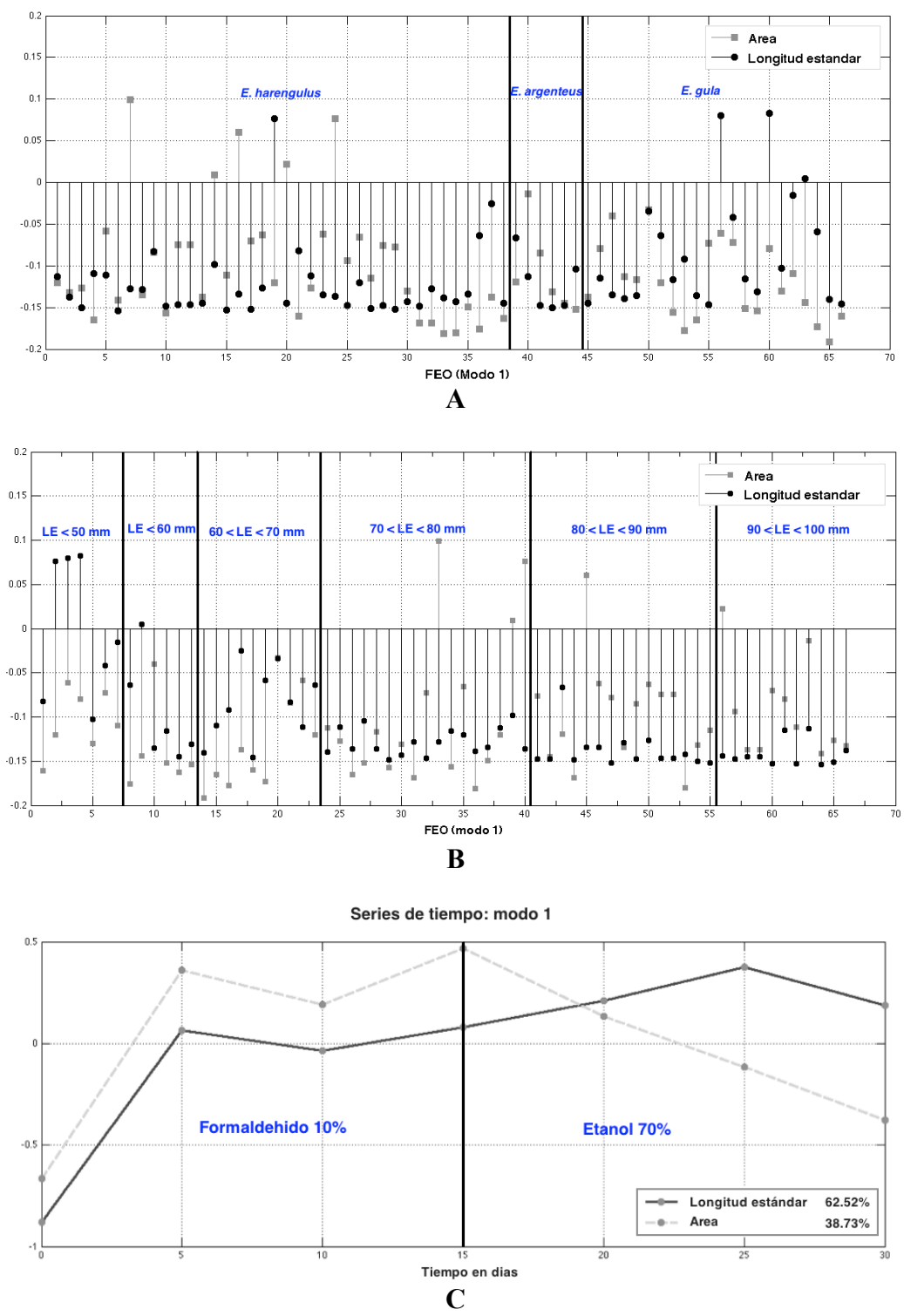
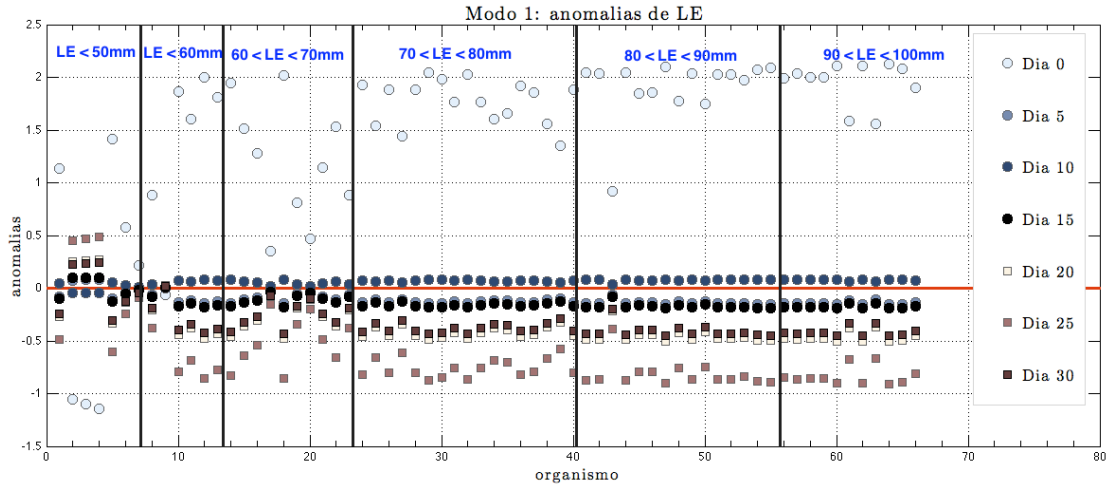
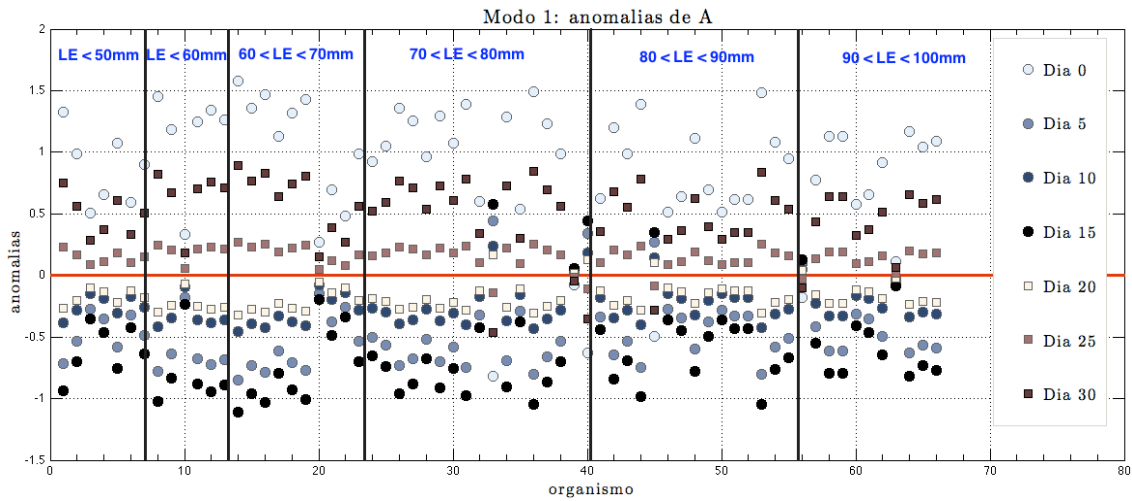


Figura 14.- **Modo 1 de variación de LE y A.** (A) Las FEO en el modo 1 de cada variable ordenadas por especie, (B) Las FEO en el modo 1 de cada variable ordenadas por talla, (C) series de tiempo asociados a las FEO del modo 1.



A



B

Figura 15.- Anomalías estandarizadas de LE (A) y A (B) explicadas en el modo 1. La línea roja de cada gráfica, indica los valores promedio calculados para cada organismo a través de las 7 mediciones temporales. En círculos, se representa la dispersión de las anomalías durante la influencia del formaldehído y los cuadrados la dispersión correspondiente a la fase de etanol.

### Variación puntual de la forma

Superponiendo las 66 configuraciones de landmarks es posible observar distintos patrones de variación para cada landmark. La Figura 16B muestra la variación total de los 66 organismos durante las 7 mediciones temporales, en coordenadas procrusteanas. La variación total está dada en función de la variabilidad que hay entre organismos, sumando también la variabilidad morfométrica producto de la preservación.

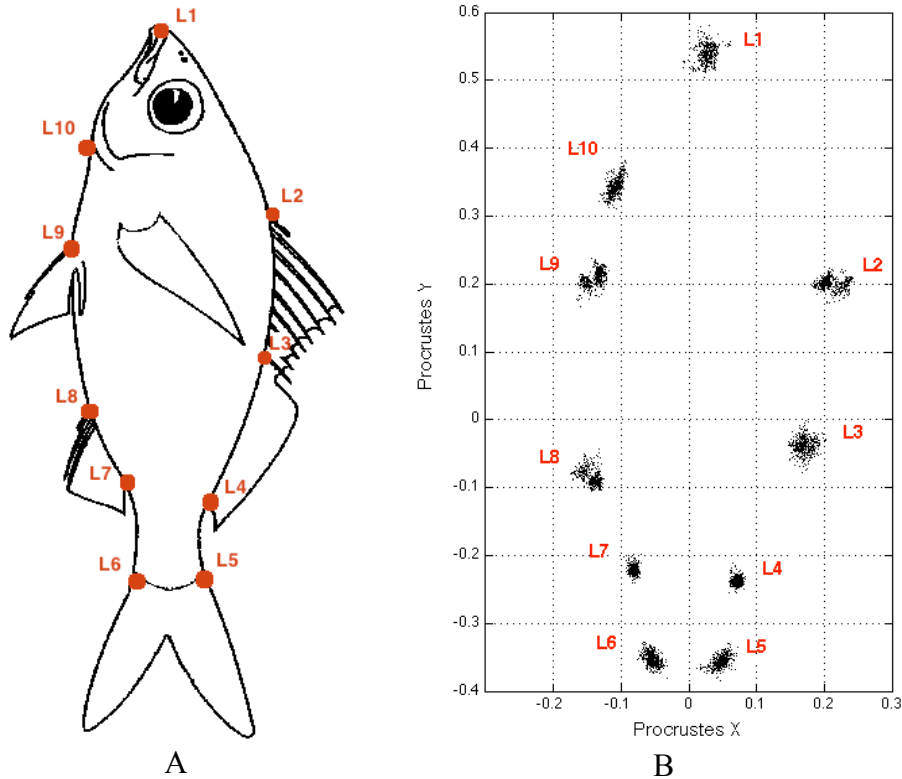


Figura 16.- **Superposición de las configuraciones de landmarks.** A) aproximación a la silueta de un pez a partir de la configuración de 10 landmarks; B) 66 configuraciones de landmarks superpuestas, la variación total está representada por la nube de puntos propia de cada landmark.

Trabajando con las anomalías de cada landmark se descompuso la variación total en 5 modos. En la Tabla 3 se muestra el porcentaje de variación de los 10 landmark en cada modo. La variación de cada landmark fue calculada por separado, asumiendo que el comportamiento de cada uno es independiente. Partiendo de que el modo 1 explica la variación causada por los agentes preservantes en el tiempo, los porcentajes de variación pueden dar indicios del grado de impacto de la preservación sobre cada landmark. De este modo, los landmarks con menor porcentaje de variación en el modo 1 indican un menor impacto de la preservación, ya que el resto de la variación es explicada por modos subsecuentes, que no mostraron tendencias claramente identificables.

Tabla 3.- **Valores propios ( $\lambda$ ) de los 10 landmarks.** Los valores de  $\lambda$  son expresados como porcentaje de la varianza total, correspondiente a la variación explicada por sus respectivos vectores propios para cada landmark.

<b>Modo</b>	<b>L1</b>	<b>L2</b>	<b>L3</b>	<b>L4</b>	<b>L5</b>	<b>L6</b>	<b>L7</b>	<b>L8</b>	<b>L9</b>	<b>L10</b>
1	45.77	50.39	51.45	35.44	41.81	42.16	31.27	33.91	44.60	35.69
2	17.14	20.42	16.23	20.46	21.66	23.15	23.03	24.36	19.05	32.44
3	14.60	11.47	14.99	18.13	15.21	13.58	18.19	16.54	16.56	12.89
4	11.66	10.39	10.38	15.13	11.28	11.63	15.50	11.76	12.29	10.46
5	10.81	7.31	6.92	10.82	10.01	9.46	11.99	13.41	7.48	8.50

En la Figura 17 se muestran las FEO obtenidas en el modo 1 ordenadas por especie y en la Figura 18 las mismas FEO ordenadas por talla. En ambos casos se observan amplitudes de variación aleatorias entre las tres especies y entre diferentes tallas. Recordemos que cada landmark está compuesto por coordenadas X, Y, por lo que en estos gráficos, se pueden observar las amplitudes de variación en un plano bidimensional, que representan la variación cartesiana de cada landmark.

Las variaciones temporales asociadas a las FEO del modo 1 se muestran en la Figura 19. En general, las amplitudes de variación explicadas en el modo 1 indican una mayor variación al inicio del experimento con una disminución en la variación durante los primeros 5 días del experimento. A partir del día 5 se observan fluctuaciones en la variación, estas fluctuaciones ocurren en menor escala para la mayoría de los landmarks a excepción de L4 y L7, donde se observan amplitudes de variación mayores a través de todo el experimento.

