



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGIA

Unidad Académica Sisal

VARIACIÓN ONTOGÉNICA DE LA SAGITTA EN

***Fundulus persimilis* Miller, 1955.**

T E S I S

que para optar por el grado académico de

Maestro en Ciencias

P r e s e n t a

VERÓNICA RIVERA FÉLIX

Director de tesis

Xavier Chiappa Carrara UNIDAD ACADÉMICA SISAL, FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

Comité Tutor

Felipe Amezcua Martínez POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGIA

María Eugenia Vega Cendejas POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGIA

César Flores Coto POSGRADO EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGIA

María Ana Fernández Álamo FACULTAD DE CIENCIAS, UNAM

Sisal, Yucatán. (Enero) 2015



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.

Agradecimientos

Al programa de becas nacionales del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, por el apoyo económico otorgado para la realización del posgrado y el presente trabajo de tesis.

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por permitirme todos estos años de formación en sus aulas.

A la Unidad Académica Sisal y al Instituto de Ciencias del Mar y Limnología, por permitirme estudiar mi posgrado bajo la guía de excelentes profesores.

A mi tutor el Dr. Xavier Chiappa Carrara, por permitirme formar parte de su grupo de trabajo, por todos los conocimientos, apoyo, tiempo, correcciones que permitieron que este escrito fuera mucho mejor.

A la M. en C. Maribel Badillo Alemán, por todo su tiempo, conocimiento y apoyo brindado en el laboratorio y en campo, pero sobre todo por su gran y sincera amistad, gracias por todos los consejos, todas esas horas de plática, por siempre estar ahí cuando más se le necesita.

Al M. en C. Alfredo Gallardo, por su apoyo, guía, correcciones y su amistad que me brindo a lo largo de estos años de conocernos.

A la Dra. Patricia Guadarrama Chavéz por sus consejos y amistad, por estar siempre cuando se le necesita.

A mi comité tutorial la Dra. María Eugenia Vega Cendejas, la Dra. Maria Ana Fernández Álamo, el Dr. César Flores Coto, Dr. Felipe Amezcua Martínez y a mis asesores externos la Dra. Alejandra V. Volpedo y el Dr. Carlos González Salas por

haber estado en mis tutorales y por sus valiosos comentarios que enriquecieron mi tesis, gracias.

Al M. en C. Rafael Emiliano Quintanar Zuñiga por su disponibilidad para la toma de las primeras fotos de microscopia electrónica para este trabajo.

Al LANNBIO del Cinvestav-Mérida, con apoyo de los proyectos FOMIX-Yucatán 2008-108160 y CONACYT LAB-2009-01 No. 123913. Agradecemos el apoyo técnico de Dora Alicia Huerta Quintanilla y Ana Ruth Cristóbal Ramos.

Al Dr. Daniel Arceo, por su apoyo en campo, sus comentarios y amistad que me brindo en estos años de conocernos.

Al Sr. Fernando Esteban Mex, Oficial de Transporte de la UAS, por su colaboración durante las salidas de campo, al Sr. Enrique Mex y a su equipo de pescadores por su valiosa ayuda durante los muestreos.

Al Dr. Dion S. Oxman por su ayuda en la parte de composición cristalográfica de este trabajo.

A mis compañeros y grandes amigos Yoli, Jessica, Araceli, Pedro, Luis, Rubén, Abraham, Enrique, Lisa, José con quienes viví grandes aventuras, gracias por todas y cada una de ellas, esperemos tengamos muchas más.

A mis padres por guiarme y darme la oportunidad de estudiar, por alentarme siempre a terminar lo que empiezo, gracias a ustedes hoy estoy aquí, terminando una fase más y empezando una nueva. Gracias por su cariño, porque sé que siempre estarán ahí cuando los necesite.

A mi hermana, porque a pesar de que estamos lejos se que siempre estás ahí para lo que necesite, por que se que tendremos muchos éxitos más y los

podremos festejar juntas, espero este pueda ser un ejemplo de que siempre hay que seguir adelante.

A mis suegros, porque siempre están al pendiente y nos impulsan a seguir adelante.

Finalmente a Jacob, mi mejor amigo y esposo, que siempre está para apoyarme, porque aunque no fue fácil el camino hasta aquí sigues apoyándome, queriéndome, y dando consejos como siempre. Que sigamos viviendo muchas aventuras y teniendo muchos éxitos más.

Índice de contenido

Resumen	6
Abstract	7
Introducción	8
Objetivo general.....	15
Objetivos particulares	15
Hipótesis.....	14
Área de Estudio	16
Materiales y métodos.....	18
Trabajo en campo	19
Trabajo en laboratorio	19
Análisis morfológico	20
Descripción de la sagitta.....	21
Análisis morfométrico	22
Morfometría tradicional	22
Morfometría geométrica.....	22
Determinación de la composición cristalina	26
Resultados.....	27
Análisis morfológico	28
Descripción de la sagitta.....	28
Análisis morfométrico	30
Morfometría tradicional	30
Morfometría Geométrica.....	34
Composición cristalina	42
Discusión	44
Análisis morfológico	45
Análisis morfométrico	46
Morfometría tradicional	46
Morfometría Geométrica.....	47
Composición cristalina	49
Conclusiones	50
Anexo 1	52
Posición sistemática	52
Referencias	53

Índice de Figuras

Figura 1. Mapa del Área de estudio tomado de Google Earth. Las estrellas rojas indican los sitios en donde se obtuvieron los organismos.....	18
Figura 2. Medidas tomadas de los organismos de <i>Fundulus persimilis</i>	20
Figura 3. Fotografía SEM de la cara interna de un otolito de <i>F. persimilis</i> , se muestran las medidas tomadas.	20
Figura 4. Fotografía SEM, muestra las distintas zonas del otolito descritas por Tuset et al., 2008.....	21
Figura 5. a) Programa MakeFan muestra los puntos de referencia y las líneas trazadas con el programa. b) tpsDig 2, los puntos rosas son los 50 semilandmarks digitalizados.	24
Figura 6. Fotografías SEM de la <i>sagitta</i> de distintas tallas de <i>Fundulus persimilis</i> . Talla 1 (LS 21.6mm), Talla 2 (LS 85 mm) y Talla 3 (LS 110 mm).	29
Figura 7. Regresiones potenciales de los otolitos derechos e izquierdos de la Carbonera y Chuburná. En las gráficas se muestra la ecuación resultante y el coeficiente de determinación.	32
Figura 8. Regresiones potenciales de los organismos de la Carbonera con longitud estándar <50 mm.	33
Figura 9. Ajuste de Procrustes de los 50 semilandmarks digitalizados en los otolitos de <i>Fundulus persimilis</i> (n = 232).....	35
Figura 10. Semilandmarks alineados de la <i>sagitta</i> de <i>Fundulus persimilis</i>	35
Figura 11. Variables canónicas del primer y segundo CVA. El punto más grande de cada grupo representa el promedio para cada uno. Las rejillas de deformación representan los cambios en la forma del otolito para cada uno de los ejes canónicos	37
Figura 12. Variables canónicas del primer y tercer CVA. El punto más grande de cada grupo representa el promedio para cada uno. Las rejillas de deformación representan los cambios en la forma del otolito para cada uno de los ejes canónicos	37
Figura 13. Plano de flechas de la forma promedio de la <i>sagitta</i> de cada clase de talla.	37
Figura 14. Gráfica del primer y segundo eje canónico de hembras (11.93 - 122.1 mm de longitud patrón) y machos (53.20 - 109.7 mm de longitud patrón) de <i>Fundulus persimilis</i> . El punto más grande de cada grupo representa el promedio para cada uno. Las rejillas de deformación representan los cambios en la forma del otolito para cada uno de los ejes canónicos.....	40
Figura 15. Gráfica del segundo y tercer eje canónico de hembras (11.93 - 122.1 mm de longitud patrón) y machos (53.20 - 109.7 mm de longitud patrón) de <i>Fundulus persimilis</i> . El punto más grande de cada grupo representa el promedio para cada uno. Las rejillas de deformación representan los cambios en la forma del otolito para cada uno de los ejes canónicos.....	40
Figura 16. Gráfica del primer y segundo ejes canónico de <i>F. persimilis</i> por talla y localidad. Las rejillas de deformación representan los cambios en la forma del otolito para cada uno de los ejes canónicos.....	42
Figura 17. Gráfica del primer y tercer ejes canónicos de <i>F. persimilis</i> por talla y localidad. Las rejillas de deformación representan los cambios en la forma del otolito para cada uno de los ejes canónicos.....	42
Figura 18. Fotografías ópticas de transmisión y reflexión del otolito derecho e izquierdo de las tres clases de talla de <i>F. persimilis</i>	43

Resumen

El estudio de la forma y composición de los otolitos provee información que es de utilidad para la discriminación entre stocks, poblaciones y especies de peces. Actualmente no existen trabajos acerca de los otolitos de la sardinilla yucateca (*Fundulus persimilis*), una especie endémica de Yucatán, México, que ha sido catalogada en las normas oficiales como «sujeta a protección especial». En este estudio se analizó el efecto que tiene el crecimiento somático, el sexo y la localidad en la que habitan estos peces en la forma de la *sagitta* de estos peces. Se usaron técnicas de morfometría geométrica para lo cual se definieron 50 puntos deslizantes (o *semilandmarks*) equidistantes ubicados en el contorno del otolito. Los cambios morfológicos de los otolitos permitieron establecer tres clases de talla que se incorporaron en los análisis morfométricos. Las *sagittae* de *F. persimilis* de organismos pertenecientes a la talla 1 [$12 \leq$ longitud estándar (Ls, mm) ≤ 36] es circular. En la clase 2 ($37 \leq$ Ls, mm ≤ 108), los otolitos son cuadrados y presentan cisura. Finalmente los otolitos de los organismos de la talla 3 (Ls > 108 mm) son rectangulares. Los resultados del análisis de variables canónicas muestran una clara separación morfológica entre los otolitos pertenecientes a individuos de estas tres clases de talla. Las rejillas de deformación revelan los cambios morfológicos de la *sagitta* que ocurren durante el desarrollo, mismos que se evidencian en la parte postero-dorsal y la parte anterior del otolito, principalmente en la cisura y el antirrostro. Existen diferencias significativas (*F* de Goodall; $p < 0.05$) en la forma de los otolitos de los peces que pertenecen a las tres clases de talla, por lo que no se cumple la hipótesis general derivada del trabajo de Hunt (1992) que señala que la forma característica de los otolitos de la mayor parte de las especies de peces no cambia con la ontogenia. La comparación entre hembras y machos mostró que no existen diferencias morfológicas entre los otolitos *sagitta* de ambos sexos. El análisis por localidad indica que los otolitos de los individuos que provienen de las lagunas La Carbonera y Chuburná son iguales, lo que permite suponer que estos organismos pertenecen a la misma población. Los otolitos examinados con luz transmitida y reflejada de las tres tallas mostraron una superficie opaca y sin irregularidades lo que sugiere que las *sagittae* de *F. persimilis* son de aragonita.

Abstract

The shape of otoliths provides information to discriminate fish stocks, populations, and species. Shape is known to change along ontogeny and, in some species, among sexes. We used the geometric analysis of shape to study the *sagittae* of *Fundulus persimilis*, an endemic species of the northern coast of Yucatan, Mexico, which is subject to “special protection” according to a recent addendum to the Mexican environmental law. There is little biological information on this species and no contributions relating individual growth with the shape of otoliths have been published. In this work, I described the shape using 50 semilandmarks placed in the contour of the *sagittae* of individuals according to sex, size, and location. By means of the morphological change on the otolith, three size classes were established for the morphometric analysis. *Sagittae* of *F. persimilis* belonging to the first size class ($12 \leq \text{standard length (SL, mm)} \leq 36$) are circular. Fish of size 2 ($37 \leq \text{SL, mm} \leq 108$) have squared otoliths and the notch is present. In individuals of size class 3 ($> 108 \text{ SL, mm}$), otoliths are rectangular. Results of the canonical variables analysis (CVA) showed a clear separation and significant differences (Goodall's *F*-test, $p < 0.05$) between the shapes the three groups of otoliths. Morphological changes during growth are important in the posterior-dorsal and the anterior part of the otolith, mainly in the notch and the *antirostrum*. Results of the CVA indicate that the shape of otoliths of males and females are not different. No differences were found among the equations relating otolith length and fish length of organisms living in the lagoon La Carbonera and those in Chuburná, indicating that they belong to the same population. Otoliths of the three size classes examined under transmitted and reflected light showed a surface opaque and without irregularities, thus their crystalline composition is apparently of aragonite.

Introducción

El oído interno de los peces se localiza en la cavidad craneal ubicado por debajo del encéfalo. Si bien su estructura básica en los teleósteos es la misma, existen diferencias interespecíficas en el tamaño y en las partes que lo componen (Popper *et al.*, 2005). Está formado por el laberinto membranoso el cual consta de tres canales semicirculares y tres cámaras llenas de endolinfa que albergan a los otolitos (Morales-Nin, 2000). Los otolitos son conocidos desde los tiempos de Aristoteles y han sido utilizados en la identificación de especies desde que Cuvier en el siglo XIX descubrió su alta especificidad morfológica (Tuset *et al.*, 2008).

Reciben sus nombres a partir del saco en el que se albergan, Así, el otolito del sáculo se llama *sagitta*, el de la lagena *asteriscus* y el del utrículo *lapillus* (Popper *et al.*, 2005). A pesar de que la función precisa de cada uno de ellos es incierta, el *lapillus*, que se ubica en la parte superior de los canales semicirculares desempeña funciones en el equilibrio y la percepción de la gravedad mientras que la *sagitta* y el *asteriscus* ubicados en la parte posterior de los canales semicirculares, se relacionan más con la recepción del sonido (Campana y Neilson, 1985). La *sagitta* es el otolito de mayor tamaño en la mayoría de los taxones de peces teleósteos, y es especie-específico.

Estas estructuras están compuestas por una proteína semejante a la queratina llamada "otolina". También, se encuentran elementos traza que provienen del medio en el que se encuentran los peces o bien del alimento (Campana, 1999). Finalmente tienen una matriz inorgánica de carbonato de calcio (que representa alrededor del 96% del total del otolito) principalmente en forma de aragonita, aunque también existen casos limitados en donde se puede presenciar otolitos de calcita y vaterita, sin embargo, la presencia de estos últimos dos es limitada (Gauldie *et al.*, 1997). Estas tres poliformas difieren en geometría, los cristales de aragonita son ortorrómbicos, los de vaterita son hexagonales y los de calcita son trigonales (Tomás and Geffen, 2003).

Se sabe muy poco acerca de los mecanismos que causan el cambio de aragonita a vaterita y de las implicaciones funcionales que tiene, sin embargo, existen varias hipótesis en donde varios autores indican que probablemente la exposición a estrés crónico debido a efectos de densidad (Casselman, 1990), temperatura (Johanson, 1996) y falta de alimento (Payan *et al.*, 2004) pueden promover el desarrollo de otolitos de vaterita. Estos factores de estrés producen cambios en el tipo de cristal de carbonato de calcio que se deposita en los otolitos por lo que su presencia de la forma de vaterita suele asociarse con ambientes fisiológicamente demandantes para los peces (Campana y Nelson 1985, Oxman *et al.*, 2007, Bowen II *et al.*, 1999). Este tipo de otolitos se ha visto con más frecuencia en peces en cautiverio, como el estudio realizado por Bowen II *et al.* (1999) en el que se analizó y describió la frecuencia de presencia de otolitos con vaterita en poblaciones de truchas silvestres de los Grandes lagos, comparando individuos mantenidos en cautiverio por un periodo de dos años y organismos de una población silvestre de un lago en el norte de Canadá. La prevalencia de vaterita en los organismos capturados en el Lago Superior y mantenidos en cautiverio fue del 66%, los provenientes del lago Huron alcanzaron el 75% y los obtenidos en el Lago Ontario llegaron al 86%. Respecto a los peces silvestres, los otolitos con vaterita fueron del 37% en el lago Superior, 22% en el lago Hurón y 49% en el norte de Canadá. Los otolitos con vaterita en los peces silvestres indicaron que estuvieron bajo condiciones de estrés en la naturaleza.

