



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
INSTITUTO DE BIOLOGÍA
SISTEMÁTICA

DETERMINACIÓN Y SEPARACIÓN DEL COMPLEJO *DIONDA EPISCOPA*
(TELEOSTEII: CYPRINIDAE: LEUCISCINAE) DEL RÍO CONCHOS, POR
CARACTERES MOLECULARES Y MORFOLÓGICOS

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA:

CHRISTIAN LAMBARRI MARTÍNEZ

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS: M. en C. HÉCTOR SALVADOR ESPINOSA PÉREZ
INSTITUTO DE BIOLOGÍA. UNAM
MIEMBRO DEL COMITÉ TUTOR: DR. JESÚS ALVARADO ORTEGA
INSTITUTO DE GEOLOGÍA. UNAM.
MIEMBRO DEL COMITÉ TUTOR: DR. GERARDO PÉREZ PONCE DE LEÓN
INSTITUTO DE BIOLOGÍA. UNAM.

MÉXICO, Cd. Mx DICIEMBRE 2016



Universidad Nacional
Autónoma de México



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.



Lic. Ivonne Ramírez Wence
Directora General de Administración Escolar, UNAM
Presente

Me permito informar a usted que en la reunión del Subcomité por Campo de Conocimiento de Biología Evolutiva y Sistemática del Posgrado en Ciencias Biológicas, celebrada el día 8 de febrero de 2016, se aprobó el siguiente jurado para el examen de grado de **MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS** de la alumna **LAMBARRI MARTÍNEZ CHRISTIAN** con número de cuenta **304589065** con la tesis titulada "**Determinación y separación del complejo *Dionda episcopa* (TELEOSTEI: CYPRINIDAE: LEUCISCINAE) del río Conchos, por caracteres moleculares y morfológicos**", realizada bajo la dirección del **M. EN C. HÉCTOR SALVADOR ESPINOSA PÉREZ**:

Presidente: DR. JUAN JOSÉ MORRONE LUPI
Vocal: DRA. CLAUDIA PATRICIA ORNELAS GARCÍA
Secretario: DR. JESÚS ALVARADO ORTEGA
Suplente: DR. JOSÉ MARTÍN GARCÍA VARELA
Suplente: DR. PÍNDARO DÍAZ JAIMES

Sin otro particular, me es grato enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"
Cd. Universitaria, Cd. Mx, a 25 de noviembre de 2016.

M. del Coro Arizmendi

DRA. MARÍA DEL CORO ARIZMENDI ARRIAGA
COORDINADORA DEL PROGRAMA



c.c.p. Expediente del (la) interesado (a).

AGRADECIMIENTOS

- Al Posgrado en Ciencias Biológicas, UNAM., por todo el apoyo brindado durante mis estudios de maestría.
- Al Consejo de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo económico que recibí como becaria durante los periodos escolares 2014-1 a 2015-2.
- Al Programa de Apoyo de Estudios de Posgrado (PAEP) por el apoyo económico otorgado para realizar una estancia de investigación en la Universidad de Saint Louis Missouri (SLU) y para asistir al XIV Congreso Nacional de Ictiología.
- A los miembros de mi comité Tutor, por su paciencia, ayuda y aportaciones.
 - M. en C. Héctor Salvador Espinosa Pérez
 - Dr. Jesús Alvarado Ortega
 - Dr. Gerardo Pérez Ponce de León

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

A mi tutor Héctor Espinosa por las oportunidades, el apoyo y las enseñanzas que me ha brindado en estos años.

Al Dr. Jesús Alvarado por su tiempo y consideración; y por siempre tener su puerta abierta.

A mis sinodales por todas las contribuciones y ayuda que me brindaron.

A mis compañeros y amigos Chewie, Armando, Montse, Xavier y Lalo. Por los buenos momentos, las enriquecedoras discusiones y la crítica constructiva.

Este trabajo no sería lo que es sin sus aportes y sugerencias.

DEDICATORIA

A mis padres por alentar mi curiosidad; porque me dieron la libertad para tomar mis decisiones y cometer mis propios errores; y porque nunca me han abandonado al triunfar o fracasar.

A mi hermano por ser un ejemplo a seguir y motivarme a ir cada vez más lejos. Gracias por mostrarme qué tan grande es el mundo.

A David, mi compañero y amigo bajo cualquier circunstancia. Gracias por estar a mi lado y caminar conmigo (y con Dex).

A mis tías Tina, Ara y Rosy por ser mis amigas y mis confidentes. Gracias por sus cuidados y su aliento.

A Monse, Daniel, Clari, Rosita, Miguel... y a toda mi curiosa familia muégano.

A Mami, Papá Pepe y Lalo. Gracias por ser parte de mi vida, por acompañarme mientras crecía, por su cariño y por ser parte de recuerdos que siempre me harán sonreír.

A todos gracias por enseñarme tanto, por estar siempre ahí, atentos y solidarios; por nunca negarme su apoyo incondicional y por aguantarme en todas mis modalidades.

“Hay dos clases de locura: la que nos asusta y la que amamos”

Hombre mirando al sudeste

ÍNDICE

| | |
|-----------------------------------|----|
| Resumen | 1 |
| Abstract | 2 |
| Introducción | 3 |
| Marco Teórico..... | 5 |
| Antecedentes..... | 6 |
| Justificación | 12 |
| Hipótesis | 12 |
| Objetivo | 12 |
| Objetivos particulares..... | 12 |
| Área de estudio..... | 12 |
| Provincias Ictiofaunísticas | 12 |
| Hidrología | 13 |
| Hidrología histórica | 14 |
| Metodología | 15 |
| Morfología y morfometría | 15 |
| Acrónimos institucionales | 15 |
| Ejemplares estudiados..... | 16 |
| Genética..... | 20 |
| Resultados y Discusión | 25 |
| Morfología general..... | 25 |
| Morfología y morfometría | 30 |
| Genética..... | 30 |
| Conclusiones..... | 36 |
| Literatura citada | 37 |
| Apéndices | 40 |
| Anexos | 46 |

Lista de Cuadros

| | |
|---|----|
| CUADRO 1. LOCALIDADES Y NÚMEROS DE CATÁLOGO DE LOS EJEMPLARES ANALIZADOS EN ESTE ESTUDIO..... | 16 |
| CUADRO 2. CARACTERES MORFOMÉTRICOS CONSIDERADOS PARA CADA ESPECIMEN | 18 |
| CUADRO 3. CARACTERES MERÍSTICOS CONSIDERADOS DE CADA ESPÉCIMEN..... | 19 |
| CUADRO 4. NÚMEROS DE ACCESO DE GENBANK Y BOLD DE LOS GRUPOS INTERNOS Y EXTERNOS UTILIZADOS EN EL ANÁLISIS FILOGENÉTICO | 21 |
| CUADRO 5. PROPORCIONES NUCLEOTÍDICAS EN CADA POSICIÓN Y EN TOTAL DE LAS SECUENCIAS ANALIZADAS. | 31 |

Lista de Figuras

| | |
|---|----|
| FIGURA 1. RELACIONES FILOGENÉTICAS DEL GÉNERO <i>DIONDA</i> Y OTROS GÉNEROS AFINES PROPUESTAS POR MAYDEN <i>ET AL.</i> (1992)..... | 9 |
| FIGURA 2. LOCALIDADES DE MUESTREO DE ESPECÍMENES EN SCHÖNHUTH <i>ET AL.</i> (2008).. | 10 |
| FIGURA 3. RELACIONES FILOGENÉTICAS PROPUESTAS POR SCHÖNHUTH <i>ET AL.</i> (2008) A PARTIR DE LOS CUATRO GENES ANALIZADOS. | 11 |
| FIGURA 4. RÍOS Y LOCALIDADES DE COLECTA DE EJEMPLARES DE <i>DIONDA</i> EN EL RÍO CONCHOS Y OTRAS CUENCAS DE RÍOS EN TEXAS, TAMAULIPAS, DURANGO Y COAHUILA..... | 17 |
| FIGURA 5. ESQUEMA DE LOS PUNTOS CONSIDERADOS PARA LA OBTENCIÓN DE LOS CARACTERES MORFOMÉTRICOS. | 19 |
| FIGURA 6. ELECTROFORESIS DE LA AMPLIFICACIÓN DE ADN POR PCR..... | 23 |
| FIGURA 7. ELECTROFORESIS DE LA AMPLIFICACIÓN DE ADN POR PCR..... | 25 |
| FIGURA 8. ARCOS FARÍNGEOS IZQUIERDO Y DERECHO DE EJEMPLARES DE (1 Y 2) <i>DIONDA</i> SP DEL RÍO FLORIDO EN DURANGO, Y (3) DE EJEMPLAR DE <i>DIONDA</i> SP DE CUATRO CIÉNEGAS, COAHUILA. | 27 |
| FIGURA 9. ARCOS FARÍNGEOS IZQUIERDO Y DERECHO DE EJEMPLARES DE <i>DIONDA EPISCOPA</i> DE TEXAS: (1) RÍO GUADALUPE, (2) RÍO PECOS SUPERIOR, (3) RÍO CAMANCHE, (4) ARROYO LIMPIA Y (5) ARROYO CIBOLO. Y EJEMPLAR DE <i>DIONDA</i> SP (6) DE PARRAL, CHIHUAHUA. | 28 |
| FIGURA 10. ARCOS FARÍNGEOS IZQUIERDO Y DERECHO DE EJEMPLARES DE <i>DIONDA</i> SP DE CHIHUAHUA: (1) RÍO CHUVÍSCAR, (2) RÍO FLORIDO Y (3 Y 4) RÍO SAN PEDRO. Y EJEMPLARES DE (5 Y 6) <i>DIONDA</i> SP DEL RÍO CONCHOS EN DURANGO..... | 29 |
| FIGURA 11. EJEMPLARES HEMBRA (ARRIBA) Y MACHO (ABAJO) DE <i>DIONDA EPISCOPA</i> DE ARROYO CREEK, TEXAS. | 30 |
| FIGURA 12. ÁRBOL FILOGENÉTICO DE CONSENSO POR MÁXIMA PARSIMONIA. | 33 |
| FIGURA 13. ÁRBOL FILOGENÉTICO MULTIMÉTRICO POR INFERENCIA BAYESIANA. | 34 |
| FIGURA 14. EJEMPLAR DE “ <i>DIONDA</i> ” DEL RÍO CONCHOS, BALLEZA, CHIHUAHUA. | 35 |

Lista de Apéndices

| | |
|--|----|
| APÉNDICE 1. RESUMEN DEL ANOVA (PRUEBA KRUSKAL-WALLIS PARA MUESTRAS INDEPENDIENTES) DONDE SE MUESTRAN LAS SIGNIFICANCIAS ASINTÓTICAS PARA LOS CARACTERES MERÍSTICOS. | 40 |
| APÉNDICE 2. RESUMEN DEL ANOVA (PRUEBA KRUSKAL-WALLIS PARA MUESTRAS INDEPENDIENTES) DONDE SE MUESTRAN LAS SIGNIFICANCIAS ASINTÓTICAS PARA LOS CARACTERES MORFOMÉTRICOS. | 42 |
| APÉNDICE 3. ÁRBOL DE MÁXIMA PARSIMONIA 1 PARA EL GEN <i>MT-CO1</i> | 44 |
| APÉNDICE 4. ÁRBOL DE MÁXIMA PARSIMONIA 2 PARA EL GEN <i>MT-CO1</i> | 45 |

Resumen

Los peces del orden Cypriniformes son el grupo monofilético de peces dulceacuícolas más diverso del mundo. Estos peces han sido clasificados de acuerdo a caracteres externos que no necesariamente representan las relaciones evolutivas entre linajes, y aparentemente son reflejo de consideraciones relativamente subjetivas de varios autores.

El género *Dionda*, perteneciente a la familia Cyprinidae y a la subfamilia Leuciscinae, habita en cuencas en los estados de Chihuahua, Coahuila, Durango, Zacatecas, Tamaulipas (en México) y Texas (en EUA). Se ha sugerido que este género podría ser parafilético. La especie *Dionda episcopa*, que habita las cuencas de los ríos Conchos y Bravo, ha sido considerada como un complejo de formas que comparten numerosos rasgos convergentes y que se distribuyen de manera amplia y simpátrida en el norte de México. En este trabajo se analizaron caracteres morfométricos, merísticos y genéticos de 18 poblaciones de *Dionda episcopa* de México y de EUA para evaluar la diferenciación inter e intra-poblacional de los ejemplares, y determinar las posibles características diagnósticas de ciertas poblaciones y/o especies.

Los resultados morfométricos y merísticos no mostraron una diferenciación significativa entre ejemplares de las distintas poblaciones; mientras que la diferenciación genética mitocondrial muestra que el género *Dionda* es polifilético. Además se sugiere que las poblaciones del río Conchos podrían clasificarse como un género independiente, por lo que la especie *Dionda episcopa* Girard 1856 *sensu stricto* se restringe al río Pecos en Texas y excluida de la fauna íctica mexicana.

Abstract

Cypriniform fishes are the biggest monophyletic freshwater fish group across the world. These fishes have been classified according to external characters that not necessarily represent the evolutionary relationships among lineages, but are the result of historical considerations.

The genus *Dionda* (family Cyprinidae, subfamily Leuciscinae) inhabits several watersheds in Chihuahua, Coahuila, Durango, Zacatecas, Tamaulipas (México) and Texas (USA). It has been suggested that the genus could be paraphyletic.

The species *Dionda episcopa*, that inhabits the watersheds of the Conchos and Grande rivers, has been considered to be a complex of forms that share several convergent features and distribute widely and in sympatry along the north of Mexico.

In this work I analyzed morphometric, meristic and genetic characters of 18 populations of *Dionda episcopa* from Mexico and USA, in order to evaluate inter and intra-population differences and to determine possible diagnostic characters of specific populations and/or species.

Morphometric and meristic results did not show significant differences among specimens of distinct populations, but mitochondrial differentiation did show the genus *Dionda* to be polyphyletic. Also it is suggested that populations of the Conchos River could be re-classified as a new genus. Therefore, *Dionda episcopa* Girard 1856 *sensu stricto* would be restricted to the Pecos River in Texas and excluded from the Mexican fish fauna.

Introducción

Los peces del orden Cypriniformes conforman el grupo monofilético de peces dulceacuícolas más diverso del mundo (con 4, 163 especies descritas); muchas de importancia económica. Los cipriniformes se clasifican en once familias, cuyas relaciones internas son pobremente entendidas (Mayden *et al.* 2009). La falta de comprensión se debe a los pocos caracteres morfológicos sinapomórficos que permiten proponer hipótesis sobre las relaciones filogenéticas, por lo que las clasificaciones basadas en caracteres externos no reflejan las relaciones evolutivas.

La subfamilia Leuciscinae, parte de la familia Cyprinidae, incluye a los únicos cypriniformes nativos en Norteamérica. Esta subfamilia se ha señalado en varias ocasiones como un grupo parafilético (Mayden, 1991 y Briolay *et al.*, 1998) conformado por los descendientes de linajes originarios de Europa. Particularmente en México, los ciprínidos (subfamilia Leuciscinae) habitan arroyos en cuencas endorreicas; una de ellas es la cuenca del río Bravo, que incluye 43 ciprínidos de un total de 121 especies de peces.

El género *Dionda* habita cuencas en México (Chihuahua, Coahuila, Durango, Zacatecas y Tamaulipas) y en EUA (Texas). Sin embargo se ha mencionado (Carson *et al.*, 2010) que la clasificación de algunas poblaciones en este género es reflejo de consideraciones históricas y no de la comparación y análisis de los rasgos anatómicos de los especímenes.

Los estudios morfológicos de Mayden (1989) habían definido a las poblaciones de *Dionda* como parte de un grupo monofilético. Mayden *et al.* (1992) señalaron al género *Dionda* como un grupo parafilético en el que las poblaciones de diferentes especies tienen relaciones filogenéticas más cercanas con poblaciones de otras especies que con poblaciones de la misma especie. Una confirmación de esta parafilia fue la asignación de cinco especies de *Dionda* al género *Tampichthys* (Schönhuth *et al.*, 2008).

Específicamente la especie *Dionda episcopa* Girard (1856), también conocida como carpa obispa, fue descrita del río Pecos, Texas, incluyendo su presencia en las cuencas de los ríos Bravo y Conchos. Sin embargo se ha considerado (Girard, 1856; Hubbs, 1956; Hubbs y Brown, 1956 y Mayden *et al.*, 1992) que esta carpa está compuesta por un complejo de formas que comparten numerosos rasgos con otros grupos y que se distribuyen de manera amplia y simpátrida en el norte de México.

La especie *Dionda episcopa* es considerada un complejo de especies con una amplia variabilidad fenotípica y genética. En este trabajo evaluamos la diferenciación morfológica y fenotípica inter e intra-poblacional para detallar más la relación de los morfotipos y sus procesos de especiación. Además se evaluó si el río Conchos contiene más de una especie, posiblemente distintas a *Dionda episcopa* Girard (río Pecos).

En este trabajo se llevaron a cabo dos análisis: 1) morfológico y morfométrico; y 2) genético. Para el primero se consideraron 54 caracteres morfométricos (30) y merísticos (24) de 205 ejemplares de *Dionda* provenientes de varias colecciones biológicas. Los ejemplares fueron colectados en el río Conchos y sus tributarios y en los ríos Pecos, San Pedro Mezquital, Salado (México) y Frío en Estados Unidos de América (EUA). Los caracteres fueron analizados independientemente mediante análisis de componentes

principales (PCA) y análisis de varianzas (ANOVA). Para el análisis genético se obtuvieron secuencias del gen *mt-co1* de ejemplares colectados y depositados en la CNPE-IBUNAM, además de utilizar secuencias de las bases de datos en línea BOLD y GenBank. Las secuencias fueron analizadas por los métodos de Máxima Parsimonia (MP) e Inferencia Bayesiana (IB).

Marco Teórico

Las especies del orden Cypriniformes constituyen el grupo monofilético de peces dulceacuícolas más grande del mundo. Muchas de sus especies tienen importancia económica y otras han sido empleadas como organismos de investigación; además de ser elementos fundamentales en las comunidades acuáticas continentales (Mayden et al., 2008). Aunque hace diez años Nelson (2006) reconoció alrededor de 2100 especies, y más tarde Mayden (2009) consideró al menos 2,600 descritas y alrededor de 2,500 especies aún no descritas; actualmente este conteo alcanza las 4,163 especies nominales (Eschmeyer y Fong, 2014).

Actualmente los Cypriniformes se agrupan en once familias (Cyprinidae, Psilorhynchidae, Cobitidae, Serpenticobitidae, Balitoridae, Vaillantellidae, Ellopostomatidae, Nemacheilidae, Barbuscidae, Gyrinocheilidae y Catostomidae) (Eschmeyer y Fong 2014), en las que resalta su tradicional falta de entendimiento a nivel de familias, subfamilias y otros grupos identificados formal o informalmente (Mayden et al., 2009). La falta de entendimiento se debe principalmente a las similitudes morfológicas que limitan el número de caracteres morfológicos filogenéticamente útiles. Esta similitud puede deberse a procesos evolutivos que involucran hibridación intergenérica o interespecífica entre individuos cuyo último ancestro común vivió hace al menos 10-15 millones de años (Briolay et al., 1998).

Hasta los años 90 los estudios de anatomía comparada de ciprínidos eran escasos, por lo que la mayoría de las clasificaciones se basaban en caracteres externos o en la morfología y arreglo de los dientes faríngeos. A partir de estos caracteres, el género *Dionda* Girard 1856 se clasificó como parte del linaje Phoxinini, dentro de la familia Cyprinidae y la subfamilia Leuciscinae (Howes, 1991).

Los peces de la subfamilia Leuciscinae se distribuyen en Eurasia, Japón y América del Norte. Estos peces son los únicos representantes de la familia Cyprinidae en Norteamérica y su distribución más sureña es México, donde habitan los ríos Papaloapan y Verde en Oaxaca (Howes, 1991). En las comunidades ícticas del norte de la República Mexicana, estos peces herbívoros y micrófagos son los más abundantes y suelen ser presas de otros peces (Miller et al., 2005).

A inicios de los 90, Mayden (1991) señaló que la subfamilia Leuciscinae es un grupo parafilético, sugiriendo que este grupo está conformado por los descendientes de peces que llegaron a América desde Europa en varios eventos de invasión (Briolay et al., 1998). Sin embargo existe la posibilidad de que este linaje ya estuviera establecido en Laurasia antes de que los continentes se separaran en el Paleógeno. Asimismo es posible que su competencia con los Characiformes haya evitado su establecimiento en América del Sur poco después de la separación de los continentes (Briolay et al. 1998).

Los ciprínidos de México habitan diversos ambientes en las cabeceras y aguas bajas de arroyos, principalmente en cuencas endorreicas que se han mantenido aisladas desde el Cenozoico (Mayden, 1991). Una de estas cuencas es la del río Bravo (o río Grande), cuya fauna suma 43 ciprínidos (de 121 especies totales), incluyendo varias especies del género *Dionda* (Mayden, 1991).

El género *Dionda* tiene características únicas (relacionadas con en su reproducción, desarrollo de barbillones y convoluciones intestinales) que han sido utilizados como caracteres diagnósticos de otros géneros de ciprínidos norteamericanos. Sin embargo en gran parte de estos peces, el reconocimiento de caracteres ha causado confusión y problemas para establecer diagnosis específicas confiables, donde el tamaño estándar, la apariencia externa y la morfología interna son similares (Schönhuth *et al.*, 2008).

Incluso Carson *et al.* (2010) mencionaron que la asignación de algunas poblaciones de *Dionda* a una u otra especie es reflejo de las consideraciones históricas sobre su distribución y no se basa estrictamente en la comparación y análisis de los rasgos anatómicos de distintos miembros de dichas poblaciones. Es así que la determinación de muchas de esas poblaciones por medio de herramientas morfológicas y moleculares no ha sido del todo explorada.

Antecedentes

Las especies que ahora pertenecen al género *Dionda* se describieron como parte del género *Hybognathus* Agassiz 1855, hasta que Jordan (1924) estableció que *Dionda* difiere de *Hybognathus* en tener dientes más largos y menos ganchudos. Posteriormente el género *Dionda* fue considerado monofilético y miembro del clado *Nocomis-Campostoma-Dionda* (Mayden, 1989), por presentar características osteológicas peculiares en el techo craneal (como la presencia de un piso abierto del miodomo posterior).