De acuerdo con los porcentajes de variación (Tabla 3), el modo 1 explica menos del 40% de la variabilidad en los landmarks L4, L7, L8 y L10, los landmarks L1, L5, L6 y L9 con un porcentaje mayor de la varianza explicada (40 a 50%) y los landmarks con el mayor porcentaje de la varianza fueron el L2 y L3, con valores superiores al 50%. Estos resultados indican una diferencia en el grado de impacto que ejerce la preservación en diferentes zonas corporales.

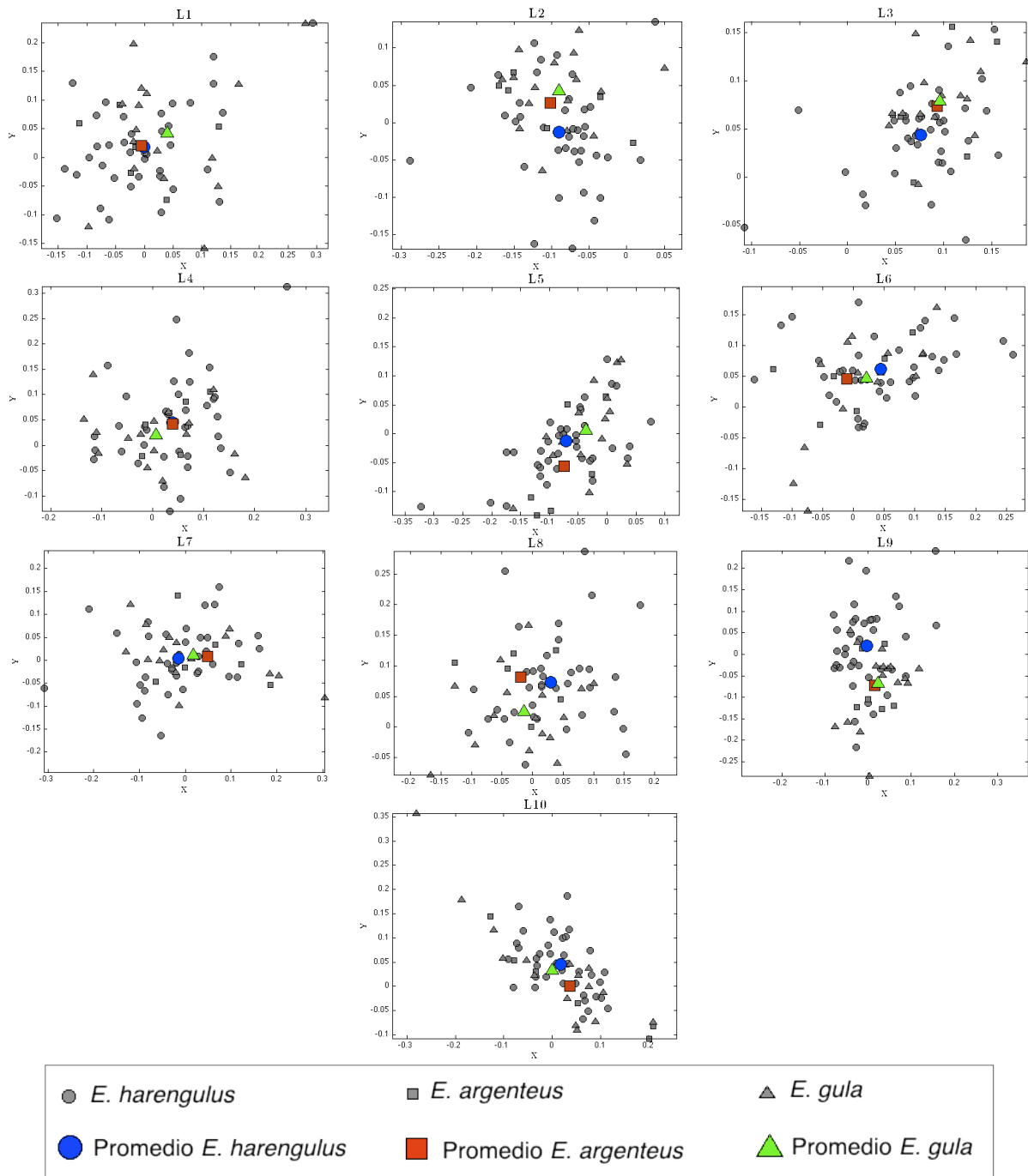


Figura 17.- FEO: vectores propios del modo 1, ordenados por especie para cada landmark.

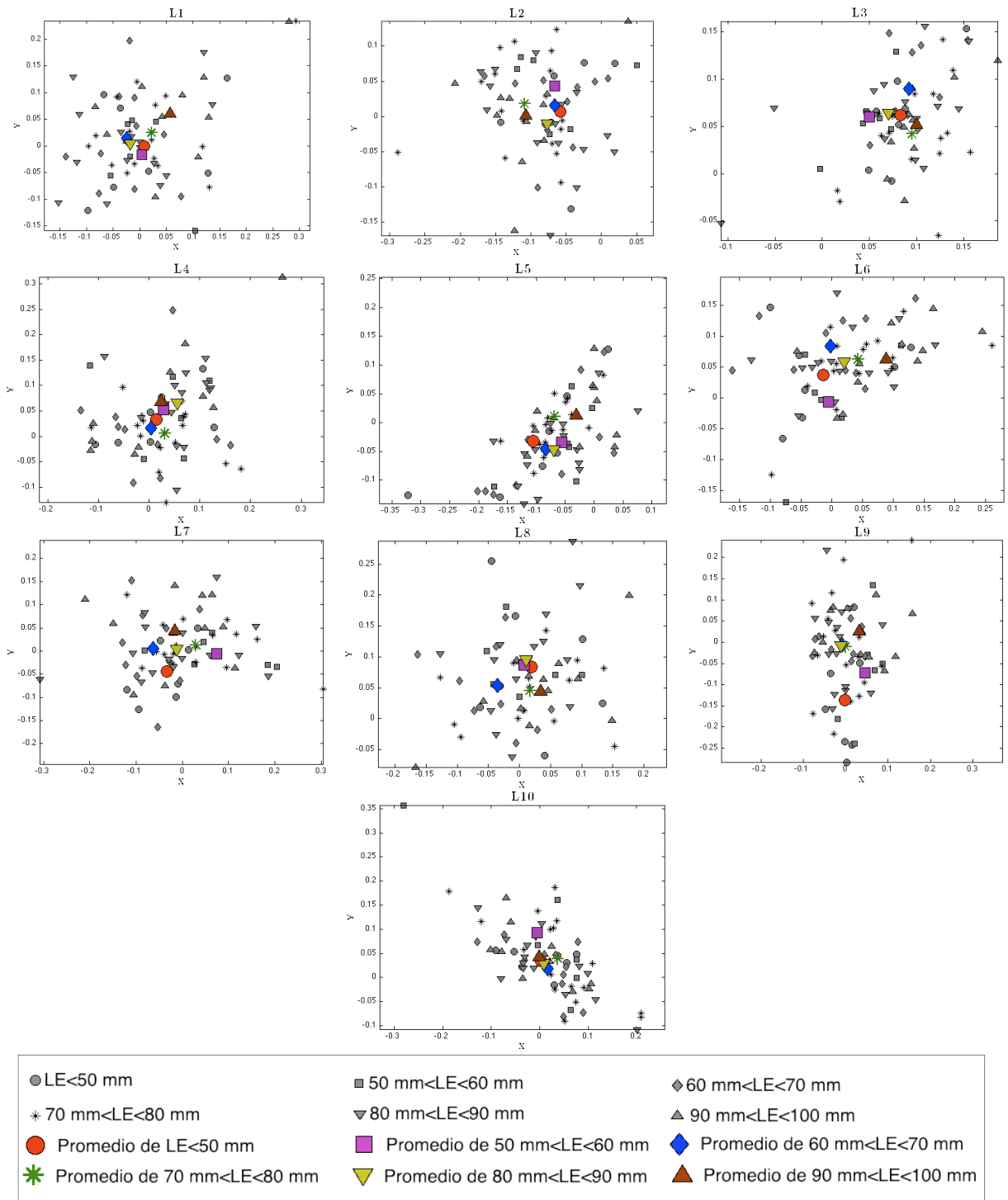


Figura 18.- FEO: vectores propios del modo 1, ordenados por talla para cada landmark.

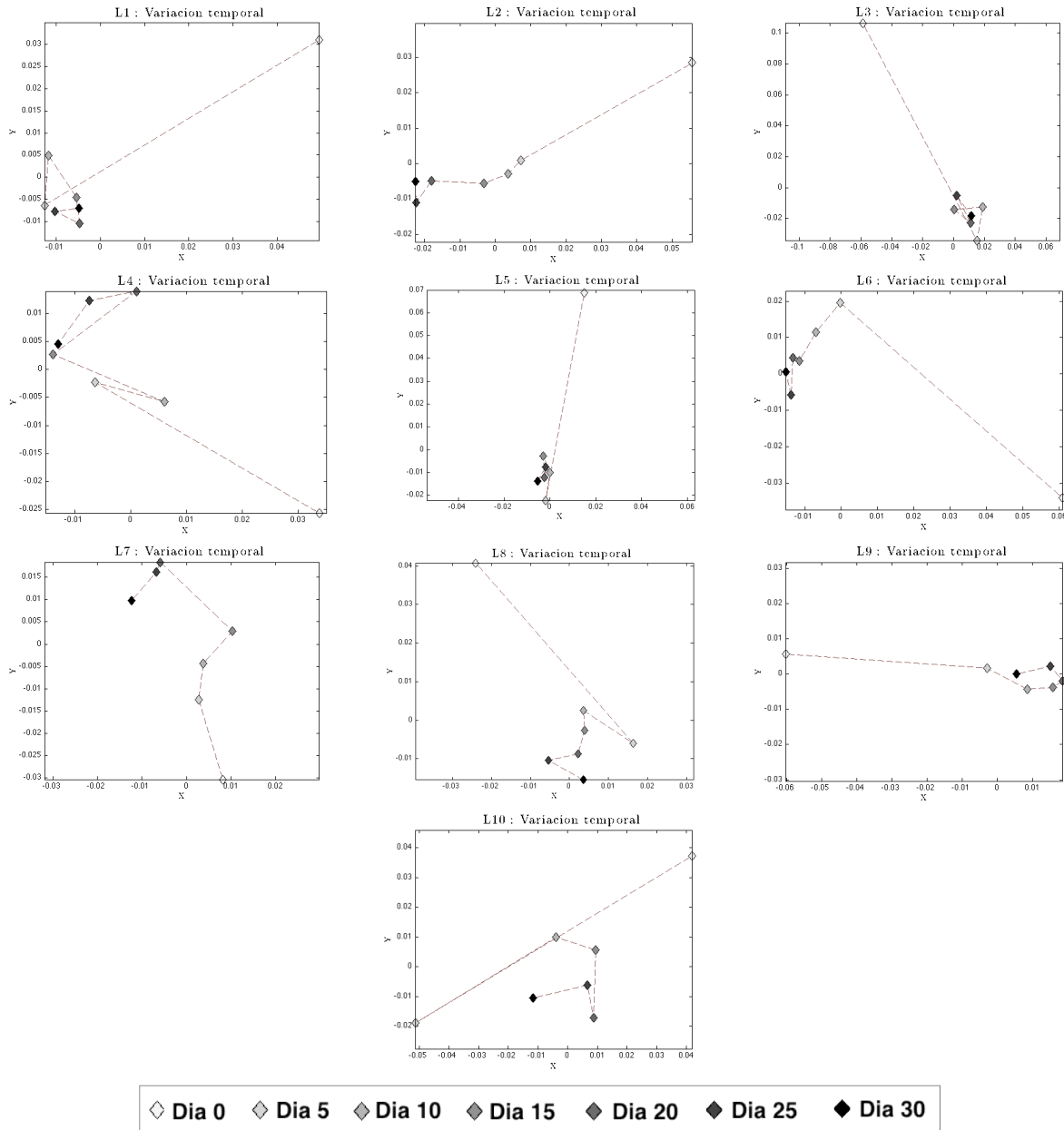


Figura 19.- FEO: modo 1 de variación temporal para cada landmarks. Series de tiempo asociadas a las FEO de cada landmark en el modo 1. Las amplitudes de variación en los ejes X y Y correspondientes a la variación de las coordenadas X y Y de cada landmark.

Al reconstruir la porción de variabilidad explicada en el modo 1, se obtuvo la variación de cada landmark asociada a la preservación. Debido a que las escalas de variación para cada landmark son relativamente pequeñas en relación con la silueta completa de los organismos, en la Figura 20 se muestran los promedios de variación de cada landmark multiplicados por el escalar 10. Cuando se amplifican estos promedios es posible observar la variación en un plano cartesiano, es decir la dirección de la



variación en cada landmark. Los landmarks L2 y L3 (inicio de la primer espina dorsal e inicio del primer radio dorsal), son los landmarks que presentaron una mayor variación durante el experimento. Los landmark L1 (inicio de la premaxila), L4 (base del último radio dorsal), L5, L6 (bordes posteriores del pedúnculo), L8 (base de la primera espina anal) y L10 (margen anterior del istmo) presentan menor variación. En todos estos landmarks es evidente una mayor variación entre el día 0 y el día 5. Los landmarks L7 (base del último radio anal) y L9 (inicio de la aleta pélvica), aún amplificando la variación, presentaron una menor variación en comparación con el resto de landmarks.

Los landmarks que permitieron observar variaciones en función del tiempo presentan dos tendencias: el encogimiento y la expansión corporal. En el primer caso, las magnitudes de variación en los landmarks L1, L4, L5, L6, L8 y L10 indican una disminución de magnitud en diferentes ejes y las escalas en las variaciones son comparables entre todos los landmarks. La expansión en la zona de las aletas dorsales (L2 y L3) es mayor en magnitud que en el resto de los landmarks. Observemos que en L2 la tendencia de expansión se mantiene durante todo el proceso, mientras que en L3 no ocurre así, puesto que ocurre una mayor expansión durante los primeros 5 días y posteriormente la tendencia se revierte. Esto da muestra de las inmensas posibilidades de respuesta que pueden tener los tejidos, repercutiendo indudablemente en la forma de los peces.