Igualmente, cuando los organismos son capturados y puestos en cautiverio han presentado al menos un otolito compuesto de vaterita. Tomás y Geffen (2003) analizaron la cristalografía, composición elemental y morfometría de dos poblaciones extraídas de su medio natural y criadas en cautiverio (Mar de Clyde y Céltico) de juveniles de *Clupea harengus*. Encontraron un 7.8% de incidencia de vaterita en los organismos de Clyde y 13.9% en los del Mar Céltico. Todos los otolitos mostraron un área central de aragonita, mientras que la acreción de vaterita comenzó a la edad de 90 días. Los otolitos de vaterita fueron más largos y ligeros que los de aragonita por lo que, dichos autores, han especulado que, además, pueden ocurrir trastornos en la audición y sensibilidad a la presión de los

peces. Así, se han analizado los efectos que tiene la presencia de vaterita en la recepción del sonido, la morfología del otolito y el epitelio sensorial del oído interno de juveniles de *Oncorhynchus tshawytscha* (Oxman *et al.*, 2007). Estos autores encontraron que los peces que tienen al menos uno de sus otolitos de vaterita presentaron una pérdida significativa de sensibilidad (2.5-6.5 dB) en el intervalo de audición primaria, que va de 100 a 300 Hz. Los otolitos de vaterita fueron menos densos y de mayor tamaño que los de aragonita. Se encontró una menor cantidad de células ciliadas del epitelio sensorial del sáculo en donde encontraron otolitos de vaterita. Por último concluyeron que existió una pérdida de audición debido a la menor densidad que tienen los otolitos de vaterita.

La formación de los otolitos involucra las variaciones rítmicas en la acreción y tamaño de las fibras de la matriz orgánica y de los cristales de carbonato de calcio, resultando en la formación de anillos macroscópicos translúcidos y opacos y zonas microscópicas (incrementos de crecimiento) (Morales-Nin, 2000).

El crecimiento del otolito está relacionado con el crecimiento somático del pez por lo que el tamaño del organismo puede ser calculado conociendo el tamaño del otolito (Gagliano y McCormick, 2004). Además, los otolitos registran detalles importantes acerca de la edad, crecimiento y alimentación durante las distintas etapas de vida del pez (Campana y Neilson, 1985).

Actualmente se reconoce que el crecimiento y la forma del otolito están regulados por varios factores, sin embargo, no se ha definido el grado de influencia de cada uno de ellos. Entre estos factores está la genética (Aguirre y Lombarte, 1999; Gaudie, 1988; Lychakov y Rebane, 2000), las variaciones en la forma relacionadas con el sexo, edad y dieta así como con las condiciones o factores ambientales locales como profundidad, tipo de substrato (Lombarte y Lleonat, 1993; Aguirre y Lombarte, 1999; Paxton, 2000; Torres *et al.*, 2000; Volpedo and Echeverria, 2003, Lombarte y Cruz, 2007) y temperatura del agua (Hussy, 2008). Se han encontrado formas relativamente sencillas que asemejan a discos en algunos peces planos de la familia Pleuronectidae; otros, presentan formas

irregulares, como es el caso de los miembros del género *Sebastes*. Más allá de que el crecimiento de los otolitos se relaciona con el aumento de tamaño de los peces y, generalmente, el modelo mediante el cual se relacionan estas dimensiones es de tipo potencial (Chilton y Beamish, 1982), se ha especulado sobre el papel que juega la ontogenia en la forma del otolito. Hunt (1992), por ejemplo, señala que la forma característica de los otolitos de la mayor parte de las especies de peces no cambia con la ontogenia y que la forma de estas estructuras en un gran número de especies «está determinada desde que los organismos tienen un tamaño relativamente pequeño». En otros trabajos (como el de Cardinale *et al.*, 2004) se muestra que la morfología del contorno del otolito sufre cambios sustanciales con el aumento del tamaño del pez y se presentan variaciones en peces de la misma especie y del mismo tamaño. Al respecto, Mesías y MacDougall (1984) señalan que las características morfológicas de los otolitos de organismos de la misma especie agrupados de acuerdo con criterios como el sexo, los grupos de edad o las clases de tamaño, y la ubicación geográfica, pueden variar significativamente. Diversos autores han encontrado variaciones morfológicas de la *sagitta* con respecto a la ubicación geográfica en donde habitan los organismos, por lo que es posible separarlos en stocks o poblaciones (Campana y Casselman, 1993; Cardinale *et al.*, 2004; Treinen-Crespo *et al.*, 2012)

Por su parte, Vignon (2012) estudió la trayectoria ontogenética de la forma del otolito de *Lutjanus kasmira* durante el cambio de hábitat en su ontogenia. Los resultados mostraron que distintas condiciones ambientales así como la ontogenia del pez tuvieron influencia en la forma del otolito de forma recíproca y que ésta se encuentra potencialmente mediada por la tasa de crecimiento del pez.

Debido a que no existe información sobre la morfología de los otolitos de muchas de las especies endémicas de México, este estudio se ha planteado para investigar los cambios en la forma de los otolitos *sagittae* considerando las variables que han sido señaladas como las responsables de las variaciones

morfológicas de estas estructuras y determinar la forma cristalográfica del carbonato de calcio presente en la matriz inorgánica.

La mayoría de los estudios que se han realizado para analizar los cambios de forma de los otolitos, se ha utilizado el método de Fourier que permite examinar el contorno de las estructuras mediante el paso progresivo de funciones trigonométricas cada vez más complejas. Recientemente, la morfometría geométrica (MG) basada en las coordenadas de puntos homólogos (conocidos en la literatura como *landmarks*) o puntos deslizantes (*semilandmarks*) ha sido utilizada para estudiar los cambios morfológicos en otolitos de peces de distintas poblaciones o stocks pesqueros (Vignon y Morat, 2010; Ramírez *et al.*, 2010) así como durante su crecimiento. El estudio de Monteiro *et al.* (2005), es uno de los ejemplos en el que se analizaron las diferencias alométricas y los cambios de los otolitos en cinco especies de sciánidos del norte de Rio de Janeiro mediante análisis de morfometría geométrica y estadística multivariada. Los resultados mostraron que las tendencias alométricas concuerdan con el incremento relativo del área del *ostium* y a un crecimiento en el margen posterior, mientras que el ancho del otolito disminuye.

Especie estudiada: *Fundulus persimilis* Miller, 1955

Los organismos del orden Cyprinodontiformes están agrupados en 10 familias con 109 géneros y alrededor de 1,013 especies (Nelson, 2006). Se distribuyen ampliamente en aguas dulces y salobres del nuevo y viejo mundo (Parenti, 1981). Los miembros de este orden son populares en los acuarios y para fines experimentales. La distribución de algunas de las especies es muy amplia mientras que de la de algunas otras es muy limitada. Dentro de la familia Fundulidae se encuentra el género *Fundulus* al que pertenece la sardinilla yucateca, especie estudiada en este trabajo, que se encuentra incluida en la NOM-059 como «especie sujeta a protección especial».

Existe una amplia gama de trabajos para el género *Fundulus* acerca de su taxonomía (Brown, 1957; Miller 1955; Rivas, 1948), comportamiento (Able y Castagna 1975), ecología (Nordlie, 2006) y análisis biogeográficos y filogenéticos (Parenti, 1981).

En Norteamérica la especie más estudiada es *F. heteroictus*. Campana (2004) en su Atlas de otolitos del noroeste del Océano Atlántico, muestra fotos del otolito *sagitta* de esta especie. Igualmente, en la página de la AFORO¹ (Lombarte *et al.*, 2006), que es un catalogo de otolitos en línea, se tiene registrada la foto del otolito *sagitta* de *F. diaphanus*.

Fundulus persimilis es una especie endémica del estado de Yucatán. Su distribución abarca las lagunas de Ría Lagartos (Vega-Cendejas y Hernández, 2004), ciénagas de la Carbonera, Chuburná, Sisal (Gallardo *et al.*, 2012) hasta Celestún (Vega-Cendejas, 2004). Habita aguas salobres a saladas con salinidades de hasta 51.7 ppm (Miller, 2009).

Posee dimorfismo sexual, las hembras presentan una coloración caracterizada por la presencia de 12 a 18 barras verticales en el cuerpo mientras que los machos tienen 10 a 15. También, las aletas dorsal y anal son más pigmentadas en machos que en hembras. Aunque su dieta es poco conocida, se sabe que existe consumo ocasional de plantas, invertebrados (especialmente insectos) y peces pequeños (Vega-Cendejas *et al.*, 1997). La longitud máxima reportada para esta especie es de 75 mm para machos y 108 mm para hembras (Gallardo *et al.*, 2012). La talla de primera madurez en machos es de 3.9 cm de longitud total mientras que para las hembras es de 4.9 cm; se reproduce durante todo el año aunque presenta dos picos reproductivos: en marzo y octubre (Flores, 2013).

Esta especie juega un papel importante en la transformación y transporte de energía al interior del ecosistema debido a que es una de las presas preferidas de algunas especies de aves residentes o migratorias y forma parte de la dieta de

¹ <http://www.cmima.csic.es/aforo/>

otros peces. Conocer a detalle la morfología y la composición cristalina del carbonato de calcio de las *sagittae* de *F. persimilis* así como analizar los cambios que ocurren en esta estructura de acuerdo con el sexo, las clases de tamaño y el sitio en el que habitan estos peces permitirá saber si los otolitos *sagittae* de esta especie endémica de la costa norte de Yucatán comparten características morfológicas con la generalidad de los teleosteos y probar la hipótesis general derivada del trabajo de Hunt (1992) que señala que la forma característica de los otolitos de la mayor parte de las especies de peces no cambia con la ontogenia. Asimismo, las descripciones de las formas de estas estructuras podrán ser usadas en estudios tróficos basados en la identificación de restos en los contenidos estomacales de peces y otros organismos puesto que, debido a su composición química, los otolitos pueden preservarse en los contenidos estomacales de aves, peces y mamíferos ictiófagos ya que resisten cierto grado de degradación a los jugos gastrointestinales (Silva *et al.*, 2000; Battaglia *et al.*, 2010).

Hipótesis

Los cambios en la forma de las *sagittae* están influenciados por el desarrollo ontogénico (juveniles y adultos) y sexo del organismo puesto que la formación de los otolitos involucra variaciones rítmicas en la acreción y tamaño de las fibras de la matriz orgánica y de los cristales de carbonato de calcio que dependen del estado fisiológico de los organismos. Se presentarán diferencias morfológicas a lo largo del desarrollo y entre hembras y machos debido a que la expresión final de dicho estado, medido como el crecimiento somático, es distinto entre los grupos. En cambio, las características morfológicas de los otolitos de los peces que habitan en dos localidades geográficamente cercanas no mostrarán diferencias puesto que esta especie, si bien tiene un ámbito de distribución restringido, habita en condiciones variables de temperatura y salinidad. Por lo tanto, no se esperan cambios en la forma cristalina depositada en los otolitos debido a que las variaciones del ambiente no constituyen un reto fisiológico para *Fundulus*

persimilis debido a que especie tolera amplias fluctuaciones en los parámetros ambientales.

Objetivo general

Analizar la variación morfológica y de composición cristalina de las *sagittae* de juveniles y adultos de *Fundulus persimilis* en relación con el sexo, las clases de tamaño y dos localidades geográficas en las que habita esta especie endémica de la costa norte de Yucatán.

Objetivos particulares

- Describir el otolito *sagitta* de *Fundulus persimilis*.
- Analizar los cambios morfológicos de las *sagittae* con relación al tamaño del pez.
- Establecer la relación entre la forma de las *sagittae* y el tamaño del pez.
- Determinar las diferencias morfológicas en las *sagittae* de hembras y machos provenientes de dos sitios en la costa norte de Yucatán.
- Determinar la forma cristalina del carbonato de calcio depositada en los otolitos.

Área de Estudio

La Figura 1 muestra la laguna La Carbonera, que se ubica en el sureste del golfo de México a 21 km del puerto de altura de Progreso, Yucatán (21°13'41.80" - 21°14'4.79" N, 89°53'21.66" - 89°54'0.45" W). Es una entrada de agua de mar que se formó en 1988 al impactar el huracán Gilberto sobre la costa, rompiendo la isla de barrera que separaba el mar de la ciénaga. Con una longitud aproximada de 1km, era paralela a la costa y limitaba al norte con una franja arenosa, al sur con la duna costera que presentaba en su borde manglares enanos y al este se unía con la ciénaga. En septiembre del 2002 el huracán Isidoro impactó de nuevo la zona, al desaparecer el cordón arenoso quedando la ciénaga en contacto directo con el mar. Sin embargo, en los años siguientes la franja de arena se ha ido restableciendo gradualmente recobrando su forma original aunque la conexión con el mar ha perdurado.

Se caracteriza por tener aguas predominantemente someras (0.25 – 0.75 m) por lo que es altamente influenciada por la climatología de la región. La variación de la temperatura de la columna de agua tiene una amplitud anual promedio de ~8 °C. Los valores mínimos (~20 °C) ocurren en febrero y los máximos (~28 °C) en junio. La salinidad tiene una alta variabilidad estacional, con los valores mínimos promedio de ~20 en la época de lluvias y los máximos situados en ~40 en la época cálida y seca (Jerónimo *et al.*, 2012). Presenta aportes de agua dulce subterráneos a través de dos cenotes pequeños en su parte más distante.

Con base en estas variaciones, la laguna se ha subdividido en cuatro regiones: la zona de la boca de la laguna, en la que ocurre el intercambio de las aguas marinas y estuarinas (condiciones de marisma); la zona opuesta en donde domina el aporte permanente de agua dulce proveniente de varios manantiales; la tercera en la que se encuentran el aporte de agua continental y marina creando una zona de mezcla y, finalmente, una zona no estuarina e hipersalina dominada por la

circulación proveniente de la boca en la que se registra una elevada tasa de evaporación.

Por otro lado, la laguna de Chuburná se localiza al noroeste de la península de Yucatán a 5.6 km de la Carbonera entre los 21°14'32.76" N, 89°50'34.34" O. Esta laguna es somera y en su comunicación con el mar registra una profundidad media de 3.5 m, presenta características típicamente marinas con tendencia a la hipersalinidad durante la época de secas, se presenta un mayor aporte de agua dulce proveniente de las lluvias. Al interior de esta laguna, dominan los blanquizales de arena (Herrera-Silveira *et al.*, 1999).



Figura 1. Mapa del Área de estudio tomado de Google Earth. Las estrellas rojas indican los sitios en donde se obtuvieron los organismos

Materiales y métodos

Trabajo en campo

Los muestreos se realizaron en los sistemas lagunares de La Carbonera y de Chuburná (Figura 1) de septiembre de 2012 a octubre de 2013 mediante un chinchorro playero y una atarraya (permiso de pesca de fomento núm. DGOPA-04031-310510.1940). Los peces capturados se guardaron en bolsas etiquetadas con los datos de colecta y se pusieron en una hielera para su traslado al laboratorio de Ecología de la Unidad Académica de Sisal de la UNAM.