Los estudios de alozimas abordados por Mayden *et al.* (1992) establecieron distintos patrones de diversidad y similitud general dentro de *Dionda*. Estos patrones fueron explicados como resultado de posibles procesos de especiación alopátrida de especies de distintos linajes, los cuales evolucionaron respondiendo a los mismos mecanismos de aislamiento geográfico. En consecuencia el género *Dionda* fue redefinido como un grupo parafilético.

Girard (1856) describió la especie *Dionda episcopa* a partir de ejemplares provenientes del río Pecos, afluente tributario norteño del río Bravo, que fluye desde los estados de Nuevo México y Texas, EUA. De acuerdo a la publicación original de Girard (1856), *D. episcopa* es descrita de la siguiente manera:

Delgada y graciosa, de perfil fusiforme y comprimido, con el dorso ligeramente arqueado. Cabeza grande, de aproximadamente un quinto de la longitud. El ojo es largo y subcircular, su diámetro está contenido tres veces y media en la longitud de la cabeza. Las aletas son de desarrollo moderado; la inserción de las ventrales se sitúa poco después del margen anterior de la dorsal. Los radios se leen como sigue:

D 8+2; A 8+2; C 8, 1, 9, 8, 1, 7; V 8; P 14.

Las escamas son grandes, la línea lateral sigue el medio de los flancos. La región dorsal es de un café oscuro; se observa una franja a lo largo de los flancos, poco encima de la línea lateral, extendiéndose desde un punto negro en la base de la caudal, y hasta el extremo del hocico. La región inferior es blanca amarillenta, con algunos puntos pequeños dispersos.

Colectada aguas arriba del río Pecos y capturada por John Pope, aunque también se colectaron especímenes por J. D. Graham en el arroyo Camanche, presumiblemente tributario del río Bravo.

Traducción del inglés por la presente autora.

En la misma publicación, Girard incluye la descripción de las siguientes especies

1. *Dionda episcopa* (y su sinónimo *D. papalis*)
2. *Dionda serena*, del río Sabinal, Texas (y su sinónimo *Dionda texensis* del río Nueces, Texas)
3. *D. argentosa*, del arroyo San Felipe y río Devil's, tributarios del río Bravo en Texas, EUA (y su sinónimo *D. chrysitis*, del tributario del río Pecos)
4. *D. melanops*, de Buena Vista, Coahuila (y su sinónimo *D. couchi*, del río San Juan en Guajuco, Monterrey y Cadereita, Nuevo León)
5. *D. spadicea*, válida como *Campostoma spadiceum*, del fuerte Smith, Arkansas y *D. plúmbea*, sinónimo de *Campostoma anomalum*, de aguas arriba del río Canadian.

Hubbs y Brown (1956) mencionaron que *D. episcopa* se compone de un gran número de poblaciones aisladas, muchas de las cuales podrían considerarse subespecies de acuerdo al criterio de Hubbs y Hubbs (1953). Por lo tanto Hubbs y Brown (1956) consideraron que cada población aislada podría ser subespecíficamente distinta, pero que tal posibilidad sólo podrá resolverse mediante un estudio más minucioso.

En el grupo bajo estudio hay controversia en el reconocimiento morfológico de ejemplares de la especie *Dionda episcopa* con respecto a otras especies que se distribuyen en áreas cercanas y comparten características morfológicas. Hubbs y Brown (1956) publicaron la descripción de *Dionda diaboli*, proveniente del río Devil's, Texas, mencionando que la población del río Guadalupe no corresponde a *D. episcopa*, sino que se aproxima más a la morfología de *D. diaboli*. Estos dos autores también observaron que casi todas las colectas donde se obtuvieron ejemplares de *D. diaboli* también contenían ejemplares de *D. episcopa*, por lo que sugirieron algunos criterios útiles para diferenciar a estas dos especies, así como a las subespecies de *D. episcopa* (*Dionda episcopa serena* y otras poblaciones que aunque morfológicamente diferentes, no se les asigna identidad taxonómica). Entre estos criterios se consideran:

- Proporción de la distancia del rostro al occipucio
- Color
- Marcas en las escamas dorsales
- Patrón de coloración en la línea lateral
- Tamaño del punto precaudal
- Profundidad del pedúnculo caudal
- Longitud de la aleta pectoral
- Longitud postorbital

Cabe mencionar que *Dionda diaboli* no es la única especie que habita el desierto Chihuahuense y que puede confundirse con otras especies del género *Dionda*. En los ríos de México se encuentra también la especie *D. melanops* hacia la región norte de Coahuila y parte del río Bravo. La distinción entre estas dos especies, como mencionan Carson *et al.* (2010), se basa principalmente en la distribución de sus poblaciones y no en la definición de características morfológicas.

Desde que *D. diaboli* y *D. melanops* fueron claramente diferenciadas, se consideró a *D. episcopa* como una sola especie politípica que se distribuye desde el río Colorado en Texas, al oeste en el río Bravo y al sur hacia el río Conchos (Mayden *et al.*, 1992) y hasta el río Mezquital (Lambarri 2012). Sin embargo Girard (1856), Hubbs y Brown (1956) y Mayden *et al.* (1992) notaron que *Dionda episcopa*, comúnmente llamada carpa obispa, es un complejo de especies que comparten numerosos rasgos y que se distribuyen de manera amplia y simpátrida en el norte de México: a lo largo de los ríos Bravo, Conchos y Fuerte, y en el sur de Estados Unidos en los ríos Colorado, San Antonio, Nueces y Grande (Hubbs & Brown, 1956; Mayden *et al.*, 1992 y Miller *et al.*, 2005). Cabe mencionar que dicho complejo está incluido en la categoría 'en peligro' de la NOM-059-SEMARNAT-2010.

La morfología de los individuos en cada población de *Dionda* y su marcado aislamiento endorreico, sugieren la posibilidad de que los organismos determinados como *D. episcopa* en el río Conchos y en otros afluentes adyacentes corresponden en realidad a dos o hasta cuatro especies diferentes. Los estudios moleculares de Mayden *et al.* (1992), Carson *et al.* (2010) y Schönhuth *et al.* (2012) determinaron que incluso en el río Pecos, las poblaciones determinadas como *D. episcopa* corresponden en realidad a diferentes especies, por lo que recuperan a dos especies descritas por Girard (1856) que habían sido consideradas como sinónimos de otras: *Dionda serena*, sinonimizada por Lee *et al.* (1980) y *Dionda melanops*, sinonimizada por Miller (1991). Los tres estudios recién mencionados revelaron que los ejemplares colectados en los ríos Conchos, en Chihuahua y San Pedro y Acaponeta, en Durango, probablemente sean en realidad uno o más morfotipos distintos a *D. episcopa*, no descritos y miembros del mismo complejo de especies (Mayden *et al.*, 1992; Miller *et al.*, 2005; Lambarri, 2012).

De acuerdo con el análisis de Mayden *et al.* (1992) y con las características diagnósticas propuestas por Hubbs y Brown (1956), las relaciones de las especies de *Dionda* del río Conchos respecto a otras del complejo están anidadas con los siguientes grupos hermanos: *Dionda* sp. (Conchos), *D. melanops*, *D. argentosa*, *D. serena* y *Dionda* sp. (Guadalupe/Colorado). Aunque estos mismos estudios indican que las poblaciones incluidas del río Conchos (aguas superiores) sí forman un grupo monofilético (Figura 1).

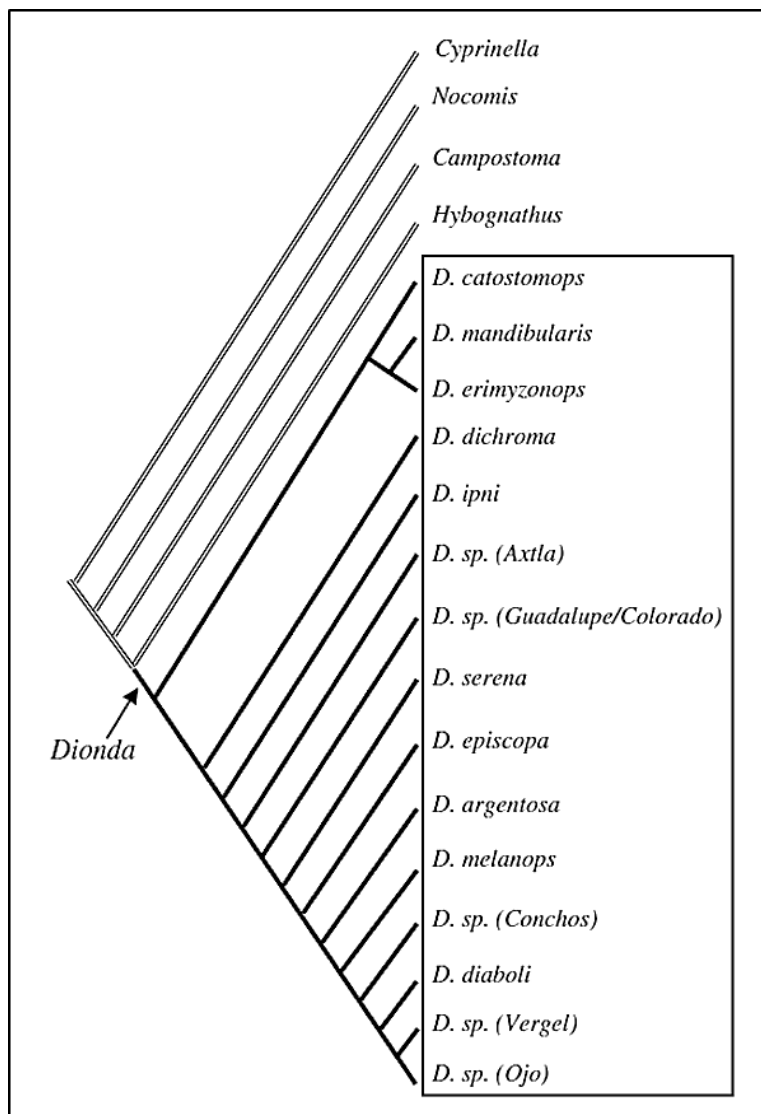


Figura 1. Relaciones filogenéticas del género *Dionda* y géneros hermanos propuestas por Mayden *et al.* (1992). Tomado y modificado de Schönhuth *et al.* (2008. Fig. 2)

Posteriormente el estudio de Schönhuth *et al.* (2008) incluyó el análisis de tres genes nucleares (S7, Rhodopsina y Rag1) y un mitocondrial (*mt-cyb*) de más de cien poblaciones de las 15 especies reconocidas dentro de *Dionda* (y grupos hermanos) (presentes en el norte de México y sur de Estados Unidos) (Figura 2). Este trabajo mostró que las especies reconocidas como parte de *Dionda* no forman un grupo monofilético, y que las especies de “*Dionda*” (válidas como *Tampichthys*) de la cuenca Pánuco-Tamesí se agrupan con el género *Codoma*, mientras que los ejemplares *Dionda* del río Conchos (actualmente no descritos) son un grupo basal que se distribuye en cuencas adyacentes al río Bravo (Figura 3) y están cercanamente emparentadas con poblaciones de *Dionda* de Durango y Zacatecas (Ojo y Nazas). Con base en estos resultados, Schönhuth *et al.* (2008) describieron al nuevo género *Tampichthys*, que

agrupa a cinco especies: *T. catostomops*, *T. dichroma*, *T. erimyzonops*, *T. ipni* y *T. rasconis* (distribuidas en la cuenca Pánuco-Tamesí).

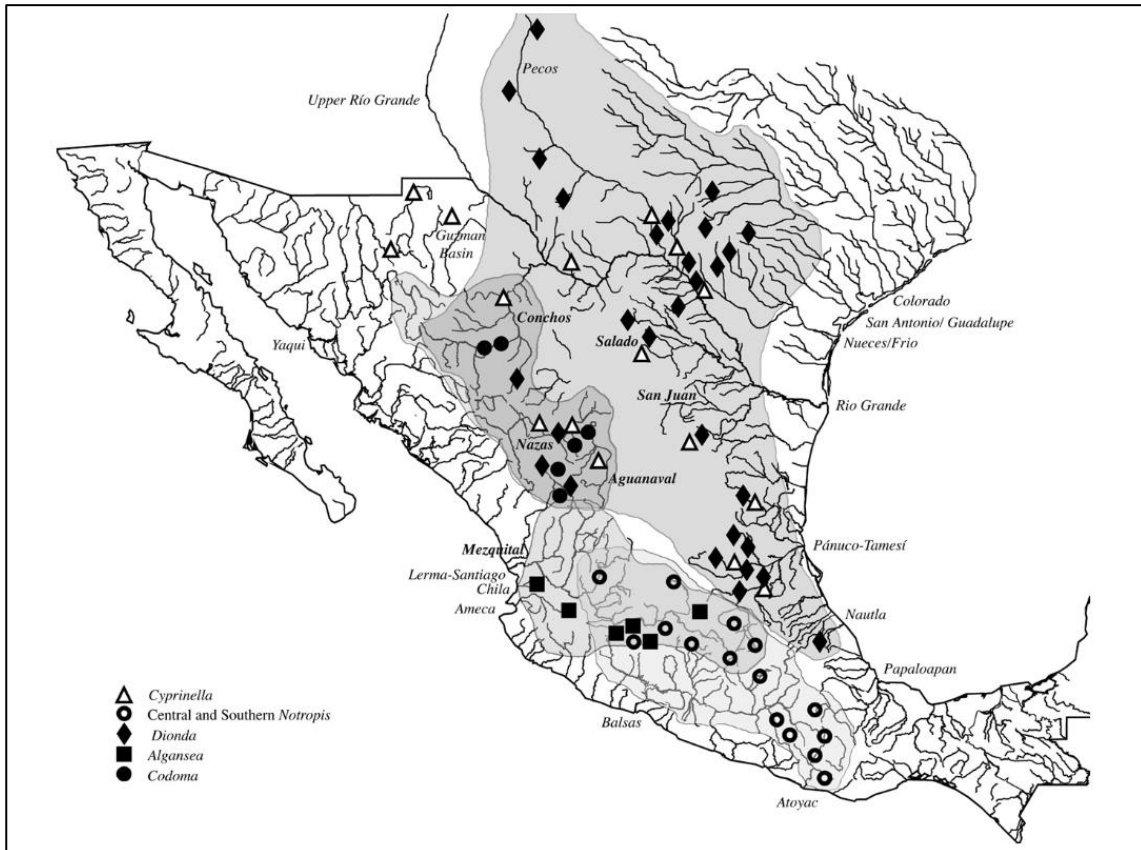


Figura 2. Localidades muestreadas en Schönhuth *et al.*(2008). La distribución de cada género se representa con distintos patrones de gris. Tomado de Schönhuth *et al.*(2008, Fig. 1).

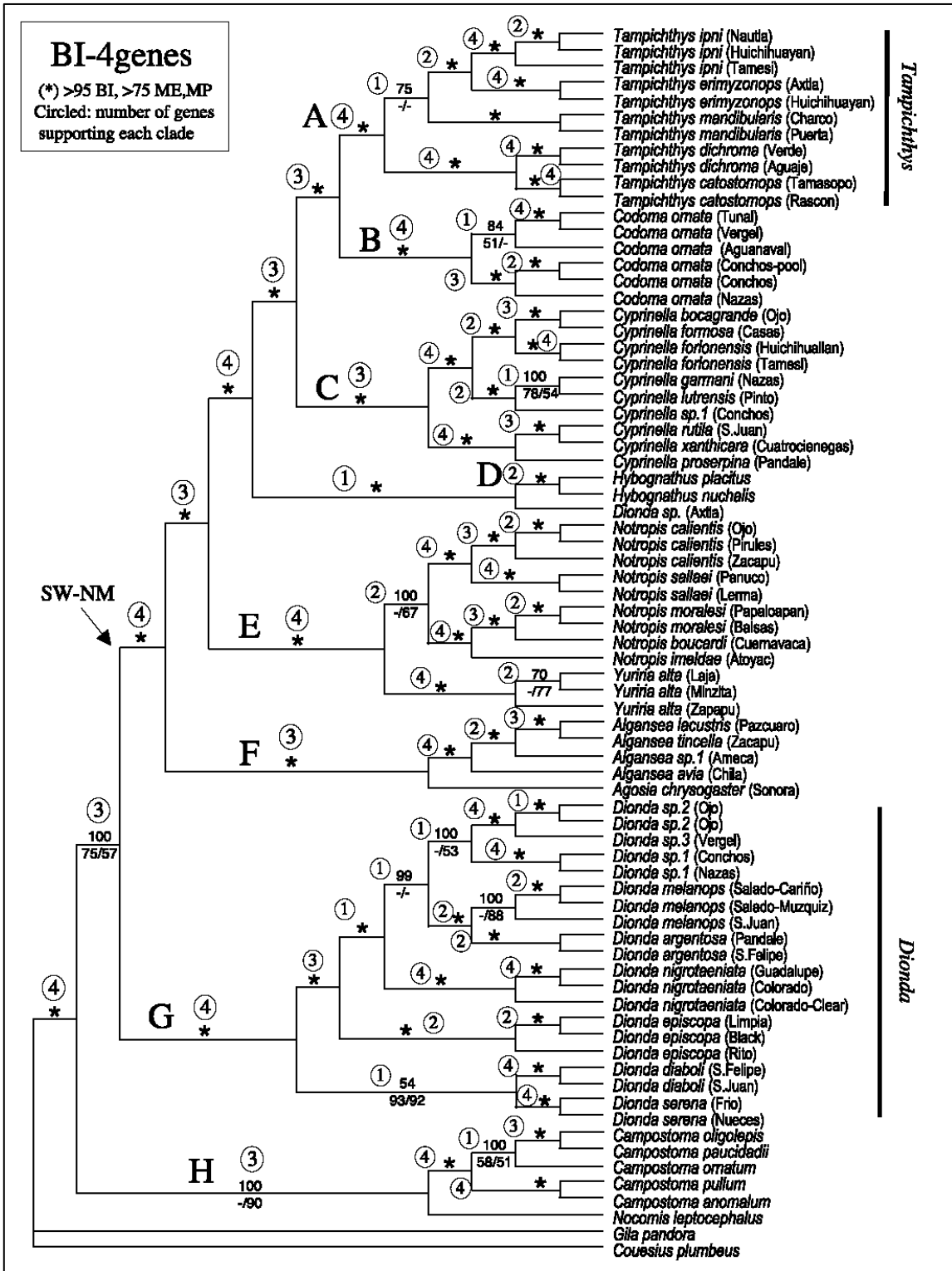


Figura 3. Relaciones filogenéticas propuestas por Schönhuth *et al.* (2008) a partir de los cuatro genes analizados. Los números en las ramas indican las probabilidades posteriores del análisis Bayesiano y el soporte de bootstrap de Máxima Parsimonia y Mínima Evolución. Los números en círculos indican el número de genes que apoyan cada clado. Tomado de Schönhuth *et al.* (2008 Fig.5).

Justificación

La especie *Dionda episcopa* es un complejo de especies con una amplia variabilidad fenotípica y genética. En este trabajo evaluaremos la diferenciación morfológica y genética interpoblacional e intraespecífica de este complejo de especies para identificar las unidades taxonómicas correspondientes.

Hipótesis

H₀: El conjunto de organismos reconocido como *Dionda episcopa* del río Conchos, corresponde a una sola especie que presenta alta diversidad morfológica y genética.

H₁: El complejo *Dionda episcopa* del río Conchos está integrado por dos o más especies distinguibles entre sí.

Objetivo

Analizar los caracteres morfológicos y genéticos del conjunto de organismos incluidos en el complejo *Dionda episcopa* del río Conchos y reconocer la identidad taxonómica (específica y/o subspecífica) de las poblaciones que lo componen.

Objetivos particulares

1. Caracterizar la distribución de las distintas poblaciones de *Dionda episcopa*.
2. Determinar los intervalos merísticos de los caracteres morfológicos externos de importancia en individuos representantes de cada una de estas poblaciones.
3. Evaluar la diferenciación de las distintas poblaciones de *Dionda episcopa* a partir de los caracteres morfológicos observados en los ejemplares.
4. Obtener las secuencias específicas de los genes *mt-co1* y CytB de las poblaciones de *Dionda episcopa* y grupos hermanos.
5. Elaborar cladogramas que expresen las relaciones evolutivas entre las poblaciones y/o especies muestreadas.

Área de estudio

Provincias Ictiofaunísticas

La altiplanicie mexicana corresponde a la parte más sureña de la región Neártica. Esta altiplanicie se encuentra al este de la Sierra Madre Occidental, oeste de la Sierra Madre Oriental, al norte de la Faja Volcánica Transmexicana y se extiende hacia el norte hasta el suroeste estadounidense. Dentro de esta zona se encuentra la provincia

Chihuahuense, que consiste en un conjunto de comunidades principalmente semiáridas, con lluvias en verano y dominada por pastizales semidesérticos, matorral desértico y chaparral (Miller *et al.*, 2005).

Los peces de afinidades septentrionales (ya sean holárticos o neárticos) son cada vez más escasos de norte a sur a lo largo de la Zona de Transición Mexicana, que no tiene un límite discreto, sino una zona de transición continua; y se ven reemplazados en el sur por grupos autóctonos o por otros de estirpe neotropical o marina. Los contactos entre las ictiofaunas neotropical y neártica indican un intercambio muy limitado y relativamente reciente, ya que solo cuatro grupos norteamericanos se internan hasta América Central: Cyprinidae, Catostomidae, Ictaluridae y Lepisosteidae (Miller y Smith, 1986), aunque Miller *et al.* (2005) mencionan que estos grupos son las familias Percidae, Centrarchidae, Cyprinidae, Catostomidae e Ictaluridae.

Hasta el año 2008, se consideraba que la especie del género *Dionda* con distribución más sureña era *Dionda ipni*, en el río Misantla, en Veracruz y Puebla, pero recientemente esta y otras especies sureñas (antes incluidas en *Dionda*) fueron re-clasificadas en el nuevo género *Tampichthys* (Schönhuth *et al.* 2008). De modo que actualmente el complejo *Dionda episcopa* es la especie del género *Dionda* más sureña, llegando hasta el sur de Durango y el norte de Zacatecas.