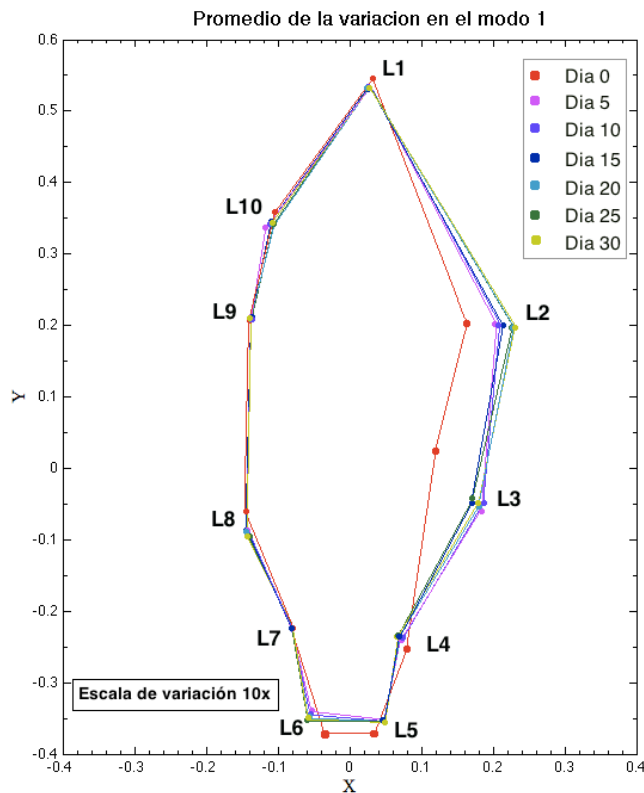


Figura 20.- **Variación explicada en el modo 1 (landmarks)**. Reconstrucción de la variación promedio explicada por el modo 1, las coordenadas procrusteanas de cada landmark fueron escaladas 10 veces.

Dado que las respuestas de los tejidos a los agentes preservantes ocurren en diferentes direcciones y magnitudes, limitan las posibilidades de obtener ecuaciones válidas que permitan reconstruir la forma inicial de los organismos. Mediante la técnica de las FEO fue posible identificar y extraer la variación de cada uno de los landmarks para cada organismo. El análisis de los componentes principales a partir de la variación total (matriz 1) y la variación parcial (matriz 2) se muestran en la Figura 21. En la Figura 21A, los puntajes de los componentes que explican el 39.12% y el 18.48% (CP1 y CP2 respectivamente) de la varianza explicada para la matriz de variación total. En la Figura 21B se muestran los puntajes de los componentes que explican el 39.37% y 18.69% de la varianza para la matriz de variación parcial. La comparación entre la matriz 1 y matriz 2, indican una alta correlación con valor de  $r=0.999$  ( $P < 0.0001$ ).

Las diferencias entre el grupo de individuos de *E. gula* y los pertenecientes a *E. harengulus* y *E. argenteus* se observan aún sin remover el factor preservación. Esto indica que la magnitud de la variación debida a la preservación durante los 30 días del experimento tiene una influencia menor en los morfotipos de las especies *E. argenteus*, *E. harengulus* y *E. gula*. El valor muy cercano a 1 del coeficiente de correlación obtenido entre ambas matrices corrobora esta observación.

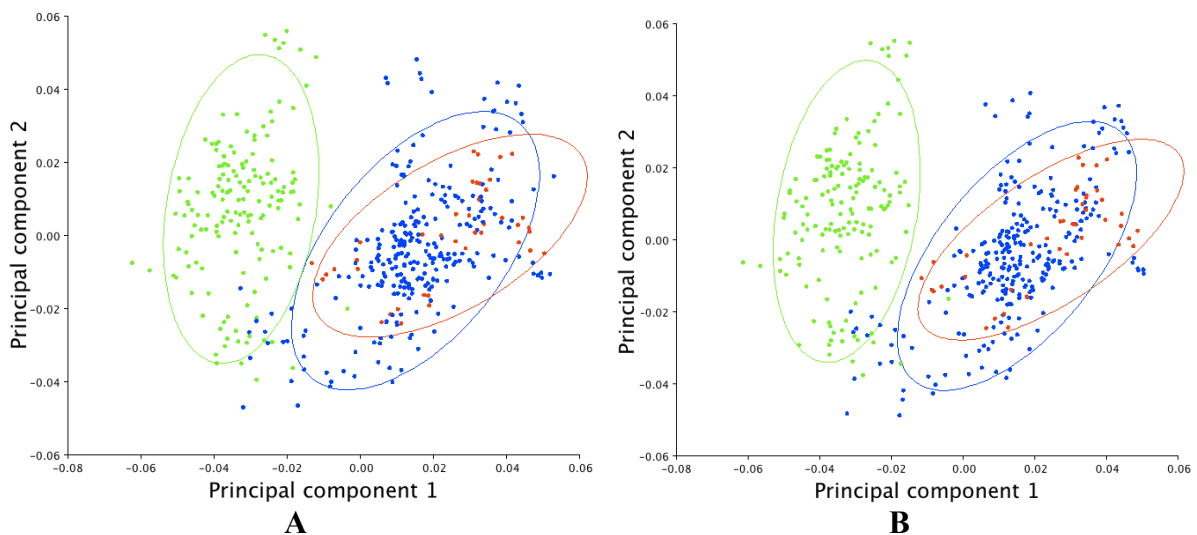


Figura 21.- **Grupos formados por los componentes principales.** Se muestran los resultados obtenidos con la matriz original de datos (A); y la matriz sin la variación a causa de la preservación (B). Representadas las especies *E. argenteus* (rojo), *E. harengulus* (azul) y *E. gula* (verde), no es posible observar diferencias entre los resultados obtenidos para cada matriz.

## **Discusión**

Para conocer la tendencia de cada variable en función del tiempo de preservación es frecuente recurrir al cálculo de sus valores promedio a partir de todas las mediciones realizadas en un mismo tiempo. Los datos originales suelen expresarse como porcentajes de las mediciones en fresco y se obtiene el promedio de la variación en cada tiempo (Cunningham *et al.*, 2000; Paradis *et al.*, 2007). Cuando se analizan organismos de diferentes clases de talla, una práctica común consiste en establecer clases de talla para comparar las tendencias de los promedios (Billy, 1982; Quiñonez-Velázquez y Chaumillon, 1996; Fey y Hare, 2005) y, de igual forma, se comparan las tendencias promedio entre poblaciones (Sagnes, 1997). Como se observó en la Figura 13, la influencia de la preservación difiere entre individuos, por lo que los promedios de las variaciones temporales mostradas en la Figura 12 no reflejan, necesariamente, la variación individual.

## **Modos de variación**

El análisis de las funciones empíricas ortogonales, presenta la característica de trabajar con las anomalías de los datos y no con los promedios. A diferencia de los análisis convencionales el análisis de las FEO permitió identificar los patrones o modos de variación temporal y por individuo. Cada modo explica una porción de la variación total contenida en las 66 series de tiempo, es decir, la sumatoria de todos los modos explica el total de la varianza generada durante el experimento. Las causas de variación pueden ser diversas, de acuerdo con Von Storch y Zwiers (2001) los modos que explican la mayor varianza (en este caso el modo 1) muy posiblemente tienen una relación física con el factor analizado que, en este caso, es el efecto del formaldehído y del etanol sobre cada una de las variables durante el experimento.

La variación que no se explica en el modo 1 tiene diversos orígenes que pueden ser ajenos o estar relacionadas de manera indirecta con el proceso de preservación. A pesar de que se trabajó en condiciones similares durante la captura de imágenes y el procesamiento de las mismas, no se descartan errores causados por el método, como

puede ser el posicionamiento de los organismos, la óptica de las cámaras y la edición de imágenes para la remoción de aletas. Adicionalmente, el posicionamiento de los peces puede verse afectado por la contracción muscular de los organismos al morir, lo cual puede influir en la exactitud de las mediciones, independientemente de la precisión del método y equipo utilizado. Debido a la naturaleza ortogonal de los modos, no es posible asociar con certeza los factores que causan la variación en el resto de los modos. El modo 1 permite explicar la mayor variación en la forma causada por la influencia del formaldehído y etanol sobre cada variable.

### **Variación en el tiempo**

En larvas y juveniles de otras especies se ha documentado la disminución en la talla como consecuencia de la preservación (Fox, 1996, 1996; Shields y Carlson, 1996; Cunningham *et al.*, 2000; Fey y Hare, 2005). Sin embargo, también es común la expansión corporal (Billy, 1982). Independientemente del sentido de la variación, ésta es más notoria al inicio del proceso. Los resultados de este trabajo correspondientes a las series de tiempo asociadas al modo 1 coinciden con lo anterior, puesto que se observa una mayor variación durante los primeros 5 días del experimento en la mayoría de las variables. Esto es debido a que cuando los organismos mueren se pierde el balance osmótico, dando como resultado que en agua marina los peces empiecen a perder agua mientras que, en agua dulce, ocurre lo contrario (Butler, 1992). Notemos que en este caso la disminución de la variación no es equivalente a la disminución en magnitud de las variables. Por lo tanto, el resultado mostrado en las variaciones temporales no indica si los organismos encogen o se expanden, únicamente permite identificar la existencia de una mayor variación durante los primeros momentos de la fijación.

De igual manera se observan fluctuaciones que ocurren en menor escala durante los días posteriores al día 5 y en ninguna de las variables las amplitudes vuelven a ser las mismas que al inicio. Si la variación es una consecuencia de la pérdida de agua, las tasas de variación dependen entonces de la respuesta de los tejidos al tipo de preservante y su concentración (Billy, 1982, Shields y Carlson, 1996; Cunningham *et*

*al.*, 2000; Jawad, 2003). Las tasas de cambio deben variar a través del tiempo puesto que, de no ser así, los organismos se encogerían o expandirían infinitamente. Billy (1982) menciona que las células se van impregnando del preservante en función del tiempo, hasta que alcanzan un límite máximo. Al acercarse al límite, las tasas de variación disminuyen gradualmente. Esto explica la menor variación de LE y A en los días posteriores al día 5.

Como se observa en la rotación de las FEO (Figura 15a), la variación de la variable (LE) es producto de un mayor encogimiento durante los primeros 5 días y ocurren fluctuaciones en menor escala durante los días posteriores. La LE sigue una misma tendencia a lo largo de todo el experimento por lo que, hacia el día 30, los organismos son más pequeños que al inicio. En el caso de la variable A, se observa el encogimiento de los organismos durante el periodo de formaldehído. De igual manera, los valores disminuyen gradualmente en el tiempo hasta que se observa la expansión de los tejidos durante el periodo de etanol. Recordemos que la variable A es un indicativo del tamaño de la silueta que, a su vez depende de la magnitud y dirección del conjunto de ejes longitudinales que determinan la forma de los organismos. Sagnes (1997) menciona que es errada la idea de que la variación ocurre siempre en un mismo sentido. En su análisis de 28 variables morfométricas demuestra el encogimiento y expansión de las estructuras corporales que ocurren simultáneamente.

El resultado observado en A puede ser explicado considerando la variación simultánea de todos los landmarks que, además, varían en direcciones y magnitudes diferentes cada uno. Debido al encogimiento y expansión corporal simultánea, el tamaño de la silueta puede variar en menor escala y no necesariamente refleja la variación morfométrica.

### **Variación atemporal**

De acuerdo con Blaxter (1988), el impacto de la preservación en la talla depende del grado de osificación de los organismos. Al ser menos rígidos, ocurre un mayor encogimiento en organismos más pequeños. Otro factor es la cantidad de agua en los tejidos que varía en función de la ontogenia. En organismos más pequeños la cantidad

de agua es proporcionalmente mayor (Quiñonez-Velázquez y Chaumillon, 1996), por lo que la cantidad de fluido que se pierde en relación a la biomasa es también mayor. Este comportamiento ha sido documentado por Cunningham *et al.* (2000), Buchheister y Wilson (2005) y Fey y Hare (2005). Las variaciones en LE mostradas en la Figura 15a, se deben a una disminución en talla de la mayoría de los organismos. Como se observó en la Figura 15a, los organismos pequeños muestran un encogimiento menor, e inclusive, hay tres casos (LE<50 mm) de expansión. Esto contradice la idea generalizada de una mayor variación en organismos de talla menor, al igual que los casos aislados (organismos 7, 9, 17, 43) que presentaron poca variación a lo largo del experimento, independientemente de la talla y especie.

En el caso de la variable A, se observa una menor variación en los organismos de talla mayor, contrario a lo observado en LE (Figura 15b). Ya se ha mencionado que la variación de A depende de las tasas de variación del organismo en diferentes ejes mientras que las de LE se relacionan con uno solo. Sagnes (1997) menciona que la respuesta de los tejidos a los agentes preservantes puede variar en función de los hábitos alimenticios, determinados en gran parte por la ontogenia de las especies. En un estudio para conocer las dietas de cuatro especies de gerreidos, se encontraron variaciones inter-específicas en *Eucinostomus gula*, *E. argenteus*, *E. jonesi*, *E. lefroyi*, correlacionadas con la ontogenia de las especies y su distribución espacial (Kerschner *et al.*, 1985). Es probable que los hábitos alimenticios influyan en la composición de los tejidos de *E. harengulus*, *E. argenteus* y *E. gula*, repercutiendo en su respuesta a la preservación, y explicando así las tendencias aleatorias observadas en cada landmark, sin embargo, en este trabajo no fue posible probar dicha hipótesis.