Trabajo en laboratorio

Los peces se identificaron mediante las claves de Castro-Aguirre *et al.* (1999) y Carpenter (2002). Las medidas obtenidas de cada organismo fueron registradas en una base de datos: longitud total (Lt, cm \pm 0.1), longitud estándar (Ls, cm \pm 0.1), altura máxima del pez (A, cm \pm 0.1), longitud cefálica (Lc, cm \pm 0.1), diámetro ocular (Do, mm \pm 0.1) y peso (P, g \pm 0.001) (Figura 2). Si bien la especie presenta características externas que permiten diferenciar entre machos y hembras, se realizó la disección de los organismos para observar al microscopio las gónadas y registrar el sexo.

Se extrajeron los otolitos *sagittae* que se limpiaron retirando la membrana que los rodea con agujas de disección. Posteriormente, se fotografiaron en un microscopio estereoscópico Nikon SMZ 1500. Las imágenes obtenidas se analizaron con un algoritmo realizado en MATLAB para obtener la longitud (mm, \pm 0.1), ancho (mm, \pm 0.1) y área total (mm², \pm 0.01) de cada otolito (Figura 3). Para determinar si existieron diferencias entre el otolito derecho e izquierdo de *F. persimilis*, se realizó una prueba *t* de Student (Zar, 2010).

Para los posteriores análisis, se establecieron intervalos de clases de talla de los organismos de acuerdo a los cambios morfológicos observados en las *sagittae*.

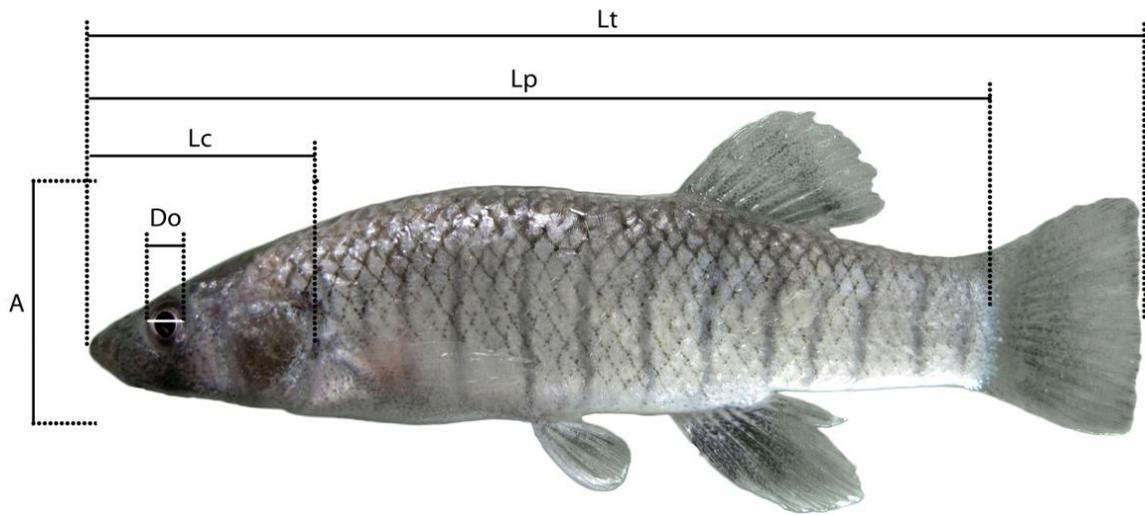


Figura 2. Medidas tomadas de los organismos de *Fundulus persimilis*.

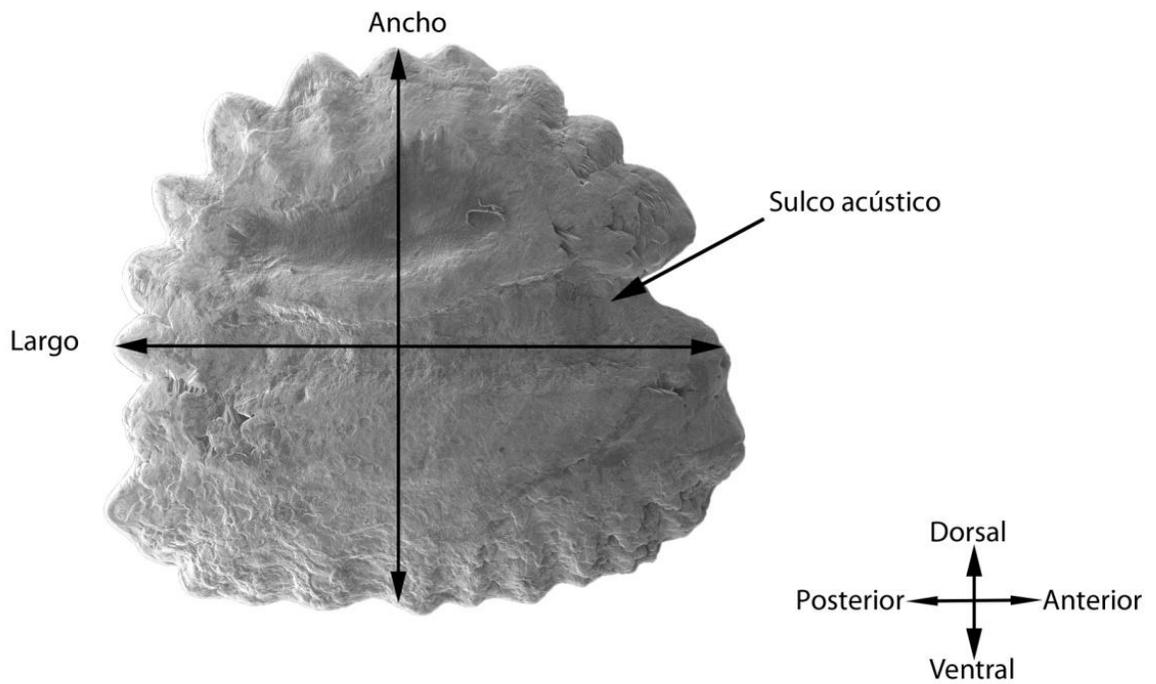


Figura 3. Fotografía SEM de la cara interna de un otolito *sagitta* de *F. persimilis*, se muestran las medidas tomadas.

Analisis morfologico

Descripción de las sagittae

En esta fase del trabajo se obtuvieron fotografías de microscopía electrónica de barrido (SEM), en el Laboratorio de Nano y Biomateriales en el área de microscopia del Cinvestav-Mérida, de las *sagittae* izquierdas de las distintas clase de tallas establecidas. Se utilizaron las *sagittae* izquierdas debido a que se ha demostrado que no existen diferencias significativas entre el otolito derecho y el izquierdo (Volpedo y Thompson, 1996; Volpedo y Echeverria, 2003). Mediante la terminología propuesta por Tuset *et al.* (2008) se procedió a describir las *sagittae* (Figura 4).

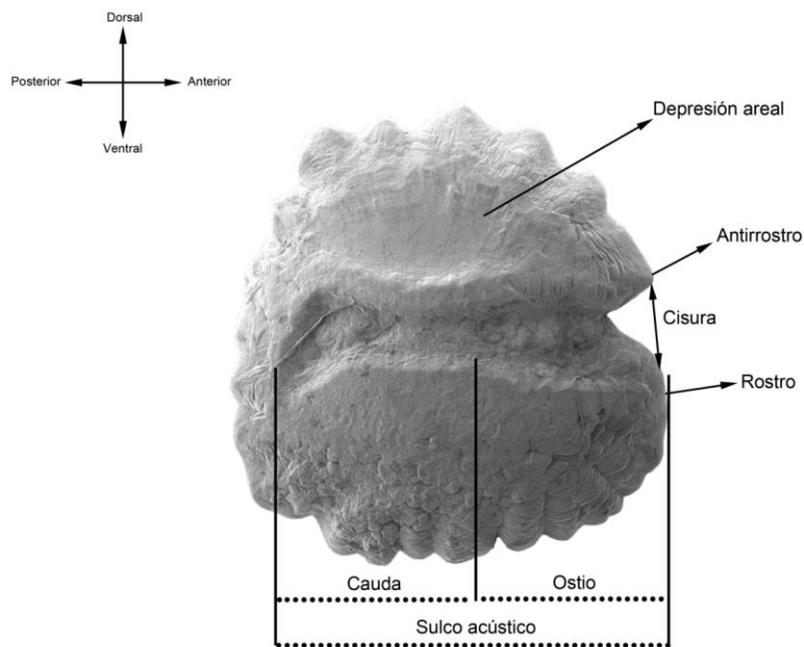


Figura 4. Fotografía SEM, muestra las distintas zonas del otolito descritas por Tuset *et al.* (2008).

Análisis morfométrico

Morfometría tradicional

Para determinar si el tipo de crecimiento de las *sagittae* con respecto a la longitud del pez es de tipo alométrico o isométrico, en los organismos de *F. persimilis* de la Carbonera y de Chuburná, se obtuvieron los parámetros de los modelos potenciales que relacionan la longitud estándar (Ls) y la longitud del otolito derecho e izquierdo:

$$y = ax^b$$

Para probar las hipótesis sobre la isometría ($b=1$, $p<0.05$) se calcularon los valores de *t*-Student de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$t = \frac{b - 1}{Sb}$$

Las diferencias entre las curvas que describen las relaciones entre la longitud del pez y la del otolito de los ejemplares provenientes de las dos localidades (La Carbonera y Chuburná), se contrastaron mediante una prueba de *t*-Student (Zar, 2010) aplicada sobre la forma lineal de las ecuaciones potenciales considerando por un lado las medidas de los otolitos derechos y por el otro las de los izquierdos.

Los parámetros del modelo potencial aplicado a los datos de los organismos $Ls < 50$ mm provenientes de La Carbonera, se obtuvieron con el programa FISHPARM que utiliza el algoritmo de Maquardts para estimar los valores de manera no lineal (Prager *et al.*, 1989).

Morfometría geométrica

La morfometría geométrica es una técnica que utiliza las coordenadas de puntos homólogos (*landmarks*). Cuando el objeto estudiado no presenta puntos

homólogos, se puede estudiar el borde o curva de ese objeto mediante el uso de puntos deslizantes (*semilandmarks*); son usados para representar curvas mediante una serie de puntos que establecen homología biológica entre los puntos deslizantes correspondientes de todos los especímenes de una muestra (Bookstein, 1991).

En morfometría geométrica, la forma se define como la información geométrica de un objeto, independientemente de su tamaño, orientación y posición. Basados en esta definición, y para analizar la forma de un objeto, se utiliza el ajuste de Procrustes que consiste en realizar una transformación euclidiana a un conjunto de figuras preservando la forma. Esto elimina las variaciones de traslación, rotación y escala en el conjunto de datos para tener un marco común de referencia. Este análisis involucra tres pasos. Primero se escalan las configuraciones de todos los objetos a un mismo centroide, una vez hecho esto, todas las configuraciones son trasladadas y superimpuestas a un solo centroide para finalmente rotarlas. Una vez realizados estos tres pasos (escalamiento, traslación y rotación), las distancias entre los puntos homólogos o entre los puntos deslizantes de todas las configuraciones se reducen al mínimo (Zelditch *et al.*, 2004).

La configuración promedio que resulta cuando todos los especímenes tienen un mismo centroide se le denomina consenso o de referencia. A las coordenadas de los especímenes alineados se les denomina «coordenadas de Procrustes» y son usadas como variables de la forma en los análisis estadísticos.

Antes de realizar algún análisis estadístico, es necesario someter a los puntos deslizantes a un proceso de deslizamiento con el cual se establece la correspondencia geométrica de los puntos deslizantes mediante la remoción del efecto del espaciado inicial arbitrario. Después del deslizamiento, los puntos deslizantes son tratados de la misma forma que los puntos homólogos en los análisis estadísticos subsecuentes (Gunz y Mitteroecker, 2013).

Para visualizar los cambios en la forma de las *sagittae*, se utilizaron las fotografías de microscopía electrónica de barrido, de las *sagittae* izquierda de todos los organismos de cada clase de talla. Con el programa MakeFan 6 se señalan dos puntos de referencia en la periferia del otolito, paralelos al sulco acústico. Con base en esos puntos, el programa calcula la mitad de la distancia entre ambos y a partir de este punto generó 50 líneas equidistantes radialmente (Figura 5a). Con la finalidad de proveer una cobertura adecuada de la forma del otolito, se digitalizaron 50 puntos deslizantes en la intersección de estas líneas y el borde del otolito mediante el programa tpsDig 2 versión 2.10 (Rohlf, 2006) (Figura 5).

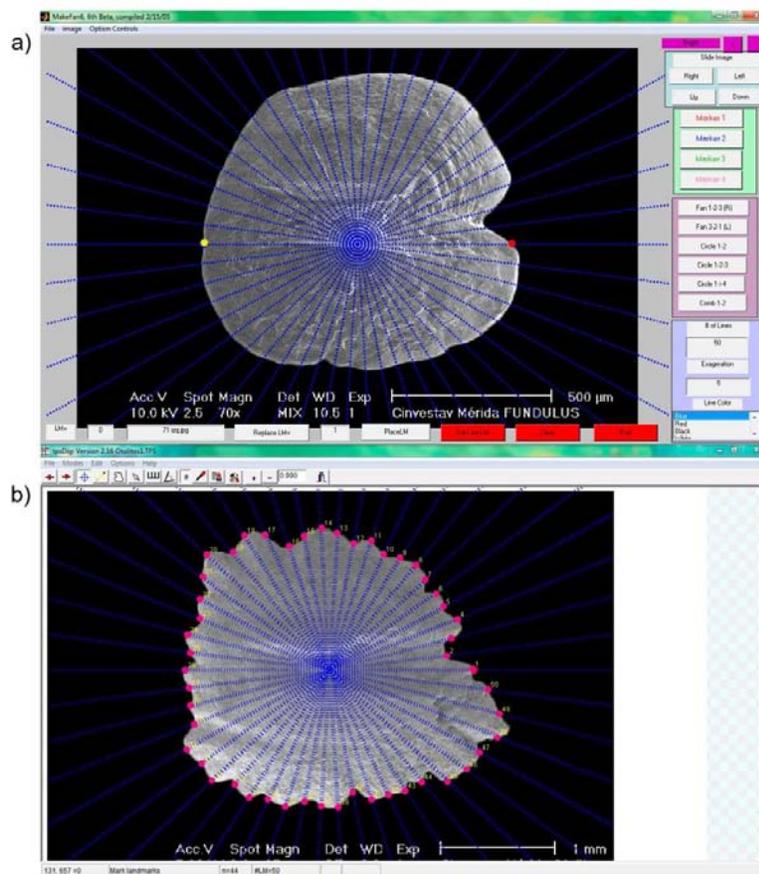


Figura 5. a) Programa MakeFan muestra los puntos de referencia y las líneas trazadas con el programa. b) tpsDig 2, los puntos rosas son los 50 puntos deslizantes (o *semilandmarks*) digitalizados.

Con el Programa CoordGen6f se realizó el ajuste de Procrustes que, como se mencionó, antes sirve para remover la variación debida a la escala, rotación y

traslación, de la forma de la *sagitta*. Posteriormente, se realizó el deslizamiento de los puntos con el programa Semiland6.

El análisis de variables canónicas (CVA) se llevó a cabo con el programa CVAGen6o para discriminar entre individuos de distintas clases de talla con base en las variables morfométricas de los otolitos. El valor de Lambda de Wilk's se usa como criterio para evaluar las diferencias de los grupos: los valores cercanos a cero significan una discriminación perfecta entre los grupos, lo que implica que los grupos se encuentren separados en la gráfica, mientras que los cercanos a uno representan una falta de discriminación.