Hidrología

El río Bravo es receptor de las aguas del río Conchos y nace en las Montañas Rocosas, a 4000 msnm, entre las cuencas de los ríos Mississippi y Colorado. En su porción estadounidense superior, este río consiste en sólo una corriente principal con afluentes de reducida importancia. Como límite político internacional recibe a los ríos Conchos, Pecos y Devil's, así como a varios afluentes pequeños (ríos San Carlos, San Diego, San Rodrigo, Arroyo de las Vacas y Arroyo Escondido) y finalmente a los ríos Salado, de Álamo y San Juan (Tamayo, 1949). En el pasado (Paleoceno, 65.5 a 55.8 ma), los ríos Conchos, Aguanaval, Nazas, Tunal y otros sistemas desembocaban en el río Bravo (Meek, 1904 y Smith y Miller, 1986), de los cuales el río Conchos es el único actualmente conectado al río Bravo.

El río Conchos forma parte de la vertiente del Atlántico, en el desierto Chihuahuense, y descarga sus aguas en el río Bravo, Este río nace en la sierra Tarahumara, en Chihuahua, y colinda con las cuencas del río Yaqui, Mayo y Fuerte. Más adelante recibe a los ríos Parral y Florido (ya unidos) y sigue hasta la presa de Rosetilla. Posteriormente recibe los ríos San Pedro y Bachimba y descarga en el río Bravo, después de 590 kilómetros de longitud de la corriente, en el pueblo de Cuchillo Parado cerca de Ojinaga, Chihuahua.

Los afluentes más relevantes del río Conchos son (Tamayo, 1949):

- Río Florido: Mide aproximadamente 340 km de longitud, se forma en el centro-norte de Durango, en el municipio de Indé; y recibe al río Parral en cuanto ingresa a Chihuahua por el sureste.
- Río San Pedro: Se forma en el occidente del estado de Chihuahua y al sur de la cuenca de la laguna de Los Mexicanos. Corre de occidente a oriente y recibe a los ríos Satebó y Santa Isabel antes de descargar en el Conchos.

El río Conchos separa la región de la Mesa del Norte en una porción septentrional (en el norte de Chihuahua y parte de Nuevo México) y una meridional de mayor superficie (en Coahuila, Durango, Zacatecas, Nuevo León y San Luis Potosí) (Miller *et al.*, 2005).

Hidrología histórica

El conocimiento de los procesos de especiación de los peces del norte de México implica también el conocimiento de los procesos geológicos e hidrológicos de pasado. La configuración general de América Central se desarrolló en el Mioceno y Plioceno (2.6 a 23 millones de años), y los complejos hidrográficos mayores se establecieron en el Plioceno. Durante el Cuaternario (0.01 a 2.6 ma) hubo notables capturas de corrientes a lo largo de la plataforma continental en México que modificaron el relieve y ocasionaron la comunicación y aislamiento de poblaciones de peces. Además en el desierto Chihuahuense hay elementos que indican múltiples invasiones acuáticas del área, así como evidencia de cambios en las relaciones en cuencas (Miller, 1978).

La información geológica disponible y la tolerancia limitada de las especies de *Dionda*, sugieren la existencia de escenarios que podrían explicar los patrones de diversidad observados en el género.

De acuerdo con Mayden *et al.* (1992) en el Mioceno (hace 5.3 a 23 ma) la masa de la cuenca del río Conchos pudo haber drenado al norte hacia el río Bravo en gran parte de su curso presente; y los ríos Nazas, Aguanaval, Tunal y otras cuencas menos numerosas deben haber tenido flujos independientes de éste. Además se establece que el robo de corrientes y el aislamiento (entre los ríos Aguanaval, Nazas, Palomas y Conchos) deben haber sido ocurrencias comunes en la historia de estos ríos, ya que las transferencias de aguas superiores son evidentes en mapas de patrones de corrientes a lo largo de pendientes orientales de la Sierra Madre Occidental.

Miller (1978) también menciona que la distribución de la especie *Codoma ornata* y del género *Pantosteus* (*Catostomus*) en los ríos Conchos, Nazas, Mezquital, Fuerte y Yaqui sugieren que su origen (y posiblemente el de otras especies) fue en el río Nazas. Posteriormente estos peces se movieron en ambas direcciones mediante conexiones entre los ríos Nazas y Conchos, ya que durante el Pleistoceno (hace 0.01 – 2.6 ma) hubo condiciones de lluvia y humedad que permitieron que el desierto Chihuahuense sirviera como ruta de dispersión para organismos acuáticos. Posteriormente la aridez post-pluvial marcó un periodo de aislamiento, diferenciación y extinción de gran parte de esta biota.

En este sentido, se establece también que las especies ancestrales de *Dionda* posiblemente habitaban una serie de ríos de México al norte del río Bravo/Pecos ancestral, y al este a lo largo de la vertiente del Golfo de México, hasta el río Colorado. La especiación del componente sur-occidental del complejo *D. episcopa* probablemente involucró una especie ancestral muy restringida al viejo río Nazas, porciones de las aguas superiores del río Conchos y algunos tributarios del bajo río Bravo. La ausencia de especies de *Dionda* aguas arriba del río Bravo es el resultado del aislamiento de este río de la parte baja hasta el Pleistoceno, ya que la parte superior del río Conchos ha tenido una historia separada de la historia de la parte baja. Aunque aún no se han determinado los detalles de cómo, cuándo y dónde se unieron estos segmentos (Albritton y Smith, 1965).

De acuerdo con la hipótesis anterior, se planteó la posibilidad de que la especie putativa *Dionda episcopa* del río Conchos superior sea descendiente de una población que previamente habitó las cuencas interiores, donde actualmente está extinta, pero que llegó al río Conchos como resultado de una captura de corrientes (Mayden *et al.*, 1992). Esto explicaría por qué esta población está más relacionada con *D. diaboli* o *D. melanops* que con otros ejemplares de *D. episcopa* revisados, las cuales podrían haber resultado de un aislamiento periférico (evento alopátrico) relacionado con una transferencia de aguas superiores en el Pleistoceno temprano.

Metodología

Morfología y morfometría

Se revisaron 205 ejemplares de las especies *D. episcopa* y *Dionda* sp. del río Conchos y sus tributarios (Florida, Florida, Santa Isabel y Chuvíscar), San Pedro Mezquital y río Salado en México; y del río Frío, EUA, (Cuadro 1 y Figura 4). Además se revisaron ejemplares de *Dionda episcopa* del río Pecos (Barrilla Draw, Coyanosa Draw y Pecos inferior), Texas, para comparar morfológicamente los ejemplares del río Conchos con la especie previamente descrita. Estos ejemplares están depositados en el Departamento de Biología de la Universidad de Saint Louis, en Missouri.

Acrónimos institucionales

Los ejemplares estudiados en esta tesis están depositados en distintas colecciones científicas nacionales y extranjeras cuyos acrónimos son los siguientes: **CNPE-IBUNAM**, Colección Nacional de Peces del Instituto de Biología de la UNAM; **STL**, Departamento de Biología de la Universidad de Saint Louis, Missouri; **UMMZ**, Colección Ictiológica del Museo de Zoología de la Universidad de Michigan; **USNM**, Museo Nacional de Historia Natural del Instituto Smithsonian; **UAIC**, Colección Ictiológica de la Universidad de Alabama; **TNHC**, Colección Ictiológica de la Universidad de Texas en Austin; **MSB**, Museo

de Biología del Suroeste de la Universidad de Nuevo México en Albuquerque y TU, Colección Ictiológica de la Universidad de Tulane.

Ejemplares estudiados

A continuación se muestran el número de catálogo y la localidad de origen de los ejemplares estudiados en este trabajo:

Cuadro 1. Localidades y números de catálogo de los ejemplares analizados en este estudio.

| Especie | Afluente (grupo) | Localidad | Lotes |
|------------------------|--|--|-------------------|
| <i>Dionda sp.</i> | Río Conchos superior, Chihuahua y Durango. (Grupo 1) | Río Santa Isabel, río Conchos, Chihuahua | CNPE-IBUNAM 15689 |
| | | Río Balleza, Chihuahua | CNPE-IBUNAM 20158 |
| | | Río Florido, Durango | UMMZ 161730 |
| | | Río Florido, Chihuahua | UMMZ 161742 |
| | | Río Florido, Durango | UMMZ 167729 |
| | | Río Valle de Allende, Chihuahua | UMMZ 203237 |
| | | Río Conchos, Durango | UAIC 7904.01 |
| | Río Frío, Texas. (Grupo 2) | Río Presidio, arroyo Cibolo, Texas | TNHC 8109 |
| | | Río Presidio, arroyo Cibolo, Texas | STL 1320.01 |
| | Río Conchos medio, Chihuahua. (Grupo 3) | Río Chuvíscar, Chihuahua | UMMZ 228603 |
| | | Río San Pedro, tributario del río Conchos, Chihuahua | UMMZ 166718 |
| | | Río San Pedro, tributario del río Conchos, Chihuahua | UMMZ 196727 |
| | Río Salado, Coahuila. (Grupo 4) | Cuatro Ciénegas, Coahuila | UMMZ 130388 |
| | Río Mezquital, Durango. (Grupo 5) | Río San Pedro Mezquital, Durango | UMMZ 247111 |
| | | Río San Pedro Mezquital, Durango | CNPE-IBUNAM 15779 |
| <i>Dionda episcopa</i> | Río Pecos superior, Texas. (Grupo 6) | Río Pecos, Texas | TU 782 |
| | | Río Pecos, Texas | UMMZ 104172 |
| | | Río Camanche, Texas | USNM 117525 |
| | Río Pecos medio, Texas. (Grupo 7) | Río Pecos, Guadalupe, Texas | MSB 54054 |

Se consideraron y midieron 54 caracteres en cada ejemplar: 30 morfométricos (Cuadro 2 y Figura 5) y 24 merísticos (Cuadro 3). Estos caracteres se basan en las características observadas por otros autores (Armbruster 2012) y por caracteres que han sido significativamente variables en estudios de otros ciprínidos (Mayden com. pers. 2014). Los caracteres morfométricos se midieron entre diversas combinaciones de los puntos mostrados en la Figura 5. En estructuras pareadas siempre se tomó en cuenta la medición del lado izquierdo de los ejemplares. Las medidas fueron tomadas con un Vernier digital de alta precisión.

Cuadro 2. Caracteres morfométricos considerados para cada espécimen

| Nombre | Carácter |
|---------------|--|
| M1M6 | Punta del hocico - Inicio del complejo hipural |
| M1M2 | Punta del hocico - Occipucio |
| M1M11 | Punta del hocico - Margen del opérculo |
| M1M10 | Punta del hocico - Inserción de la aleta pectoral |
| M1M14 | Punta del hocico - Istmo |
| M1M12 | Punta del hocico - Margen anterior del ojo |
| M2M3 | Occipucio - Origen de la aleta dorsal |
| M2M13 | Occipucio - Margen posterior del ojo |
| M2M10 | Occipucio - Inserción de la aleta pectoral |
| M3M10 | Origen de la aleta dorsal - Inserción de la aleta pectoral |
| M3M4 | Longitud de la base de la aleta dorsal |
| M3M9 | Origen de la aleta dorsal - Inserción de la aleta pélvica |
| M4M5 | Final de la base de la aleta dorsal - Inicio de la aleta caudal |
| M4M9 | Final de la base de la aleta dorsal - Inserción de la aleta pélvica |
| M4M8 | Final de la base de la aleta dorsal - Origen superior de la aleta anal |
| M9M14 | Istmo - Inserción de la aleta pélvica |
| M9M10 | Inserción de la aleta pectoral - Inserción de la aleta pélvica |
| M8M9 | Inserción de la aleta pélvica - Origen de la aleta anal |
| M7M8 | Origen de la aleta anal - Origen superior de la aleta caudal |
| M5M8 | Origen de la aleta anal - Origen inferior de la aleta caudal |
| M6M24 | Final de la base de la aleta anal - Inicio del complejo hipural |
| M5M7 | Altura del pedúnculo caudal a la altura del inicio complejo hipural |
| M15M16 | Distancia entre aperturas nasales |
| M17M18 | Distancia entre los márgenes superiores de los ojos |
| M12M13 | Diámetro del ojo |
| M2M14 | Occipucio - Istmo |
| M25M26 | Amplitud de la boca |
| M10M19 | Distancia ventral entre las inserciones de las aletas pectorales |
| M20M21 | Amplitud (ancho) de la cabeza a la altura del opérculo |
| M22M23 | Amplitud (ancho) del cuerpo a la altura del origen de la aleta dorsal |

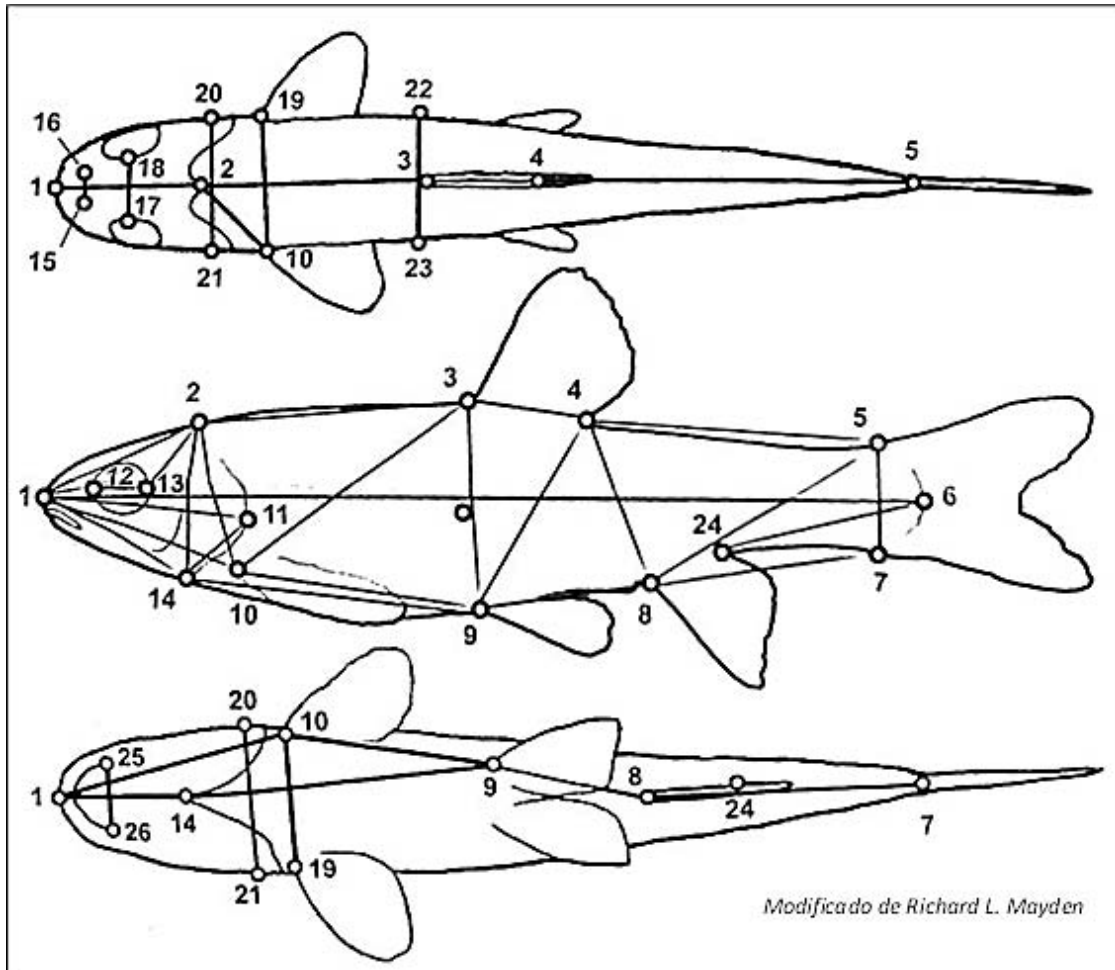


Figura 5. Esquema de los puntos considerados para la obtención de los caracteres morfométricos.

Los 24 caracteres merísticos se enlistan en el Cuadro 3. Los nombres en inglés se conservaron para mantener la comparabilidad entre los trabajos taxonómicos de varios investigadores de Estados Unidos de América y México. Los conteos fueron realizados bajo observación microscópica.

Cuadro 3. Caracteres merísticos considerados de cada espécimen

| Nombre | Carácter |
|----------------------------------|---|
| SEX | Sexo |
| LATERAL LINE SCALES (LL) | Número de escamas de la línea lateral |
| DORSAL ORIGIN TO LL | Serie de escamas del inicio de la aleta dorsal hasta la línea lateral |
| PELVIC INSERTION TO LL | Serie de escamas del inserción de la aleta pélvica hasta la línea lateral |
| SCALES ABOVE LL AT DORSAL ORIGIN | Series de escamas sobre la línea lateral en el origen de la aleta dorsal |
| SCALES BELOW AT DORSAL ORIGIN | Series de escamas bajo la línea lateral en el origen de la aleta dorsal |
| PEDUNCLE ROWS ABOVE LL | Líneas de escamas sobre la línea lateral |

| | |
|---------------------------------|---|
| PEDUNCLE ROWS BELOW LL | Líneas de escamas bajo la línea lateral |
| PREDORSAL ROWS | Serie de escamas predorsales |
| POSTDORSAL ROWS | Serie de escamas post-dorsales |
| POST ANAL ROWS | Serie de escamas post-anales |
| DORSAL FIN RAYS | Número de radios de la aleta dorsal |
| ANAL FIN RAYS | Número de radios de la aleta anal |
| PELVIC FIN RAYS | Número de radios de la aleta pélvica |
| PECTORAL FIN RAYS | Número de radios de la aleta pectoral |
| CAUDAL FIN SUPERIOR RAYS | Número de radios superiores de la aleta caudal |
| CAUDAL FIN MIDDLE RAYS | Número de radios medios de la aleta caudal |
| CAUDAL FIN INFERIOR RAYS | Número de radios inferiores de la aleta caudal |
| GILL RAKERS | Número de branquiespinas |
| TUBERCLES ON HEAD | Presencia (o ausencia) de tubérculos en la cabeza |
| TUBERCLES ON DORSAL | Presencia (o ausencia) de tubérculos en la aleta dorsal |
| TUBERCLES ON PECTORAL | Presencia (o ausencia) de tubérculos en la aleta pectoral |
| TUBERCLES ON PELVIC | Presencia (o ausencia) de tubérculos en la aleta pélvica |
| TUBERCLES ON ANAL | Presencia (o ausencia) de tubérculos en la aleta anal |
| TUBERCLES ON CAUDAL | Presencia (o ausencia) de tubérculos en la aleta caudal |

Posteriormente se integraron dos matrices: una de datos merísticos y la otra de datos morfométricos que reunieron las medidas y conteos de los ejemplares de cada población. Enseguida se determinaron los intervalos merísticos para cada población y se realizaron análisis estadísticos sobre la base de datos morfométricos para evaluar las diferencias significativas independientes de los caracteres entre las poblaciones.

Análisis estadístico

Los Análisis de Componentes Principales (PCA) de las medidas morfométricas y merísticas se realizaron de manera independiente. Los resultados no mostraron aportaciones significativas de cada variable para diferenciar lotes, por lo que se decidió hacer ajustes a los datos reagrupando el total de ejemplares examinados en siete grupos (Cuadro 1) que agruparan las cuencas de acuerdo a sus conexiones históricas y a los organismos de acuerdo a las relaciones previamente encontradas en otros estudios (Schönhuth *et al.* 2012 y Carson *et al.* 2010).

El análisis de componentes principales inicial mostró una fuerte correlación de la longitud estándar (SL) de los ejemplares con el Componente 1, por lo que las medidas morfométricas se reexpresaron como porcentajes de la longitud estándar y se analizaron nuevamente por medio de Análisis de Varianzas (ANOVA) de dos colas por medio de la prueba Kluskal-Wallis para cada una de las bases de datos de manera independiente. El nivel de confianza de las pruebas se ajustó al 95%. Todos los análisis se realizaron en el software SPSS Statistics (IBM, 2013).

Genética

Para el análisis filogenético se obtuvieron secuencias genéticas de ejemplares colectados y depositados en la CNPE-IBUNAM (Figura 4), además de las bases de datos GenBank y del proyecto Código de Barras de Peces Mexicanos (CBPM) de la Colección Nacional de Peces en BOLD. Como grupos externos se consideraron secuencias de especímenes de las especies que se han considerado hermanas al género *Dionda* en otros estudios (Mayden et al. 1992, Schönhuth et al. 2008 y Schönhuth et al. 2012, así como de especies de *Dionda* de Coahuila, Durango y Tamaulipas, México y de Texas, EUA. A continuación se enlistan los números de acceso de las secuencias obtenidas de GenBank:

Cuadro 4. Números de acceso de GenBank y BOLD de los grupos internos y externos utilizados en el análisis filogenético

| Grupos internos | |
|---|---|
| <i>Dionda episcopa</i> | JN025284, JN025285, JN025286 y JN025287 |
| <i>Dionda melanops</i> | EU751792 y EU751793 |
| <i>Tampichthys dichromus</i> | HQ579100 |
| <i>Tampichthys catostomops</i> | HQ579033 |
| <i>Tampichthys mandibularis</i> | HQ579099 y JN025288 |
| Grupos externos | |
| <i>Campostoma ornatum</i> | HQ557401 y HQ579087 |
| <i>Cyprinella garmani</i> | JN025230 |
| <i>Cyprinella xanthicara</i> | JN025273 |
| <i>Cyprinus carpio</i> | KC108645 |
| <i>Notropis nazas</i> | JN027604 |
| <i>Notropis sallaei</i> | JN024817 |
| <i>Rhinichthys cobitis</i> | HQ556964 |
| <i>Rhinichthys cataractae</i> | KF930359 |
| <i>Rhinichthys osculus</i> | HQ579004 |
| Las secuencias obtenidas en este estudio y las correspondientes al proyecto CBPM están disponibles en el Anexo 1. | |

Las secuencias obtenidas en este estudio y las correspondientes al proyecto CBPM están disponibles en el Anexo 1.

Obtención de ADN

Se colectaron 12 ejemplares de *Dionda sp.* (CNPE-IBUNAM 20158), de los cuales fue posible la extracción de ADN. Además se agregaron a la extracción especímenes de *Dionda* de Coahuila y ejemplares de *Cyprinella xanthicara*, *Cyprinella panarcys*, *Codoma ornata* y *Gila minacea* que se usaron como grupos externos. A continuación se especifica el número de catálogo y origen de los ejemplares empleados en este trabajo.

***Dionda* sp.** – CNPE-IBUNAM 20158 (muestras 1, 2 y 3), río Balleza, Chihuahua. CNPE-IBUNAM 18894 (muestra 7), CNPE-IBUNAM 18910 (muestras 8, 9 y 10) y CNPE-IBUNAM 18890 (muestras 11, 12 y 13), Laguna intermedia de Churince, Cuatro Ciénegas, Coahuila. CNPE-IBUNAM 19217 (muestras 19 y 20¹), Los Gatos, Cuatro Ciénegas, Coahuila.