Como se observó en todas las variables, el comportamiento en función de la preservación fue aleatorio. Debido a que son muchos los factores que afectan la respuesta del organismo a la preservación, resulta limitado el cálculo de ecuaciones que describan el comportamiento de cada variable. Mediante el cálculo de las FEO, fue posible la identificación y remoción de la variabilidad causada durante este experimento en cada uno de los organismos.

## Repercusiones en el análisis morfométrico

El efecto de la preservación en la forma de *Eucinostomus argenteus*, ha sido evaluado en un periodo de 83 días por Martinez *et al.* (2012). Existen similitudes en el procedimiento seguido por Martinez *et al.* (2012) y el presente trabajo. Por ejemplo, la captura de información mediante imágenes digitales, la transformación de coordenadas y el análisis de 13 landmarks mediante técnicas de morfometría geométrica (9 de ellos son homólogos a 9 de los 10 landmarks propuestos para este trabajo).

En la Figura 20 se observa la dirección y magnitud de la variación para cada landmark como producto de la preservación. Estos resultados coinciden en gran medida con lo reportado por Martinez *et al.* (2012), por lo que se puede afirmar que la fijación en formaldehído al 10% y la preservación en etanol al 70% ejercen una influencia en la forma de los peces. Las diferencias significativas que reportan Martinez *et al.* (2012) corresponden solamente a los datos obtenidos para *E. argenteus* por lo que concluyen que es recomendable realizar este tipo de análisis. Sin embargo, aunque en este trabajo se consideraron tres especies del género *Eucinostomus* que mostraron la existencia de variaciones de la forma causadas por la preservación, los resultados indican que las variaciones individuales son independientes de las interespecíficas por lo que el análisis morfométrico no aporta información que permita separar a estas tres especies sin tomar en cuenta otros caracteres taxonómicos (*E. gula*, *E. harengulus* y *E. argenteus*).



## Conclusiones

Se analizó la influencia del proceso de preservación de organismos en la morfometría de las especies *Eucinostomus gula*, *E. harengulus* y *E. argenteus* presentes en la laguna de la Carbonera y se concluyó lo siguiente:

Mediante el análisis de las FEO se logró identificar y extraer los patrones de variación producto de la preservación en cada organismo, los cuales son identificados individualmente y no como variaciones promedio como convencionalmente se hace.

La mayor parte de la variabilidad se explica con el modo 1 y corresponde a la influencia del formaldehído al 10% y el etanol al 70% sobre cada una de las variables analizadas.

El período en el que ocurren los cambios más grandes está comprendido en los primeros 5 días contados a partir del inicio del proceso de fijación con formaldehído. Si bien existen fluctuaciones en las amplitudes de variación durante los días posteriores al día 5, éstas tienen menor amplitud por lo que las tasas de cambio tienden a estabilizarse en función del tiempo.

La longitud estándar muestra una tendencia de encogimiento corporal durante el periodo de formaldehído y en etanol.

El área de la silueta presenta dos tendencias. Inicialmente, disminuye durante el periodo en formaldehído y aumenta después de que los organismos son trasvasados al etanol. Sin embargo, los peces no recuperan sus dimensiones iniciales.

Dado que la silueta depende del encogimiento y expansión de las diferentes zonas corporales, que ocurren de manera simultánea, el área proyectada de la silueta no es un buen estimador de la variabilidad morfométrica.

Aun cuando la composición de los tejidos puede variar en función de la ontogenia y la especie, no se tienen suficientes evidencias para asegurar que la preservación afecta diferencialmente a los organismos de distinto tamaño, como se ha observado en estudios similares.

De los 10 landmarks utilizados para monitorear la variación morfométrica de los organismos, los correspondientes a la base del último radio anal (L7) y a la base de la primera espina en la aleta pélvica (L9) son las que presentaron menor variación morfométrica durante la preservación.

Las variaciones resultantes en los landmarks correspondientes a la punta superior de la premaxila (L1), base del último radio dorsal (L4), borde posterior dorsal y ventral del pedúnculo caudal (L5 y L6), base de la primer espina anal (L8) y margen anterior del istmo (L10), son indicativas del encogimiento corporal.

Las variaciones en la base de la primera espina dorsal (L2) y base del primer radio dorsal (L3) son indicativas de la expansión corporal.

Las variaciones propias de las especies *E. harengulus*, *E. argenteus* y *E. gula*, son mayores a las causadas por la preservación. Con los 10 landmarks propuestos no es posible identificar los morfotipos de estas tres especies por lo que los métodos de preservación utilizados no son determinantes en el análisis morfométrico.

La preservación ejerce una influencia diferente sobre cada una de las variables. El comportamiento de estas variaciones, tanto en magnitud como en dirección, no muestra tendencias claras por lo que no fue posible encontrar una relación matemática que lo describa y mediante la cual pudiera corregirse el efecto de preservación en la forma de los organismos.

## **CAPÍTULO III. Variabilidad morfométrica del género *Eucinostomus* en la Carbonera**

### **Introducción**

Las características morfológicas de las especies dependen de su propia información genética, colectada a través de siglos de selección natural, así como la respuesta del genoma a las condiciones ambientales (Thompson, 1991). Por tanto, la interacción entre el ambiente y la biota deriva en la diversidad biológica, morfológica y funcional de los organismos. Es por ello que para la descripción y discriminación de los taxa es frecuente el estudio de la forma corporal mediante al análisis de caracteres morfométricos que miden el tamaño relativo y la localización relativa de algunas estructuras corporales (Strauss y Bond, 1990). Muchas especies filogenéticamente cercanas presentan diferencias morfológicas y es posible observar variaciones en la forma corporal en individuos de una misma especie (Barlow, 1961). La variación en las formas corporales o la aparición de morfotipos específicos pueden surgir de manera inmediata como respuesta a estímulos ambientales (Klingenberg, 1996; Walker, 1997; Zelditch *et al.*, 2004; Fulton *et al.*, 2005).

De acuerdo con Barlow (1961), las variaciones morfológicas intra-específicas tienen dos componentes: el componente geográfico, en el que las diferencias inter-poblacionales dependen directamente de factores ambientales; y los factores intrínsecos de las especies. Dentro de los factores intrínsecos el tamaño corporal, el sexo, y la misma ontogenia de las especies son causa de variación morfológica (Helfman *et al.*, 2009).

Los ambientes acuáticos presentan una alta variación en sus características abióticas, lo cual repercute en la distribución y adaptación de las especies biológicas (Lowe-McConnell, 1987). Como consecuencia, uno de los grupos de vertebrados con mayor diversidad es el de los peces (Nelson, 2006; Helfman *et al.*, 2009), que además, evidencian una plasticidad fenotípica alta (Barlow, 1961; Allendorf *et al.*, 1987; Albertson y Kocher, 2001; Imre *et al.*, 2002). Esta plasticidad fenotípica dificulta el

quehacer de la sistemática y taxonomía de las especies ícticas, ya que las variaciones intra-específicas en ocasiones son mayores que las inter-específicas. Aunado a lo anterior, la alometría es otro factor que puede causar variación morfométrica intra-específica (Reis *et al.*, 1998; Cadrin, 2000; Klingenberg *et al.*, 2003).

En los estudios tradicionales sobre la forma de los organismos, se han utilizado técnicas de análisis multivariable que se aplican a un conjunto de mediciones lineales, utilizadas para describir el tamaño relativo de las estructuras corporales. Una de las desventajas de estas mediciones es que sólo capturan la información relativa a un plano longitudinal con lo cual, difícilmente se refleja la variación morfométrica de los organismos (Strauss y Bookstein, 1982). La morfometría geométrica surge como una alternativa a los métodos tradicionales y permite el análisis multivariable de hitos o landmarks localizados sobre las formas biológicas (Bookstein, 1982; Adams, 1999; Richtsmeier *et al.*, 2002). La información obtenida a partir de los landmarks captura la geometría bidimensional o tridimensional de las estructuras morfológicas (Fink, 1990). Esto representa una ventaja sobre la morfometría tradicional, considerando que según Thompson (1942), la forma depende de la tasa de crecimiento en los organismos y además, ocurre en múltiples direcciones, por lo que a partir de los landmarks es posible capturar esta información. La morfometría geométrica no solo ha sido utilizadas para la caracterización morfométrica de las especies, sino que también permiten la caracterización de subgrupos dentro de la misma especie (Cadrin, 2000)

Las especies del género *Eucinostomus* son consideradas entre las más problemáticas para su identificación taxonómica a partir de caracteres morfométricos (Matheson *et al.*, 1984; Castro-Aguirre *et al.*, 1999; Ruiz-Carus y Uribe-Alcocer, 2003; González-Acosta, 2005). Las diferencias inter-específicas e inter-genéricas son pequeñas, principalmente en juveniles (Matheson *et al.*, 1984). Esta variación no puede ser identificada por los caracteres morfométricos tradicionales y es común que se traslapen los morfotipos entre especies filogenéticamente cercanas.

En este trabajo se explora la forma de las especies *Eucinostomus gula*, *E. harengulus* y *E. argenteus*, mediante técnicas de morfometría geométrica. Con la finalidad de probar nuevos caracteres morfométricos que permitan la identificación de especies, así como la identificación de posibles morfotipos en función de la talla, se analizaron 10 landmarks elegidos bajo el esquema del Truss (Strauss y Bookstein, 1982), en juveniles recolectados en la laguna de la Carbonera. Se pretende aportar nuevos elementos que ayuden a solucionar el problema de la identificación morfométrica de las tres especies antes mencionadas.

## Materiales y Métodos

### Muestreo

La colección de peces del Laboratorio de Ecología de la UNAM, *campus* Sisal, resguarda material biológico colectado en la laguna de la Carbonera desde el mes de abril de 2009. Se establecieron clases de talla con amplitud de intervalo de 10 mm, se realizó un muestreo estratificado de las tres especies del género *Eucinostomus*, reportadas por Gallardo-Torres *et al.* (2012) como residentes del sistema lagunar. Como variable indicativa de la talla se utilizó la longitud estándar (LE) y se procuró seleccionar aleatoriamente 10 organismos de cada especie con centros de clase de 30, 40, 50, 60, 70, 80 y 90 mm y el límite entre clases de talla fue de  $\pm 4.9$  mm.

Se seleccionaron los organismos del género *Eucinostomus* preservados en la colección, utilizando para la identificación de las especies las claves taxonómicas de Matheson *et al.*, (1984), Castro-Aguirre *et al.* (1999), Carpenter (2001) y Mc Eachran y Fechhelm (2005). Se trabajó con un total de 184 individuos pertenecientes a tres especies (Tabla 4). El tamaño de muestra para *E. argenteus* y *E. gula* fue de 70 individuos para cada especie, quedando representada cada clase de talla por 10 individuos. En el caso de *E. harengulus* se trabajó con 44 organismos, dada la baja incidencia de organismos pequeños, las clases de talla menores no estuvieron igualmente representadas.

Tabla 4.- Tamaño de muestra por clase de talla.

Clase	Intervalo (cm)	<i>E. argenteus</i>	<i>E. gula</i>	<i>E. harengulus</i>
1	$2.5 \leq LE \leq 3.49$	10	10	2
2	$3.5 \leq LE \leq 4.49$	10	10	0
3	$4.5 \leq LE \leq 5.49$	10	10	2
4	$5.5 \leq LE \leq 6.49$	10	10	10
5	$6.5 \leq LE \leq 7.49$	10	10	10
6	$7.5 \leq LE \leq 8.49$	10	10	10
7	$8.5 \leq LE \leq 9.49$	10	10	10
<b>total</b>		<b>70</b>	<b>70</b>	<b>44</b>

## Obtención de la información

Se trabajó con los mismos 10 landmarks propuestos para el género *Eugerres* por González-Acosta (2005), mismos que se ubicaron en el contorno de los peces y que permiten aproximar la silueta de los organismos. El contorno en este caso resulta ser el mismo para ambos flancos del organismo, por lo que para la captura de imágenes se consideraron ambos flancos indistintamente. Para la captura de imágenes se utilizó una cámara digital Nikon (Coolpix 110) de 12.1 megapíxeles. Se siguió el mismo procedimiento para la captura de imágenes descrito en la sección de Material y Método del Capítulo II (Captura de imágenes).

Se digitalizaron los landmarks con el programa tpsDig (Rohlf, 2004). Las coordenadas fueron trasladadas, escaladas y rotadas según el método de mínimos cuadrados generalizado y se obtuvieron las coordenadas procrusteanas con el programa MorphoJ V. 1.04a (Klingenberg, 2011), ver Figura 22.

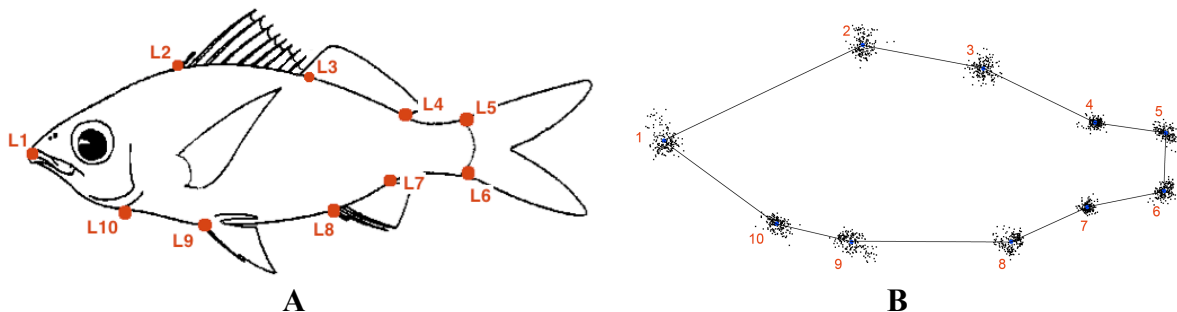


Figura 22.- **Superposición de coordenadas procrusteanas.** (A) 10 landmark propuestos para las especies de *Eucinostomus* de la Carbonera; (B) las coordenadas de los 10 landmarks trasladadas, rotadas y escaladas. Las líneas en la figura B se intersecan en los valores promedio de cada landmark, indicando la silueta o forma promedio de las tres especies. La dispersión en las nubes de puntos indica la variabilidad de cada landmark con respecto al promedio de todas las configuraciones.