Para evaluar qué tan efectiva fue la discriminación entre los grupos establecidos por el CVA, se realizó un análisis de asignación de grupos basados en la distancia de Mahalanobis. En este análisis, cada espécimen es clasificado como perteneciente al grupo con la media más cercana; como resultado se obtiene una matriz de datos con los números de los especímenes que están correcta e incorrectamente clasificados.

El análisis de las diferencias entre grupos se realizó mediante la comparación de la distancia de Procrustes de cada clase de talla mediante el programa TwoGroup6.

Para comparar si existen diferencias entre la morfología de las *sagitteae* de las distintas tallas de hembras y machos, se realizaron los procedimientos antes mencionados para proceder a la comparación. Igualmente se realizaron los mismos pasos para comparar la morfología de los otolitos de ejemplares capturados en la laguna de la Carbonera y en la de Chuburná.

Determinación de la composición cristalina

La determinación de la forma de CaCO_3 que se encuentra depositada en el otolito (aragonita o vaterita) se determinó visualmente mediante la técnica establecida por Oxman *et al.* (2007), la cual consiste en ver a los otolitos con luz transmitida y reflejada en un microscopio estereoscópico para determinar el porcentaje del área del otolito que está constituida por aragonita (el otolito se ve opaco), vaterita (el otolito se ve cristalino) o ambas. Para ello se utilizó un programa de análisis de imágenes con el que se calculó el porcentaje de vaterita con la siguiente fórmula:

$$\% \text{ vaterita} = \frac{(1 - \text{rea de aragonita})}{\text{rea total del otolito}}$$

Posteriormente, se estableció una escala empírica que permitió agrupar los resultados en cuatro categorías:

1. Otolitos compuestos completamente de aragonita.
2. Otolitos con vaterita (Área $\leq 33\%$ del total).
3. Otolitos en donde la vaterita excede el 33% del área del otolito pero es menor al 66% ($33\% \leq \text{Área} \leq 66\%$).
4. Otolitos en donde la vaterita es predominante (Área $> 66\%$).

Los otolitos con valores de 1 y 2 se consideraron como compuestos de aragonita y aquellos con valores a de 3 y 4 se consideraron compuestos por vaterita.

Resultados

Se obtuvieron un total de 232 organismos de *Fundulus persimilis* de los cuales 159 fueron hembras y 73 machos. De esos organismos, 130 pertenecen a Chuburná y 102 a La Carbonera. Las hembras fueron las que presentaron la mayor amplitud del intervalo de tallas, desde 11.93 mm (Ls) hasta los 122.1 mm (Ls). Las tallas de los machos estuvieron comprendidas en el intervalo $64.3 \text{ mm} \leq Ls, \text{ mm} \leq 129.6$ (Tabla 1).

La longitud de los otolitos varió de los 0.12 mm a los 3.16 mm, siendo las hembras las que tuvieron los otolitos más grandes (3.16 mm). Comparado con las hembras, el otolito más chico de los machos midió 1.21 mm de longitud mientras que el más largo midió 2.64 mm.

Los resultados de la *t* de *Student* para evaluar si existieron diferencias entre el largo ($t=-0.501, p>0.05$) y ancho ($t= 1.535, p>0.05$) del otolito derecho e izquierdo no mostraron diferencias significativas por lo que ambos otolitos son iguales. Para los posteriores análisis se utilizaron las *sagittae* izquierdas.

Tabla 1. Intervalo de los descriptores morfométricos de *F. persimilis* en la Laguna de la Carbonera.

Medida	Intervalo de medidas	
	Hembras	Machos
N	159	73
Longitud total (Lt, mm)	15.01 - 144.50	64.30 - 129.6
Longitud estándar (Ls, mm)	11.93 - 122.10	53.20 - 109.7
Longitud cefálica (mm)	4.05 - 40	13 - 33.7
Altura máxima (mm)	2.25 - 47.90	12.3 - 28
Diámetro del ojo (mm)	1.25 - 6.20	2.6 - 5.7
Peso (g)	0.02 - 46.28	3.23 - 28.22
Longitud otolito (mm)	0.12 - 3.16	1.21 - 2.64
Ancho otolito (mm)	0.19 - 3.53	1.23 - 2.76
Área total (mm²)	0.04 - 8.93	1.13 - 5.77

Análisis morfológico

Descripción de la sagitta

Un total de 232 *sagittae* fueron fotografiadas en microscopía electrónica de barrido. Como se observa en la Figura 6, una *sagitta* típica de los organismos cuya talla se encuentra en el intervalo $12 \leq L_s, \text{ mm} \leq 36$ es de forma circular, los bordes son lisos. El sulco acústico no es muy distinguible, se localiza en posición medial y es de tipo arqueosulcoidal, su apertura es de tipo ostial. La cauda es tubular y no presenta curvatura en su parte posterior. Los otolitos más pequeños de esta talla no presentan cisura, sin embargo conforme crece el otolito, el rostro y el antirostro se desarrollan por lo que se puede observar, en otolitos provenientes de ejemplares $>$ a 30 mm L_s , la cisura.

Las *sagittae* de los organismos comprendidos en el intervalo de talla $37 \leq L_s, \text{ mm} \leq 108$ son cuadradas, los bordes se vuelven irregulares. La parte posterior del otolito es truncada. El sulco acústico es mucho más notable, se encuentra en posición medial, no se distingue claramente el ostio de la cauda. La cauda es de tipo tubular con una curvatura marcada en su parte posterior que va hacia el borde ventral del otolito. Cisura presente; el rostro puede ser puntiagudo y mucho más prominente que el antirostro o redondeado y no tan prominente como en el anterior. Se hace presente una depresión areal dorsal.

La *sagitta* de los organismos cuya talla es $>$ 108 mm L_s es de forma rectangular, presenta bordes irregulares; el borde posterior es truncado. Sulco acústico en posición medial; cauda de forma tubular la curvatura hacia el borde ventral no es tan marcada como en los otolitos de la talla dos. No se alcanza a distinguir el ostio de la cauda. La cisura es muy notable, el rostro es más prominente que el antirostro y es puntiagudo.

1 mm



Talla 1



Talla 2



Talla 3

Figura 6. Fotografías SEM de la *sagitta* de distintas tallas de *Fundulus persimilis*. Talla 1 (Ls 21.6mm), Talla 2 (Ls 85 mm) y Talla 3 (Ls 110 mm).

Análisis morfométrico

Morfometría tradicional

Debido a que no se obtuvieron organismos con longitud estándar $L_s < 50$ mm en la laguna de Chuburná, los organismos de la Carbonera menores a esta longitud, fueron analizados por separado en las relaciones de longitud estándar y longitud del otolito con el propósito de evitar incorporar diferencias debidas a la talla.

Las regresiones potenciales que se obtuvieron para los organismos > 50 mm (L_s), de longitud estándar y las longitud del otolito izquierdo y derecho, muestran coeficientes de determinación altos en ambas localidades ($0.66 \leq R^2 \leq 0.83$; $p < 0.05$) esto indica que existe una relación significativa entre las variables (Figura 7 y 8). Para ambas localidades y en ambos otolitos, el valor de b fue distinto de 1 (Tabla 2) por lo que el crecimiento de las *sagittae* derechas e izquierdas de las dos localidades es de tipo alométrico negativo, lo que implica que el pez crece en mayor proporción que el otolito.

Tabla 2. Resultados de la regresión y t de Student de la relación longitud estándar vs longitud del otolito derecho e izquierdo de los organismos de la laguna de la Carbonera y Chuburná. Se muestra la pendiente (m), la t calculada (t), y el nivel de significancia (p).

Otolito	Localidad	N	b	t	p
Derecho	Carbonera	78	0.531	-17.122	<0.05
	Chuburná	130	0.548	-21.058	<0.05
Izquierdo	Carbonera	78	0.497	-12.339	<0.05
	Chuburná	130	0.555	-19.854	<0.05

Los resultados de la comparación de pendientes entre los otolitos derechos e izquierdos de los organismos de la Carbonera y Chuburná mostraron que las pendientes en ambos otolitos y para las dos localidades son iguales por lo que se procedió a comparar las ordenadas al origen. Los resultados muestran que la ordenada al origen es distinta en ambas localidades (Tabla 3).

Tabla 3. Prueba de *t*-Student para la comparación de pendientes de las relación Longitud estándar vs longitud del otolito derecho e izquierdo de *F. persimilis* provenientes de La Carbonera y Chuburná

Otolito	Localidad	$t_{pendiente}$	$p_{pendiente}$	$t_{ordenada}$	$p_{ordenada}$
Derecho	Carbonera vs	-0.523	>0.05	-3.570	<0.05
	Chuburná				
Izquierdo	Carbonera vs	-1.359	>0.05	-5.324	<0.05
	Chuburná				

Las relaciones potenciales obtenidas para relacionar la longitud de los organismos de la Carbonera con tamaños <50 mm Ls y las longitudes de los otolitos derecho e izquierdo mostraron coeficientes de determinación altos en ambos casos ($R^2= 0.76$ y $R^2=0.84$, respectivamente) (Figura 9).

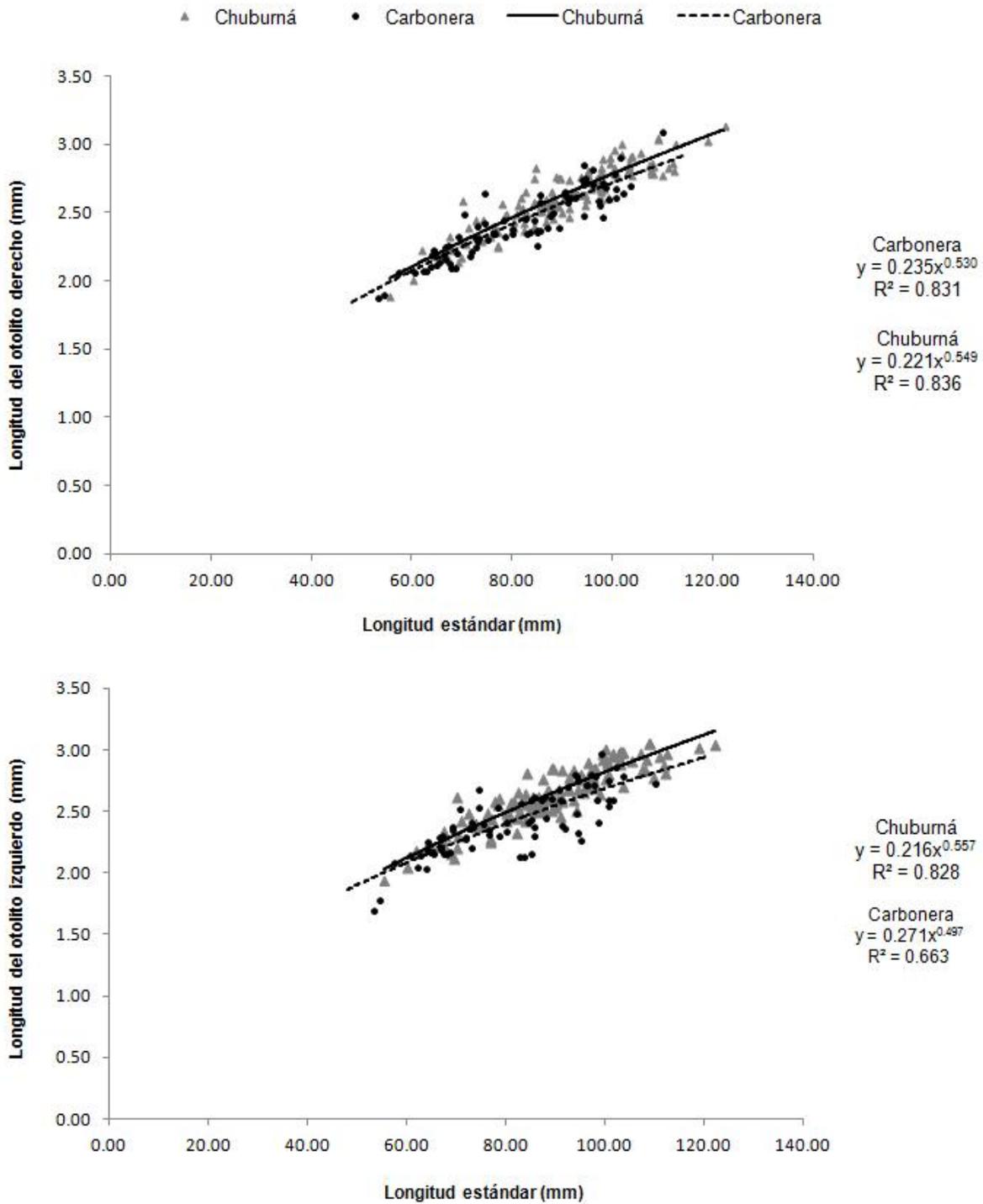


Figura 7. Regresiones potenciales de los otolitos derechos e izquierdos de La Carbonera y Chuburná. En las gráficas se muestra la ecuación resultante y el coeficiente de determinación.

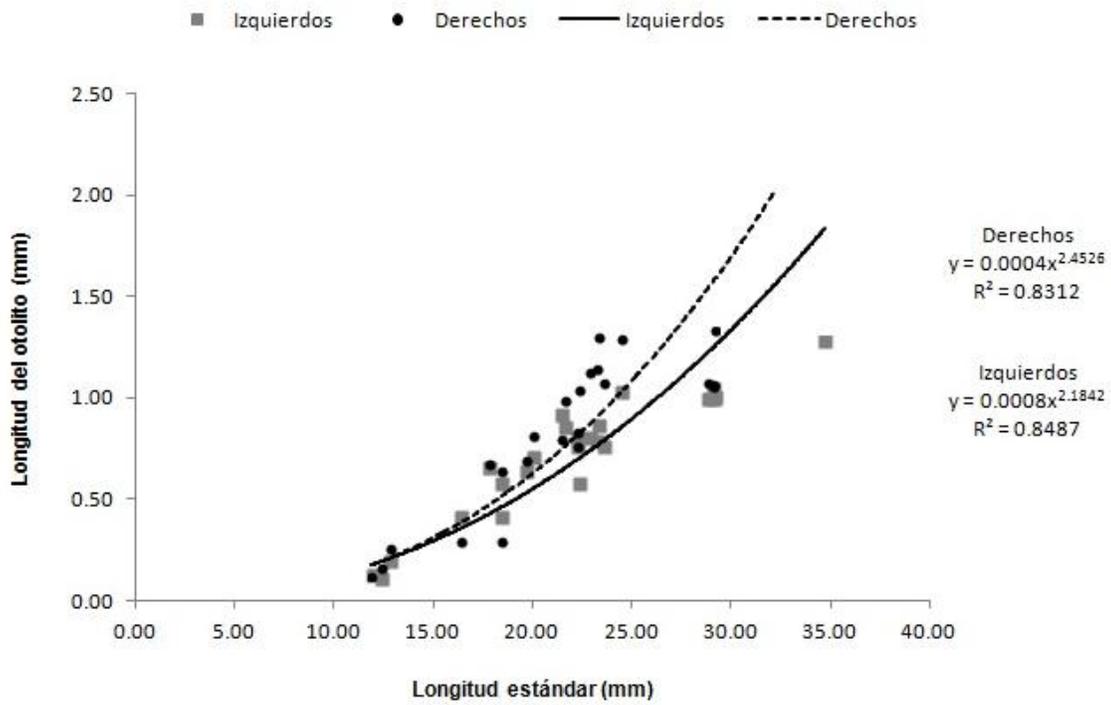


Figura 8. Regresiones potenciales de los organismos de la Carbonera con longitud estándar <50 mm.