Cyprinella xanthicara – CNPE-IBUNAM 18866 (muestras 4, 5 y 6) y CNPE-IBUNAM 18885 (muestras 14, 15 y 16), Laguna Intermedia de Churince, Cuatro Ciénegas, Coahuila. CNPE-IBUNAM 18875 (muestras 17 y 18), Manantial de Churince, Cuatro Ciénegas, Coahuila.

Cyprinella panarcys – CNPE-IBUNAM 20162 (muestras 21 y 22), río Balleza, Chihuahua.

Codoma ornata – CNPE-IBUNAM 20142 (muestras 23 y 24), Bocoyna, Chihuahua.

Gila minacea – CNPE-IBUNAM 20148 (muestras 25 y 26), Bocoyna, Chihuahua.

Se tomaron muestras de tejido epitelial y óseo (aleta pectoral) y de musculatura latero-caudal de los ejemplares. Las muestras frescas se colocaron en alcohol al 96%, ya sea que provinieran de especímenes recién colectados o de especímenes depositados en la CNPE-IBUNAM que no habían sido preservados en formalina.

La extracción de ADN se llevó a cabo por medio del kit Jena Bioscience: Animal & Fungi DNA Preparation Kit de acuerdo a las instrucciones del fabricante:

Para la lisis celular se emplearon 300 µl de solución *Cell Lysis* y se agregó 1.5 µl de solución *Proteinase K*. La incubación se realizó durante 20 horas a 55°C.

Para detener la reacción de lisis se agregaron 100 µl de solución *Protein precipitation* al lisado celular y se separó el sobrenadante después de centrifugar (a 11,000 rpm por tres minutos).

Para la precipitación del DNA se agregó isopropanol >99% al sobrenadante y se centrifugó nuevamente para separar el pellet de ADN de los residuos celulares. Posteriormente se agregaron 500 µl de *Washing buffer* y las muestras se centrifugaron nuevamente para secar el ADN. Finalmente se agregaron 50 µl de solución *DNA Hydration* y las muestras se almacenaron a 4°C.

La cuantificación del ADN obtenido se realizó por medio del espectrofotómetro Nanodrop 2000 UV-Vis y por electroforesis en gel de agarosa 1.5%.

Gen Citocromo Oxidasa I, región 5P (mt-co1)

Para la amplificación del gen *mt-co1* se utilizaron los primers universales VF1_t1 (TTCTCAACCAACCACAAAGACATTGG) y VR1_t1 (TAGACTTCTGGGTGGCCRAARAYCA) (Ivanova et al. 2006) comúnmente empleados para la obtención del gen *mt-co1* de peces. La Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR) se realizó con un volumen total de 25 µL, incluyendo 16.375 µL de agua bidestilada, 2.5 µL de 10x PCR buffer, 0.5 µL de dNTPs, 1.5 µL MgCl₂, 0.125 µL de TaqDNA, 1µL de cada primer (VF1_t1 y VR1_t1) y 2µL de DNA purificado.

¹ Extracción no exitosa.

Los parámetros establecidos en el termociclador para la PCR anidada del gen *mt-co1* consistieron en cinco ciclos: desnaturalización a 94°C por 30 s, alineamiento a 50°C por 40 s y elongación a 72°C por un minuto. Posteriormente se realizaron 30 ciclos más: desnaturalización a 94°C por 30 s, alineamiento a 55°C por 40 s y elongación final a 72°C por un minuto. Los productos se almacenaron a 4°C.

La cuantificación de ADN amplificado que resultó de la PCR se llevó a cabo por medio de electroforesis en gel de agarosa 1.5%. El gel revelado se muestra en la Figura 6.

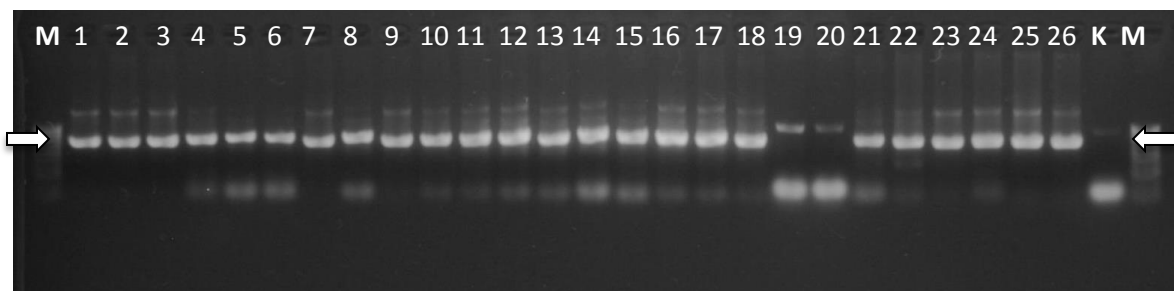


Figura 6. Electroforesis de la amplificación de ADN por PCR. K: Muestra control, M: Marcador de peso molecular. Las barras luminosas a la altura de las flechas corresponden a la luminiscencia inducida del ADN amplificado.

La secuenciación de cada muestra fue realizada por el método de Sanger por electroforesis capilar en un Secuenciador 3500xl (de 24 capilares) Life Technology, por la M. en C. Laura Márquez, en el Laboratorio de Secuenciación Genómica de la Biodiversidad y de la Salud del Instituto de Biología de la UNAM.

Este método funciona a través de la adición de nucleótidos que carecen de un grupo fosfato (ddNTPS), un primer específico, nucleótidos libres (dNTPS), y polimerasas a una reacción de amplificación de ADN. Esta reacción amplifica trozos de diversos tamaños de la cadena desnaturalizada del gen objetivo. Una vez amplificados, los trozos se someten a electroforesis en gel por un tubo capilar (que deja pasar únicamente una cadena de ADN a la vez) y se les hace pasar un rayo láser, cuya refracción específica (de cada nucleótido) es detectada. La serie de todas las refracciones consecutivas conforma un cromatograma que a su vez es traducido en la secuencia legible de ADN.

Las secuencias genéticas obtenidas (Anexo 1) fueron analizadas en conjunto con las obtenidas de GenBank y BOLD con el programa Geneious Versión 8.1 (Kearse *et al.* 2012). Por medio de este software se examinó la calidad de las secuencias y se integraron las cadenas *forward* y *reverse* para obtener una secuencia consenso de cada una de las muestras implicadas en el análisis molecular. Una vez consensadas se ajustó el marco de lectura y se eliminaron las partes de la secuencia que quedaban fuera del gen (antes y después de los primers). Las secuencias consenso fueron comparadas en la base de datos en línea BLAST para corroborar la identificación de los ejemplares y posteriormente exportadas para su manejo en el programa MEGA Versión 6.0 (Tamura *et al.* 2013).

Las secuencias 1-26 (excepto 19 y 20) se integraron a una matriz genética en MEGA 6.0 junto con las obtenidas de GenBank y BOLDsystems. En total se analizaron 51

secuencias, incluyendo una secuencia de la carpa común *Cyprinus carpio* que se empleó como grupo externo.

Los alineamientos pareado y múltiple de las secuencias se realizaron con los parámetros determinados de ClustalW en Mega 6.0 (penalidad de apertura de *gaps* de 10 y extensión de *gaps* de 0.1 y 0.2 respectivamente); se usó la matriz de pesos predeterminada IUB para la comparación de ácidos nucleicos.

Posteriormente se llevó a cabo una reconstrucción filogenética por Máxima Parsimonia (MP) con el método de Bootstrap con 100 replicaciones. Además se empleó el método de búsqueda Tree-Bisection-Reconnection (TBR) con adición al azar de 10 árboles iniciales (incluyendo todos los codones).

Además se realizó un análisis filogenético por Inferencia Bayesiana (IB) por medio del software MrBayes 3.2.6 (Ronquist y Huelsenbeck, 2003). El análisis se realizó sin particiones y con el modelo de Tiempo Reversible General con sitios variables e invariables con distribución gamma discreta (GTR+G), previamente seleccionado por medio de jModelTest (Darriba *et. al* 2012 y Guindon y Gascuel 2003). El análisis de IB se definió de la siguiente manera: “lset nst=6”, “rates=gamma”, “unlink revmat=(all)”, “pinvar=(all)”, “shape=(all)” y “statefreq=(all)”. Además se usaron los parámetros predeterminados de los priors en la proporción de sitios invariables (0–1) y el parámetro de la forma gamma (0.1–50.0). El proceso de la cadena de Markov Monte Carlo (mcmc) se determinó en cuatro cadenas (tres calientes y una fría) corriendo simultáneamente por dos millones de ciclos.

Gen Citocromo B (mt-cyb)

Para la amplificación del gen *mt-cyb* de las muestras se utilizaron los primers L14724 y H15149 de Shartl *et al.* (2006). Las concentraciones y reactivos utilizados fueron iguales que para el gen *mt-co1* (mencionado anteriormente), sustituyendo los primers respectivos.

Los parámetros establecidos en el termociclador para la PCR del gen *mt-cyb* consistieron en una fase de desnaturalización a 90°C por un minuto, 30 ciclos de desnaturalización a 94°C por 30 s, alineamiento a 50°C por 30 s y elongación a 72°C por un minuto, con una extensión final de 72°C por cinco minutos. Los productos se almacenaron a 4°C.

La cuantificación de ADN después de la PCR se realizó por medio de electroforesis en gel de agarosa 1.5%. El gel revelado se muestra en la Figura 7.

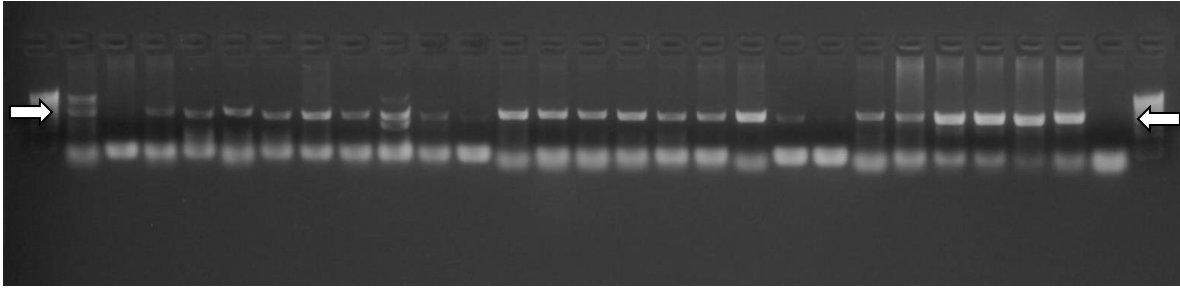


Figura 7. Electroforesis de la amplificación de ADN por PCR. M: Marcador de peso molecular, K: Control. Las barras luminosas a la altura de las flechas corresponden a la luminiscencia inducida del ADN amplificado

Los métodos de secuenciación y análisis de secuencias fueron los mismos que para el gen *mt-co1*. Únicamente se obtuvieron 12 secuencias consenso de menos de 500 pb (con un mínimo de 50% de correspondencia entre las dos cadenas), mientras que la extensión del gen *mt-cyb* de ciprínidos es de más de 1100 pb (Schönhuth *et al.* 2008 y 2012). Las secuencias fueron comparadas en la base de datos en línea BLAST para corroborar la identificación de los ejemplares y posteriormente exportadas para su manejo en el programa MEGA Versión 6.0 (Tamura *et al.* 2013).

Resultados y Discusión

Morfología general

Algunas de las características morfológicas principales para distinguir entre el grupo de estudio y las especies afines son la presencia de un peritoneo negro (y no plateado o punteado) en los ejemplares de *Dionda*. Adicionalmente se ha observado que las convoluciones del intestino son importantes para diferenciar ejemplares muy parecidos de los géneros *Dionda* y *Notropis*. Las especies de *Notropis* mantienen una dieta carnívora y desarrollan intestinos más cortos, mientras que las especies de *Dionda* son de hábitos herbívoros y desarrollan intestinos muy largos contenidos en el mismo espacio, por lo que presentan un número mucho mayor de convoluciones.

Aunque en ocasiones el género *Pimephales* también presenta un peritoneo negro, es fácilmente distinguible por la presencia de escamas predorsales pequeñas y amontonadas, mientras que *Dionda* exhibe estas escamas de tamaño regular y distribución constante.

En ejemplares de *Codoma* puede apreciarse la boca en posición mucho más terminal que en *Dionda*, además de coloración negra en forma de barras verticales laterales de ancho variable (ausentes en *Dionda*). Además *Dionda* presenta una línea oscura horizontal a lo largo de los flancos laterales que se extiende desde el hocico hasta un punto basicaudal (ausentes en *Codoma*).

Las especies del género *Cyprinella* presentan boca terminal y una línea lateral de color negro (bien marcada), y se distinguen de *Dionda* por la presencia de una línea negra en la región gular y la ausencia de un punto basicaudal.

El sexado de los ejemplares se llevó a cabo mediante la observación de cuatro características: (1) la presencia –en hembras- de un vientre más blando y abultado que los machos (que son más esbeltos), aunque esta diferencia sólo es evidente en individuos maduros y en estado reproductivo. (2) La presencia -en machos- o la ausencia -en hembras- de los tubérculos nupciales en la superficie dorsal de la cabeza y en las aletas dorsal, anal, caudal, pectorales y pélvicas. (3) La amplitud, mayor tamaño y terminación redondeada de las aletas pectorales de los machos vs las aletas pectorales delgadas y puntiagudas de las hembras. Finalmente (3) la disección ventral y observación microscópica de las gónadas de cada ejemplar fue la característica observable definitiva.

También se registraron la fórmula y forma de los dientes faríngeos, los patrones de coloración de las escamas y la localidad de los ejemplares. Para registrar la forma y fórmula de los dientes faríngeos se tomaron fotografías de los dientes faríngeos de un ejemplar hembra de cada lote (Figura 8 y Figura 10). La forma y disposición de los dientes faríngeos de cada población se comparó directamente con los dientes faríngeos de las poblaciones descritas originalmente como *Dionda episcopa* del río Pecos, Texas (Figura 11).

No se encontraron variaciones en el número, la forma, el grosor y la terminación de la punta de los dientes faríngeos. Aunque los ejemplares del río Conchos presentan un gancho terminal agudo en los dos últimos dientes inferiores de los dos arcos faríngeos que se presenta solo en algunos ejemplares de otras localidades. Sin embargo es necesario analizar los dientes faríngeos de más ejemplares, incluyendo machos y hembras de distintos tamaños y en diversas épocas del año.



Figura 8. Arcos faríngeos izquierdo y derecho de ejemplares de (1 y 2) *Dionda* sp del río Florido en Durango, y (3) de ejemplar de *Dionda* sp de Cuatro Ciénegas, Coahuila.

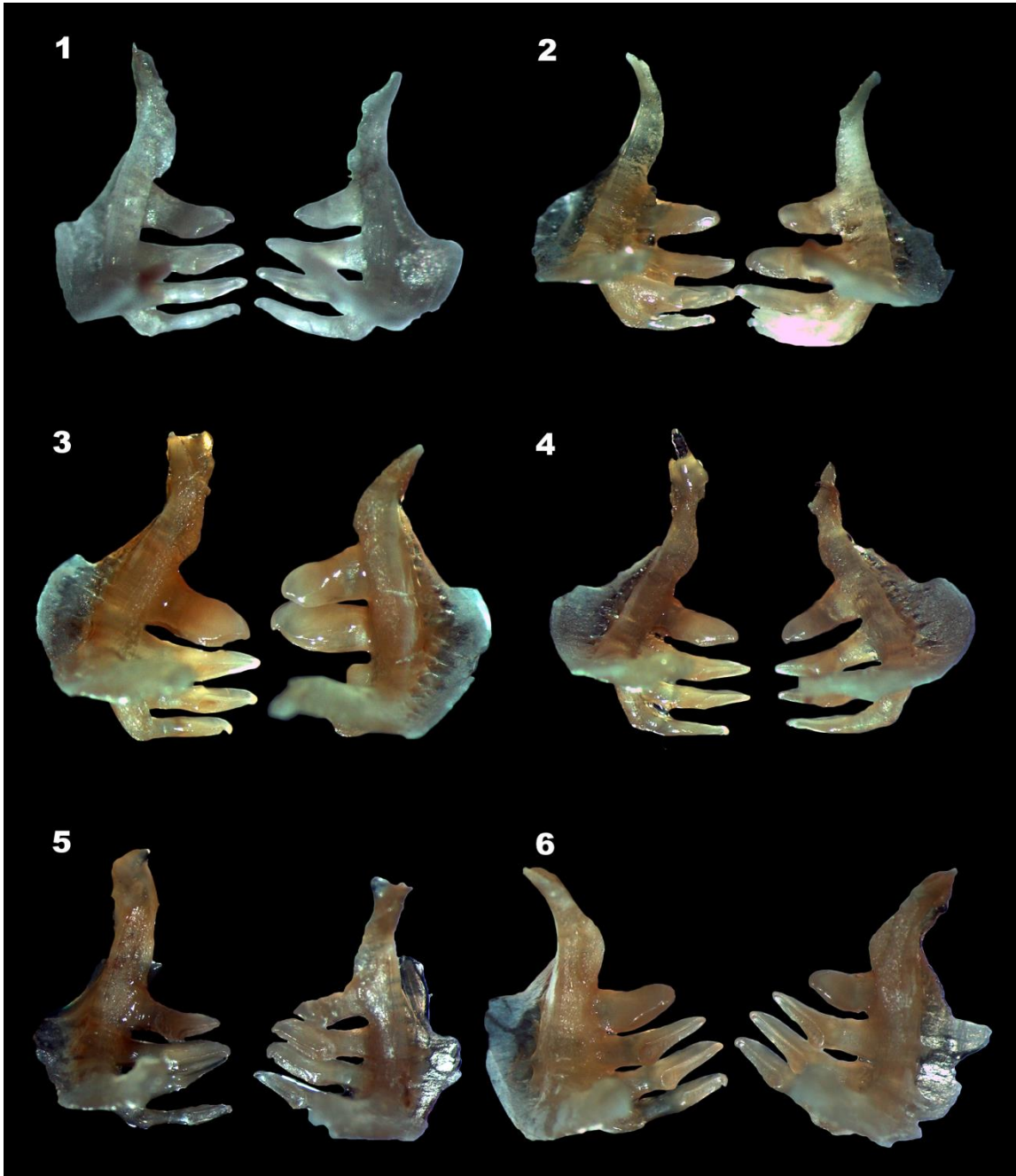


Figura 9. Arcos faríngeos izquierdo y derecho de ejemplares de *Dionda episcopa* de Texas: (1) río Guadalupe, (2) río Pecos superior, (3) río Camanche, (4) Arroyo Limpia y (5) Arroyo Cibolo. Y ejemplar de *Dionda* sp (6) de Parral, Chihuahua.

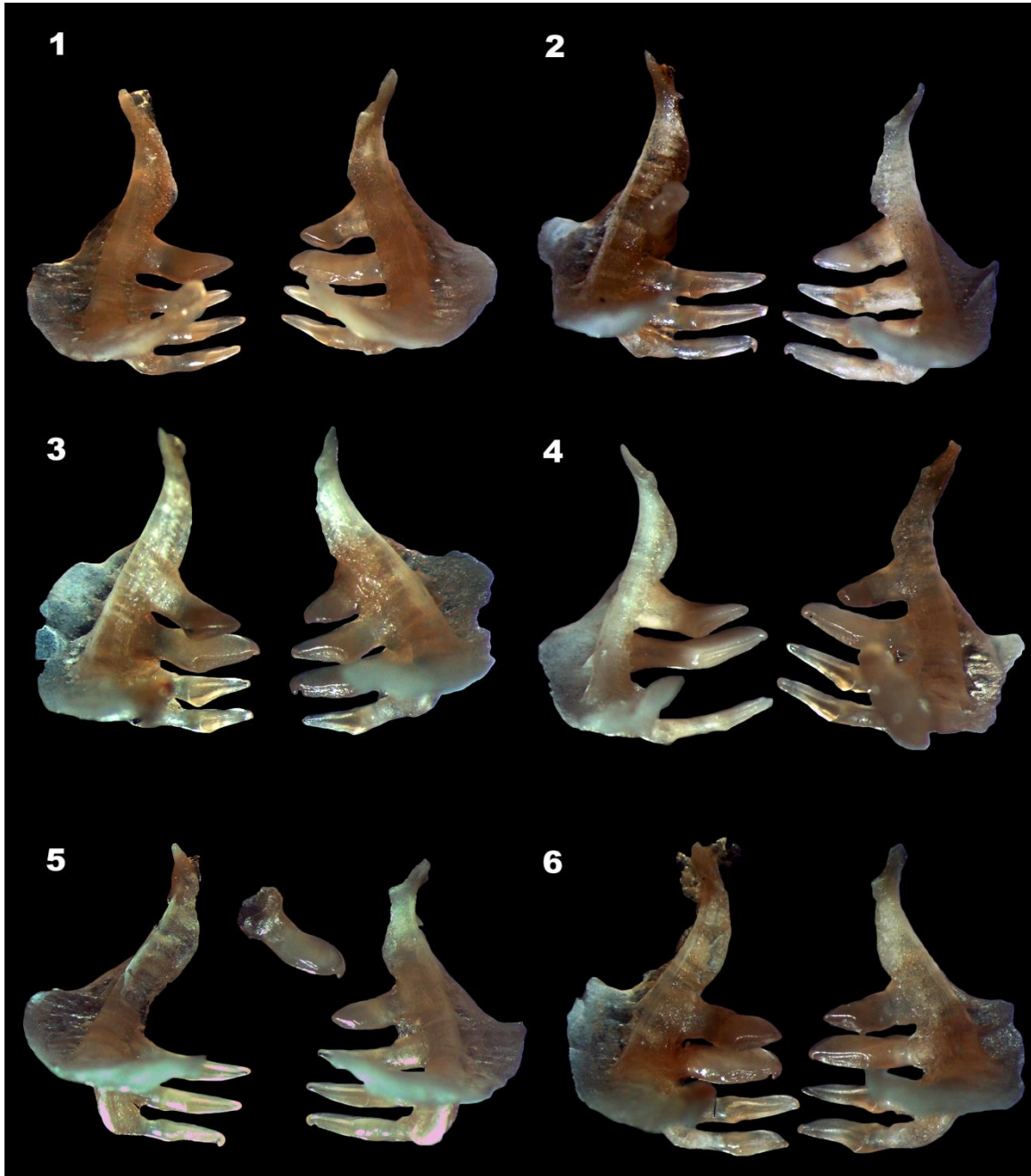


Figura 10. Arcos faríngeos izquierdo y derecho de ejemplares de *Dionda* sp de Chihuahua: (1) río Chuvísar, (2) río Florido y (3 y 4) río San Pedro. Ejemplares de (5 y 6) *Dionda* sp del río Conchos Durango.

