



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

FACULTAD DE CIENCIAS

**VARIACIÓN MORFOLÓGICA EN LAS POBLACIONES DE
ASTYANAX SPP. (CHARACIFORMES: CHARACIDAE)
ASOCIADOS A CENOTES DE LA PENÍNSULA DE YUCATÁN
(MÉXICO) Y SUS IMPLICACIONES TAXONÓMICAS**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

BIÓLOGO

P R E S E N T A:

ISAAC ELÍAS VÁZQUEZ RIVERA



**DIRECTOR DE TESIS:
Dr. Jairo Andrés Arroyave Gutiérrez
Ciudad Universitaria, Cd. Mx.
2021**



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.

1. Datos del alumno

Vázquez

Rivera

Isaac Elías

5543279582

Universidad Nacional Autónoma de

México

Facultad de Ciencias

Biología

313146460

2. Datos del tutor

Dr.

Jairo Andrés

Arroyave

Gutiérrez

3. Datos del sinodal 1

Dr.

Fernando

Alvarez

Noguera

4. Datos del sinodal 2

M. en C.

Adan Fernando

Mar

Silva

5. Datos del sinodal 3

Dr.

Christopher

Martinez

6. Datos del sinodal 4

M en C.

Ignacio Andrés

Morales

Salas

7. Datos del trabajo escrito

Variación morfológica en las poblaciones de *Astyanax* spp. (Characiformes: Characidae) asociados a cenotes de la Península de Yucatán (México) y sus implicaciones taxonómicas

41 p

2021

Agradecimientos

A mis padres, Anel y Eduardo, por todo su apoyo. Por siempre depositar en mí su incondicional confianza y por darme total libertad de tomar mis propias decisiones, mismas que me llevaron elegir el camino que ahora ocurro y que me apasiona.

A mi hermana, Ximena, por su incansable motivación para no detenerme que estuvo ahí durante toda la carrera y en este trabajo. Siempre estaré ahí para apoyarte en el camino que decidas tomar, como lo has hecho en el mío.

A Alejandra, por el soporte emocional y el cariño. Por esa inspiración a trabajar con dedicación y energía, que me contagió y me ayudó a mejorar académica- pero, sobre todo, personalmente.

A todas mis amistades (en especial a Gavo, Chela, Lu, Juan y Olache) por convertir este camino en uno de experiencias, hermandad e infalible confianza, que me llevaron a ser lo que soy.

A Chris por esa amistad que surgió de donde nunca hubiera esperado. Por el apoyo moral, las revisiones y los consejos que tanto me ayudaron y, que a pesar de que no le correspondiera, nunca dudó en brindarme.

A mis compañeros del taller, quienes poco a poco se han vuelto amistades inolvidables, y a quienes también debo muchas correcciones y consejos que están aquí reflejados.

A mi tutor y sinodales por su tiempo, correcciones, lecciones y la oportunidad de desarrollar este trabajo.

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) y su Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT), así como al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por los aportes económicos a los proyectos del Dr. Jairo Arroyave PAPIIT IA200517 y CONACyT Ciencia Básica A1-S-28293, respectivamente, que hicieron posible este trabajo.

ÍNDICE

Resumen	1
Introducción	2
Marco teórico	4
Grupo de estudio	4
Zona de estudio	5
Antecedentes	7
Antecedentes en contexto de zona de estudio	9
Objetivos	13
Objetivo general	13
Objetivos particulares	13
Justificación	13
Preguntas de investigación	14
Hipótesis	14
Materiales y métodos	15
Obtención de muestras	15
Obtención de datos	17
Análisis de datos	20
Análisis exploratorios	20
Análisis discriminativos	22
Resultados	23
Morfometría lineal	23
Morfometría geométrica	27
Discusión	30
Conclusiones	34
Referencias	36