Morfometría Geométrica

Los resultados de esta sección corresponden a datos provenientes de 232 *sagittae* izquierdas de *Fundulus persimilis* obtenidos de la laguna de la Carbonera y Chuburná. La Figura 9 muestra la imagen que resulta del ajuste de Procrustes, en ella se observan en azul los puntos consenso y en negro las coordenadas de cada uno de los 50 puntos deslizantes analizados en cada otolito. La dispersión de los puntos negros respecto de los azules (consenso) muestra la variabilidad morfológica existente en cada otolito. La Figura 10 muestra la alineación de los puntos deslizantes realizada con el programa SemiLand.

El análisis de variables canónicas de los datos provenientes de los organismos pertenecientes a cada una de las tres clases de talla establecidas mostró diferencias entre ellas (Eje 1, Lambda= 0.0690, gl=192, $p < 0.01$; Eje 2 Lambda= 0.4451, gl=95, $p < 0.01$). El primer eje canónico mostró un eigenvalor de 5.45 mientras que el segundo y tercero de 1.24 y 3.60×10^{-13} respectivamente. En la Figura 11 se observan tres grupos de datos, cada uno perteneciente a cada clase de talla.

En las rejillas de deformación (figuras 12 y 13) se observan los puntos consenso de todos los puntos deslizantes analizados y se representan los cambios en la forma del otolito en cada uno de los ejes canónicos. Como se observa en la rejilla del primer eje canónico, los mayores cambios en forma de la *sagitta* se presentan en el borde dorsal (parte anterior y posterior) y en la parte anterior (en donde se encuentra la cisura). El borde posterior y ventral del otolito presentan cambios menores.

La rejilla de deformación del segundo eje canónico muestra mayores cambios en la parte posterior de la *sagitta*, también se observan cambios en la parte anterior de la *sagitta* a la altura del rostro.

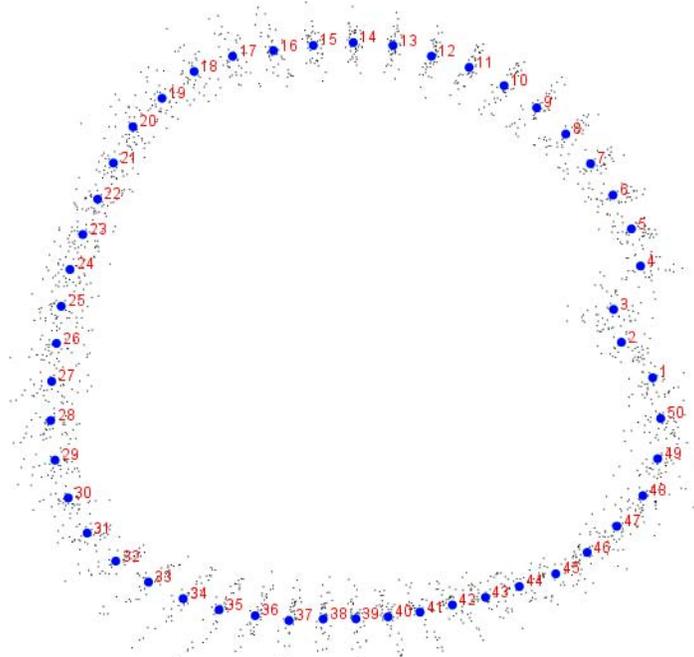


Figura 9. Ajuste de Procrustes de los 50 semilandmarks digitalizados en los otolitos de *Fundulus persimilis* (n = 232).

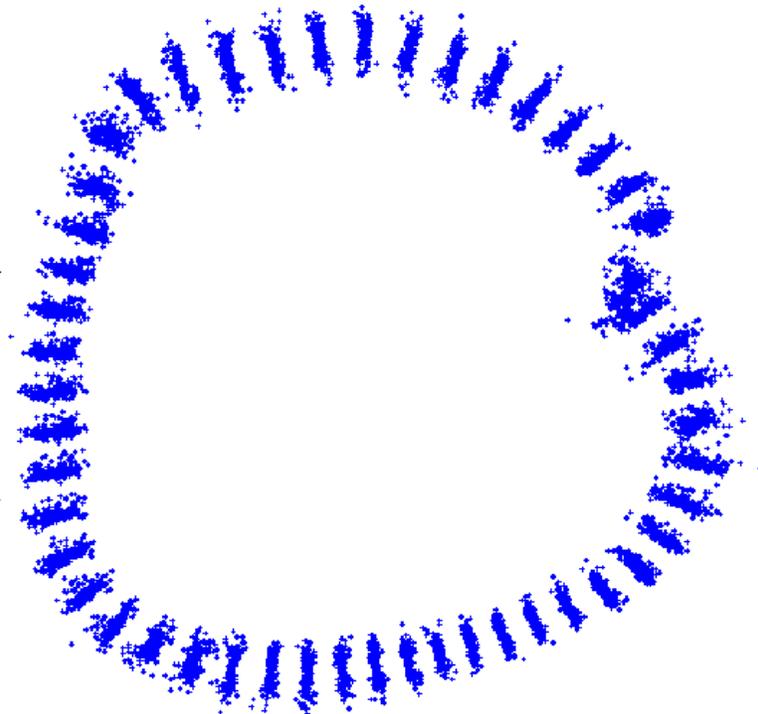


Figura 10. Puntos deslizantes (o semilandmarks) alineados de las *sagittae* de *Fundulus persimilis*. La gráfica del primer y tercer ejes canónicos agrupan a las tallas dos y tres, se observa cómo los promedios de las distancias de Procrustes de las *sagittae*

provenientes de organismos de estas tallas se encuentran cercanos el uno del otro. La talla uno se separa de las otras dos (Figura 12).

Los cambios morfológicos que se observan en la rejilla de deformación del tercer eje canónico no son tan notorios como en los dos anteriores, sin embargo los cambios más significativos se muestran en la parte postero ventral del borde de la *sagitta*.

El análisis de asignación de grupos establecido por el CVA y que está basado en la distancia de Mahalanobis, mostró que el 89.6% de las asignaciones grupales fueron correctas.

Los diagramas con flechas de la Figura 13 nos muestran la forma promedio de la *sagitta* de cada clase de talla. En la que corresponde a los ejemplares más pequeños, se observa que los cambios más notorios se dan en la parte anterior del otolito, principalmente en la parte media en donde se forma la cisura. En general, en la talla dos los cambios asociados a la forma de las *sagittae* se encuentran en la parte anterior del otolito a la altura del rostro y antirrostro. La parte anteroventral de los otolitos pertenecientes a la talla tres, en donde se ubica el rostro, muestra mayores cambios en la forma.

Los resultados de la prueba de F de Goodall mostraron diferencias significativas al comparar las distancias de Procrustes de cada clase de talla por lo que difieren unas de otras (Tabla 4).

Tabla 4. Prueba de F de Goodall, muestra los valores de F , grados de libertad (gl) y significancia (p).

	F	gl	P
Talla 1 vs Talla 2	20.06	96,20928	<0.05
Talla 2 vs Talla 3	11.82	96,19488	<0.05
Talla 1 vs Talla 3	14.39	96,2784	<0.05

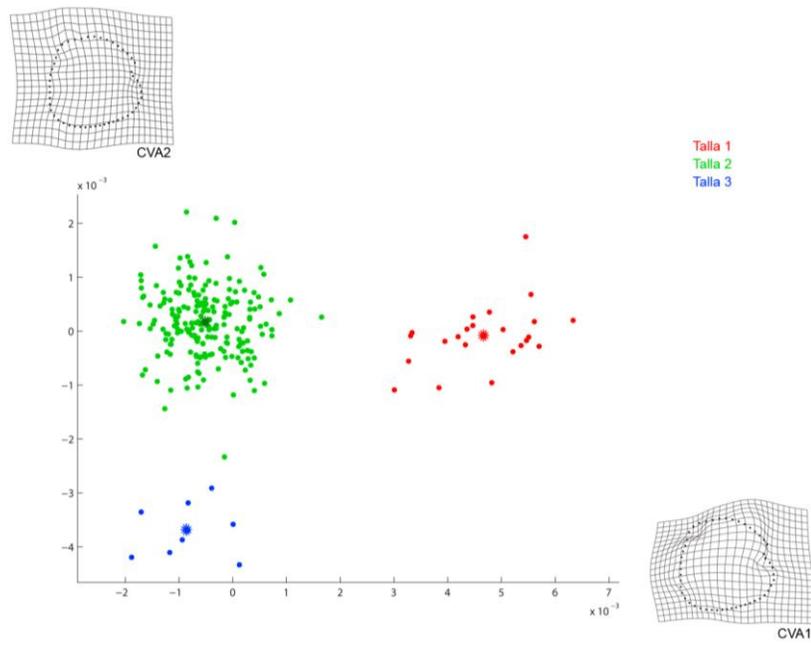


Figura 11. Variables canónicas del primer y segundo CVA. El punto más grande de cada grupo representa el promedio para cada uno. Las rejillas de deformación representan los cambios en la forma del otolito para cada uno de los ejes canónicos

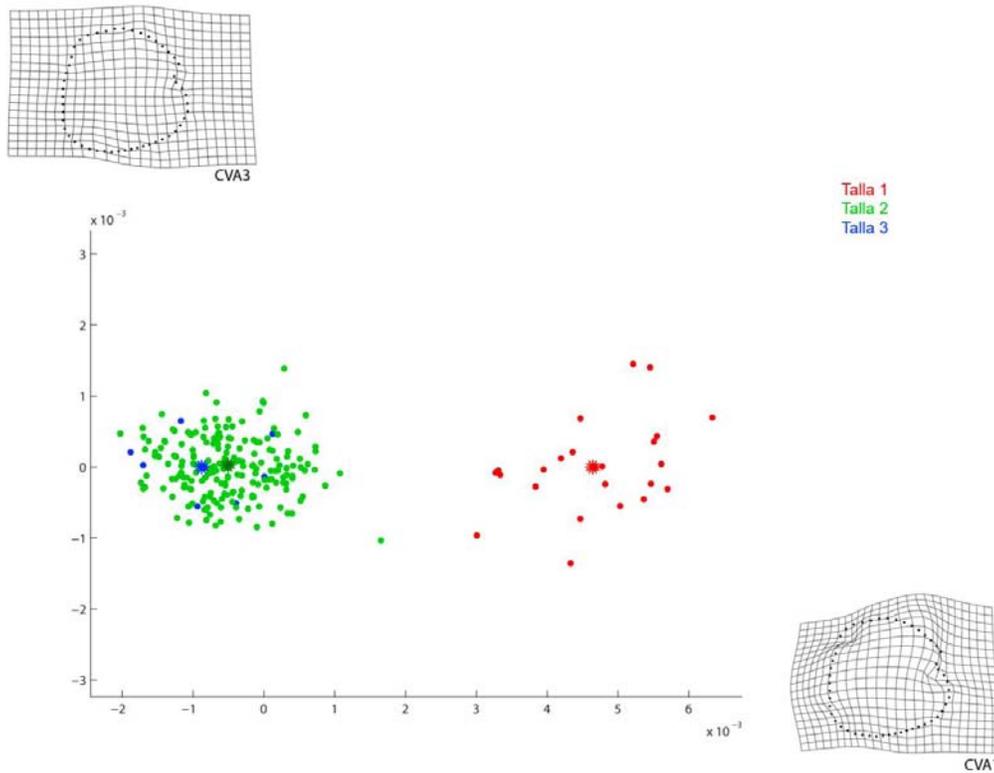
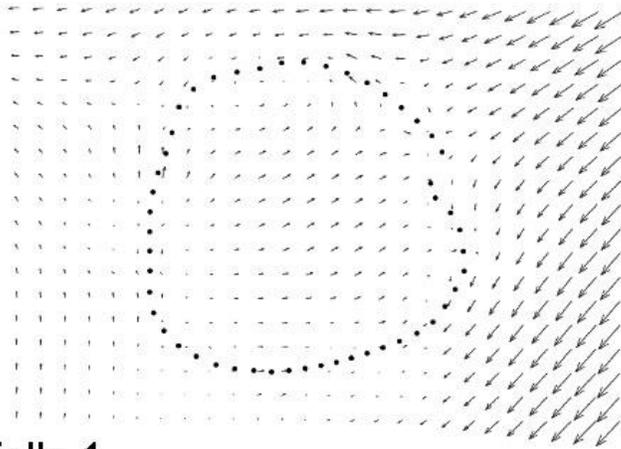
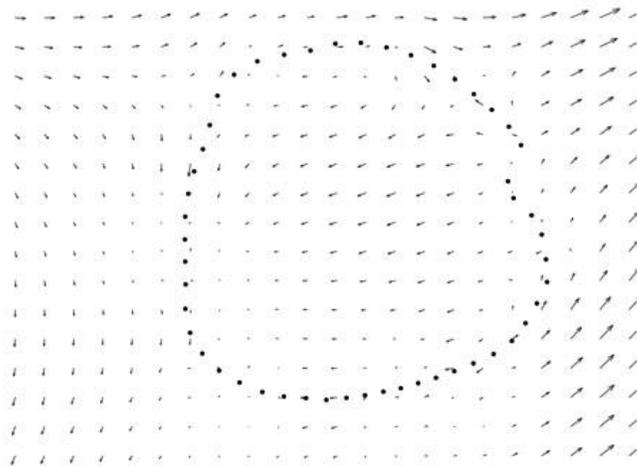


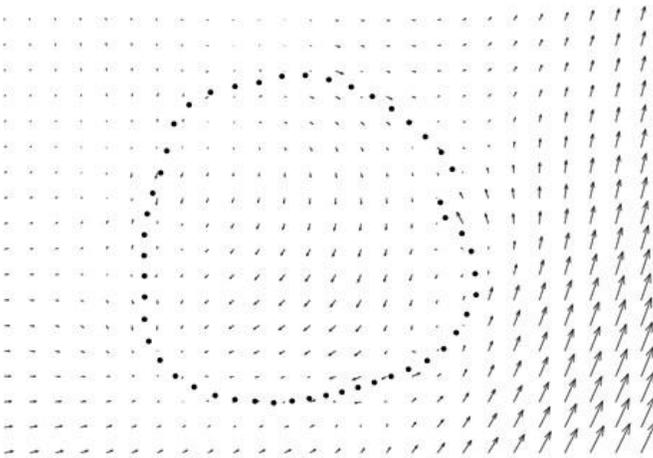
Figura 12. Variables canónicas del primer y tercer CVA. El punto más grande de cada grupo representa el promedio para cada uno. Las rejillas de deformación representan los cambios en la forma del otolito para cada uno de los ejes canónicos



Talla 1



Talla 2



Talla 3

Figura 13. Plano de flechas de la forma promedio de la sagitta de cada clase de talla.

El análisis de variables canónicas basado en la morfología de las *sagittae* de hembras y machos provenientes de las dos localidades, muestra en las figuras 15 y 16; debido a que los organismos de la talla 1 no estuvieron igualmente representados, para realizar este análisis sólo se consideraron los datos de las tallas 2 y 3 de ambos sexos. Los primeros dos ejes fueron los que mejor discriminaron entre los grupos establecidos (Eje 1, Lambda= 0.0192, gl=384, $p<0.01$; Eje 2 Lambda= 0.1285, gl=285, $p<0.01$). Los autovalores del primer eje canónico fueron de 5.70, del segundo 1.35 y del tercero 1.01.