Finalmente se registraron los patrones de coloración y se tomaron fotografías de un ejemplar hembra y un ejemplar macho de cada uno de los lotes examinados (Figura 11). Es posible que la coloración tan variada que presentan las carpas obispas de distintos lugares sea el reflejo de respuestas adaptativas (plasticidad fenotípica) a la incidencia de luz, a la turbidez del agua, a la fuente de alimentación y/o a una forma activa de mimetismo, por lo que el patrón de coloración sólo fue considerado como característica adicional y no determinante.

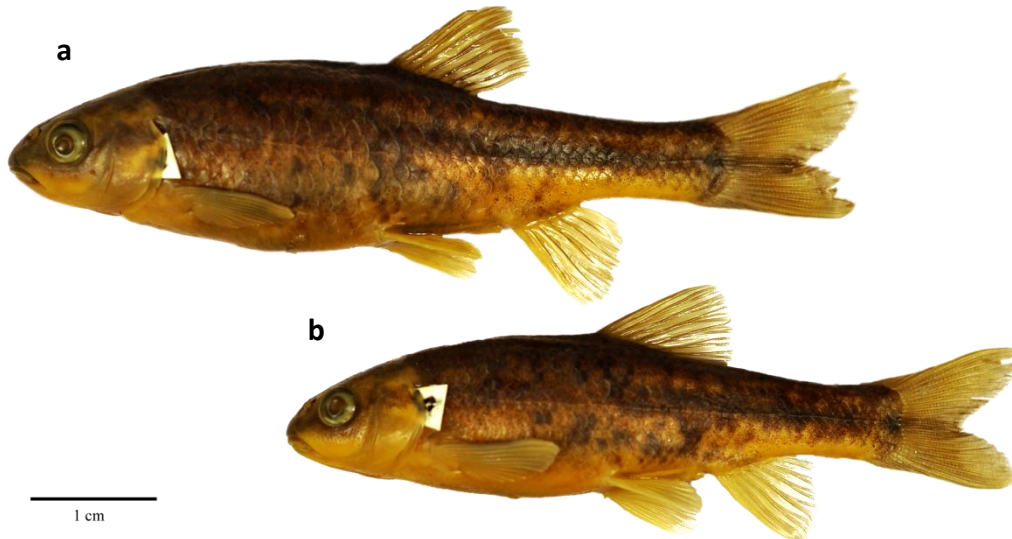


Figura 11. Ejemplares de *Dionda episcopa* de Arroyo Creek, Texas. Hembra (a), macho (b)

Morfología y morfometría

No fue posible sexar todos los ejemplares analizados, por lo que no se realizó un análisis considerando el dimorfismo sexual en la muestra.

El análisis de componentes principales no mostró diferencias significativas en ninguna de las medidas merísticas ni morfométricas, incluso después de los ajustes a los datos.

Los ANOVA (prueba Kruskal-Wallis para variables independientes) tampoco mostraron ninguna aportación significativa de alguna variable o medida a las agrupaciones de ejemplares para los caracteres merísticos (Apéndice 1) ni para los morfométricos (Apéndice 2). El nivel de significancia determinado para las muestras fue de 0.05 y la significancia de todas las muestras fue de 0.487, por lo que se retiene la hipótesis nula para todas las variables independientes puestas a prueba, es decir, la variación morfológica es debida al azar.

Genética

Citocromo Oxidasa I – 5P

Las proporciones nucleotídicas de la matriz molecular en las posiciones 1, 2, 3 y totales se expresan en el Cuadro 5.

Cuadro 5. Proporciones nucleotídicas en cada posición y en total de las secuencias analizadas.

| | Posición 1 | Posición 2 | Posición 3 | Totales |
|-----------------|------------|------------|------------|---------|
| Adenina | 31.8 % | 23.4 % | 21.5 % | 25.6 % |
| Citosina | 23.4 % | 26.5 % | 23.7 % | 24.5 % |
| Guanina | 18 % | 27.2 % | 18.4 % | 21.2 % |
| Timina | 27 % | 23 % | 36 % | 28.8 % |

Máxima Parsimonia: El análisis filogenético por Máxima Parsimonia consideró 684 sitios totales, de los cuales 183 fueron conservados, 499 fueron variables y 490 fueron filogenéticamente informativos.

El análisis arrojó dos árboles con casi la misma topología (Apéndices 3 y 4). Los árboles recuperados fueron de 1054 pasos y tuvieron un índice de consistencia (CI) de 0.549336, un índice de retención (RI) de 0.904657 y un índice de consistencia reescalado (RCI) de 0.496960 para todos los sitios. Los índices para los sitios informativos fueron: CI: 0.547188, RI: 0.904657 y RCI: 0.495017. El árbol de consenso estricto se presenta en la Figura 12.

Inferencia Bayesiana: El análisis filogenético por Inferencia Bayesiana resultó en un árbol con un promedio de desviación estándar de frecuencias de 0.009873 (Figura 13). La verosimilitud del mejor estado de la cadena fría en la corrida uno fue de $-\ln L$ 6402.77 y de la corrida dos de $-\ln L$ 6406.90.

Los árboles filogenéticos (incluyendo MP e IB) recuperaron el clado “Dionda E” (100% MP y .81 IB) que agrupa a la especie *Dionda episcopa* sensu stricto del río Pecos junto con especímenes del género *Dionda* del río Sabinas y de la Poza Churince en Cuatro Ciénegas, ambos en Coahuila, así como con ejemplares de *Dionda melanops* de Nuevo León. La rama más basal de este clado corresponde a un espécimen de *Dionda* del río Poanas, en Durango. Además *D. melanops* y *D. diaboli* son parte del este clado, que agrupa al resto de *Dionda* del noreste de México y sureste de Estados Unidos. En el primer árbol de MP (Apéndice 4) *D. melanops* es el grupo más derivado del clado “Dionda E” y *D. diaboli* es el grupo hermano de un clado menor que incluye a *Dionda* de Churince y a *D. melanops*. Mientras que en el segundo árbol de MP, *D. diaboli* diverge enseguida de *Dionda* de Durango y es seguida por *D. melanops*, siendo ambos los grupos hermanos de las poblaciones de *Dionda* sp de Texas y de Coahuila. En el árbol de IB, este grupo forma una politomía con baja probabilidad de verosimilitud, por lo que puede decirse que las relaciones dentro de este grupo no están resueltas.

La agrupación de *Dionda melanops* con especímenes de *Dionda* de Churince, Cuatro Ciénegas sugiere la existencia de un complejo *Dionda melanops* que agrupa más de un

morfotipo en los ríos de Coahuila. Este complejo estaría cercanamente relacionado con *Dionda diaboli* y *Dionda episcopa* de Texas, así como con *Dionda* de Durango; sin embargo está muy poco relacionado con el clado *Dionda* de Balleza, Chihuahua.

El soporte del clado *Dionda* E (100% MP y 0.81 IB) soporta la hipótesis de que las poblaciones tienen un origen común en lo que ahora son las aguas medias y bajas del río Bravo, quedando después aisladas en varias regiones, incluyendo Texas, dos zonas en Coahuila (Sabinas y Cuatro Ciénegas) y Durango. Sin embargo, como ya se mencionó, las relaciones dentro de este grupo no son claras.

En el otro gran grupo que se forma en los árboles se encuentra el clado *Cyprinella* W-SW (51% MP y 0.63 IB). Este grupo, aunque pobremente soportado, incluye a poblaciones identificadas como *Cyprinella* spp del río Nazas en Durango, del río Balleza en Chihuahua y de la Poza Churince en Cuatro Ciénegas. La hermandad de este grupo con el clado *Tampichthys-Notropis* (83% MP) y *Codoma*, *Dionda* W, *Gila* y *Cyprinella* E (0.69 IB), apoya la existencia de dos clados independientes de *Cyprinella*. Esto sugiere la parafilía del género, por lo que se propone investigar la variabilidad morfológica y genética que, al igual que en *Dionda* y otros ciprínidos, puede estar ocultando la existencia de más unidades taxonómicas dentro de estas poblaciones.

En todos los árboles se recuperaron los géneros *Tampichthys* y *Notropis* como grupos hermanos (84%MP y 0.74 IB), configuración que no se había propuesto en otros estudios (Schönhuth 2008), pues se recuperaba *Tampichthys* como grupo hermano de *Codoma*.

Los géneros *Rhinichthys* y *Campostoma*² se recuperaron pobremente soportados (30% MP) dentro del clado que contiene al grupo *Cyprinella* E ya mencionado, al género *Gila*, al género (parafilético) *Codoma* y a *Dionda* W. Mientras que el árbol filogenético de IB los ubica como grupo hermano de todo el resto del grupo interno (0.92 IB). La recuperación del género *Campostoma* como grupo hermano del resto de los géneros está respaldada por la similitud morfológica y ecológica de estas especies. Además resulta interesante de, al estar incluido en un clado con *Campostoma*.

La morfología parecida de *Rhinichthys* y *Campostoma* sugiere la existencia de convergencias adaptativas. Sin embargo *Dionda* y *Cyprinella* tienen hábitos y anatomía muy diferentes a *Gila*, *Rhinichthys*, *Campostoma* y *Codoma* que sugieren que este clado probablemente debería estudiarse mejor.

² La separación de *Campostoma* y *Rhinichthys* se basa en la coloración nupcial de *Campostoma* y en la presencia de barbillones en las comisuras labiales de *Rhinichthys*. Este carácter ha estado ausente numerosas veces en ejemplares que han sido reconocidos como *Rhinichthys*. La información genética que aquí se presenta, junto con la falta de solidez de la clasificación morfológica sugieren que el género *Rhinichthys* es parafilético y no se ha descubierto su ubicación real dentro de la subfamilia Leuciscinae.

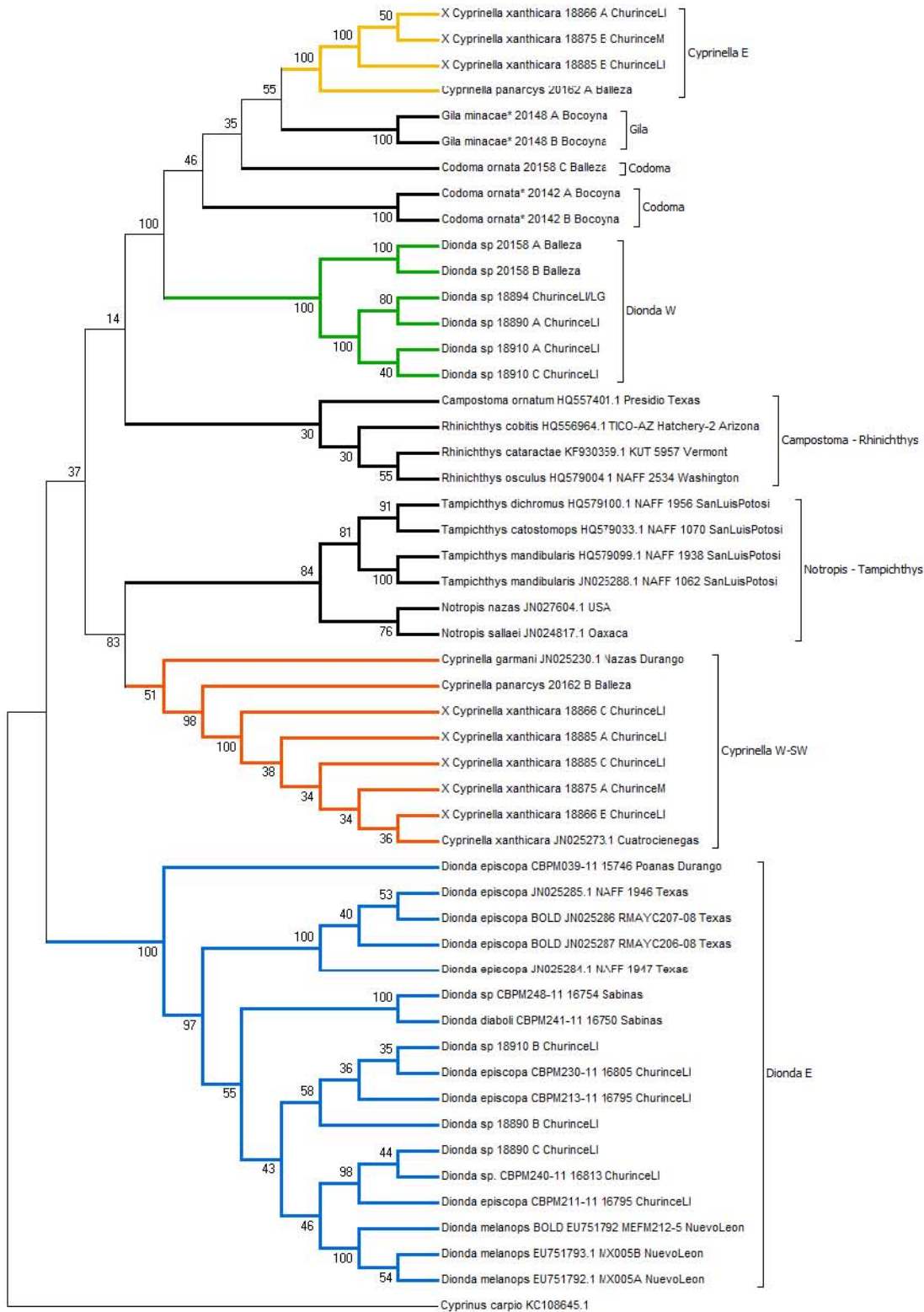


Figura 12. Árbol filogenético de consenso por Máxima Parsimonia. 1, 054 pasos. El porcentaje de soporte de los clados se muestra asociado a cada nodo.

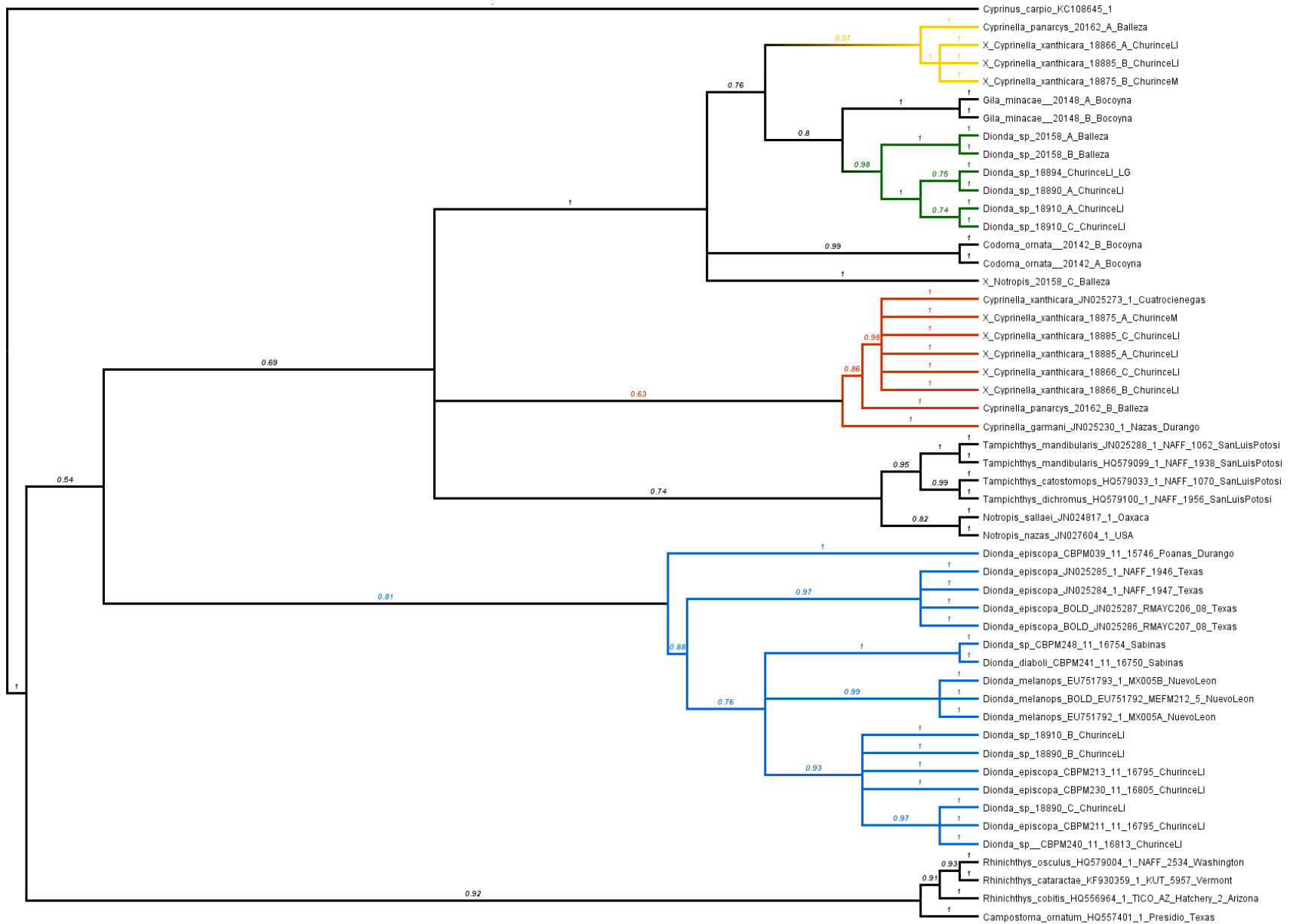


Figura 13. Árbol filogenético multimétrico por Inferencia Bayesiana. La probabilidad de ajuste del modelo a cada grupo se muestra asociado a cada rama.

El clado que incluye al grupo *Dionda* W, *Codoma*, *Gila* y *Cyprinella* E tiene el porcentaje máximo de soporte (100% MP y 1.0 IB), por lo que puede proponerse que, de acuerdo a este gen, las poblaciones de “*Dionda*” del río Balleza (alto río Conchos) en realidad corresponden a un género distinto al de las poblaciones de *Dionda* del río Bravo, del río Pecos en Texas, de otras poblaciones de Cuatro Ciénegas, del río Salado en Coahuila y del río San Juan en Nuevo León.

Cabe señalar que dentro del clado *Dionda* W siempre se recuperó con buen soporte (100% MP y 0.98 IB) la agrupación de “*Dionda*” del río Balleza (Figura 14) con “*Dionda*” de Churince, Cuatro Ciénegas. La presencia de dos grupos independientes de “*Dionda*” en Churince sugiere que existen dos unidades genéticamente reconocibles en el mismo lugar, una más cercana a *Dionda melanops* y *Dionda diaboli*; y otra más cercana a los géneros *Codoma*, *Gila* y *Cyprinella*.



Figura 14. Ejemplar de “*Dionda*” del río Conchos, Balleza, Chihuahua.

Otros estudios que han propuesto agrupaciones filogenéticas de los ciprínidos mexicanos (Schönhuth 2008) contrastan con la hipótesis obtenida en este estudio. Las comparaciones se presentan a continuación:

El clado (género) *Dionda* se había recuperado monofilético, incluyendo a las especies *Dionda melanops*, *D. argentosa*, *Dionda* sp., *D. nigrotaeniata*, *D. episcopa*, *D. diaboli* y *D. serena*, siendo grupo hermano de *Campostoma*. En este estudio los especímenes previamente reconocidos como *Dionda* resultaron parafiléticos, ya que únicamente se agrupan *D. episcopa*, *D. melanops*, *D. diaboli* y *Dionda* sp. de Durango, quedando excluidas las poblaciones de *Dionda* del río Conchos.

Dionda melanops se había propuesto grupo hermano de *Dionda argentosa*, clado que a su vez se agrupaba con el clado *Dionda* sp (de los ríos Conchos y Nazas). Mientras que en este estudio *Dionda melanops* resultó grupo hermano del clado reconocido como *Dionda episcopa* y de *Dionda* sp de Durango, quedando separado de la población del río Conchos (Balleza, Chihuahua).

Las relaciones entre los géneros *Codoma*, *Tampichthys* y *Gila* es diferente ya que se habían propuesto *Codoma* y *Tampichthys* como grupos hermanos, siendo *Tampichthys* el género más derivado. En este estudio se obtuvo el género *Codoma* como grupo hermano de *Gila*; y el género *Tampichthys* resultó grupo hermano de *Notropis*, siendo las poblaciones indeterminadas de *Cyprinella* el grupo más derivado.

Finalmente quedan sin poder compararse las relaciones entre *Campostoma* y *Rhinichthys*. En el estudio de Schönhuth (2008) no se incluyeron ejemplares de *Rhinichthys*, y *Campostoma* se determina como el grupo hermano de *Dionda*. En el actual estudio *Rhinichthys* y *Campostoma* se recuperan como grupos hermanos cuya ubicación es variable en los árboles obtenidos. En este caso es necesario hacer mayores estudios que aclaren las relaciones filogenéticas entre estos géneros e incluyan a todas las poblaciones de *Dionda* y “*Dionda*” que aquí se separan.

Conclusiones

En este trabajo se identificaron algunas poblaciones aisladas tradicionalmente reconocidas como *Dionda episcopa*, de las cuales se llevaron a cabo análisis merísticos, morfométricos y genéticos. Estos análisis permitieron clasificar y determinar linajes dentro de las poblaciones de la carpa obispa.

A pesar de que los análisis morfológicos no son concluyentes y que es necesario aumentar el número de muestras y la cantidad de genes y caracteres evaluados, la diferenciación genética mitocondrial del gen *mt-co1* sugiere que el conjunto de organismos reconocido como *Dionda episcopa* en el río Conchos no corresponde a la especie *Dionda episcopa* formalmente descrita para el río Pecos.

Este estudio confirma débilmente la hipótesis alternativa propuesta, al demostrar que la especie reconocida como *Dionda episcopa* en la cuenca del río Conchos corresponde una unidad filogenética diferente de *Dionda episcopa* del río Pecos. Las poblaciones del alto río Conchos podrían clasificarse incluso como un género distinto, emparentado más con los géneros *Codoma*, *Gila* y *Cyprinella* que con *Dionda melanops*, *Dionda diaboli* y las poblaciones de *Dionda* de Durango.