## Análisis morfométrico

De acuerdo con lo descrito por Zelditch *et al.* (2004), se exploraron los patrones de variación mediante el análisis de los componentes principales de la matriz de varianza-covarianza, que fue obtenida con las coordenadas procrusteanas correspondientes a las configuraciones de todos los organismos. Para saber si los

patrones de variación están asociados a un posible crecimiento alométrico, se probó la hipótesis nula de independencia entre el tamaño del centroide y los componentes principales obtenidos mediante una prueba de permutaciones. La prueba de permutaciones simula la hipótesis nula, cambiando el valor del centroide aleatoriamente entre individuos (Klingenberg, 2011).

El análisis de variables canónicas es análogo al análisis de componentes principales, ya que permite la construcción de nuevas variables ortogonales (variables canónicas) que son una combinación lineal de los valores originales. A diferencia del análisis de componentes principales, estas variables son calculadas mediante los patrones de variación existentes en cada subgrupo de una misma muestra (Dryden y Mardia, 1998). Esta técnica es utilizada para evaluar la variación entre grupos con respecto a la variación dentro de los grupos mediante las distancias de Mahalanobis, que a diferencia de las distancias euclidianas, consideran la correlación entre las variables analizadas (Manly, 1986). Estableciendo grupos *a priori* por especie y clase de talla, se probó la hipótesis nula de igualdad entre las medias de cada grupo. Mediante el análisis de variables canónicas entre pares de grupos, se obtuvieron las variables discriminantes para especie y clase de talla.

Para visualizar el desplazamiento relativo de los landmarks se utilizó la función de interpolación de landmark *Thin-Plate Spline* (Bookstein, 1991). En el caso de los componentes principales se visualizaron los patrones de variación morfométrica, mientras que en el análisis de variables canónicas se observaron las variables discriminantes entre especie y clases de talla.



## Resultados

El 64.46% de la variación morfométrica fue explicada por los 3 primeros componentes principales de los cuales, el componente 1, explica el 28.95% de la variación y permite separar los patrones de variación morfométrica en función de las especies (Figura 23A). Los puntajes que corresponden a *E. gula* se agrupan en la región negativa, mientras que en la región positiva se agrupan las especies *E. harengulus* y *E. argenteus*. Se observa un traslape entre las especies *E. harengulus* y *E. argenteus* por lo que es posible agrupar a ambas especies en un mismo grupo morfométrico o morfotipo. Este componente presentó una baja correlación con el tamaño del centroide ( $r=0.302$ ,  $p<0.001$ ), por lo que la influencia del tamaño corporal es baja para los morfotipos explicados en este componente.

El componente 2 explicó el 20.06% de la variación, evidenciando un traslape entre los puntajes de las tres especies (Figura 23A y Figura 23B), por lo que no fue posible agrupar a cada especie. La correlación con el tamaño del centroide es aún menor que la del componente 1, aún cuando la prueba de independencia entre los puntajes y el tamaño del centroide resultó significativa ( $r= 0.168$ ,  $p<0.001$ ), la influencia del tamaño de los organismos en los morfotipos explicados por este componente es baja.

La varianza explicada por el componente 3 fue del 15.44% y muestra un traslape en los puntajes de las tres especies, por lo que al igual que el componente 2 no fue posible identificar diferencias en los morfotipos de las 3 especie (Figura 23B). Este componente presentó la mayor correlación con el tamaño del centroide ( $r= -0.749$ ,  $p<0.001$ ), por lo que la talla de los organismos influye en mayor medida en los grupos morfométricos explicados por este componente.

En la Figura 23C se muestran los morfotipos explicados en el componente 1. El morfotipo correspondiente a *E. harengulus* y *E. argenteus*, representa a organismos de menor altura, pedúnculo y la punta de la premaxila con una disposición más ventral, mientras que el morfotipo correspondiente a *E. gula* corresponde a organismos más

altos y con una disposición más dorsal en la región del pedúnculo y la punta de la premaxila.

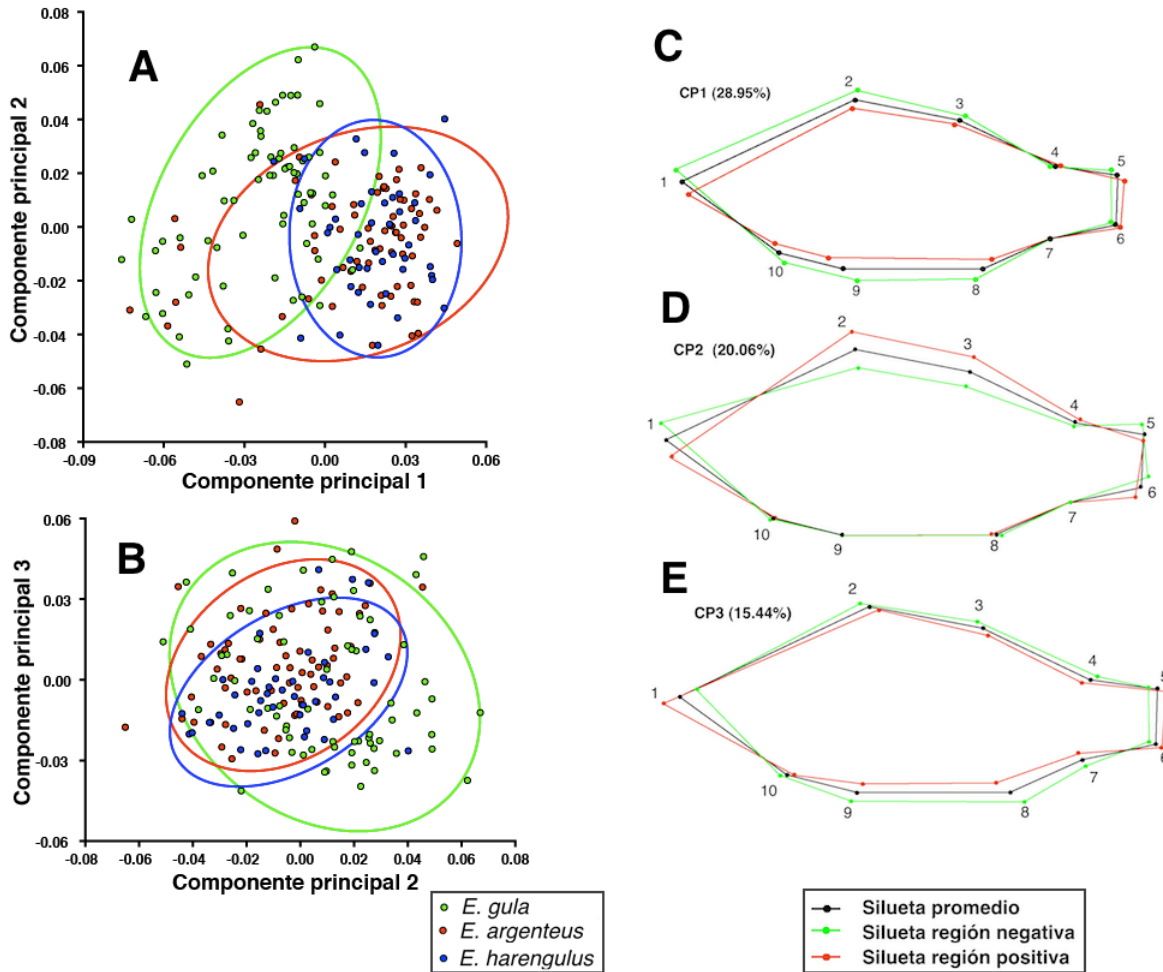


Figura 23.- **Patrones de variación por especies.** Se muestran los resultados de los 3 primeros componentes principales, en A y B se representan los puntajes para cada especie. En C, D y E los morfotipos o la variación de las siluetas debidas a cada componente.

En la Figura 24 se muestra el mismo análisis de los componentes principales, representando a los puntajes de las 7 clases de talla consideradas en este trabajo. En los componentes 1 y 2 se observa un traslape en todas las clases de talla. El componente 3 presentó una mayor correlación con el tamaño del centroide, lo que permitió identificar algunos grupos morfométricos en relación con las clases de talla. Los resultados mostraron cambios progresivos durante el desarrollo de los

organismos, al menos en el intervalo de tallas analizado ( $2.5 \text{ cm} \leq \text{LE} \leq 9.45 \text{ cm}$ ) de las tres especies.

Se observa un traslape entre los puntajes representativos de las clases de talla contiguas, mientras que en las clases de talla más alejadas el traslape es mínimo. Se puede observar una diferenciación de morfotipos en función de la talla, lo que permite agrupar a los organismos de las clase de talla 1 y 2 como pertenecientes al morfotipo I, cuyos puntajes en el análisis de los componentes principales corresponden a la región positiva; las clases de talla 3 y 4 pertenecen al morfotipo II, con puntajes al centro del componente; y las clases de talla 5, 6 y 7 constituyen el morfotipo III, con puntajes en la región negativa del componente. El cambio morfométrico inicia cuando se expresan las características que corresponden al morfotipo de los organismos más pequeños que presentan menor altura, pedúnculos y cabeza más alargados en el eje antero-posterior. La progresión continúa hasta que los organismos de clases de talla mayores presentan pedúnculos y cabezas más cortas, a la vez que la altura del cuerpo es mayor (Figura 23E).

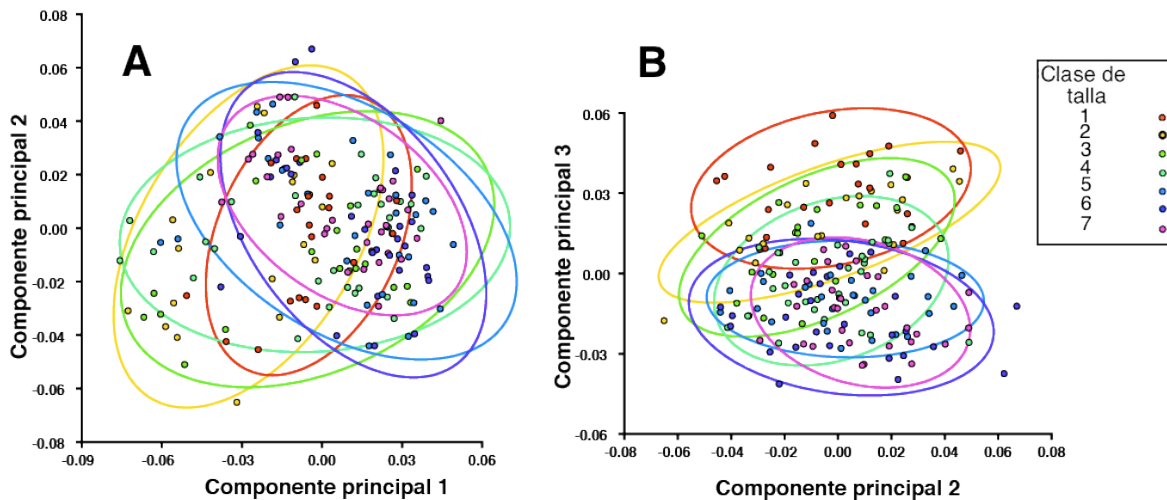


Figura 24.- **Patrones de variación por clases de talla.** Se muestran los resultados obtenidos en el análisis de los componentes principales y se representan los puntajes de las 7 clases de talla consideradas.

En la Figura 25 se muestran las variables canónicas obtenidas analizando las variables morfométricas de las tres especies. La variable canónica 1 representa el 94.195% de la variabilidad. Las elipses agrupan el 90% de los puntajes para cada especie y, aún cuando la prueba de igualdad de medias señala que existen diferencias significativas entre los tres grupos (Tabla 5), existe una zona de traslape entre las elipses de cada grupo. En el caso del eje canónico 1, el traslape es mayor entre *E. harengulus* y *E. argenteus*, mientras que *E. gula* presenta menor traslape con *E. argenteus* y una clara separación con *E. harengulus*. Las variables morfométricas con mayor peso corresponden a L2, L3, L8 y L9, que permiten diferenciar a *E. gula* de *E. argenteus* y *E. harengulus*. Para la variable canónica 1, se observa que las variables morfométricas contribuyen en mayor medida a la variación en el eje dorso-ventral, que permiten diferenciar a los organismos de *E. gula* puesto que son más altos y tienen el pedúnculo caudal dispuesto hacia la zona dorsal, diferenciándose así del morfotipo de *E. harengulus* y *E. argenteus*.

Tabla 5.- **Comparación entre pares de grupos.** Las distancias de Mahalanobis indican la distancia entre los centroides de cada grupo. El valor de “p” es obtenido mediante una prueba de permutaciones (10,000 iteraciones) para probar la hipótesis nula de igualdad de medias. En los tres primeros renglones se muestran los resultados para los pares de especies; los siguientes tres renglones muestran los resultados correspondientes a los tres morfotipos identificados en función de la talla.