La **Error! Reference source not found.** muestra el grupo que forman la talla 2 de hembras y machos, se observa que sus promedios se encuentran muy cercanos. Los organismos de la talla 3 de hembras y machos se encuentran cercanos, sin embargo cabe recordar que solo hay un organismo de la talla 3 de machos. En el primer eje canónico los cambios morfológicos de las *sagittae* se presentan en su parte anterior, a la altura de la cisura y antirostro, y en la parte posterodorsal del borde del otolito. En la rejilla de deformación del segundo eje canónico los cambios morfológicos se dan en las mismas zonas que en el primero sin embargo estos cambios son menos significativos.

La **Error! Reference source not found.**5 agrupa a las tallas 2 y 3 de las hembras de *. persimilis* junto con la talla dos de los machos. La talla tres de machos se encuentra separada de la agrupación anterior. Las rejillas de deformación del segundo y tercer ejes canónicos muestran cambios significativos en la morfología de las *sagittae* en la zona anterior, en la cisura y antirostro, y en la parte posterodorsal del otolito.

La prueba de F de *Goodall* sólo se realizó para la talla dos de hembras y machos debido a que esta clase de talla fue la única en donde se tenían suficientes organismos para realizar el estadístico. Los resultados fueron significativos al comparar las distancia de Procrustes entre la talla dos de ambos sexos (F 2.30; gl 96, 18720; $p<0.05$).

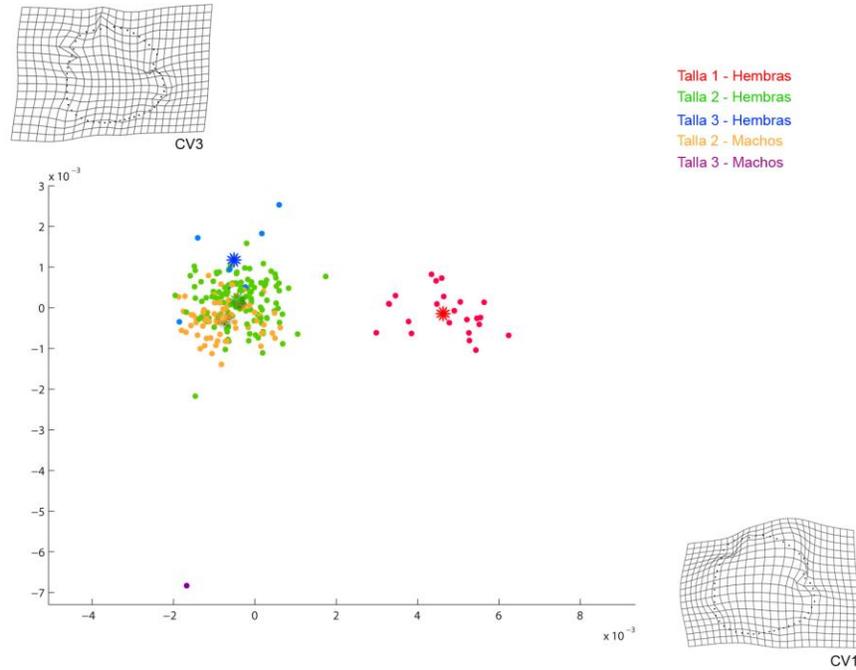


Figura 14. Gráfica del primer y segundo eje canónico de hembras (11.93 - 122.1 mm de longitud patrón) y machos (53.20 - 109.7 mm de longitud patrón) de *Fundulus persimilis*. El punto más grande de cada grupo representa el promedio para cada uno. Las rejillas de deformación representan los cambios en la forma del otolito para cada uno de los ejes canónicos.

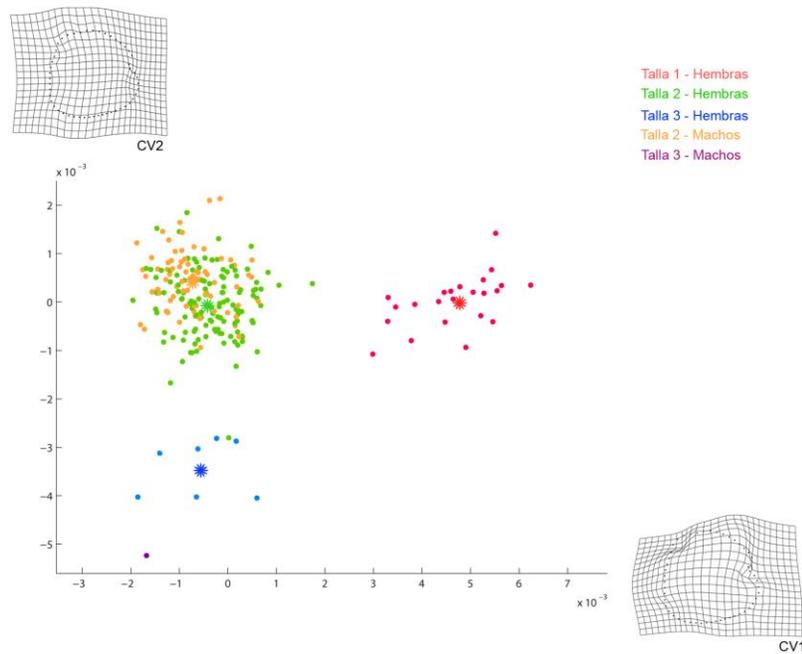


Figura 15. Gráfica del segundo y tercer eje canónico de hembras (11.93 - 122.1 mm de longitud patrón) y machos (53.20 - 109.7 mm de longitud patrón) de *Fundulus persimilis*. El punto más grande de cada grupo representa el promedio para cada uno. Las rejillas de deformación representan los cambios en la forma del otolito para cada uno de los ejes canónicos.

El análisis de variables canónicas entre las tallas de los organismos obtenidos en las dos localidades en las que se realizaron los muestreos biológicos mostró que los primeros tres ejes canónicos indican que existen diferencias entre el tamaño de los otolitos de los organismos provenientes de Chuburná y la Carbonera (Eje 1 $\Lambda = 0.0245$ $gl = 288$ $p < 0.05$; Eje 2 $\Lambda = 0.1619$ $gl = 190$ $p < 0.05$; Eje 3 $\Lambda = 0.4691$ $gl = 94$ $p < 0.05$). El eigenvalor del primer eje fue de 5.61, el del segundo de 1.89 y el tercero de 1.13.

Cabe resaltar que para esta parte del trabajo sólo se tuvo en común la talla 2 de las localidades muestreadas. La talla 1 está constituida por organismos de la laguna de la Carbonera y la talla tres por organismos de la laguna de Chuburná.

La Figura 16 muestra la gráfica del primer eje canónico contra el segundo. Se observa cómo la talla 1 y la talla 3, de la laguna de la Carbonera y Chuburná respectivamente, se encuentran lejos una de la otra. Los organismos de la talla 2 de ambas localidades se encuentran muy juntos, sin embargo no forman un grupo compacto. Los cambios morfológicos del otolito de las rejillas de deformación del primero y segundo ejes canónicos muestran cambios en la parte anterior, principalmente a la altura de la cisura y antirrostro, y en la parte posterodorsal.

La gráfica del primer y tercer ejes canónicos separa las tres tallas, sin embargo a diferencia de la gráfica anterior, los organismos de la talla dos tanto de la Carbonera como de Chuburná, quedan agrupados. Las rejilla de deformación del tercer eje canónico muestran cambios en la forma del otolito en la parte anterior, en el rostro y en la parte posterodorsal (Figura 17).

Los resultados del análisis de asignación de grupos establecido por el CVA, mostraron que el 65.6% de estas fueron correctas.

Debido a que sólo se tuvo la talla dos en común para ambas localidades, la prueba de F de *Goodall*, para ver si existen diferencias entre los otolitos de las dos lagunas, solo se realizó con esa talla. Los resultados fueron significativos, por lo que si existen diferencias morfológicas entre los otolitos de la Carbonera y Chuburná ($N_{Carbonera} = 98$ $N_{Chuburná} = 131$ $F = 27.58$ $gl = 96$, 21792 $p < 0.05$).

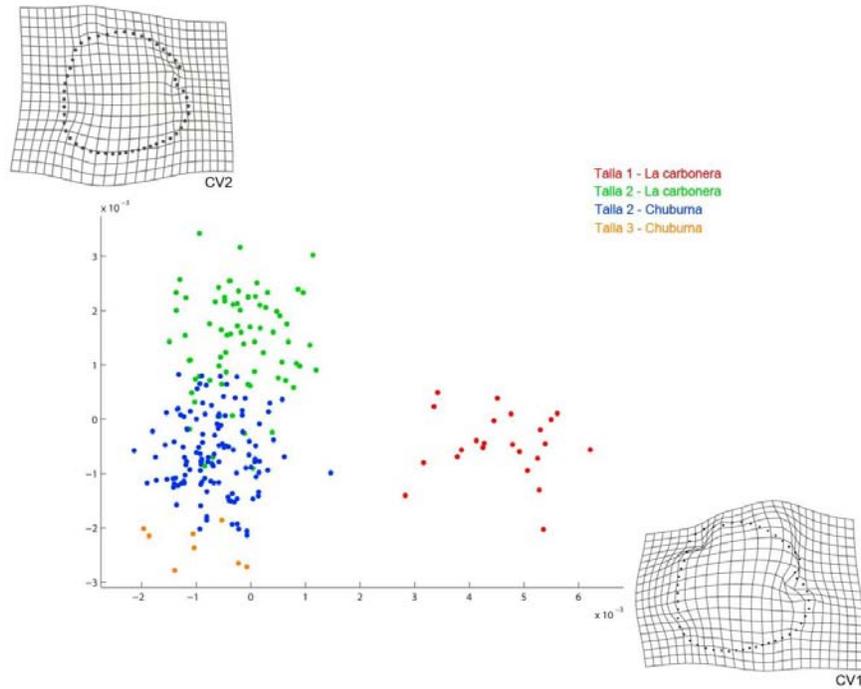


Figura 16. Gráfica del primer y segundo ejes canónico de *F. persimilis* por talla y localidad. Las rejillas de deformación representan los cambios en la forma del otolito para cada uno de los ejes canónicos.

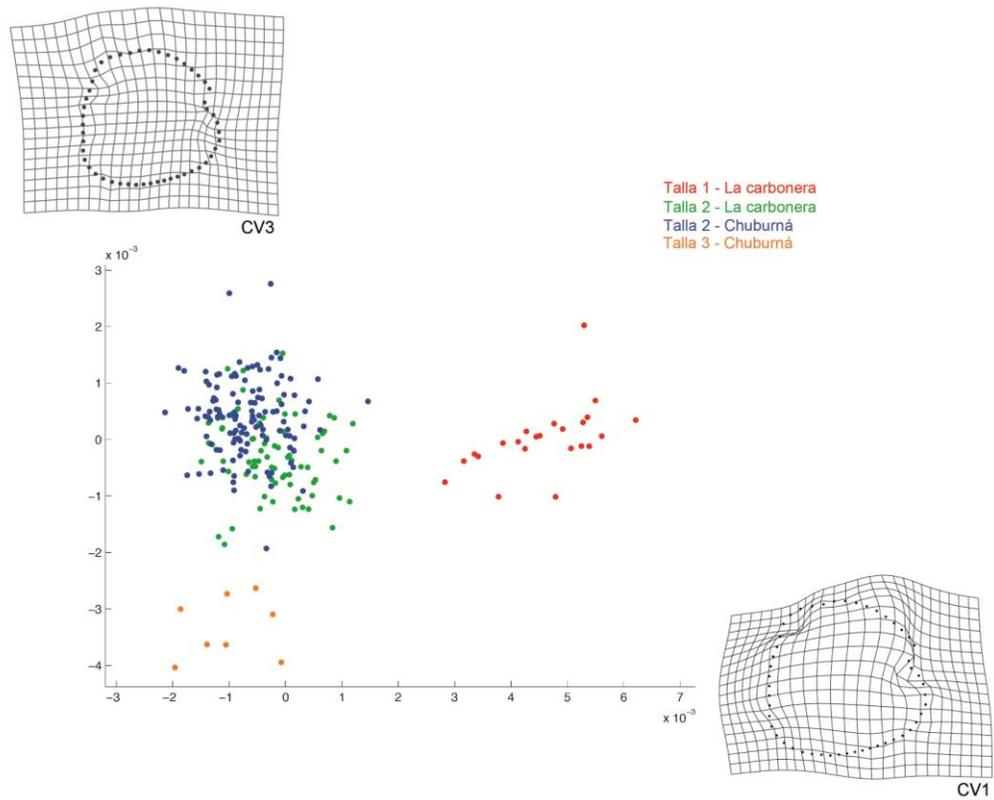


Figura 17. Gráfica del primer y tercer ejes canónicos de *F. persimilis* por talla y localidad. Las rejillas de deformación representan los cambios en la forma del otolito para cada uno de los ejes canónicos.

Composición cristalina

Al observar las fotografías obtenidas mediante el microscopio estereoscópico con luz transmitida y reflejada (Figura 18) y comparando con los valores del área del otolito con los valores establecidos por Oxman *et al.* (2007), se pudo establecer que, la composición cristalina de los otolitos *sagittae* provenientes de los peces agrupados en las tres tallas examinadas no presentaron vaterita. La superficie del otolito no presenta irregularidades y en las fotografías obtenidas con luz reflejada no se observaron secciones transparentes en las *sagittae*. La composición de los 232 otolitos fotografiados es de aragonita.

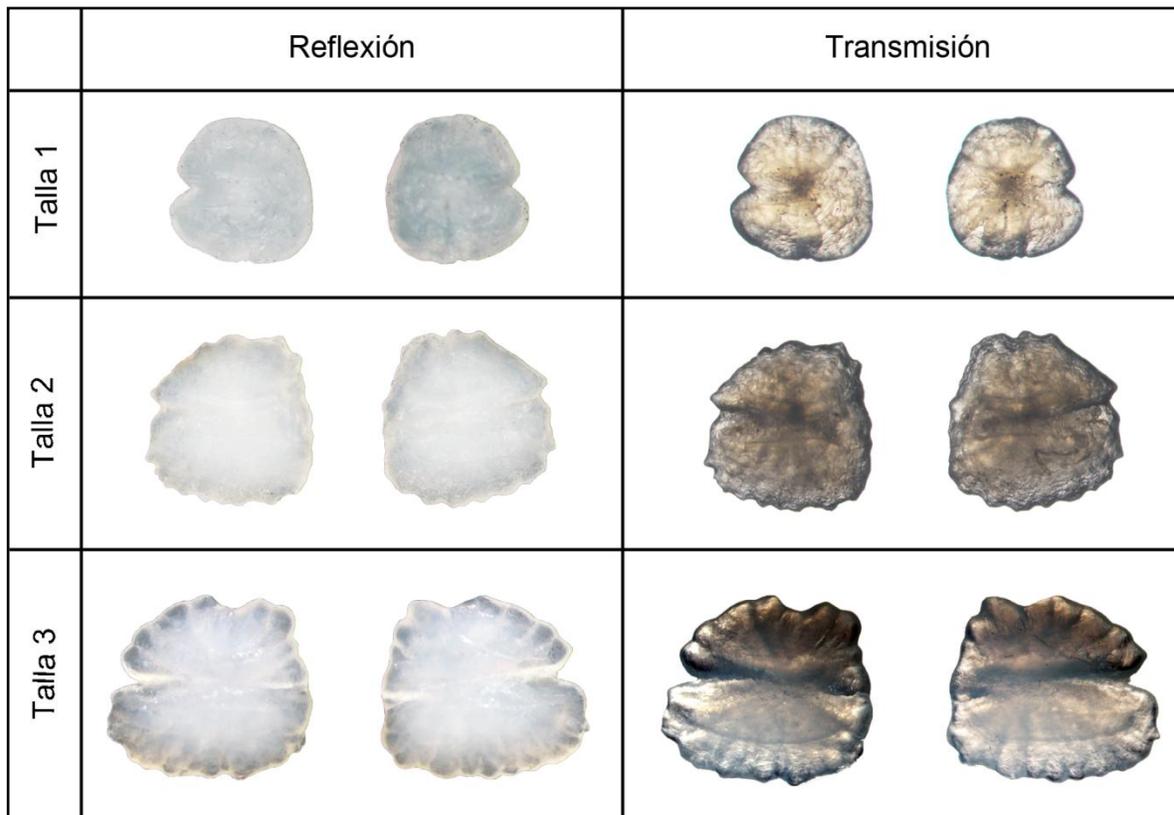


Figura 18. Fotografías ópticas de transmisión y reflexión del otolito derecho e izquierdo de las tres clases de talla de *F. persimilis*.