Se sugiere también el estudio a detalle de las poblaciones de *Dionda* (posiblemente complejo *Dionda melanops*) y *Cyprinella* de Cuatro Ciénegas, Coahuila, que aparentemente corresponden a dos linajes diferentes respectivamente.

Es así que la especie *Dionda episcopa* se restringe únicamente al norte del río Bravo, en el río Pecos y se excluye de la fauna íctica mexicana; mientras que los ejemplares reconocidos como *Dionda episcopa* en Coahuila deben reconocerse como parte del complejo *Dionda melanops* y las poblaciones de Balleza, Chihuahua describirse como un género nuevo.

Literatura citada

- Albritton, C. C., Jr., y J. F. Smith Jr. (1965) Geology of the Sierra Blanca area, Hudspeth County, Texas: U.S. Geological Survey Professional Paper. No. 479. 131 pp.
- April, J. R., Mayden, R. L., Hanner, R. H., & Bernatchez, L. (2011). Genetic calibration of species diversity among North America's freshwater fishes. *Proceedings of the National Academy of the United States of America* 108: 10602-10607.
- Armbruster J. W. 2012. Standardized measurements, landmarks, and meristic counts for cypriniform fishes. *Zootaxa* 3586:8-16
- Briolay, J. N., Galtier, R. M., Brito, R. M., & Bouvet, Y. (1998). Molecular phylogeny of Cyprinidae inferred from cytochrome b DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 9(1): 100-108.
- Carson, E. W., A. H. Hanna, G. P. Garrett, J. R. Gibson y J. R. Gold. 2010. Conservation genetics of cyprinid fishes (Genus *Dionda*) in Southwestern North America. II. Expansion of the known range of the manantial roundnose minnow, *Dionda argentosa*. *The Southwestern Naturalist* 55(4):576-581.
- W. J. Chen, C. Bonillo y G. Lecointre. 2003. Repeatability of clades as a criterion of reliability: a case study for molecular phylogeny of Acanthomorpha (Teleostei) with larger number of taxa. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 26(2):262-288.
- Dimoski, P., Toth, G. P., & Bagley, M. J. (2000). Microsatellite characterization in central stoneroller *Campostoma anomalum* (Pisces: Cyprinidae). *Molecular Ecology*, (9): 2155-2234.
- Eschmeyer W.N. y J. D. Fong (2014) Species by family/subfamily. Disponible en línea en <http://research.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/SpeciesByFamily.asp> Consultado por última vez el 27 de Mayo de 2014.
- Funk D. J. y K. E. Omland. 2003. Species-Level paraphyly and polyphyly: frequency, causes, and consequences, with insights from animal mitochondrial DNA. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 34(2003):397-423.
- Howes, G. J. (1991). Systematics and biogeography: an overview. En I. J. Winfield, & J. S. Nelson (Eds.), *Cyprinid fishes: Systematics, biology and exploitation* (págs. 1-33). Gran Bretaña: Chapman & Hall.
- Hubbs, C., & Brown, W. H. (1956). *Dionda diaboli* (Cyprinidae), a new minnow from Texas. *The Southwestern Naturalist* (1): 69-77.
- Ivanova N. V., J. R. Dewaard y P. D. N. Hebert. (2006) An inexpensive, automation-friendly protocol for recovering high-quality DNA. *Molecular Ecology Notes* 6:998-1002.
- Ivanova N. V., T. S. Zemlak, R. H. Hanner y P. D. N. Hebert (2007). Universal primer cocktails for fish DNA barcoding. *Molecular Ecology Notes* 7(4): 544-548.
- Jordan D. S. 1924. Concerning the american dace allied to the genus *Leuciscus*. *Copeia* 132 (1924):70-72.
- Kearse, M. R. Moir, A. Wilson, S. Stone-Havas, M. Cheung, S. Sturrock, S. Buxton, A. Cooper, S. Markowitz, C. Duran, T. Theierer, B. Ashton, P. Mentjies y A. Drummond. 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop

- software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28 (12): 1647-1649.
- Lambarri M., C. (2012). Listado y caracterización molecular de la ictiofauna del estado de Durango. Tesis de licenciatura. México: Facultad de Ciencias, UNAM.
- Lee, D. S., Gilbert C. R., Hocutt C. H., Jenkins R. E., McAllister D. E. y Stauffer J. R. Jr. (1980) Atlas of North American freshwater fishes. Publication of the North Carolina Biological Survey 1980-12:154.
- Mayden, R. L. (1989) Phylogenetic studies of North American minnows, with emphasis on the genus *Cyprinella* (Teleostei: Cypriniformes). The University of Kansas. Miscellaneous publication (80):189.
- Mayden, R. L. (1991). Cyprinids of the New World. En I. J. Winfield, & J. S. Nelson (Edits.), *Cyprinid fishes: Systematics, biology and exploitation*. Gran Bretaña: Chapman & Hall. (págs. 240-263)
- Mayden, R. L., Chen, W. J., Bart, H. L., Doosey, M. H., Simons, A. M., Tang, K. L., y otros. (2009). Reconstructing the phylogenetic relationships of the earth's most diverse clade of freshwater fishes-order Cypriniformes (Actinopterygii: Ostariophysii): A case study using multiple nuclear loci and the mitochondrial genome. *Molecular Phylogenetics and Evolution* (51): 500-514.
- Mayden, R. L., Matson, R. H. y Hillis, D. M. (1992). Speciation in the North American Genus *Dionda* (Teleostei: Cypriniformes). En R. L. Mayden (Ed.), *Systematics, Historical Ecology and North American Freshwater Fishes*. California: Stanford University Press. (pág. 970)
- Mayden, R. L., Tang, K. L., Wood, R. M., Chen, W. J., Agnew, M. K., Conway, K. W., y otros. (2008). Inferring the tree of life of the order Cypriniformes, the earth's most diverse clade of freshwater fishes: Implications of varied taxon and character sampling. *Journal of Systematics and Evolution*, 46(3): 424-438.
- Miller R.R. (1978) Composition and derivation of the Native Fish Fauna of the Chihuahuan desert region. *In: Transactions of the Symposium on the biological resources of the Chihuahuan Desert Region*. United States and Mexico. Wauer R.H. y Riskind D.H. Proceedings and transaction Series-National Part Service. 3:365-381.
- Miller R. R. (1991) Taxonomic status of two nominal species of Mexican freshwater fishes (Cyprinidae). *Copeia* 1991(1):225-227
- Miller, R. R., y Smith, M. L. (1986) Cap. 14. Origin and geography of the fishes of Central Mexico. En C. H. Hocutt, & E. O. Wiley (Edits.), *Offprints from the Zoogeography of North American Freshwater Fishes*. Nueva York, EUA: John Wiley & Sons, Inc. (págs. 487-517)
- Miller, R., Minckley, W. L., & Norris, S. M. (2005) *Freshwater fishes of Mexico*. (J. J. Schmitter-Soto, Trad.) United States of America: University of Chicago Press.
- Nelson, J. S. (2006). *Fishes of the World*. John Wiley & Sons. 601 pp.
- Ronquist F. y J. P. Huelsenbeck. (2003). MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mized models. *Bioinformatics* 19:1572-1574.

- Schönhuth, S., I. Doadrio, O. Domínguez-Domínguez, D. M. Hillis y R. L. Mayden (2008) Molecular evolution of southern North American Cyprinidae (Actinopterygii), with the description of the new genus *Tampichthys* from central Mexico.
- Schönhuth S., D. M. Hillis, D. A. Neely, L. Lozano-Vilano, A. Perdices y R. L. Mayden (2012) Phylogeny, diversity, and species delimitation of the North American round-nosed minnows (Teleostei:*Dionda*), as inferred from mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 62(2012):427-446.
- Schartl M., M. K. Meyer y B. Wilde (2006) Description of *Priapella chamulae* sp n-a new Poeciliid fish from the upper rio-Grijalva-system, Tabasco, Mexico (Teleostei: Cyprinodontiformes: Poeciliidae). *Zoologische Abhandlungen-Staatliches Museum Fur Tierkunde in Dresden*, 55:59.
- Tamayo, J. L. (1949). *Geografía General de México: Geografía Física*. México: Talleres Gráficos de la Nación S.C. de P.E. y R.S.
- Tamura K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski y S. Kumar (2013) MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis. Versión 6.0. *Molecular Biology and Evolution*, 30: 2725-2729.
- Ward R. D., T. S. Zemplak, B. H. Innes, P. R. Last y P. D. N. Hebert (2005) DNA barcoding Australia's fish species. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological sciences*, 360: 1847-1857.

Apéndices

Apéndice 1. Resumen del ANOVA (Prueba Kruskal-Wallis para muestras independientes) donde se muestran las significancias asintóticas para los caracteres merísticos. El nivel de significancia de la prueba fue de 0.05.

| | Hipótesis nula | Significancia | Decisión |
|-----------|--|---------------|------------------------|
| 1 | La distribución de LATERAL LINE SCALES (LL) es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 2 | La distribución de DORSAL ORIGIN TO LL es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 3 | La distribución de PELVIC INSERTION TO LL es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 4 | La distribución de SCALES ABOVE LL AT DORSAL ORIGIN es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 5 | La distribución de SCALES BELOW AT DORSAL ORIGIN es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 6 | La distribución de PEDUNCLE ROWS ABOVE LL es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 7 | La distribución de PEDUNCLE ROWS BELOW LL es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 8 | La distribución de PREDORSAL ROWS es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 9 | La distribución de POSTDORSAL ROWS es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 10 | La distribución de POST ANAL ROWS es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 11 | La distribución de DORSAL FIN RAYS es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 12 | La distribución de ANAL FIN RAYS es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 13 | La distribución de PELVIC FIN RAYS es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 14 | La distribución de PECTORAL FIN RAYS es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 15 | La distribución de CAUDAL FIN SUPERIOR RAYS es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |

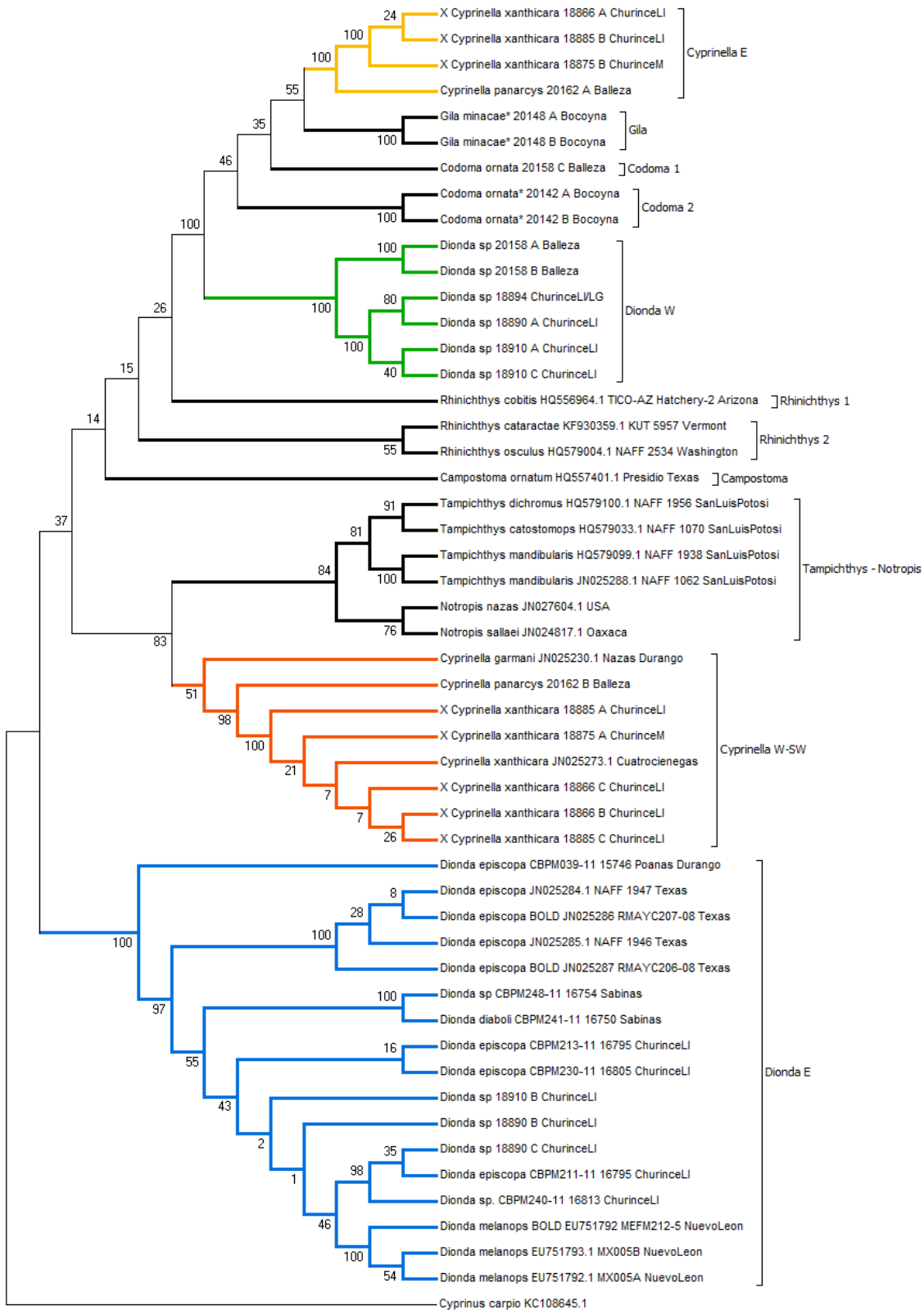
| | | | |
|-----------|--|-------|------------------------|
| 16 | La distribución de CAUDAL FIN MIDDLE RAYS es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 17 | La distribución de CAUDAL FIN INFERIOR RAYS es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 18 | La distribución de GILL RAKERS es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 19 | La distribución de TUBERCLES ON HEAD es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 20 | La distribución de TUBERCLES ON DORSAL es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 21 | La distribución de TUBERCLES ON PECTORAL es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 22 | La distribución de TUBERCLES ON PELVIC es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 23 | La distribución de TUBERCLES ON ANAL es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 24 | La distribución de TUBERCLES ON CAUDAL es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |

Apéndice 2. Resumen del ANOVA (Prueba Kruskal-Wallis para muestras independientes) donde se muestran las significancias asintóticas para los caracteres morfométricos. El nivel de significancia de la prueba fue de 0.05.

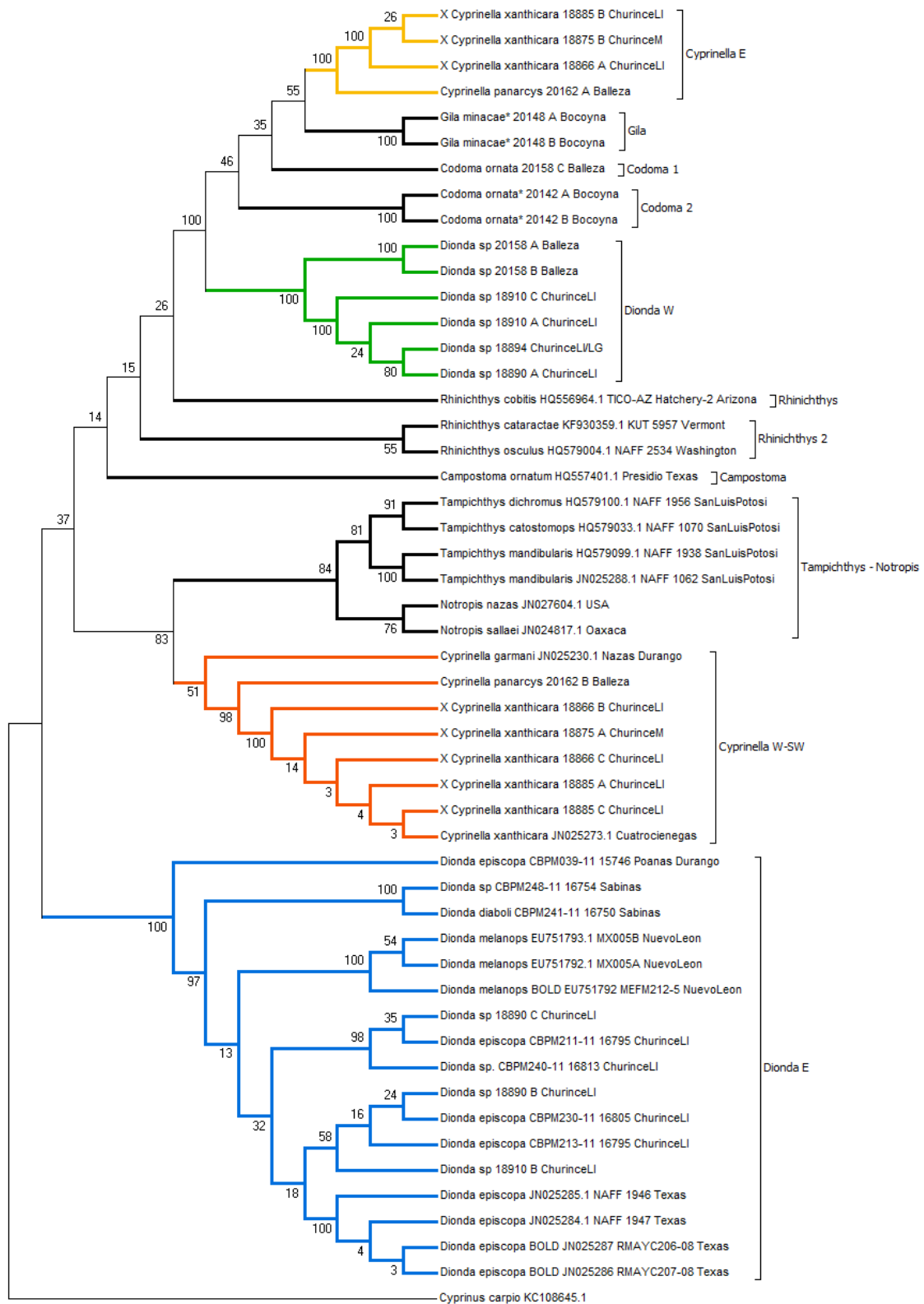
| | Hipótesis nula | Significancia | Decisión |
|-----------|---|----------------------|------------------------|
| 1 | La distribución de M1M6 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 2 | La distribución de M1M2 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 3 | La distribución de M1M11 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 4 | La distribución de M1M10 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 5 | La distribución de M1M14 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 6 | La distribución de M1M12 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 7 | La distribución de M2M3 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 8 | La distribución de M2M13 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 9 | La distribución de M2M10 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 10 | La distribución de M3M10 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 11 | La distribución de M3M4 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 12 | La distribución de M3M9 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 13 | La distribución de M4M5 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 14 | La distribución de M4M9 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 15 | La distribución de M4M8 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 16 | La distribución de M9M14 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 17 | La distribución de M9M10 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |

| | | | |
|-----------|--|-------|------------------------|
| 18 | La distribución de M8M9 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 19 | La distribución de M7M8 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 20 | La distribución de M5M8 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 21 | La distribución de M6M24 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 22 | La distribución de M5M7 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 23 | La distribución de M15M16 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 24 | La distribución de M17M18 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 25 | La distribución de M12M13 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 26 | La distribución de M2M14 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 27 | La distribución de M25M26 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 28 | La distribución de M10M19 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 29 | La distribución de M20M21 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |
| 30 | La distribución de M22M23 es la misma entre las categorías de ID | 0.487 | Retener hipótesis nula |

Apéndice 3. Árbol de máxima parsimonia 1 para el gen *mt-co1*. 1054 pasos, iR: 0.904657 iC: 0.549336. El porcentaje de soporte de cada clado se muestra asociado a cada rama.



Apéndice 4. Árbol de máxima parsimonia 2 para el gen *mt-co1*. 1054 pasos, iR: 0.904657 iC: 0.549336. El porcentaje de soporte de cada clado se muestra asociado a cada rama.



Anexos

Secuencias genéticas del gen *mt-co1* utilizadas para el análisis de Máxima Parsimonia (MP).