RESUMEN

Los peces del género *Astyanax* Baird y Girard, 1854 forman un importante componente de la ictiofauna dulceacuícola de la Península de Yucatán (PY), encontrándose principalmente asociados a cenotes, aunque también presentes en ambientes menos comunes de la región, como lagunas y ciénagas. Al ser uno de los carácidos (Characiformes: Characidae) con mayor número de especies y carecer de una revisión taxonómica exhaustiva, *Astyanax* representa un gran reto clasificatorio para la ictiología Neotropical. La identidad de las especies de *Astyanax* en la PY refleja las complejidades de la taxonomía del género. De acuerdo con la más reciente revisión taxonómica del grupo para la región, existen dos especies asociadas a cenotes: *A. altior* y *A. bacalarensis*. No obstante, las diagnósis ofrecidas para diferenciar estas dos especies, al estar basadas mayormente en caracteres morfométricos y merísticos que presentan un considerable grado de solapamiento, no son lo suficientemente satisfactorias. Con el fin de poner a prueba la validez y diferenciación de *A. altior* y *A. bacalarensis*, este trabajo evaluó el grado de diferenciación morfométrica (lineal y geométrica) en estas especies con base en un muestreo taxonómico exhaustivo que consiste en 393 individuos provenientes de 25 localidades, incluyendo 15 cenotes. Los resultados de los análisis multivariados indican que a pesar del alto grado de solapamiento en forma corporal y otros caracteres morfológicos, existen diferencias estadísticamente significativas entre especies putativas. Ahora bien, es posible que dicha diferenciación estadística no sea suficiente para apoyar las designaciones taxonómicas actuales. Se considera entonces que una prueba más determinante requiere del análisis de datos genéticos en un contexto filogeográfico y filogenético. Al comparar poblaciones asociadas a diferentes hábitats (cenote vs. laguna vs. ciénaga) se encontró que la diferenciación es mayor que entre especies, sugiriendo que es posible que la variación morfológica en las poblaciones de *Astyanax* de la PY no corresponda con una diferenciación taxonómica (especies), sino más bien con plasticidad fenotípica. Futuras investigaciones serán necesarias para poner a prueba de manera más robusta dichas hipótesis taxonómicas y ecológicas.

INTRODUCCIÓN

La familia Characidae (Characiformes: Teleostei) es una de las más diversas familias de peces, ocupa el cuarto lugar en número de especies (sólo después de Gobiidae, Cyprinidae y Cichlidae), y el primero entre las familias de peces dulceacuícolas Neotropicales (Fricke et al., 2020; Mirande, 2010). A su vez, con más de 170 especies válidas, el género *Astyanax* es uno de los más diversos de todos los Characiformes (Ornelas et al., 2008a; Terán et al., 2020). Cuenta con la distribución más amplia de Characidae en América, abarcando una pequeña zona del Neártico, como el Río Colorado en Texas y Nuevo México, EE.UU., hasta el sur del Neotrópico, como Río Negro, en Argentina (Nelson et al., 2016; Schmitter-Soto, 2017). Los peces de este género forman un importante componente de la ictiofauna dulceacuícola de la Península de Yucatán (PY), encontrándose principalmente asociados a cenotes, aunque también presentes en ambientes menos comunes de la región, como lagunas y ciénagas.

Debido a su elevado número de especies, monofilia cuestionable y alta plasticidad fenotípica, el género *Astyanax* representa un gran reto taxonómico (Contreras-Balderas y Lozano-Vilano, 1988) y la identidad de las especies presentes en la PY son un reflejo del mismo. En la revisión más reciente de las especies de *Astyanax* de Centro y Norte América, Schmitter-Soto (2017) concluye que la presencia del género en la sección mexicana de la PY está limitada a tres especies: *A. angustifrons*, *A. altior* y la recién descrita *A. bacalarensis*; las dos últimas comúnmente asociadas a cenotes de la mitad norte de la PY. Sin embargo, cuando examinada en detalle, esta propuesta resulta problemática. Las diagnósicas ofrecidas por Schmitter-Soto (2017) para diferenciar a estas dos especies no son lo suficientemente satisfactorias ya que están basadas mayormente en caracteres morfométricos y merísticos que presentan un considerable grado de solapamiento en sus estados de carácter. Más allá de sus distribuciones geográficas aparentemente disjuntas, no parecen existir caracteres contrastantes que permitan una diferenciación inequívoca entre *A. altior* y *A. bacalarensis*.

Con el fin de poner a prueba la validez de las especies *A. altior* y *A. bacalarensis*, este trabajo evaluó el grado de diferenciación morfométrica (lineal y geométrica) entre estas

especies con base en un muestreo taxonómico exhaustivo, incluyendo tres tipos de hábitats: cenotes, lagunas y ojos de agua asociados a ciénaga.