Discusión

Una especie endémica se encuentra confinada a una región o área reducida y no se encuentra naturalmente en ninguna otra parte del mundo. Generalmente, se encuentran en sitios que han tenido una historia de aislamiento geográfico. En México, de las 2,692 especies de peces reportadas hasta el 2008, 271 (10.1%) son endémicas (Llorente-Bousquets y Ocegueda, 2008). Estas especies son importantes por un número de razones: a) El ámbito reducido de distribución incrementa la vulnerabilidad en relación con las especies ampliamente distribuidas. b) Una especie endémica está altamente adaptada al ambiente en el que vive, por lo que si las condiciones cambian (ya sea por causas antropogénicas o naturales), su adaptación puede ser una fuente de debilidad o fortaleza. c) Este tipo de especies son el centro para la conservación de la diversidad biológica al ser única a nivel mundial (DeMartini y Friedlander, 2004; Meiners y Hernández, 2007).

Conocer a estas especies ayuda a generar estrategias para la conservación y manejo no sólo de la especie misma, sino del ecosistema en el que vive. Éste es el caso de *Fundulus persimilis*, especie endémica del estado de Yucatán que habita fondos arenosos de lagunas costeras cuya biología y ecología son poco conocidas. Estos organismos son presas importantes en la dieta de aves como *Egretta rufescens* y *Ardea alba*, así como peces como *Elops saurus* y *Strongylura notata* (De Dios, 2014).

Las dos localidades de las que se obtuvieron los organismos que se analizaron en este trabajo se encuentran separadas por alrededor de 5.6 km sobre la línea de costa y se sitúan cerca de las bocas de conexión de las lagunas con el mar por lo que comparten buena parte de los valores de los parámetros fisicoquímicos que las caracteriza.

Los organismos de *Fundulus persimilis* colectados de la laguna de la Carbonera tuvieron un intervalo de longitud estándar comprendido entre los 11.93 y los

122.10 mm, aunque las tallas entre los 34 y 53 mm no se encontraron. Para el caso de los organismos colectados en Chuburná, el intervalo de longitud estándar fue de 55.5 a 122.10 mm. Dicha situación pudo ser originada debido al método de muestreo utilizado, ya que la abertura de la malla tanto en el chinchorro como en la atarraya permitió que los organismos pequeños y mediamos se escaparan. Con respecto a la longitud total máxima que se ha reportado en esta especie, esta fue de 150 mm para un organismo no sexado (Huber, 1996), en este estudio la longitud total máxima encontrada fue de una hembra colectada en Chuburná (145 mm).

Las comparaciones estadísticas (t – Student) mostraron que los otolitos derechos e izquierdos de *F. persimilis* no difieren significativamente. Esto coincide con lo que se ha encontrado en especies como *Diapterus auratus* (Rivera *et al.*, 2013), *Odontesthes argentinensis* y *O. bonariensis* (Tombari *et al.*, 2005), *Prionotus nudigula* (Volpedo y Thompson, 1996), *M. barbatus* y *M. surmuletus* (Aguirre y Lombarte, 1999) razón por la cual suelen utilizarse indistintamente en muchos estudios.

Análisis morfológico

El estudio de la morfología de los otolitos es de gran ayuda en diversos estudios ictiológicos como puede ser para identificación de especies, stocks pesqueros y poblaciones de peces. De acuerdo con nuestros resultados, la *sagitta* de *F. persimilis* presenta cambios morfológicos durante su desarrollo. Diversos autores han encontrado diferencias intra e interespecíficas en la forma de los otolitos *sagitta* de tripterygiidos y sciánidos (Jawad, 2007; Waesle *et al.*, 2003).

Los rasgos más conspicuos con los cuales se pueden diferenciar los otolitos de las tallas establecidas de *F. persimilis* (Talla 1: 12 a 36 mm; talla 2: 37-108 y talla 3: 109-123 mm de longitud estándar) durante su desarrollo son: la forma y los bordes del otolito. La forma de la *sagitta* de los organismos que pertenecen a la talla uno

(12 a 36 mm) es más uniforme comparada con la de las otras dos tallas. Los mismos resultados se han encontrado por Capoccioni *et al.* (2011) quienes observaron que la forma de los otolitos de *Anguilla anguilla* de organismos pequeños es más uniforme que en los otolitos de los organismos grandes.

Recientemente, se han publicado fotografías de *F. heteroclitus* (Campana, 2004) y *F. diaphanus* (AFORO). Sin embargo, no existe información publicada acerca de los otolitos de *F. persimilis*, por lo que este trabajo es el primero en mostrar fotografías de microscopía electrónica y estereoscópica que permitieron describir los otolitos de esta especie y analizar los cambios morfológicos que presentan a lo largo del desarrollo. Las fotografías de estas tres especies congéneres permiten señalar que, si bien existe parecido en la forma general de estas estructuras, también presentan singularidades que permiten diferenciar entre las especies. La forma de la *sagitta* de un organismo de 80 mm de longitud de *F. heteroclitus* es de forma trapezoidal, la de *F. diaphanus* es triangular mientras que la de *F. persimilis* es cuadrangular, por lo que se confirma que los otolitos de *Fundulus* son especie-específicos.

Análisis morfométrico

Morfometría tradicional

En general, el crecimiento en peces depende de varios factores como son la temperatura y la disponibilidad de alimento (Green *et al.*, 2009) y el crecimiento del otolito se relaciona con el crecimiento somático del pez. En el presente trabajo, no existieron diferencias en la tasa de crecimiento de los otolitos derecho e izquierdo en organismos >50 mm (Ls) provenientes de las localidades de Chuburná y La Carbonera, con respecto a la longitud estándar del pez, por lo que estos resultados sugieren que pertenecen a una misma población. El crecimiento de ambos otolitos en las dos localidades es de tipo alométrico negativo.

En los organismos <50 mm (Ls), la forma en la que crecen los otolitos en relación al tamaño del pez, es distinta que la observada en los organismos mas grandes. En esta etapa el crecimiento es de tipo alométrico positivo ($b_{carder}= 2.452$, $b_{carizq}= 2.184$).

Diversos autores (Volpedo y Thompson, 1996; Aguirre y Lombarte, 1999; Tomabri *et al.*, 2005) han puesto de manifiesto que a partir de una determinada talla el otolito tiende a crecer más en grosor que en largo y ancho (eje antero posterior y dorsoventral), lo que explicaría la alometría positiva en organismos <50 mm (Ls) y alometría negativa en organismos > 50 mm (Ls).

Morfometría Geométrica

La alometría estudia los cambios en las dimensiones de las partes del cuerpo que se encuentran relacionadas con cambios en el tamaño total del organismo (Thompson, 1917; Huxley 1924). La morfometría geométrica es una herramienta que se ha usado muy poco en estudios relativos a los cambios morfológicos de los otolitos durante la ontogenia del pez. No obstante, se ha demostrado que es una buena herramienta para este fin (Monteiro *et al.*, 2005; Vignon, 2012).

La evidencia empírica sugiere que el desarrollo de la forma del otolito depende, en efecto, de la ontogenia (Vignon, 2012). Nuestros resultados obtenidos mediante el análisis de variables canónicas corroboran estas observaciones considerando que la prueba de F de Goodall permite asegurar que los otolitos *sagittae* de *F. persimilis* pertenecientes a organismos de las tres clases tallas establecidas son distintos. Las características de la forma de los otolitos permiten discriminar no sólo la especie a la que pertenecen sino entre las distintas clases de tallas del pez.

Las rejillas de deformación indican que existen cambios morfológicos considerables en las *sagittae* de *F. persimilis* que se dieron principalmente en la parte anterior y posterodorsal del otolito. Esto puede ser reforzado con las

descripciones morfológicas de las *sagittae* de las tres tallas en donde se observan los cambios en la parte anterior del otolito como puede ser la presencia de la cisura, y en la parte posterodorsal con los cambios en el borde del otolito. Se ha visto que el patrón de cambios morfológicos es similar en otras especies de sciánidos como *Ctenosciaena gracilicirrhus* y *Larimus breviceps*, con una tendencia a tener cambios en la parte anteroposterior y un incremento relativo en el ostio conforme crece el pez (Monteiro *et al.*, 2005).

Diversos autores han encontrado que el sexo no es un factor que influye en la forma de los otolitos (Castonguay *et al.*, 1991, Begg *et al.*, 2000, Cardinale *et al.*, 2002; Renán *et al.*, 2011). Los resultados de este trabajo concuerdan con estas observaciones pues no existieron diferencias morfológicas entre las *sagittae* de hembras y machos de *F. persimilis*. En el análisis de variables canónicas se aprecia que los otolitos de la talla dos tanto de hembras como de machos forman un solo grupo (**Error! Reference source not found.** y **Error! Reference source not found.**) . Cabe mencionar que para la talla uno solo se analizaron organismos hembras y para la tres solo se obtuvo un macho; en las figuras, éste se encuentra muy cercano a las hembras de esa misma talla. La presencia de un mayor número de hembras puede ser justificada con el estudio realizado por Flores (2013) sobre la reproducción de *F. persimilis* en el que señala que la proporción sexual de esta especie en un ciclo anual, tiene una tendencia hacia las hembras con 1.4:1, para hembras y machos respectivamente.

Las diferencias en la forma del otolito pueden ser atribuidas a la tasa de crecimiento del pez que varía más entre stocks que entre organismos de distinto sexo. Por ello, la forma del otolito provee una medida de identidad de las poblaciones o stocks de peces, siempre que permanezcan parcialmente segregadas (Campana y Casselman, 1993). Los organismos estudiados en este trabajo provienen de dos localidades cercanas en la costa norte de Yucatán (las lagunas La Carbonera y Chuburná). Los resultados del análisis de variables canónicas y de la prueba de *F* de Goodall permiten señalar que los otolitos provenientes de organismos categorizados en la talla dos (37-108 mm de longitud

estándar) de ambas localidades son distintos morfológicamente. Sin embargo, no se puede decir que los organismos de La Carbonera y de Chuburná pertenezcan a dos poblaciones distintas debido a los resultados obtenidos al comparar las pendientes de las regresiones que relacionan la talla del pez (longitud estándar, mm) y el largo total del otolito (mm) en cada localidad. Algunos autores como Schulz-Mirbach *et al.* (2010) han encontrado diferencias interespecíficas en los otolitos de *Poecilia mexicana* provenientes de tres localidades: Río Oxolotán, Tampico y de una cueva. Los resultados obtenidos mostraron que la diferencia en forma de los otolitos de los peces que vivían en la cueva con respecto a los de los ríos, puede ser debido a los cambios en el metabolismo que tienen estos organismos por el tipo de vida en las cuevas. Por otro lado, se han hecho estudios en donde se ha observado que las diferencias morfológicas interespecíficas de los otolitos están ligadas a las condiciones medioambientales en las que viven los organismos (Torres *et al.*, 2000). Los resultados permiten plantear la hipótesis que las diferencias en la forma de los otolitos de *F. persimilis* que habitan en estos sitios se deben probablemente a las condiciones medioambientales de las dos localidades.

Composición cristalina

La audición es sin duda una parte importante del aparato sensitivo de estos animales, debido a que probablemente lo utilicen para localizar a sus presas, huir de sus predadores así como reconocimiento intraespecífico (Oxman *et al.*, 2007). Se sabe muy poco acerca de la fisiología de los otolitos. Sin embargo, se han descrito los factores de estrés tanto en sistemas de cultivo como en el medio natural, que producen cambios en las tasas a las que se deposita el carbonato de calcio en los otolitos o que éste se deposite en forma de calcita o vaterita lo que puede causar menor sensibilidad auditiva en los peces (Campana y Nelson 1985, Oxman *et al.*, 2007, Bowen II *et al.*, 1999). Entre estos factores, la temperatura del agua o las deficiencias en la alimentación controlan los procesos fisiológicos que determinan las tasas a las que se deposita el material.

Los organismos de este trabajo se capturaron del medio natural y las observaciones no mostraron presencia de vaterita en ninguno de los otolitos analizados. Esto podría ser debido a que el porcentaje de prevalencia de otolitos formados por vaterita en organismos obtenidos del medio natural es muy reducido, como lo encontrado en el trabajo de Bowen II *et al.* (1999) en el que sólo del 22 al 49% de los otolitos de peces en su medio natural tuvieron vaterita. Sin embargo un aspecto importante de mencionar es que el crecimiento de los otolitos se da en anillos de crecimiento y se han detectado anillos de vaterita en organismos que han sido capturados de su medio. Por esta razón, es necesario un análisis más detallado de los anillos del otolito de *F. persimilis*.

Conclusiones

Las *sagittae* derechas e izquierdas de *Fundulus persimilis* son morfométricamente iguales por lo que, para fines de su caracterización, pueden usarse indistintamente.

Las *sagittae* de *F. persimilis* presentan cambios morfológicos a lo largo del desarrollo del pez, en el intervalo de tallas analizado ($12 \leq L_s, \text{mm} \leq 122$). La forma general de estas estructuras y las características del borde de los otolitos permiten diferenciar entre organismos de distintas clases de talla. A pesar de que *F. persimilis* es un organismo que, anatómicamente, exhibe dimorfismo sexual, la forma de los otolitos de las hembras no presenta diferencias morfológicas significativas con respecto a la de los machos.

El crecimiento del otolito en peces con longitud estándar $L_s < 50 \text{ mm}$ es de tipo alométrico positivo mientras que en aquellos cuya $L_s > 50 \text{ mm}$, es de tipo alométrico negativo. No existen diferencias en las tasas de crecimiento de los otolitos en función del tamaño de *F. persimilis* obtenidos en las dos localidades estudiadas en la costa norte de Yucatán y no se encontraron diferencias

morfológicas en los otolitos *sagittae* de ambos grupos de peces. Estos resultados apoyan la idea de que los organismos que habitan en los sistemas lagunares de La Carbonera y de Chuburná pertenecen a una misma población.

Las *sagittae* de esta especie no presentaron vaterita por lo que no parecen existir cambios en el metabolismo individual debidos a condiciones anómalas en el ambiente que produzcan estrés fisiológico. Estos resultados permiten suponer que las variaciones ambientales observadas en el sistema lagunar de La Carbonera y en el de Chuburná se encuentran dentro de los intervalos de tolerancia de *F. persimilis*. Sin embargo, son necesarios estudios más detallados que logren establecer de una forma más precisa la composición de los otolitos esta especie.