>Dionda sp_Balleza_20158_A

```
CAGAATAGATGTTGATATAAAAATTGGATCACCTCCTCCCGCAGGATCAAAGAATGTGGTATTTAAATTACGATCGGT
AAGAAGCATGGTAATCCCAGCAGCGAGAACAGGCAGTGACAAGAGTAGAAGAACGGCGGTTACAAGCACGGCTCA
CACGAAGAGAGGCGTTTGATACTGAGAGATAGCTGGGGGTTTCATGTTAATAATTGTAGTAATAAAATTTACTGCC
CTAAAATTGATGACACACCTGCCAGGTGTAGGGAGAAAATAGTTAAATCTACTGATGCTCCTGCATGGGCAAGATTA
CCTGCAAGGGGAGGATAAACGGTTCATCCTGTCCCGGCTCCGGCTCAACACCAGAAGAAGCTAACAAATAGTAGGA
ATGATGGTGGTAGAAGTCAGAAGCTTATGTTATTTATTCGTGGGAATGCTATATCAGGGGCACCAATTATTAGAGGC
ACAAGCCAGTCCCAAACCCGCCAATTAGAATTGGCATTACTATAAAGAAAATTATTACAAAGGCGTGGGCAGTAAC
GATAACGTTGTAGATTTGGTCATCACCTAAGAGTGACCCGGTTGGCTTAGTTCCGGCTCGGATGAGGAGGCTTAAG
GCGGTTCTACTATCCGGCCCAGGCACCAATACTAGATAAAGGGTGCCGATATCTTTGTGGTTGGTTGAGAAC
```

>Dionda sp_Balleza_20158_B

```
TAGACTTCTGGGTGGCCGAAGAATCAGAATAGATGTTGATATAAAAATTGGATCACCTCCTCCCGCAGGATCAAAGAA
TGTGGTATTTAAATTACGATCGGTAAGAAGCATGGTAATCCCAGCAGCGAGAACAGGCAGTGACAAGAGTAGAAG
AACGGCGGTTACAAGCACGGCTCACACGAAGAGAGGCGTTTGATACTGAGAGATAGCTGGGGGTTTCATGTTAATA
ATTGTAGTAATAAAATTTACTGCCCTAAAATTGATGACACACCTGCCAGGTGTAGGGAGAAAATAGTTAAATCTAC
TGATGCTCCTGCATGGGCAAGATTACCTGCAAGGGGAGGATAAACGGTTCATCCTGTCCCGGCTCCGGCTCAACAC
CAGAAGAAGCTAACAAATAGTAGGAATGATGGTGGTAGAAGTCAGAAGCTTATGTTATTTATTCGTGGGAATGCTAT
ATCAGGGGCACCAATTATTAGAGGCACAAGCCAGTCCCAAACCCGCCAATTAGAATTGGCATTACTATAAAGAAA
TTATTACAAAGGCGTGGGCAGTAACGATAACGTTGTAGATTTGGTCATCACCTAAGAGTGACCCGGTTGGCTTAGT
TCGGCTCGGATGAGGAGGCTTAAGGCGTTCCTACTATCCGGCCCAGGCACCAATACTAGATAAAGGGTGCCGA
TATCTTTGTGGTTGGTTGAGAAC
```

>X_Codoma_ornata_Balleza_20158_C

```
TAGACTTCTGGGTGGCCGAAGAATCAGAACAAGTGTGATATAGGATCGGGTCACCCCCTCTGCCGGATCAAAGA
ATGTGGTATTTAGATTACGATCAGTGAGAAGTATAGTAATCCGGCAGCTAGAACGGGTAATGATAGAAGTAGAAG
TACAGCAGTTACAAGTACGGCCACACGAAGAGGGGTGTTTGGTATTGGGAGATTGCCGGGGGTTTTATGTTAATA
ATTGTAGTAATAAAATTAAGTCTCCTAGAATTGATGATACACCTGCTAAGTGCAGGGAAAAAATTGTAAGGTCTAC
TGACGCGCCTGCGTGGGCAAGATTGCCTGCAAGTGGTGGGTAAACAGTTCATCCTGTTCCAGCCCCAGCCTCCACAC
CAGAGGAGGCTAATAGTAGTAGGAATGATGGGGGTAGAAGTCAGAAGCTTATGTTATTCATTCTGGGAATGCTAT
ATCAGGTGCTCCAATCATTAGAGGCACAAGCCAGTTCCGAATCCACCAATAAGAATTGGTATTACTATAAAGAAA
TTATTACAAAGGCGTGGGCAGTAACGATAACGTTGTAGATTTGATCATCACCTAGAAGCGATCCGGGTTGACTTAGT
TCAGCTCGAATTAGGAGGCTTAAGGCGTTCCTACTATCCGGCTCAGGCACCAATACTAAATAAAGGGTACCGAT
GTCTTTGTGGTTGGTTGAGAACTGG
```

>Dionda_Cyprinella_Cuatrociénegas_18866_A

```
TAGACTTCTGGGTGGCCGAAGAATCAGAACAAGTGTGATAGAGGATAGGGTCACCTCCTCCTGCTGGGTGGAAGA
ACGTAGTGTTTAGGTTTCGATCAGTAAGAAGTATAGTAATCCGGCAGCTAGAACAGGCAGTGAAAGTAGTAGAAG
GACAGCAGTAACAAGTACGGCTCACACGAAGAGGGGCGTTTGATATTGCGAGATTGCTGGGGGTTTCATGTTAATA
ATCGTAGTAATGAAATTTACTGCGCCTAGAATTGAGGAGACACCTGCTAGGTGTAGAGAGAAAATTGTGAGGTCTA
CCGATGCTCCTGCATGGGCGAGATTACCTGCGAGTGGGGGTATACAGTTCATCCTGTTCCGGCCCCGGCTCAACA
CCAGAAGAAGCGAGTAATAAAAGGAATGAGGGGGGTAGGAGCCAGAAGCTTATGTTGTTTATTCGTGGGAATGCT
ATATCAGGTGCCCAATCATTAGGGGTACAAGTCAATTTCCGAAGCCGCCGATAAGAATTGGTATTACTATAAAGAA
AATTATTACAAAGGCGTGGGCAGTAACGATAACGTTGTAGATTTGATCATCACCTAGAAGCGATCCGGGTTGACTTA
ATTCAGCACGAATAAGGAGGCTTAAGGCGTTCCTACTATCCGGCTCAGGCACCAATACTAAATAAAGGGTGCC
GATGTCCTTTGTGGTTGGTTGAGAACTGG
```

>Dionda_Cyprinella_Cuatrocieneegas_18866_B

CAGTTCTCAACCAACCACAAAGATATCGGCACCCTTTATTTAGTATTTGGTGCCTGGGCCGGGATAGTGGGAACTGC
TTTRAGCCTCCTTATTCGTGCTGAATTAAGTCAACCTGGCTCACTTCTGGGTGATGATCAGATTTATAATGTCATTGTT
ACCGCTCACGCCTTTGTAATAATTTTCTTTATAGTAATAACCAATTCTTATCGGCCGGCTTCGGAAATTGACTTGTACCCC
TAATGATTGGGGCACCTGATATAGCATTCCACGAATAAACAACATAAGCTTCTGGCTCCTACCCCCCTATTCTTTTT
ATTACTCGCTTCTTCTGGTGTGAAGCCGGGGCCGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCACTCGCAGGTAATCTCG
CCCATGCAGGAGCATCGGTAGACCTCACAATTTTCTCTACACCTAGCAGGTGTCTCCTCAATTCTAGGCGCAGTAA
ATTTCACTACTACGATTATTAACATGAAACCCCCAGCAATCTCGCAATATCAAACGCCCTTCTCGTGTGAGCCGTACT
TGTTACTGCTGCTTCTACTACTTTCTACTGCCTGTTCTAGCTGCCGGGATTACTATACTTCTTACTGATCGAAACCTAA
ACACTACGTTCTTCGACCCAGCAGGAGGAGGTGACCCTATCCTCTATCAACACTTGTCTGATTTTTCGGCCACCCAG
AAGTC

>Dionda_Cyprinella_Cuatrocieneegas_18866_C

CAGTTCTCAACCAACCACAAAGACATCGGCACCCTTTATTTAGTATTTGGTGCCTGGGCCGGGATAGTGGGAACTGC
TTTAAGCCTCCTTATTCGTGCTGAATTAAGTCAACCTGGCTCACTTCTGGGTGATGATCAGATTTATAATGTCATTGTT
ACCGCTCACGCCTTTGTAATAATTTTCTTTATAGTAATAACCAATTCTTATCGGCCGGCTTCGGAAATTGACTTGTACCCC
TAATGATTGGGGCACCTGATATAGCATTCCACGAATAAACAACATAAGCTTCTGGCTCCTACCCCCCTATTCTTTTT
ATTACTCGCTTCTTCTGGTGTGAAGCCGGGGCCGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCACTCGCAGGTAATCTCG
CCCATGCAGGAGCATCGGTAGACCTCACAATTTTCTCTACACCTAGCAGGTGTCTCCTCAATTCTAGGCGCAGTAA
ATTTCACTACTACGATTATTAACATGAAACCCCCAGCAATCTCGCAATATCAAACGCCCTTCTCGTGTGAGCCGTACT
TGTTACTGCTGCTTCTACTACTTTCTACTGCCTGTTCTAGCTGCCGGGATTACTATACTTCTTACTGATCGAAACCTAA
ACACTACGTTCTTCGACCCAGCAGGAGGAGGTGACCCTATCCTCTATCAACACTTGTCTGATTTCTCGGCCACCCAG
AAGTCTAGTCATAG

>Dionda sp_Cuatrocieneegas_18894

TAGACTTCTGGGTGGCCGAAAAATCAGAACAGATGTTGGTATAAAAATTGGATCACCTCCCCCGCAGGATCAAAAAA
TGTGGTATTTAAATTACGATCAGTAAGAAGCATTGTAATCCCAGCAGCGAGAACGGGTAGCGATAAGAGTAGAAGA
ACGGCGGTACAAGGACGGCTCACACGAAGAGAGGCGTTTGATACTGAGAGATAGCTGGGGGTTTCATGTTAATAA
TTGTAGTAATAAAAATTTACTGCTCCTAAAATTGACGATACACCTGCTAGGTGGAGGGAGAAAATAGTTAGATCTACT
GATGCTCCTGCATGGGCGAGATTCCTGCAAGGGGAGGATAAACGGTTCACCCTGTCCCGGCTCCAGCCTCAACACC
AGAAGAAGCTAATAATAGCAGGAATGATGGTGGTAGAAGTCAGAAGCTTATGTTATTTATTCGCGGGAATGCTATG
TCAGGGGCACCAATTATCAGGGGTACAAGCCAATTCGGAACCCACCAATAAGAATTGGCATTACTATAAAGAAAAT
TATTACAAAGGCGTGGGCAGTAACAATAACGTTATAGATTTGGTCATCACCTAAGAGTGACCCGGGTTGGCTTAGTT
CGGCTCGGATGAGGAGGCTTAAGGCGGTTCTACTATTCCGGCCAGGCACCAAACTAGATAAAGGGTGCCGAT
GTCTTTGTGGTTGGTTGAGAACTG

>Dionda sp_Cuatrocieneegas_18910_A

GACTTCTGGGTGGCCGAAGAATCAGAACAGATGTTGGTATAAAAATTGGATCACCTCCCCCTGCAGGATCAAAAAAT
GTGGTATTTAAATTACGATCAGTAAGAAGCATTGTAATCCCAGCAGCGAGAACGGGTAGCGATAAGAGTAGAAGAA
CGGCGGTACAAGGACGGCTCACACGAAGAGAGGCGTTTGATACTGAGAGATAGCTGGGGGTTTCATGTTAATAAT
TGTAAGTAATAAAAATTTACTGCTCCTAAAATTGACGATACACCTGCTAGGTGGAGGGAGAAAATAGTTAGATCTACTG
ATGCTCCTGCATGGGCGAGATTCCTGCAAGGGGAGGATAAACGGTTCACCCTGTCCCGGCTCCAGCCTCAACACCA
GAAGAAGCTAACAATAGCAGGAATGATGGTGGTAGAAGTCAGAAGCTTATGTTATTTATTCGCGGGAATGCTATGT
CAGGGGCACCAATTATCAGGGGTACAAGCCAATTCGGAACCCACCAATAAGAATTGGCATTACTATAAAGAAAAT
ATTACAAAGGCGTGGGCAGTAACAATAACGTTATAGATTTGGTCATCACCTAAGAGTGACCCGGGTTGGCTTAGTT
GGCTCGGATGAGGAGGCTTAAGGCGGTTCTACTATTCCGGCCAGGCACCAAACTAGATAAAGGGTGCCAATG
TCTTTGTGGTTGGTTGAGAACTG

>Dionda sp_Cuatrocieneegas_18910_B

GCCAGTTCTCAACCAACCACAAAGACATCGGCACCCTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGGGCCGGAATAGTAGGAACC
GCCTTAAGCCTCCTCATCCGAGCCGAACCTAAGCCAACCCGGGTCACTTCTAGGTGATGACCAAATCTATAACGTTATT
GTTACTGCCACGCCTTTGTAATAATTTTCTTTATAGTAATGCCAATCTTATTGGTGGGTTCCGGGAATTGGCTGTAC
CCCTGATAAATTGGTGCCTGACATAGCATTCCCGCAATAAATAACATAAGCTTCTGACTTCTACCACCATCATTCTC

GCTATTGTTAGCTTCTTCTGGTGTGAGGCTGGAGCCGGGACAGGGTGAACCGTTTATCCTCCCCTGCAGGGAATC
TCGCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTAACTATTTCTCCCTCCACCTAGCAGGTGTATCGTCAATTTTAGGAGCAG
TAAATTTTACTACTACAATTATTAACATGAAACCCCGCTATCTCTCAGTATCAAACGCCTCTCTCGTGTGAGCCGT
CCTGTGACCGCCGTTCTTCTACTCTTATCGCTACCCGTTCTCGCTGCTGGGATTACAATGCTTCTTACTGATCGTAATT
TAAATACCACATTTTTGATCCTGCAGGGGGAGGTGATCCAATTTATACCAACATCTGTTCTGATTCTTCGCCACCC
AGAAGTC

>Dionda sp_Cuatrocieneegas_18910_C

TAGACTTCTGGGTGGCCGAAAAATCAGAACAGATGTTGGTATAAAAATTGGATCACCTCCCCTGCAGGATCAAAAA
TGTGGTATTTAAATTACGATCAGTAAGAAGCATTGTAATCCAGCAGCGAGAACGGGTAGCGATAAGAGTAGAAGA
ACGGCGGTACAAGGACGGCTCACACGAAGAGAGGCGTTTGATACTGAGAGATAGCTGGGGGTTTCATGTTAATAA
TTGTAGTAATAAAAATTTACTGCTCCTAAAATTGACGATACACCTGCTAGGTGGAGGGAGAAAATAGTTAGATCTACT
GATGCTCCTGCATGGGCGAGATTCCCTGCAAGGGGAGGATAAACGGTTCACCCTGTCCCGGCTCCAGCCTCAACACC
AGAAGAAGCTAACAATAGCAGGAATGATGGTGGTAGAAGTCAGAAGCTTATGTTATTTATTCGCGGGAATGCTATG
TCAGGGGACCAATTATCAGGGGTACAAGCCAATTCGCAACCCACCAATAAGAATTGGCATTACTATAAAGAAAAT
TATTACAAAGGCGTGGGCGAGTAACAATAACGTTATAGATTTGGTCATCACCTAAGAGTGACCCGGGTTGGCTTAGTT
CGGCTCGGATGAGGAGGCTTAAGGCGGTTCTACTATTCCGGCCAGGCACCAATACTAGATAAAGGGTGCCGAT
GTCCTTGTGGTTGGTTGAGAAGTGGC

>Dionda sp_Cuatrocieneegas_18890_A

TTCTGGGTGGCCGAAAGAATCAGAACAGATGTTGGTATAAAAATTGGATCACCTCCCCCGCAGGATCAAAAAATGTG
GTATTTAAATTACGATCAGTAAGAAGCATTGTAATCCAGCAGCGAGAACGGGTAGCGATAAGAGTAGAAGAACGG
CGGTACAAGGACGGCTCACACGAAGAGAGGCGTTTGATACTGAGAGATAGCTGGGGGTTTCATGTTAATAATTGT
AGTAATAAAAATTTACTGCTCCTAAAATTGACGATACACCTGCTAGGTGGAGGGAGAAAATAGTTAGATCTACTGATG
CTCCTGCATGGGCGAGATTCCCTGCAAGGGGAGGATAAACGGTTCACCCTGTCCCGGCTCCAGCCTCAACACCAGAA
GAAGCTAATAATAGCAGGAATGATGGTGGTAGAAGTCAGAAGCTTATGTTATTTATTCGCGGGAATGCTATGTCAG
GGGACCAATTATCAGGGGTACAAGCCAATTCGCAACCCACCAATAAGAATTGGCATTACTATAAAGAAAATTTATT
ACAAAGGCGTGGGCGAGTAACAATAACGTTATAGATTTGGTCATCACCTAAGAGTGACCCGGGTTGGCTTAGTTCCG
CTCGGATGAGGAGGCTTAAGGCGGTTCTACTATTCCGGCCAGGCACCAATACTAGATAAAGGGTGCCGATGTC
TTTGTGGTTGGTTGAGAAGTGGC

>Dionda sp_Cuatrocieneegas_18890_B

GCCAGTTTCTCAACCAACCACAAGGACATCGGCACCCTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGGGCCGAATAGTAGGAAC
CGCCTTAAGCCTCCTCATCCGAGCCGAACCTAAGCCAACCCGGGTCACTCTTAGGTGATGACCAATCTATAACGTTAT
TGTTACTGCCACGCCTTTGTAATAATTTCTTTATAGTAATGCCAATCTTATTGGTGGGTTCCGGGAATTGGCTTGTA
CCCCTGATAATTGGTGCCCTGACATAGCATTCCCGCAATAAATAACATAAGCTTCTGACTTCTACCACCATCATTCC
TGCTATTGTTAGCTTCTTCTGGTGTGAGGCTGGAGCCGGGACAGGGTGAACCGTTTATCCTCCCCTGCAGGGAAT
CTCGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTAACTATTTCTCCCTCCACCTAGCAGGTGTATCGTCAATTTTAGGAGCA
GTAAATTTTACTACTACAATTATTAACATGAAACCCCGCTATCTCTCAGTATCAAACGCCTCTCTTCGTGTGAGCCG
TCCTTGTGACCGCCGTTCTTCTACTCTTATCGCTACCCGTTCTCGCTGCTGGGATTACAATGCTTCTTACTGATCGTAAT
TTAAATACCACATTTTTGATCCTGCAGGGGGAGGTGATCCAATTTATACCAACATCTGTTCTGATTCTTCGCCACCC
CAGAAGTC

>Dionda sp_Cuatrocieneegas_18890_C

GCCAGTTTCTCAACCAACCACAAGGACATCGGCACCCTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGGNGCCGGAATAGTAGGAAC
CGCCTTAAGCCTCCTCATCCGAGCCGAACCTAAGCCAACCCGGGTCACTCTTAGGTGATGACCAATCTATAACGTTAT
TGTTACTGCCACGCCTTTGTAATAATTTCTTTATAGTAATGCCAATCTTATTGGTGGGTTCCGGGAATTGGCTTGTA
CCCCTGATAATTGGTGCCCTGACATAGCATTCCCGCAATAAATAACATAAGCTTCTGACTTCTACCACCATCATTCC
TGCTATTATTAGCTTCTTCTGGTGTGAGGCTGGAGCCGGGACAGGGTGAACCGTTTATCCTCCCCTGCAGGGAAT
CTCGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTAACTATTTCTCCCTCCACCTAGCAGGTGTATCGTCAATTTTAGGAGCA
GTAAATTTTACTACTACAATTATTAACATGAAACCCCGCTATCTCTCAGTATCAAACGCCTCTCTTCGTGTGAGCCG
TCCTTGTGACCGCCGTTCTTCTACTCTTATCGCTACCCGTTCTCGCTGCTGGGATTACAATGCTTCTTACTGATCGTAAT

TAAATACCACATTTTTGATCCTGCGGGGGAGGTGATCCAATTTATACCAACATCTGTTCTGATTCTTCGGCCACC
CAGAAGTCTAGTC

>Dionda_Cyprinella_Cuatrocieneas_18885_A

CAGTTCTCAACCAACCACAAAGGACATCGGCACCCTTTATTTAGTATTTGGTGCCTGGGCCGGGATAGTGGGAAGTGC
TTTAAGCCTCCTTATTCGTGCTGAATTAAGTCAACCTGGCTCACTTCTGGGTGATGATCAGATTTATAATGTCATTGTT
ACCGCTCACGCCTTTGAATAATTTCTTTATAGTAATACCAATTCTTATCGGCCGGCTTCGGAAATTGACTTGTACCCC
TAATGATTGGGGCACCTGATATAGCATTCCACGAATAAACAACATAAGCTTCTGGCTCCTACCCCCCTATTCTTTTT
ATTACTCGCTTCTTCTGGTGTGAAGCCGGGGCCGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCACTCGCAGGTAATCTCG
CCCATGCAGGAGCATCGGTAGACCTACAATTTCTCTACACCTAGCAGGTGTCTCCTCAATTCTAGGCGCAGTAA
ATTTCACTACTACGATTATTAACATGAAACCCCCAGCAATCTCGCAATATCAAACGCCCTCTTCGTGTGAGCCGTACT
TGTTACTGCTGCTTCTACTACTTTCACTGCCTGTTCTAGCTGCCGGGATTACTATACTTCTTACTGATCGAAACCTAA
ACACTACGTTCTTCGACCCAGCAGGAGGAGGTGACCCTATCCTCTATCAACACTTGTCTGATTTTTCGGCCACCCAG
AAGTCTAGTCATA

>Dionda_Cyprinella_Cuatrocieneas_18885_B

GACTAGACTTCTGTGTGGCCGAAGAATCAGAACAAGTGTGATAGAGGATAGGGTCACTCCTCCTGCTGGGTGCGA
AGAACGTAGTGTTTAGGTTTCGATCAGTAAGAAGTATAGTAATCCCGGCAGCTAGAACAGGCAGTGAAAGTAGTAG
AAGGACAGCAGTAACAAGTACGGCTCACACGAAGAGGGGCGTTTGATATTGCGAGATTGCTGGGGTTTCATGTTA
ATAATCGTAGTAATGAAATTTACTGCGCCTAGAATTGAGGAGACACCTGCTAGGTGTAGAGAGAAAATTGTGAGGT
CTACCGATGCTCCTGCATGGGCGAGATTACCTGCGAGTGGGGGGTATACAGTTCATCCTGTTCCGGCCCCGGCTTCA
ACACCAGAAGAAGCGAGTAATAAAAGGAATGAGGGGGTAGGAGCCAGAAGCTTATGTTGTTTATTCTGTTGGAAT
GCTATATCAGGTGCCCAATCATTAGGGGTACAAGTCAATTTCCGAAGCCCGGATAAGAATTGGTATTACTATAAA
GAAAATTATTACAAAGGCGTGAGCGGTAACAATGACATTATAAATCTGATCATCACCCAGAAGTGAGCCAGGTTGA
CTTAATTCAGCACGAATAAGGAGGCTTAAAGCAGTCCCACTATCCCGGCCAGGCACCAATACTAAATAAAGGGT
GCCGATGTCTTTGTGGTTGGTTGAGAAGTGC

>Dionda_Cyprinella_Cuatrocieneas_18885_C

CAGTTCTCAACCAACCACAAAGGACATCGGCACCCTTTATTTAGTATTTGGTGCCTGGGCCGGGATAGTGGGAAGTGC
TTTAAGCCTCCTTATTCGTGCTGAATTAAGTCAACCTGGCTCACTTCTGGGTGATGATCAGATTTATAATGTCATTGTT
ACCGCTCACGCCTTTGAATAATTTCTTTATAGTAATACCAATTCTTATCGGCCGGCTTCGGAAATTGACTTGTACCCC
TAATGATTGGGGCACCTGATATAGCATTCCACGAATAAACAACATAAGCTTCTGGCTCCTACCCCCCTATTCTTTTT
ATTACTCGCTTCTTCTGGTGTGAAGCCGGGGCCGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCACTCGCAGGTAATCTCG
CCCATGCAGGAGCATCGGTAGACCTACAATTTCTCTACACCTAGCAGGTGTCTCCTCAATTCTAGGCGCAGTAA
ATTTCACTACTACGATTATTAACATGAAACCCCCAGCAATCTCGCAATATCAAACGCCCTCTTCGTGTGAGCCGTACT
TGTTACTGCTGCTTCTACTACTTTCACTGCCTGTTCTAGCTGCCGGGATTACTATACTTCTTACTGATCGAAACCTAA
ACACTACGTTCTTCGACCCAGCAGGAGGAGGTGACCCTATCCTCTATCAACACTTGTCTGATTCTTCGGCCACCCAG
AAGTCTAGTC