Pares de grupos	Distancias entre grupos (Mahalanobis)	p
<i>E. gula</i> - <i>E. argenteus</i>	3.280	<0.0001
<i>E. gula</i> - <i>E. harengulus</i>	3.760	<0.0001
<i>E. argenteus</i> - <i>E. harengulus</i>	1.177	0.0015
I-II	3.016	<0.0001
I-III	4.374	<0.0001
II-III	2.090	<0.0001

La variable canónica 2 tiene asociado un porcentaje de variación bajo (5.805%), sin embargo, es posible identificar a L1, L2, L3, L7 y L8 como las variables discriminantes entre *E. harengulus* y *E. argenteus*. Las variables morfométricas varían en mayor

medida sobre el eje antero-posterior de los peces, se observan diferencias en la posición de las aletas dorsales, la punta superior de la premaxila y el tamaño de la aleta anal. *E. harengulus* presenta aletas dorsales desplazadas hacia la región anterior de los peces, la punta superior de la premaxila menos pronunciada y la base de la aleta anal más corta en comparación con *E. argenteus*.

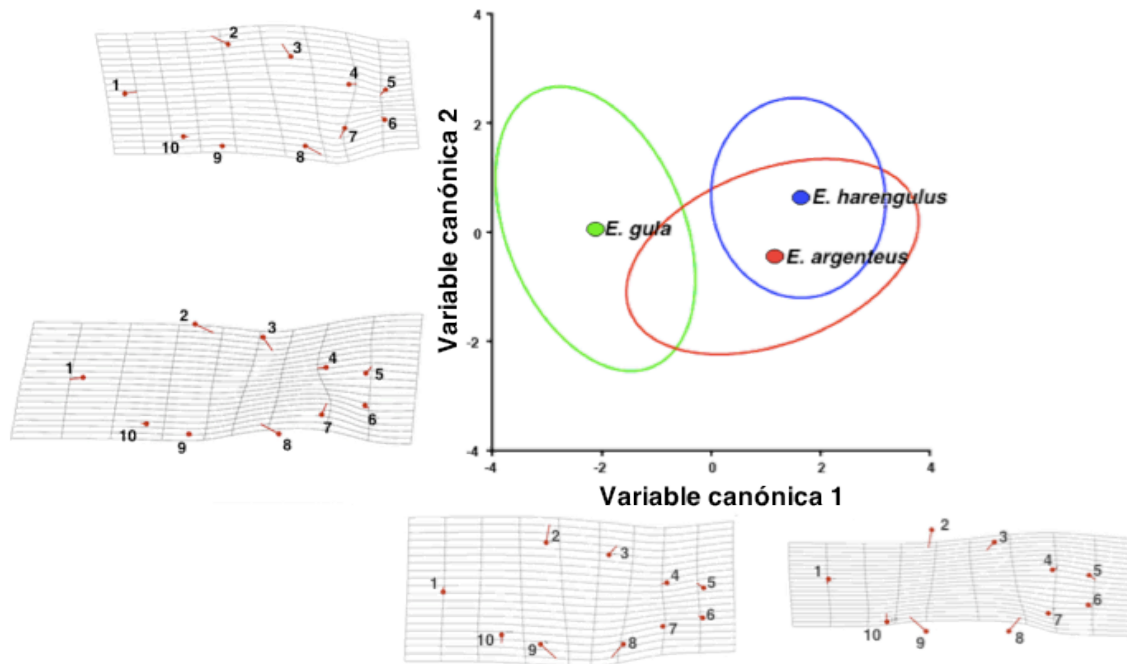


Figura 25.- **Variables canónicas por especie.** En los ejes canonicos se representan las medias de cada especie. Los diagramas de *Thin-plate spline* corresponden a la variación explicada en cada uno de los ejes canónicos. Los puntos que representan a cada uno de los landmarks corresponden a la forma promedio de los tres grupos, las variables discriminantes están representadas por las líneas en rojo que indican el peso y dirección de cada landmark en el eje canónico.

Se obtuvieron las variables canónicas entre los grupos por clases de talla identificados en los componentes principales (morfortipo I, II, y II), los resultados se muestran en la Figura 26. La variable canónica 1 explica el 89.945% de la variabilidad y el 10.055% restante corresponde a la variable canónica 2. La prueba de igualdad de medias muestra diferencias significativas entre los tres grupos (Tabla 5). En el eje canónico 1 se observa que el grupo II se traslapa con los grupos I y III, mientras que los grupos I y III están separados. Las variables L1, L2, L9 y L8 presentan una mayor variación en el

eje antero-posterior, los landmarks L3, L4, L5 y L6 presentaron además variación en el eje dorso-ventral.

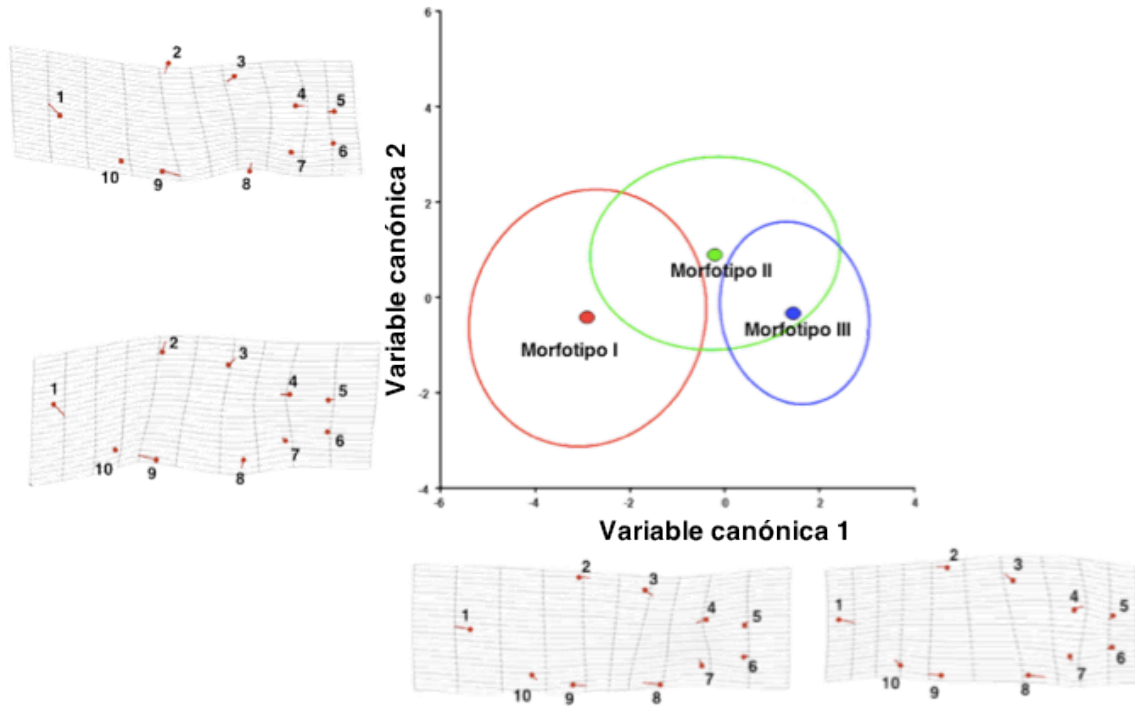


Figura 26.- **Variables canónicas por grupo de tallas.** En los ejes canonicos se representan las medias de los grupos por clases de talla, que se obtuvieron en el análisis de los componentes principales.

## Discusión

La forma corporal de los peces presenta una relación directa con sus hábitos natatorios (Wardle *et al.*, 1995). Las formas más elongadas son comunes en especies que requieren recorrer distancias largas (Webb, 1978) puesto que ofrecen menor resistencia al medio acuático (Fuiman y Batty, 2000). Resultados similares han sido obtenidos para diferentes especies como una propuesta de la relación desplazamiento-forma en peces (Barlow, 1961; Sfakiotakis *et al.*, 1999; Lauder, 2000; Blake, 2004). Sin embargo, los resultados obtenidos por estos autores no pueden ser extrapolados a todas las especies. Por ejemplo, el caso de *Carasius carasius* evidencia una alta plasticidad fenotípica puesto que presenta un morfotipo caracterizado por una mayor altura del cuerpo en presencia de un depredador. Los movimientos de escape producen el desarrollo de los músculos de la zona dorsal, incrementando esta medida lineal (Stabell y Lwin, 1997; Domenici *et al.*, 2008). Los peces con dorsos más anchos generalmente presentan formas poco elongadas, por lo cual no es posible explicar que las diferencias entre el morfotipo de *E. gula* y el morfotipo *E. harengulus*-*E. argenteus* se deban exclusivamente a las diferencias en los hábitos natatorios.

## Variabilidad entre especies

En el primer componente principal fue posible separar dos grupos morfométricos, el primero de ellos corresponde al morfotipo de *E. gula* con organismos más altos y con una disposición del hocico y el pedúnculo caudal en dirección dorsal, diferenciándose así de un segundo morfotipo compuesto por las especies *E. harengulus* y *E. argenteus*. El análisis de las variables canónicas identificó a las variables L2, L3, L8 y L9 como las que discriminan a *E. gula* del morfotipo de *E. harengulus* y *E. argenteus*. Estos resultados coinciden parcialmente con lo reportado por Matheson *et al.* (1984), quienes pudieron diferenciar a partir de 20 caracteres morfométricos tradicionales, al morfotipo de *E. gula* con una mayor altura en comparación con las especies *E. argenteus*, *E. harengulus* y *E. jonesi*.

La altura corporal no es de utilidad para la discriminación entre *E. harengulus* y *E. argenteus*, debido a que en ambas especies se presentan amplitudes de variación similares para este carácter. Un carácter morfométrico que resulta de mayor utilidad para la diferenciación de estas dos especies, es la longitud de la base de la aleta anal que, según Matheson *et al.* (1984), es mayor en *E. argenteus*. En la Figura 25, el eje canónico 2, es posible observar una mayor diferencia entre las medias de ambos grupos. De entre los landmarks que permiten la discriminación de estas dos especies, L7 y L8 describen la longitud de la base de la aleta anal, y se puede corroborar que las dimensiones de este carácter es mayor en *E. argenteus*. Sin embargo, el porcentaje de variación explicado en este eje es bajo (5.8%), además de que sus elipses presentan un traslape importante en ambos ejes canónicos, por lo que no es posible concluir acerca de las diferencias entre estas dos especies.

### **Variabilidad en función de la talla**

Las principales variaciones en función de la talla ocurrieron en el eje antero-posterior de las 3 especies de *Eucinostomus* aquí estudiadas. Mediante el análisis de las variables canónicas fue posible identificar que la mayor variación morfométrica entre especies ocurre por el crecimiento diferencial de los peces en el eje dorso-ventral, mientras que los cambios que en función de las clases de talla se reflejan con mayor claridad en las variaciones del eje antero-posterior.

A diferencia del comportamiento observado en el análisis de componentes principales, las variables discriminantes L2, L3, L8 y L9 no indican que exista una variación importante en la altura corporal. Sin embargo se observa que las aletas dorsales y pélvicas se desplazan hacia la región caudal al mismo tiempo que el inicio de la base de la aleta anal se desplaza hacia la parte frontal en los peces de menor talla, así como hocicos más pronunciados. De acuerdo con este análisis, las principales diferencias entre clases de talla ocurren en el eje antero-posterior.

Recordemos que *E. harengulus* no estuvo igualmente representada en las clases de talla menores de 5 cm y, dada la variabilidad en el eje antero-posterior entre clases de talla, es posible que las diferencias antes mencionadas entre *E. argenteus* y *E.*



*harengulus* (diferencias que ocurren básicamente en el eje antero-posterior de los organismos) estén influenciadas por la carencia de organismos de menor talla en *E. harengulus* y no necesariamente por diferencias entre especies.

Una característica morfológica de las mojarra es un aparato bucal protractil, que les permite la captura de la infauna asociada a fondos lodosos y arenosos. Los resultados para las especies de *Eucinostomus* analizadas, indican que los organismos más pequeños poseen bocas más pronunciadas. Si bien esta característica no les permite la captura de presas de mayor tamaño, es probable que al poseer bocas más pronunciadas, puedan acceder a organismos que se encuentran a una profundidad relativamente mayor de acuerdo a su talla.

De acuerdo con Kerschner *et al.* (1985), por lo menos en las especies *E. gula* y *E. argenteus*, existe un cambio en los hábitos alimentarios durante su desarrollo, por lo que es posible asociar la variabilidad del landmark 1 con las diferencias alimentarias. En otros trabajos se ha encontrado que el aparato bucal presenta una alta variación en los peces y que esta variación está altamente relacionada con los hábitos alimenticios de las especies (Meyer, 1987; Albertson y Kocher, 2001; Klingenberg *et al.*, 2003). Se ha documentado en organismos de hábitos alimenticios bentónicos que los peces de menor talla presentan bocas relativamente más pronunciadas que les permiten la captura de sus presas en el fondo de los cuerpos acuáticos (Barlow y Munsey, 1976; Klingenberg *et al.*, 2003).

Debido a que las variaciones morfométricas ocurren en diferentes direcciones y dependen, por lo menos, de la especie y la talla, los resultados obtenidos nos muestran lo complejo que resulta el arreglo morfométrico de estas tres especies. Esto explica el hecho de que las distancias lineales entre pares de landmarks no necesariamente reflejen las diferencias morfométricas entre los grupos. Se ha mencionado que las mediciones lineales dificultan la discriminación entre especies del género *Eucinostomus* (Castro-Aguirre *et al.*, 1999). Fundamentalmente, esto se debe a que la magnitud de las variaciones inter-específicas son relativamente importantes si se comparan con las intra-específicas (Ruiz-Carus y Uribe-Alcocer, 2003; González-

Acosta, 2005), hecho que se corrobora al comparar los morfotipos de *E. harengulus* y *E. argenteus*.