MARCO TEÓRICO

Grupo de estudio

La familia Characidae (Characiformes: Teleostei) es una de las más diversas familias de peces, ocupa el cuarto lugar en número de especies (sólo después de Gobiidae, Cyprinidae y Cichlidae), y el primero entre las familias de peces dulceacuícolas Neotropicales (Fricke *et al.*, 2020; Mirande, 2010). Los miembros de Characidae son de peces dulceacuícolas con poca o nula tolerancia a cambios de salinidad. La familia incluye alrededor de 1200 especies, repartidas en 10 subfamilias, y se distribuye desde las porciones sureñas de Estados Unidos, hasta la zona norte de la Patagonia Argentina. Es también junto con Bryconidae, de las únicas dos familias del orden Characiformes que se encuentran en territorio mexicano, donde está representada por cuatro géneros y 17 especies, la mayoría dentro del género *Astyanax* (Fricke *et al.*, 2020; Miller, 2009; Mirande, 2010; Sepúlveda Jiménez, 2012).

Con más de 170 especies válidas, el género *Astyanax* (Baird y Girard, 1854) es a su vez uno de los más diversos de todos los Characiformes (Ornelas *et al.*, 2008a; Terán *et al.*, 2020). Cuenta con la distribución más amplia de Characidae en América, abarcando una pequeña zona del Neártico, como el Río Colorado en Texas y Nuevo México, EE.UU., hasta el sur del Neotrópico, como Río Negro, en Argentina (Nelson *et al.*, 2016; Schmitter-Soto, 2017). Habitan cuerpos de agua tanto lóticos como lénticos, pantanos y estanques; suelen tener hábitos gregarios y su dieta puede variar desde pequeños insectos, hasta algas y algunas plantas (Arcifa *et al.*, 1991).

Según Eigenmann (1917,1921) *Astyanax* se diagnostica por la presencia de dos series de dientes premaxilares y mandíbulas usualmente puntiagudas y denticulada, 0-9 dientes en la maxila, línea lateral completa, ausencia de espina predorsal y aleta caudal desnuda. No obstante, la mayoría de estos caracteres se distribuyen a lo largo de todos los carácidos, por lo que este género incluye muchas especies difícilmente distinguibles unas de otras (Eigenmann, 1917, 1921; Terán *et al.*, 2020).

A su vez, *Astyanax* ha sido foco de estudio gracias a su relativamente rápida adaptabilidad a ambientes de cueva—p. ej. *Astyanax mexicanus* (De Filippi, 1853) (Fig. 1)—donde ha desarrollado mecanismos tales como pérdida de pigmentación corporal y reducción de sus ojos, lo que evidencia que este grupo se caracteriza por tener una alta plasticidad fenotípica. Sin embargo, poco se ha estudiado respecto a su plasticidad asociada a cambios de hábitat distintos a los de cueva (Ornelas *et al.*, 2008).



Fig. 1. *Astyanax mexicanus*, forma de superficie (arriba) y forma de cueva (abajo).
<https://www.naturalista.mx/taxa/94765-Astyanax-mexicanus>. Consultada 17/julio/2020 (imagen de dominio público).

Zona de estudio

La península de Yucatán (PY) es una plataforma calcárea (kárstica) con una altitud promedio de 10 m s.n.m. y una pequeña sierra al centro de esta que alcanza una altitud máxima de 150 m (Schmitter-Soto *et al.*, 2002). Es una región kárstica, húmeda subtropical, tectónicamente estable, y con una extensión de 181,000 km², rodeada por el Golfo de México y el Mar Caribe. En México, la PY abarca los estados de Campeche, Yucatán y Quintana Roo, y fuera de México se extiende al noreste de Belice y el norte de Guatemala (la región del Petén) (López-Ramos, 1973; Schmitter-Soto *et al.*, 2002; Velázquez Aguirre, 1986). En esta zona pueden distinguirse los tipos de vegetación de selva mediana y baja

caducifolia y de selva alta y mediana subperennifolia (Aguilar-Sánchez y Rebollar Domínguez, 1999).

El bloque de Yucatán tiene una extensión aproximada de 300.000 km², con una gran porción aún sumergida en el mar (López-Ramos, 1973). Alcanzó la posición que ocupa actualmente a finales del Calloviense (~164 Ma), gracias al movimiento generado por un sistema de fallas transformantes—la de Tamaulipas-Oaxaca por el lado occidental, y una falla sin nombre por el oriente (Padilla y Sánchez, 2007)—que empujaron el bloque hacia el sur, donde comenzó un proceso de subsidencia que continuó hasta el Plio-Pleistoceno. En estas fechas volvió a emerger a la vez que comenzó a percibir sedimentos marinos, hasta tomar su forma actual (López-Ramos, 1973; Padilla y Sánchez, 2007).