>Dionda-Cyprinella_Cuatrocieneas_18875_A

CCAGTTCTCAACCAACCACAAAGACATCGGCACCCTTTATTTAGTATTTGGTGCCTGGGCCGGGATAGTGGGAAGTGC
CTTTAAGCCTCCTTATTCGTGCTGAATTAAGTCAACCTGGCTCACTTCTGGGTGATGATCAGATTTATAATGTCATTGTT
TACCGCTCACGCCTTTGAATAATTTCTTTATAGTAATACCAATTCTTATCGGCCGGCTTCGGAAATTGACTTGTACCCC
CTAATGATTGGGGCACCTGATATAGCATTCCACGAATAAACAACATAAGCTTCTGGCTCCTACCCCCCTATTCTTTTT
TATTACTCGCTTCTTCTGGTGTGAAGCCGGGGCCGGAACAGGATGAACTGTATACCCCCACTCGCAGGTAATCTC
GCCATGCAGGAGCATCGGTAGACCTACAATTTCTCTACACCTAGCAGGTGTCTCCTCAATTCTAGGCGCAGTA
AATTTCACTACTACGATTATTAACATGAAACCCCCAGCAATCTCGCAATATCAAACGCCCTCTTCGTGTGAGCCGTAC
TTGTTACTGCTGCTTCTACTACTTTCACTGCCTGTTCTAGCTGCCGGGATTACTATACTTCTTACTGATCGAAACCTAA
AACACTACGTTCTTCGACCCAGCAGGAGGAGGTGACCCTATCCTCTATCAACACTTGTCTGATTCTTCGGCCACCCAA
GAAGTCTAGTC

>Cyprinella_xanthicara_Cuatrocieneas_18875_B

TAGACTTCTGGGTGGCCGAAGAATCAGAACAAGTGTGATAGAGGATAGGGTCACCTCCTCCTGCTGGGTGCGAAGA
ACGTAGTGTTTAGGTTTCGATCAGTAAGAAGTATAGTAATCCCGGCAGCTAGAACAGGCAGTGAAAGTAGTAGAAG
GACAGCAGTAACAAGTACGGCTCACACGAAGAGGGGCGTTTGATATTGCGAGATTGCTGGGGGTTTCATGTTAATA
ATCGTAGTAATGAAATTTACTGCGCCTAGAATTGAGGAGACACCTGCTAGGTGTAGAGAGAAAATTGTGAGGTCTA
CCGATGCTCCTGCATGGGCGAGATTACCTGCGAGTGGGGGGTATACAGTTCATCCTGTTCCGGCCCCGGCTCAACA
CCAGAAGAAGCGAGTAATAAAAGGAATGAGGGGGGTAGGAGCCAGAAGCTTATGTTGTTTATTGTTGGAATGCT
ATATCAGGTGCCCAATCATTAGGGGTACAAGTCAATTTCCGAAGCCGCCGATAAGAATTGGTATTACTATAAAGAA
AATTATTACAAAGGCGTGAGCGGTAACAATGACATTATAAATCTGATCATCACCCAGAAGTGAGCCAGGTTGACTTA
ATTGAGCAGCAATAAGGAGGCTTAAAGCAGTTCCTACTATCCCGGCCAGGCACCAATACTAAATAAAGGGTGCC
GATGTCTTTGTGGTTGGTTGAGAAGTGG

>Cyprinella_panarcys_Balleza_20162_A

GACTAGACTTCTGGGTGGCCGAAAAATCAGAATAAGTGTGATATAGAATAGGGTCACCTCCTCCCGCGTGNNGTC
GAAAAMCGTAGTGTTAGGTTTCGATCAGTAAGAAGTATAGTGATTCCGGCAGCTAGAACAGGCAGCGAGAGTAG
TAGAAGAACAGCAGTAACAAGGACAGCTCATACGAAGAGGGGGTGTGATATTGAGAGATTGCTGGGGGTTTCATG
TTAATGATTGTAGTAATAAAATTTACTGCGCCTAGAATTGAGGAAACCTGCTAGGTGTAGAGAGAAAATTGTGAG
GTCTACTGATGCTCCTGCGTGGGCAAGATTACCTGCGAGTGGGGGATATACAGTTCATCCTGTCCCGCCCCAGCTT
CAACACCAGAAGAAGCTAGTAGTAAGAGGAATGAGGGGGGTAGGAGCCAGAAGCTTATGTTGTTTATTGTTGGA
ATGCTATATCAGGTGCGCCGATTATTAGCGGCACAAGTCAATTTCCGAAGCCTCAATAAGAATTGGTATTACTATAA
AAAAAATTATTACAAAGGCGTGAGCGGTAACAATGACATTATAAATTTGGTTCATCACCTAGAAGTGAGCCAGGTTGA
CTTAATTCAGCGCGGATAAGGAGGCTTAAAGCGGTTCTACTATTCCGGCTCAGGCACCAATACTAAATAAAGGGT
ACCAATGTCTTTGTGGTTGGTTGAGAAGT

>Cyprinella_panarcys_Balleza_20162_B

GTACCCTTTATTTAGTATTTGGTGCCTGAGCCGGAATAGTAGGAACCGCTTTAAGCCTCCTTATCCCGCTGAATTA
GTCAACCTGGCTCACTTCTAGGTGATGACCAAATTTATAATGTCATTGTTACCGCTCACGCCTTTGAATAATTTTTTT
ATAGTAATACCAATTTCTATTGGAGGCTTCGAAATTTGACTTGTCCGCTAATAATCGCGCACCTGATATAGCATTC
CCACGAATAACAACATAAGCTTCTGGCTCTACCCCTCATTCTCTACTACTAGCTTCTTCTGGTGTGAAGCTG
GGCCCGGACAGGATGAAGTGTATATCCCCACTCGCAGGTAATCTTGCCACGCAGGAGCATCAGTAGACCTCAC
AATTTCTCTCTACACCTAGCAGGTGTTTCTCAATTTAGGCGCAGTAAATTTTATTACTACAATCATTAAACATGAAA
CCCCAGCAATCTCTCAATATCAAACACCCCTCTTCGATGAGCTGTCTTGTACTGCTGTTCTTCTACTACTCTCGCT
GCCTGTTCTAGCTGCCGGAATCACTATACTTCTTACTGATCGAAACCTGAACACTACGTTTTTCGACCCAGCGGGAGG
AGGTGACCCTATTCTATATCAACACTTATTC

>Codoma_ornata_Bocoyna_20142_A

GACTAGACTTCTGGGTGGCCGAAGAATCAGAATAAGTGTGCTGGTACAGAATGGGGTCACCCCTCCTGCTGGGTCAA
AGAATGTGGTATTTAGGTTACGGTCAGTAAGAAGTATGGTAATCCCGGCAGCTAGTACTGGTAATGATAGGAGTAG
GAGTACAGCAGTTACCAGTACGGCCATACGAAGAGAGGAGTTTGATACTGGGAGATCGCTGGGGGTTTCATGTTA
ATAATTGTGGTAATAAAATTTACTGCCCTAGAATTGACGATACACCTGCTAAGTGAAGGGAGAAGATAGTGAGGTC
TACTGATGCCCTGCGTGAGCAAGGTTGCCGAAAGTGGGGGGTAAACAGTTCATCCTGTTCCGGCTCCAGCCTCAA
CACCGGAGGAGGCTAGGAGAAGAAGAAATGATGGGGGTAAAAGCCAGAAGCTTATGTTATTTATCCGTGGAAATG
CTATGTCAGGTGCTCCGATCATTAGAGGTACAAGTCAAGTGGCCGAATCCGCCAATAAGAATTGGCATTACTATAAAG
AAAATTATTACAAAGGCATGAGCAGTAACAATAACATTTGATATTTGGTTCGTCACCTAGAAGTGAGCCAGGTTGACT
TAGTTCAGCTCGAATAAGGAGGCTTAAAGCGGTTCCCTACTATCCAGCTCAGGCACCGAATACTAAATAAAGGGTAC
CAATGTCTTTGTGGTTGGTTGAGAAGTGGC

>Codoma_ornata_Bocoyna_20142_B

TAGACTTCTGGGTGGCCGAAGAATCAGAATAAGTGTGCTGGTACAGAATGGGGTCACCCCTCCTGCTGGGTCAAAGA
ATGTGGTATTTAGGTTACGGTCAGTAAGAAGTATGGTAATCCCGGCAGCTAGTACTGGTAATGATAGGAGTAGGAG
TACAGCAGTTACCAGTACGGCCATACGAAGAGAGGAGTTTGATACTGGGAGATCGCTGGGGGTTTCATGTTAATA
ATTGTGGTAATAAAATTTACTGCCCTAGAATTGACGATACACCTGCTAAGTGAAGGGAGAAGATAGTGAGGTCTAC
TGATGCCCTGCGTGAGCAAGGTTGCCGAAAGTGGGGGGTAAACAGTTCATCCTGTTCCGGCTCCAGCCTCAACAC
CGGAGGAGGCTAGGAGAAGAAGAAATGATGGGGGTAAAAGCCAGAAGCTTATGTTATTTATCCGTGGAAATGCTA

TGTCAGGTGCTCCGATCATTAGAGGTACAAGTCAGTTGCCGAATCCGCCAATAAGAATTGGCATTACTATAAAGAAA
ATTATTACAAAGGCATGAGCAGTAACAATAACATTGTAGATTTGGTCGTACCTAGAAGTGAGCCAGGTTGACTTAG
TTCAGCTCGAATAAGGAGGNCTTAAAGCGTCCCACTATCCCAGCTCAGGCACCGAATACTAAATAAAGGGTACC
GATGTCTTTGTGGTTGGTTGAGAACTGG

>Gila minacea_Bocoyna_20148_A

TAGACTTCTGGGTGGCCGAAGAATCAGAACAGGTGTTGGTATAAAATGGGGTCTCCTCCCCCTGCCGGGTCAAAGA
ATGTGGTGTTAAGATTTTCGGTCGGTAAGAAGCATTGTAATTCGGCAGCCAGCACTGGTAGTGATAATAGAAGAAG
AACGGCTGTTACAAGTACGGCCCATACGAAGAGGGGTGTTGGTATTGGGAAATGGCTGGGGGTTTCATATTAATA
ATTGTGGTAATAAAGTTTACTGCCCTAAAATTGATGAGACACCTGCCAGATGTAGTGAGAAGATTGTTAGGTCTAC
CGACGCCCCCGCTGGGCTAGGTTGCCTGCGAGTGGGGGTATACTGTTACCCTGTCCCAGCCCCGGCCTCAACG
CCAGAAGAGGCTAATAGTAAAAGGAACGATGGAGGAAGAAGCCAGAACTTATGTTATTTATTCGTGGGAATGCTA
TATCAGGTGCGCAATTATTAAGGGACGAGTCAATTTCCGAATCCCCGATAAGAATTGGCATTACTATAAAGAAA
ATTATAACGAAGGCATGGGCGGTAACGATAACATTATAAATTTGGTCATCACCTAGGAGTGACCCGGGTTGGCTTAA
TTCGGCCGAATTAGGAGGCTTAAAGCGGTTCCACCATTCTGCTCAGGCACCAAATACAAGATAGAGGGTACCAA
TGTCCTTGTGGTTGGTTGAGAACTGGC

>Gila minacea_Bocoyna_20148_B

GACTAGACTTCTGGGTGGCCGAAGAATCCAGAACAGGTGTTGGTATAAAATGGGGTCTCCTCCCCCTGCCGGGTCA
AAGAATGTGGTGTTAAGATTTTCGGTCGGTAAGAAGCATTGTAATTCGGCAGCCAGCACTGGTAGTGATAATAGAA
GAAGAACGGCTGTTACAAGTACGGCCCATACGAAGAGGGGTGTTGGTATTGGGAAATGGCTGGGGGTTTCATATT
AATAATTGTGGTAATAAAGTTTACTGCCCTAAAATTGATGAGACACCTGCCAGATGTAGTGAGAAGATTGTTAGGT
CTACCGACGCCCCCGCTGGGCTAGGTTGCCTGCGAGTGGGGGTATACTGTTACCCTGTCCCAGCCCCGGCCTCA
ACGCCAGAAGAGGCTAATAGTAAAAGGAACGATGGAGGAAGAAGCCAGAACTTATGTTATTTATTCGTGGGAAT
GCTATATCAGGTGCGCAATTATTAAGGGACGAGTCAATTTCCGAATCCCCGATAAGAATTGGCATTACTATAAA
GAAAATTATAACGAAGGCATGGGCGGTAACGATAACGTTATAAATTTGGTCATCACCTAGGAGTGACCCGGGTTGG
CTTAATTCGGCCGAATTAGGAGGCTTAAAGCGGTTCCACCATTCTGCTCAGGCACCAAATACAAGATAGAGGGT
ACCGATGTCCTTGTGGTTGGTTGAGAACTGGC

>Dionda_diaboli_CBPM248-11_IB-COAH008_COI

CCTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCCGGAATAGTAGGAACCGCCTTAAGCCTCCTCATCCGAGCCGAACCTAAGCC
AACCCGGGTCACTCTTAGGTGATGACCAAATCTATAACGTTATTGTTACTGCCACGCCTTTGTAATAATTTCTTTAT
AGTAATGCCAATTCTTATTGGTGGATTCCGGAAATTGGCTGTACCCTGATAATTGGTGCCCTGACATAGCATTCCC
GCGAATAAATAACATAAGCTTCTGACTTCTACCACCATATTCTGCTATTGTTAGCTTCTTCTGGTGTGAGGCTGGA
GCCGGGACAGGGTGAACCGTTTATCCTCCCCTTGCAGGAAATCTCGCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACTAT
TTTTTCCCTCCACCTAGCAGGTGTCTCGTCAATTTTAGGAGCAGTAAATTTTACTACAATTATAACATGAAACCC
CCAGCTATCTCTCAATATCAAACGCCTTTTTCGTATGAGCCGTCCTTGTAACCGCGTTCTTCTACTCTTATCGCTGCC
CGTTCTCGCTGCTGGAATTACAATACTTCTACTGATCGTAATTTAAATACCACCTTCTTGTATCCTGCGGGGGGAGG
TGATCCAATTTTATACCAACA

>Dionda_diaboli_CBPM241-11_IB-COAH001_COI

CCTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGAGCCGGAATAGTAGGAACCGCCTTAAGCCTCCTCATCCGAGCCGAACCTAAGCC
AACCCGGGTCACTCTTAGGTGATGACCAAATCTATAACGTTATTGTTACTGCCACGCCTTTGTAATAATTTCTTTAT
AGTAATGCCAATTCTTATTGGTGGATTCCGGAAATTGGCTGTACCCTGATAATTGGTGCCCTGACATAGCATTCCC
GCGAATAAATAACATAAGCTTCTGCTTCTACCACCATATTCTGCTATTGTTAGCTTCTTCTGGTGTGAGGCTGG
AGCCGGGACAGGGTGAACCGTTTATCCTCCCCTTGCAGGAAATCTCGCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTGACTA
TTTTTCCCTCCACCTAGCAGGTGTCTCGTCAATTTTAGGAGCAGTAAATTTTACTACAATTATAACATGAAACC
CCCAGCTATCTCTCAATATCAAACGCCTTTTTCGTATGAGCCGTCCTTGTAACCGCGTTCTTCTACTCTTATCGCTGC
CCGTTCTCGCTGCTGGAATTACAATACTTCTACTGATCGTAATTTAAATACCACCTTCTTGTATCCTGCGGGGGGAG
GTGATCCAATTTTATACCAACATCTG

>Dionda_episcopa_CBPM213-11_B-CCIEN011_COI

CCTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGGGCCGGAATAGTAGGAACCGCCTTAAGCCTCCTCATCCGAGCCGAACCTAAGCC
AACCCGGGTCACTCTTAGGTGATGACCAAATCTATAACGTTATTGTTACTGCCACGCCTTTGTAATAATTTCTTTAT
AGTAATGCCAATTCTTATTGGTGGGTTTCGGGAATTGGCTTGATCCCTGATAATTGGTGCCCTGACATAGCATTCCC
GCGAATAAATAACATAAGCTTCTGACTTCTACCACCATCATTCTGCTATTGTTAGCTTCTTCTGGTGTGAGGCTGGA
GCCGGGACAGGGTGAACCGTTTATCCTCCCCTTGAGGGAATCTCGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTAACTAT
TTTCTCCCTCCACCTAGCAGGTGTATCGTCAATTTTAGGAGCAGTAAATTTTATTACTACAATTATTAACATGAAACCC
CCAGCTATCTCAGTATCAAACGCCTCTCTTCGTGTGAGCCGTCTTGACCGCCGTTCTTACTCTTATCGCTAC
CCGTTCTCGCTGCTGGGATTACAATGCTTCTTACTGATCGTAATTTAAATACCACATTTTTTGATCCTGCAGGGGGAG
GTGATCCAATTTTATACCAACATCTG

>Dionda_episcopa_CBPM211-11_IB-CCIE009_COI

CCTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGGGCCGGAATAGTAGGAACCGCCTTAAGCCTCCTCATCCGAGCCGAACCTAAGCC
AACCCGGGTCACTCTTAGGTGATGACCAAATCTATAACGTTATTGTTACTGCCACGCCTTTGTAATAATTTCTTTAT
AGTAATGCCAATTCTTATTGGTGGGTTTCGGGAATTGGCTTGATCCCTGATAATTGGTGCCCTGACATAGCATTCCC
GCGAATAAATAACATAAGCTTCTGACTTCTACCACCATCATTCTGCTATTATTAGCTTCTTCTGGTGTGAGGCTGGA
GCCGGGACAGGGTGAACCGTTTATCCTCCCCTTGAGGGAATCTCGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTAACTAT
TTTCTCCCTCCACCTAGCAGGTGTATCGTCAATTTTAGGAGCAGTAAATTTTATTACTACAATTATTAACATGAAACCC
CCAGCTATCTCAGTATCAAACGCCTCTCTTCGTGTGAGCCGTCTTGACCGCCGTTCTTACTCTTATCGCTAC
CCGTTCTCGCTGCTGGGATTACAATGCTTCTTACTGATCGTAATTTAAATACCACATTTTTTGATCCTGCAGGGGGAG
GTGATCCAATTTTATACCAACATCTG

>Dionda_episcopa_CBPM230-11_IB-CCIE028_COI

CCTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGGGCCGGAATAGTAGGAACCGCCTTAAGCCTCCTCATCCGAGCCGAACCTAAGCC
AACCCGGGTCACTCTTAGGTGATGACCAAATCTATAACGTTATTGTTACTGCCACGCCTTTGTAATAATTTCTTTAT
AGTAATGCCAATTCTTATTGGTGGGTTTCGGGAATTGGCTTGATCCCTGATAATTGGTGCCCTGACATAGCATTCCC
GCGAATAAATAACATAAGCTTCTGACTTCTACCACCATCATTCTGCTATTGTTAGCTTCTTCTGGTGTGAGGCTGGA
GCCGGGACAGGGTGAACCGTTTATCCTCCCCTTGAGGGAATCTCGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTAACTAT
TTTCTCCCTCCACCTAGCAGGTGTATCGTCAATTTTAGGAGCAGTAAATTTTATTACTACAATTATTAACATGAAACCC
CCAGCTATCTCAGTATCAAACGCCTCTCTTCGTGTGAGCCGTCTTGACCGCCGTTCTTACTCTTATCGCTAC
CCGTTCTCGCTGCTGGGATTACAATGCTTCTTACTGATCGTAATTTAAATACCACATTTTTTGATCCTGCAGGGGGAG
GTGATCCAATTTTATACCAACATCTG

>Dionda_episcopa_CBPM039-11_IB-DUR031_COI

CCTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGGGCCGGAATAGTAGGAACCGCCTTAAGCCTCCTCATCCGAGCCGAACCTGAGCC
AGCCCGGATCACTCTTAGGTGATGACCAAATCTATAACGTTATTGTTACTGCCACGCCTTTGTAATAATCTTCTTTAT
AGTAATGCCAATTCTTATTGGCGGGTTTCGGGAATGGCTTGATCCCTGATAATCGGTGCCCTGATATAGCATTCCC
ACGAATAAATAACATAAGCTTCTGGCTTCTACCACCATCGTTCCTGCTATTACTAGCTTCTTCTGGCGTTGAGGCCGG
AGCCGGGACAGGATGAAGTGTATCCCCCTTTCGGGGGAATCTCGCCCATGCAGGAGCATCCGTAGATCTGACTA
TTTTCTCCCTCCACCTGGCAGGTGTGTCATCAATTTTAGGAGCAGTAAATTTTACTACTACAATTATTAACATGAAACC
CCCAGCCATCTCTCAATATCAGACACCTCTCTTCGTGTGAGCCGTGCTTGACCGCCGTTCTTACTCTTATCACTG
CCCGTTCTCGCTGCGGGATTACAATGCTTCTTACTGATCGTAATTTAAATACTACATTTCTTGATCCTGCAGGGGGAG
GGTATCCTATTTTATACCAACATCTA

>Dionda_sp._CBPM240-11_IB-CCIE038_COI

CCTTTATCTAGTATTTGGTGCCTGGGCCGGAATAGTAGGAACCGCCTTAAGCCTCCTCATCCGAGCCGAACCTAAGCC
AACCCGGGTCACTCTTAGGTGATGACCAAATCTATAACGTTATTGTTACTGCCACGCCTTTGTAATAATTTCTTTAT
AGTAATGCCAATTCTTATTGGTGGGTTTCGGGAATTGGCTTGATCCCTGATAATTGGTGCCCTGACATAGCATTCCC
GCGAATAAATAACATAAGCTTCTGACTTCTACCACCATCATTCTGCTATTATTAGCTTCTTCTGGTGTGAGGCTGGA
GCCGGGACAGGGTGAACCGTTTATCCTCCCCTTGAGGGAATCTCGCCCATGCAGGAGCATCAGTAGATCTAACTAT
TTTCTCCCTCCACCTAGCAGGTGTATCGTCAATTTTAGGAGCAGTAAATTTTATTACTACAATTATTAACATGAAACCC
CCAGCTATCTCAGTATCAAACGCCTCTCTTCGTGTGAGCCGTGCTTGACCGCCGTTCTTACTCTTATCGCTAC
CCGTTCTCGCTGCTGGGATTACAATGCTTCTTACTGATCGTAATTTAAATACCACATTTTTTGATCCTGCAGGGGGAG
GTGATCCAATTTTATACC