## Conclusiones

Con la finalidad de probar la existencia de variabilidad morfométrica inter-específica e intra-específica en el grupo *Eucinostomus* que habita en la laguna de la Carbonera, se analizaron 10 landmarks posicionados bajo el esquema de Truss y se concluyó lo siguiente:

La mayor variación observada en los componentes principales corresponde a la formación de grupos morfométricos en función de la especie.

Las elipses que describen las formas básicas de *E. harengulus* y *E. argenteus* presentaron un traslape importante. Aunado a la baja representación de *E. harengulus* en las clases de talla menores a 5 cm, no existen argumentos morfométricos para diferenciar a ambas especies, por lo que fueron agrupadas en un mismo morfotipo, diferente al de *E. gula*. El morfotipo asociado a estas dos especies corresponde a organismos con menor altura, que tienen el pedúnculo y la punta de la premaxila dispuestos ventralmente.

El componente principal 3 presentó una mayor correlación con las variaciones debidas al crecimiento de los individuos. Se pudo comprobar que existe una progresión morfométrica a lo largo del desarrollo que permite diferenciar a organismos de distintas clases de talla. Los organismos más pequeños presentan un morfotipo caracterizado por la punta superior de la premaxila y pedúnculos más pronunciados. También se observa que las aletas dorsales y pélvicas están desplazadas hacia la región caudal del cuerpo, mientras que el inicio de la base anal se desplaza hacia la parte anterior.

Las principales diferencias morfológicas inter-específicas tienen su origen en las variaciones que se presentan en el eje dorso-ventral de los organismos.

Las diferencias ontogenéticas de cada una de las especies estudiadas son consecuencia de las variaciones de la forma que se presentan en el eje antero-posterior de los organismos.

Las bocas más pronunciadas en organismos de menor talla pueden estar relacionadas con la disposición de sus presas en el sustrato.

## Literatura citada

- Adams, C. D. (1999). Methods for shape analysis of landmarks data from articulated structures. *Evolutionary Ecology Research*. 1:959-970.
- 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.
- Aguirre-León, A., y S. Díaz-Ruiz (2000). Estructura poblacional, madurez gonádica y alimentación de *Eugerres plumieri* (Gerreidae) en el sistema fluvio-deltaico Pom-Atasa, México. *Ciencias Marinas*. 26:253-273.
- Aguirre-León, A., y A. Yáñez- Arancibia (1984). Las mojarra de la laguna de Términos: taxonomía, biología, ecología y dinámica trófica. (Pisces: Gerreidae). *Anales del Instituto de Ciencias del Mar y Limnología*. 13:369-444.
- Albertson, R. C., y T. D. Kocher (2001). Assessing morphological differences in an adaptative trait: a landmark-based morphometric approach. *Journal of Experimental Zoology*. 289:385-403.
- Albertson, R. C., J. T. Streelman, y T. D. Kocher (2003). Genetic basis of adaptative shape differences in the cichlid head. *Journal of Heredity*. 94:291-301.
- Allendorf, F., N. Ryman, y F. Utter (1987). Genetics and fishery management: past, present and future. p. 1-19. In: *Population genetics and fishery management*. N. Ryman y F. Utter (eds.). University of Washington Press, Seattle and London.
- Arceo-Carranza, D., y M. E. Vega-Cendejas (2009). Spatial and temporal characterization of fish assemblages in a tropical coastal system influenced by freshwater inputs: northwestern Yucatan Peninsula. *Revista de Biología Tropical*. 57:89-103.
- Barlow, G. W. (1961). Causes and significance of morphological variation in fishes. *Systematic Zoology*. 10:105-117.

- Barlow, G. W., y J. W. Munsey (1976). The red devil-Midas arrow cichlid species complex in Nicaragua. p. 359-369. In: Investigations of the ichthyofauna of Nicaraguan lakes. T. B. Thorson (ed.). School of Life Sciences, University of Nebraska.
- Benítez, H. A., y L. E. Parra (2011). Asimetría fluctuante: una herramienta morfo-funcional para medir estabilidad del desarrollo. *International Journal of Morphology*. 29:1459-1469.
- Billy, A. J. (1982). The effects of formalin and isopropyl alcohol on length and weight measurements of *Sarotherodon mossambicus* Trewavas. *Journal of Fish Biology*. 21:107-112.
- Blake, R. W. (2004). Review fish functional desing and swimming performance. *Journal of Fish Biology*. 65:1193-1222.
- Blaxter, J. H. S. (1988). Pattern and variety in development. p. 546. In: *Fish physiology*. Vol. 11 W. S. Hoar y D. J. Randall (eds.). Academic Press Inc., San Diego, California.
- Bookstein, F. L. (1982). Foundations of morphometrics. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 13:451-70.
- Bookstein, F. L. (1989a). Principal warps: Thin-Plate Splines and descomposition of deformations. *IEEE Transaction on Pattern Analysis and Machine Intelligence*. 2:567-585.
- Bookstein, F. L. (1989b). "Size and shape": a comment on semantics. *Systematic Zoology*. 38:173-180.
- Bookstein, F. L. (1990a). Introduction and overview: geometry and biology. p. 61-74. In: *Proceedings of the Michigan morphometric workshop Vol. 2*. F. J. Rohlf y F. L. Bookstein (eds.). The University of Michigan Museum of Zoology, Ann Arbor, Michigan.

- Bookstein, F. L. (1990b). Multivariate methods. p. 75-76. In: Proceedings of the Michigan morphometric workshop. Vol. 2. F. J. Rohlf y F. L. Bookstein (eds.). The University of Michigan Museum of Zoology, Ann Arbor, Michigan.
- Bookstein, F. L. (1991). Morphometric tools for landmark data. 1a. Cambridge University Press, Cambridge.
- Bookstein, F. L., B. Chernoff, R. L. Elder, J. M. J. Humphries, G. R. Smith, y R. E. Strauss (1985). Morphometrics in evolutionary biology. Academy of Natural Sciences Press, Philadelphia.
- Bronte, C. R., y S. A. Moore (2007). Morphological variation of Siscowet lake trout in lake Superior. American Fisheries Society. 136:509-517.
- Buchheister, A., y M. T. Wilson (2005). Shrinkage correction and length conversion equations for *Theragra chalcogramma*, *Mallotus villosus* and *Theleichthys pacificus*. Journal of Fish Biology. 67:541-548.
- Burnes-Romo, L. A. (2009). Estatus taxonómico de *Gerres cinereus* (Walbaum, 1792) (Teleostei: Gerreidae). Tesis de Maestría no publicada. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional, La Paz, Baja California. 83p.
- Butler, J. L. (1992). Collection and preservation of material for otolith analysis. p. 13-17. In: Otolith microstructure examination and analysis. Vol. 117. D. K. Stevenson y S. E. Campana (eds.). Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences Ottawa, Canada.
- Cadrin, S. X. (2000). Advances in morphometric identification of fishery stocks. Reviews in Fish Biology and Fisheries. 10:91-112.
- Cailliet, G. M., M. S. Love, y A. W. Ebeling (1986). Fishes: a field and laboratory manual on their structure, identification, and natural history. Wadsworth Publishing Company, Belmont, California.

- Carpenter, K. E. (2002). FAO: The living marine resources of the western central Atlantic. Volume 2: Bony fishes part 1. Species Identification Guide for Fishery Purposes and American Society of Ichthyologist and Herpetologist. Special Publication No. 5. FAO.
- Carr, W. E. S., y C. A. Adams (1973). Food habits of juvenile marine fishes occupying seagrass beds in the estuarine zone near Crystal river, Florida. Transaction of the American Society. 102:511-539.
- Castro-Aguirre, J. L., H. Espinoza, y J. J. Schmitter-Soto (1999). Ictiofauna estuario-lagunar y vicaria de México. Editorial Limusa, México.
- Cervigón, F., R. Cipriani, W. Fischer, L. Garibaldi, M. Hendrickx, A. J. Lemus, R. Marquez, J. M. Poutiers, G. Robaina, y B. Rodríguez (1993). Field guide to the commercial marine and brackish-water resources of the northern coast of South America. Food and Agriculture Organization of The United Nations, Rome.
- Chiappa-Carrara, X., A. Gallardo-Torres, C. Galindo- De Santiago, J. Loera-Pérez, R. Rioja-Nieto, y M. Badillo-Alemán (2012). Refugios estuarinos: cambios en la estructura de la comunidad de peces en la laguna de la Carbonera durante un evento de marea roja. In: Recursos acuáticos costeros del sureste. Vol. 2. A. J. Sánchez, X. Chiappa-Carrara, y R. Bríto-Pérez (eds.). Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.
- Comisión Nacional del Agua (2002). Determinación de la disponibilidad de agua en el acuífero Península de Yucatán, Estado de Yucatán. G. d. A. Subterráneas (ed.). Comisión Nacional del Agua, México.
- Cunningham, M. K., W. F. Granberry y K. L. Pope (2000). Shrinkage of inland silverside larvae preserved in ethanol and formalin. North American Journal of Fisheries Managment. 20:816-818.
- De la Cruz-Agüero, J., y F. Galván-Magaña (1993). Morphological discrimination of *Eucinostomus* spp. from the Pacific coast of Mexico. Bulletin of Marine Science. 52:819-824.



- Domenici, P., H. Turesson, J. Brodersen, y C. Brönmark (2008). Predator-induced morphology enhances escapes locomotion in Crucian carp. *Proceeding Biological Sciences*. 22:195-201.
- Dryden, I. L., y K. V. Mardia (1998). *Statistical shape analysis*. Wiley & Sons, Chichester.
- Emery, W. J., y R. E. Thomson (2004). *Data analysis methods in physical oceanography*. 2a Edición. Elsevier B. V., Oxford.
- Espinosa-Pérez, H. (2003). La colección nacional de peces, métodos y usos. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas*. 6:30-36.
- Fey, D. P., y J. A. Hare (2005). Length correction for larval and early-juvenile Atlantic manhaden (*Brevoortia tyrannus*) after preservation in alcohol. *Fishery Bulletin*. 103:725-727.
- Fink, W. L. (1990). Data acquisition for morphometric analysis in sistematic biology. p. 9-19. In: *Proceedings of the Michigan morphometrics workshop*. F. J. Rohlf y F. L. Bookstein (eds.). The University of Michigan Museum of Zoology, Ann Arbor, Michigan.
- Fitzgerald, D. G., J. W. Nanson, T. N. Todd, y B. M. Davis (2002). Application of truss analysis for the quantification of changes in fish condition. *Journal of Aquatic Ecosystem Stress and Recovery*. 9:115-125.
- Fox, C. J. (1996). Length change in herring (*Clupea harengus*) larvae: effects of capture and storage in formaldehyde and alcohol. *Journal of Plankton Research*. 8:483- 493.
- Fuentes-Mata, P. (1991). Diversidad ictiofaunística en sistemas lagunares de México. In: *Físico-química y biología de las lagunas costeras mexicanas*. M. G. Figueroa, C. Álvarez, A. Esquivel, y M. E. Ponce (eds.). Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, México.

- Fuiman, L., y R. Batty (2000). What a drag it is getting cold: partitioning the physical and physiological effects of temperature on fish swimming. *Journal of Experimental Biology*. 200:1745-1755.
- Fulton, C. J., D. R. Bellwood, y P. C. Wainwright (2005). Wave energy and swimming performance shape coral reef fish assemblages. *Proceedings of the Royal Society*. 272:827-832.
- Gallardo-Torres, A., M. Badillo-Alemán, C. Galindo-De Santiago, J. Loera-Pérez, R. Rioja-Nieto, y X. Chiappa-Carrara (2012). Listado taxonómico de los peces de la laguna Boca de la Carbonera, Yucatán: un primer paso para el manejo y evaluación de los recursos costeros del norte de Yucatán. In: Recursos acuáticos costeros del sureste. Vol. 2. A. J. Sánchez, X. Chiappa-Carrara, y R. Brito-Pérez (eds.). Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.
- Gayon, J. (2000). History of the Concept of Allometry. *American Zoology*. 40:748-758.
- González-Acosta, A. F. (2005). Estudio sistemático y biogeográfico del género *Eugerres* (Perciformes: Gerreidae). Tesis de Doctorado no publicada. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, Instituto Politécnico Nacional, La Paz, Baja California Sur. 207p.
- González-Acosta, A. F., J. De la Cruz-Agüero, y J. L. Castro-Aguirre (2007). A review of the marine western Atlantic species of the genus *Eugerres* (Perciformes: Gerreidae). *Bulletin of Marine Science*. 80:109- 124.
- González-Díaz, A. A., E. Díaz-Pardo, M. Soria-Barreto, y R. Rodiles-Hernández (2005). Análisis morfométrico de los peces del grupo, género *Profundulus* (Cyprinodontiformes: Profundulidae), en Chiapas, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 76:55-61.
- Hair, J. F., R. E. Anderson, R. L. Tatham, y W. C. Black (1999). Análisis multivariante. 5ª. Prentice Hall, Madrid, España.
- Hard, J. J., G. A. Winans, y J. C. Richardson (1999). Phenotypic and genetic architecture of juvenile morphometry in Chinook salmon. *The Journal of Heredity*. 90:597-606.