Anexo 1

Posición sistemática

Reino Animalia

Filo Chordata

Subfilo Vertebrata

Superclase Osteichthyes

Clase Actinopterygii

Subclase Neopterygii

Infraclase Teleostei

Superorden Acanthopterygii

Orden Cyprinodontiformes

Suborden Cyprinodontoidei

Superfamilia Funduloidea

Familia Fundulidae

Género *Fundulus*

Especie *Fundulus persimilis* Miller, 1955

Referencias

Able K.W., M. Castagna. 1975. Aspects of an undescribed reproductive behavior in *Fundulus heteroclitus* (Pisces: Cyprinodontae) from Virginia. *Chesapeake Science* (16) 4: 282-284.

Aguirre, H., A. Lombarte, 1999. Ecomorphological comparisons of *sagittae* in *Mullus barbatus* and *M. surmuletus*. *Journal of Fish Biology* 55: 105–114.

Battaglia, P., D. Malara, T. Romeo y F. Andaloro. 2010. Relationships between otolith size and fish size in some mesopelagic and bathypelagic species from the Mediterranean Sea (Strait of Messina, Italy). *Sci. Mar.* 74: 605-612.

Begg, G., y R. Brown. 2000. Stock identification of haddock *Melanogrammus aeglefinus* on Georges Bank based on otolith shape analysis. *Transactions of the American Fisheries Society*. 129: 935–945.

Bookstein, 1991. Morphometric Tools for Landmark Data: Geometry and Biology. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Bowen II C.A., C. R. Bronte, R.L. Argyle, J.V. Adams, J.E. Jhonson. 1999. Vateritic sagitta in wild and stocked lake trout: Applicability to stock origin. *Transactions of the American Fisheries Society* 128:5, 929-938.

Brown, J. 1957. A key to the species and subspecies of the cyprinodont genus *Fundulus* in the United States and Canada east of the continental divide. *Journal of the Washington Academy of Sciences* 47: 69-77.

Campana, S. E. y J.D. Neilson. 1985. Microstructure of fish otoliths. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 42:1014-1032.

Campana, S.E. 1999. Chemistry and composition of fish otoliths: pathways, mechanisms and applications. *Marine Ecology Progress Series*. 188: 263-267.

Campana, S.E. 2004. Photographic atlas of fish otoliths of the northwest Atlantic ocean. NRC Research Press, Ottawa.

Campana, S.E. y J.M. Casselman. 1993. Stock discrimination using otolith shape analysis. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science* 50: 1062- 1083.

Capoccioni F., C. Costa, J. Aguzzi, P. Menesatti, A. Lombarte y E. Ciccoti. 2011. Ontogenetic and environmental effects on otolith shape variability in three Mediterranean european eel (*Anguilla Anguilla*, L.) local stocks. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 397: 1-7.

Cardinale M., P. Doering-Arjes, M. Kastowsky y H. Mosegaard. 2002. Effects of sex, stock, and environment on the shape of known-age Atlantic cod (*Gadus morhua*) otoliths. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 61:158-167.

Cardinale, M., Doering-Arjes, P., Kastowsky, M., Mosegaard, H., 2004. Effects of sex, stock and environment on the shape of known-age Atlantic Cod (*Gadus morhua*) otoliths. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 61, 158–167.

Carpenter, K.E. 2002. The living marine resources of the western central Atlantic. Food and Agriculture Organization. Species identification guide for fisheries purposes. American Society of Ichthyologists and Herpetologists. Special Publication No. 5, Rome.

Casselman, J.M.1990. Growth and relative size of calcified structures in fish. *Transactions of American Fisheries Society* 119: 673-688.

Castonguay, M., Simard, P., y Gagnon, P. 1991. Usefulness of Fourier analysis of otolith shape for Atlantic Mackerel (*Scomber scombrus*) stock discrimination. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Science*. 48: 296–302.

Castro-Aguirre J.L., H. Espinoza-Pérez y J.J Schmitter-Soto.1999. Ictiofauna Estuarina Lagunar y Vicaria de México, Limusa, México.

Chilton, D.E. y R.J. Beamish, 1982. Age determination methods for fishes studied by the Groundfish Program at the Pacific Biological Station. *Can. Spec. Pub. Fish. Aquatic Sci.*, 60: 102 p.

De Dios C. 2014. Ecología trófica de un gremio de aves piscívoras durante la temporada de reproducción en la costa de Yucatán. Tesis de Maestría, Universidad Nacional Autónoma de México.

DeMartini E. y A.M. Friedlander. 2004. Spatial patterns of endemism in shallow-water reef fish populations of the Northwestern Hawaiian Islands. *Marine Ecology Progress Series* 271:281-296.

Flores P. 2013. Ecología reproductora de la sardinilla yucateca (*Fundulus persimilis* Miller, 1955), especie endémica de Yucatán. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo.

Gagliano, M. y M. I. McCormick. 2004. Feeding history influences otolith shape in tropical fish. *Marine Ecology Progress Series*. 278, 291–296.

Gallardo A., M. Badillo, C. Galindo, J. Loera, T. García, X. Chiappa. 2012. Catálogo de peces de la costa norte de Yucatán. Consejo de Ciencia, Innovación y Tecnología del Estado de Yucatán y Universidad Nacional Autónoma de México. Yucatán, México. Pp.68

Gauldie R.W., S.K. Sharma y E. Volk.1997. Micro-raman spectral study of vaterite and aragonite otoliths of the Coho Salmon, *Oncorhynchus kisutch*. *Comp. Biochem. Physiol.* 118(3): 753-757.

Gauldie, R.W., 1988, Function, form and time-keeping properties of fish otholits, *Comp. Biochem. Physiol.* A 91: 395-402.

Green B.S., B.D. Mapstone, G. Carlos y G.A. Begg. 2009. Tropical Fish Management and Ecology, Reviews: Methods and Technologies in fish Biology and Fisheries 11. *Springer Science + Business Media*.

Gunz P., P. Mitteroecker. 2013. Semilandmarks: a method for quantifying curves and surfaces. *Hystrix, the Italian Journal of Mammalogy* 24(1):103-109.

Herrera-Silveira, J., J. Ramírez y A. Zaldívar. 1999. Overview and characterization of the hydrology and primary producer communities of selected coastal lagoons of Yucatan, Mexico. *Aquatic Ecosystem Health and Management* 1: 353-372.

Huber, J.H., 1996. Killi-Data 1996. Updated checklist of taxonomic names, collecting localities and bibliographic references of oviparous Cyprinodont fishes (Atherinomorpha, Pisces). Société Française d'Ichtyologie, Muséum National d'Histoire Naturelle, Paris, France, 399 p.

Hunt, J.J. 1992. Morphological characteristics of otoliths for selected fish in the Northwest Atlantic. *J. Northw. Atl. Fish. Sci.* 13: 63-75.

Hüssy, K. 2008. Otolith shape in juvenile cod (*Gadus morhua*): Ontogenetic and environmental effects. *Journal of experimental biology and ecology* 364 35-41.

Huxley J. S. 1924. Constant differential growth-ratios and their significance. *Nature* 114, no. 2877, pp. 895–896.

Jawad L.A. 2007. Comparative morphology of the otolith of the triplefins (family: Tripterygiidae). *Journal of Natural History* 41: 901-924.

Jerónimo G., J. Gómez-Valdez, M. Badillo-Alemán, K. López-Aguilar, 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. Brito-Pérez (eds). Universidad Nacional Autónoma de México, México, DF.

Johanson G. 1966. contribution to the biology of the dab (*Limanda limanda* L.) in Icelandic waters. *Rit. Fiskid* 4: 18-23.

Llorente-Bousquets, J., y S. Ocegueda. 2008. Estado del conocimiento de la biota. En: Capital natural de México, vol. I: Conocimiento actual de la biodiversidad. Conabio, México, pp. 283-322.

Lombarte A. y A. Cruz. 2007. Otolith size trends in marine fish communities from different depth strata. *Journal of Fish Biology* 71, 53-76.

Lombarte, A., Lleonart, J., 1993. Otolith size changes related with body growth, habitat depth and temperature. *Environ. Biol. Fishes* 37, 297–306.

Lombarte, A., Ò. Chic, V. Parisi-Baradad, R. Olivella, J. Piera & E. Garcia-Ladona. 2006. A web-based environment from shape analysis of fish otoliths. The AFORO database. *Scientia Marina* 70 (1): 147-152. <http://www.cmima.csic.es/aforo/>

Lychakov, D.V., Rebane, Y.T., 2000. Otolith regularities. *Hear. Res.* 143, 83–102.

Meiners O.M. y Hernández, L., 2007. Únicamente en México... especies endémicas y las plantas de Jalisco. CONABIO. *Biodiversitas* 71:10-15.

Messieh, S.N. Macdougall, C., 1984. Spawning groups of Atlantic herring in the southern Gulf of St. Lawrence. CAFSAC Res. Doc. No. 74, 28 p.

Miller, R. R. 2009. Peces dulceacuícolas de México. Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. México, D.F. pp. 345

Monteiro L., A. Di Benedetto, L. Guillermo and L. Rivera, 2005. Allometric changes and shape differentiation of sagitta otoliths in Sciaenid fishes. *Fisheries Research* 74, 288-299.

Morales-Nin, 2000. Review of the growth regulation processes of otolith daily increment formation. *Fisheries Research* 46, 53-67.

Nelson J. S. 2006. *Fishes of the World*. 4ta edición. Wiley and Son Inc.; Alberta Canadá.

Nordille F. 2006. Physicochemical environments and tolerances of Cyprinodontoid fishes found in estuaries and salt marshes of eastern North America. *Reviews in Fish Biology and Fisheries* (16): 51-106

Oxman D.S, R. Barnett, M.E Smith, A. Coffin, D.L Miller, R. Josephson y N. Popper. 2007. The effect of vaterite deposition on sound reception, otolith morphology, and inner ear sensory epithelia in hatchery-reared Chinook Salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 64: 1469-1478.

Parenti L.R. 1981. A phylogenetic and biogeographic analysis of Cyprinodontiform fishes (Teleostei, Atherinomorpha). *Bulletin of the American Museum of Natural History* 168 (4): 335-557.

Paxton J.R. 2000. Fish otoliths: do sizes correlate with taxonomic group, habitat and/or luminescence? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 355: 1299-1303.

Payan P., H. De pontual, A. Edeyer, G. Borelli, G. Boeuf y N. Mayer-Gostan. 2004. Effects of stress on plasma homeostasis, endolymph chemistry, and check formation during otolith growth in rainbow trout (*Onchorhynchus mykiss*). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 61: 1247-1255.

Popper, A. N, J. Ramcharitar, y S. E. Campana, 2005. Why otoliths? Insights from inner ear physiology and fisheries biology. *Marine and Freshwater Research* 56, 497- 504.

Prager, M.H., S. B. Saila y C.W. Recksiek.1989. FISHPARM: a microcomputer program for parameter estimation of nonlinear models in fishery science, second edition. Old Dominion University Oceanography Technical Report 87-10.

Ramirez-Perez J.S, C. Quiñonez-Velazquez, F.J. Garcia Rodriguez, R. Felix Uruaga y F.N. Melo-Barrera. 2010. Using the shape of sagitta otoliths in the

discrimination of phenotypic stocks in *Scomberomorus sierra* (Jordan and Starks, 1985). *Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 5(2): 82-93.

Renán X., E. Pérez, T. Colás, J. Garza y T. Brulé. 2010. Using otolith shape analysis to identify different stocks of *Epinephelus morio* from the Campeche Bank. Proceedings of the 63rd Gulf and Caribbean fisheries Institute.

Rivas L.R. 1948. Cyprinodont fishes of the genus *Fundulus* in the West Indies, with description of a new subspecies from Cuba. Proceedings of the United States National Museum 98: 215-222

Rivera V., J.A. Martínez, J. Rubio, R.E. Quintanar y J. Franco. 2013. Morphology and morphometric relationships of the *sagitta* of *Dipaterus auratus* (Perciformes: Gerreidae) from Veracruz, Mexico. *Revista de Biología Tropical* 61: 139-147.

Rohlf F. J. 2006. Tps Dig version 2.10. Ecology & Evolution. State University of New York, at Stony Brook.

Silva, M.P., R. Bastida & C. Darrieu. 2000. Dieta de la gaviota cocinera (*Larus dominicanus*) en zonas costeras de la provincia de Buenos Aires, Argentina. *Ornitología Neotropical* 11: 331-339.

Thompson D. A. W. 1917. On Growth and Form. Cambridge University Press, Cambridge, UK.

Tombari A., A. Volpedo y D. Echeverría. 2005. Desarrollo de la *sagitta* en juveniles y adultos de *Odonthesthes argentinensis* (Valenciennes, 1835) y *O. bonariensis* (Valenciennes, 1835) de la provincia de Buenos Aires, Argentina (Teleostei: Artheriniformes). *Revista Chilena de Historia Natural* 78: 623-633.

Tomás J. y A.J. Geffen. 2003. Morphometry and composition of aragonite and vaterite otoliths of deformed laboratory reared juvenile herring from two populations. *Journal of Fish Biology* 63, 1383-1401.

Torres, G.J., A. Lombarte, B. Morales-Nin. 2000. Variability of the sulcus acusticus in the sagittal otolith of the genus *Merluccius* (Merlucciidae). *Fish Res.* 46, 5–13.

Tuset V.M., A. Lombarte y C. Assis. 2008. Otolith atlas for the western Mediterranean, north and central eastern Atlantic. *Scientia Marina*, 7-198.

Vega-Cendejas M.E, M. Hernández y G. de la Cruz Agüero.1997.Los peces de la reserva de Celestún. Pronatura Península de Yucatán y Centro de Invest. y Est. Avanzados IPN, Unidad Mérida, Mérida.

Vega-Cendejas M.E. 2004. Ictiofauna de la Reserva de la Biosfera Celestún, Yucatán: una contribución al conocimiento de su biodiversidad. Anales del Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, Serie Zoología 75(1): 193-206.

Vega-Cendejas y M. Hernández. 2004. Fish community structure and dynamics in a coastal hypersaline lagoon: Rio Lagartos, Yucatan, Mexico. *Estuarine and Coastal Shelf Science.* 60: 285-299.

Vignon M y F. Morat. 2010. Environmental and genetic determinant of otolith shape revealed by a non-indigenous tropical fish. *Marine Ecology Progress Series*, 411: 231-241.

Vignon M. 2012. Ontogenetic trajectories of otolith shape during shift in habitat use: Interaction between otolith growth and environment. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology.* 26-32.

Volpedo A. y D.D Echeverria. 2003. Ecomorphological patterns of the *sagitta* in fish on the continental shelf off Argentina. *Fish. Res.* 60: 551-560.

Volpedo A. y G.A. Thompson.1996.Diferencias en el crecimiento de las *sagittae* de *Prionotus nudigula* Ginsburg,1950 (Pisces: Triglidae) en relación al sexo. *Boletín del Instituto Español de Oceanografía* 12(1): 3-16.

Waessle J.A., C.A. Lasta and M. Favero, 2003. Otolih morphology and body size relationships for juvenile Sciaenidae in the Rio de la Plata estuary (35-36°S). *Scientia Marina* 67(2): 233-240.

Zar, Herrold. 2010. Biostatistical Analysis. 5th Edition. Pearson Prentice-Hall, Upper Saddle River, NJ. 944 pp.

Zelditch M.L., D.L. Swiderski, H.D. Sheets y W.L. Fink. 2004. Geometric morphometric for biologists: A primer. Elsevier Academic Press, USA.