- Helfman, G. S., B. B. Collette, D. E. Facey, y B. W. Bowen (2009). The diversity of fishes biology, evolution, and ecology. 2. Wiley-Blackwell.
- Hjörleifsson, E., y G. Klein-MacPhee (1992). Estimation of live standard length of winter flounder *Pleuronectes americanus* larvae from formalin-preserved, ethanol-preserved and frozen specimens. Marine Ecology Progress Series. 82:13-19.
- Hubbs, C. L., y K. F. Lagler (1949). Guide to the Great Lakes region. Institute of Science, Cranbrook.
- Huxley, J. S. (1932). Problems of relative growth. Lincon Mac Veagh, The Dial Press, New York.
- Imre, I., R. L. Mc Laughlin, y D. L. G. Noakes (2002). Phenotypic plasticity in Brook Charr: change in caudal fin induced by water flow. Journal of Fish Biology. 61:1171-1181.
- Jawad, L. A. (2003). The effect of formalin, alcohol and freezing on some body proportions of *Alepes djeddaba* (Pisces: Carangidae) collected from the Red Sea coast of Yemen. Revista de Biología Marina y Oceanografía. 38:77-80.
- Jennings, S. (1991). The effect of capture, net retention and preservation upon lengths of larval and juveniles bass, *Dicentrarchus labrax* (L.). Journal of Fish Biology. 38:349-357.
- Jerónimo, G., J. Gómez-Valdéz, M. Badillo, K. López-Aguiar, C. Galindo, A. Gallardo, J. Loera, L. Arroyo-Pedraza, y X. Chiappa-Carrara (2012). Variación estacional de temperatura y salinidad en la Boca de la Carbonera, Yucatán (2009-2010). In: Recursos acuáticos costeros del sureste. Vol. 2. A. J. Sánchez, X. Chiappa-Carrara, y R. Bríto-Pérez (eds.). Universidad Nacional Autónoma de México, México, D. F.
- Joyeaux, J. C., y A. Baker-Ward (1998). Constraints on coastal lagoon fisheries. Advances in Marine Biology. 34:73-199.
- Kendall, D. G. (1977). The diffusion of shape. Advances in Applied Probability. 9:428-430.

- Kerschner, B. A., M. S. Peterson, y R. G. Gilmore (1985). Ecotopic and ontogenic trophic variation in mojarras. *Estuaries*. 8:311-322.
- Klingenberg, C. P. (1996). A combined morphometric and phylogenetic analysis of an ecomorphological trend: pelagization in Antarctic fishes (Perciformes: Nototheniidae). *Biological Journal of The Linnean Society*. 59:143-177.
- Klingenberg, C. P. (2011). MorphoJ: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*. 11:353-357.
- Klingenberg, C. P., M. Barluenga, y A. Meyer (2003). Body shape variation in cichlid fishes of *Amphilophus citrinellus* species complex. *Biological Journal of The Linnean Society*. 80:397-408.
- Klingenberg, C. P., y G. S. McIntyre (1998). Geometric morphometrics of developmental instability: analyzing patterns of fluctuating asymmetry with procrustes methods. *Evolution*. 52:1363-1375.
- Lajus, D. L., y V. R. Alekseev (2004). Phenotypic variation and developmental instability of life-history traits: a theory and case study on within-population variation of resting eggs formation in *Daphnia*. *Journal of Limnology*. 63:37-44.
- Lauder, G. V. (2000). Function of the caudal fin during locomotion in fishes: kinematics, flow visualization, and evolutionary patterns. *American Zoologist*. 40:101-122.
- Lens, L., S. Van Dongen, S. Kark, y E. Matthysen (2002). Fluctuating asymmetry as an indicator of fitness: can we bridge the gap between studies? *Biological Review*. 77:27-38.
- Logan, B. W., J. L. Harding, W. M. Ahr, J. D. Williams, y R. G. Snead (1969). Late cuaternary sediments of Yucatan shelf, México. p. 5-28. In: *Carbonate sediments and reefs*. Vol. 11. B. W. Logan, A. R. MacBirney, M. N. Bass, y D. E. Cebulski (eds.). Tulsa: American Association of Petroleum Geologists.

- Lowe-McConnell, R. H. (1987). *Ecological studies in tropical fish communities*. Cambridge University Press, Cambridge.
- Lucentini, L., A. Carosi, R. Erra, G. Giovinazzo, M. Lorenzoni, y M. Mearelli (1998). Fluctuating asymmetry in Perch *Perca fluviatilis* (Percidae) from three lakes of the Region Umbria (Italy) as a tool to demonstrate the impact of man-made lakes on developmental stability. *Italian Journal of Zoology*. 65:445-447.
- Manly, B. F. J. (1986). *Multivariate statistical methods*. Chapman & Hall, London.
- Marcus, L. F. (1990). Traditional morphometrics. p. 77-122. In: *Proceedings of the Michigan morphometric workshop*. Vol. 2. F. J. Rohlf y F. L. Bookstein (eds.). The University of Michigan Museum of Zoology, Ann Arbor, Michigan.
- Mardia, K. V., F. L. Bookstein, y I. J. Moreton (2000). Statistical assessment of bilateral symmetry of shapes. *Biometrika*. 87:285-300.
- Martinez, P. A., W. M. Berbel-Filho, y U. P. Jacobina (2012). Is formalin fixation and ethanol preservation able to influence in geometric morphometric analysis? Fishes as a case study, p. 1-7. In: *Zoomorphology*. Vol. 131. SpringerLink.
- Matheson, R. E., J. D. McEachran, y J. McEachran (1984). Taxonomic studies of the *Eucinostomus argenteus* complex (Pisces: Gerreidae): preliminary studies of external morphology. *Copeia*. 4:893-902.
- Mc Eachran, J. D., y J. D. Fechhelm (2005). *Fishes of the gulf of Mexico: Scorpaeniformes to Tetraodontiformes*. University of Texas Press, Austin.
- McGarian, K., S. Cusman, y S. Stafford (2000). *Multivariate statistic for wildlife and ecology research*. Springer-Verlag, New York.
- Meyer, A. (1987). Phenotypic plasticity and heterochrony in *Cichlasoma managuense* (Pisces, Cichlidae) and their implications for speciation in cichlid fishes. *Evolution*. 41:1357-1369.

- Mitchum, G. T. (1993). Principal component analysis: basic methods and extensions. p. 185-199. In: Statistical Methods in Physical Oceanography. P. Müller y D. Henderson (eds.). Proceedings of the 'Aha Huliko'a Hawaiian Winter Workshop.
- Nadeau, J. L., J. M. R. Curtis, y S. A. Lourie (2008). Preservation causes shrinkage in seahorses: implications for biological studies and for managing sustainable trade with minimum size limits. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*. 19:428-438.
- Narváez, B. J. C., P. A. Acero, y R. J. Blanco (2005). Variación morfométrica en poblaciones naturalizadas y domesticadas de la tilapia del Nilo *Oreochromis niloticus* (Teleostei: Cichlidae) en el norte de Colombia. *Revista de la Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Ciencias Naturales*. 24:383-394.
- Nelson, J. S. (2006). *Fishes of the world*. 4ta. John Wiley & Sons, Hoboken, New Jersey.
- Odum, E. P. (1971). *Ecología*. 3a. Nueva Editorial Interamericana, México, D. F.
- Paradis, Y., P. Brodeur, M. Mingelbier, y P. Magnan (2007). Length and weight reduction in larval and juvenile yellow perch preserved with dry ice, formalin, and ethanol. *North American Journal of Fisheries Management*. 27:1004-1009.
- Peña, D. (2002). *Análisis de datos multivariantes*. Mc Graw-Hill/Interamericana de España, S. A., Madrid, España.
- Pineda, S. H., L. F. Restrepo, y Á. M. Olivera (2004). Comparación morfométrica entre machos y hembras de cachama negra (*Colossoma macropomum*, Cuvier 1818) mantenidos en estanques. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*. 17:24-29.
- Quiñonez-Velázquez, C., y G. Chaumillon (1996). Shrinkage of haddock larvae *Melanogrammus aeglefinus* Linnaeus (1758) preserved in ethanol. *Ciencias Marinas*. 22:1-8.
- Reis, R. E., M. L. Zelditch, y W. L. Fink (1998). Ontogenic allometry of body shape in Neotropical catfish *Callichthys* (Teleostei: Siluriformes). *Copeia*. 1998 (1):177-182.

- Richtsmeier, J. T., B. Deleon, y S. R. Lele (2002). The promise of geometric morphometrics. *Yearbook of Physical Anthropology*. 45:63-91.
- Rohlf, F. J. (1990a). Morphometrics. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 21:299-316.
- Rohlf, F. J. (1990b). Rotational fit (procrustes) methods. p. 227-237. In: *Proceeding of the Michigan morphometrics workshop*. F. J. Rohlf y F. L. Bookstein (eds.). The University of Michigan Museum of Zoology, Ann Arbor, Michigan.
- Rohlf, F. J. (1999). Shape statistic: procrustes superimpositions and tangent spaces. *Journal of Classification*. 16:197-223.
- Rohlf, F. J. (2004). tpsDig. *Ecology & Evolution*, SUNY at Stony Brook, State University of New York at Stony Brook.
- Rohlf, F. J., y F. L. Bookstein (1990). Data acquisition. p. 379. In: *Proceeding of the Michigan morphometrics workshop*. F. J. Rohlf y F. L. Bookstein (eds.). The University of Michigan Museum of Zoology, Ann Arbor, Michigan.
- Ruiz-Carus, R., y Uribe-Alcocer (2003). Phylogenetic assessment of *Eucinostomus gula*, *Eugerres plumieri*, and *Diapterus auratus* (Pisces: Gerreidae) based on allozyme and mt DNA analyses. *Caribbean Journal of Science*. 39:109- 115.
- Sagnes, P. (1997). Potential artefacts in morphometric analyses of fish: effects of formalin preservation on 0+ grayling. *Journal of Fish Biology*. 50:910-914.
- Sfakiotakis, M., D. M. Lane, y B. C. Daves (1999). Review of fish swimming modes for aquatic locomotion. *IEEE Journal of Oceanic Engineering*. 24:237-252.
- Shields, P. A., y S. R. Carlson (1996). Effects of formalin and alcohol preservation on lengths and weights of juvenile sokeye salmon. *Alaska Fishery Research Bulletin*. 3:81-93.
- Stabell, O. B., y M. S. Lwin (1997). Predator-induced phenotypic changes in Crucian Carp are caused by chemical signals from conspecifics. *Environmental Biology of Fishes*. 49:145-149.

- Strauss, R. E., y C. E. Bond (1990). Taxonomic methods: morphology. p. 109-140. In: Methods for fish biology. C. B. Schreck y P. B. Moyle (eds.). American Fisheries Society, Bethesda, Maryland, USA.
- Strauss, R. E., y F. L. Bookstein (1982). The truss: body form reconstructions in morphometrics. *Systematic Zoology*. 31:113-135.
- Teixeira, R. L., y J. L. Helmer (1997). Ecology of young mojarras (Pisces: Gerreidae) occupying the shallow waters of tropical estuary. *Revista Brasileira de Biologia*. 57:637-646.
- The MathWorks, I. (2009). MATLAB The Language of Technical Computing. The MathWorks, Inc.
- Thompson, D. W. (1942). On growth and form. Dover Publications, New York.
- Thompson, J. D. (1991). Phenotypic plasticity as a component of evolutionary change. *Trends in Ecology and Evolution*. 6:246-249.
- Toro-Ibacache, M. V., G. Manriquez-Soto, y I. Suazo-Galdames (2010). Morfometría geométrica y el estudio de las formas biológicas: de la morfología descriptiva a la morfología cuantitativa. *International Journal of Morphology*. 28:977-990.
- Torres-Orozco, R. (1994). Peces. p. 269-304. In: Lagunas costeras y el litoral Mexicano. G. de la Lanza Espino y C. Cáceres Martínez (eds.). Universidad Autónoma de Baja California Sur.
- Turan, C. (1999). A note on the examination of morphometric differentiation among fish populations: the truss system. *Turkish Journal of Zoology*. 23:259-263.
- Valentin, A. E., X. Penin, J.-P. Chanut, J.-M. Sévigny, y F. J. Rohlf (2008). Arching effect on fish body shape in geometric morphometric studies. *Journal of Fish Biology*. 73:623-638.
- Vega-Cendejas, M. E. (2004). Ictiofauna de la reserva de la biosfera de Celestún, Yucatan: una contribución al conocimiento de su biodiversidad. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología*. 75:193-206.



- Vega-Cendejas, M. E., y M. Hernández de Santillana (2004). Fish community structure and dynamics in a coastal hypersaline lagoon: Rio Lagartos, Yucatán, México. *Estuarine Coastal and Shelf Science*. 60:285-299.
- Vega-Cendejas, M. E., M. Hernández, y Arreguin-Sanchez (1994). Trophic interrelations in a beach sein fishery from the northwestern coast of the Yucatán peninsula, México. *Journal of Fish Biology*. 44:647-659.
- Von Storch, H., y F. W. Zwiers (2001). *Statistical analysis in climate research*. Cambridge University Press.
- Walker, J. A. (1997). Ecological morphology of lacustrine threespine stickleback *Gasterosteus aculeatus* L. (Gasterosteidae) body shape. *Biological Journal of The Linnean Society*. 61:3-50.
- Wardle, C. S., J. J. Vedeler, y J. D. Altringham (1995). Review tuning in to fish swimming waves: body form, swimming mode and muscle function. *The Journal of Experimental Biology*. 198:1629-1636.
- Webb, P. W. (1978). Fast-start performance and body form in seven species of teleost fish. *Journal of Experimental Biology*. 74:211-226.
- Winans, G. A. (1984). Multivariate morphometric variability in pacific Salmon: technical demonstration. *Canadian Journal of Fish Aquatic Science*. 41:1150-1159.
- Yáñez-Arancibia, A., y R. S. Nugent (1977). El papel ecológico de los peces en estuarios y lagunas costeras. *Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México*. 4:107-117.
- Zakharov, V. M. (1992). Population phenogenetics: analysis of developmental stability in natural populations. *Acta Zoologica Fennica*. 191:7-30.
- Zelditch, M. L., D. L. Swiderski, H. D. Sheets, y W. L. Fink (2004). *Geometric morphometrics for biologist: a primer*. 1a. Elsevier Academic Press, New York.