La composición geológica de la PY se constituye principalmente de carbonatos y anhidritas que se fueron precipitando desde el Cretácico inferior (aproximadamente durante el Aptiense), hasta el Mioceno. Está cubierta casi en su totalidad por sedimentos calcáreos, por lo que ha estado sujeta a procesos kársticos que ayudan a explicar la forma de su superficie y su particular hidrografía (López-Ramos, 1973; Velázquez Aguirre, 1986). Dichos procesos comenzaron a ocurrir en diferentes tiempos entre las regiones norte y sur de la península, por lo que su estructura es también distinta. Se estima que los procesos kársticos de la porción sur de la península de Yucatán comenzaron en el Oligoceno (hace aproximadamente 40 Ma), mucho antes que la porción norte; por lo que el intemperismo y la erosión generaron lo que hoy se percibe como una región con un relieve más pronunciado y carente de cenotes. En esta región, se ubican doce lagos (mayores a 500.000m³) y dos ríos: el Río Candelaria, que se extiende desde Campeche, hasta Guatemala; y el Río Hondo, que sirve de frontera entre Quintana Roo y Belice (López-Ramos, 1973; Schmitter-Soto *et al.*, 2002; Velázquez Aguirre, 1986).

Los procesos kársticos de la porción norte de la península tienen una estimación de inicio mucho más reciente, durante el Pleistoceno (hace aproximadamente 2 Ma). Gracias a esto, el relieve de esta región es más bajo, y no presenta ninguna corriente superficial (Velázquez Aguirre, 1986). Sin embargo, en esta región predominan los cenotes, cuerpos de

agua que se forman cuando la precipitación y corrientes subterráneas disuelven lentamente la roca caliza superficial en áreas particulares, hasta que el techo colapsa generando una cavidad de forma generalmente circular (Camargo-Guerra *et al.*, 2013; López-Ramos, 1973). En estos cuerpos, los carbonatos son capturados y causan la precipitación de fósforos disueltos en el agua hacia el sedimento; lo que resulta en una escasez de nutrientes para el fitoplancton, por lo que los cenotes son generalmente oligotróficos en un grado dependiente de lo pronunciado sus bordes (Camargo-Guerra *et al.*, 2013). Existen más de 7000 de estas formaciones registradas y muchos de ellos se distribuyen en un semicírculo al norte de la península (Schmitter-Soto *et al.*, 2002). Esta particular disposición de los cenotes es resultado del impacto de un meteorito en la región de Chicxulub en la costa norte de la península, hace aproximadamente 65 Ma. El cuerpo impactó en la costa, generando un cráter con una mitad sobre tierra y otra sobre la porción sumergida de la plataforma (Urrutia-Fucugauchi *et al.*, 2008).

ANTECEDENTES

Tanto la familia Characidae como el género *Astyanax* son grupos con elevado número de especies y con una monofilia cuestionable hasta la fecha (Ornelas *et al.*, 2008; Schmitter-Soto, 2017). Contreras-Balderas y Lozano-Vilano (1988) caracterizaron a la familia Characidae como un grupo complejo, con formas sumamente similares y en ocasiones simpátricas, por lo que ambos grupos representan un gran reto taxonómico. Estas complicaciones han llevado a algunos miembros de la familia a formar parte de un listado conocido como “Characidae *incertae sedis*”, un término utilizado para denotar grupos con posición taxonómica incierta, en el que se incluyeron aproximadamente 365 especies de las cuales 55 pertenecen al género *Astyanax* (Lima *et al.*, 2007).

Estas dificultades en la naturaleza del grupo han sido la causa de una gran falta de consenso en la organización taxonómica del género en México. Por ejemplo, en un inicio y por un largo tiempo, todas las formas superficiales de *Astyanax* en México eran reconocidas como *A. fasciatus* (Cuvier, 1819). Aunque la localidad tipo de esta especie está ubicada en

Brasil, se postuló que su distribución abarcaba desde Argentina hasta el sur de EE.UU. (Schmitter-Soto, 1997). Actualmente, esta idea es menos aceptada e incluso la especie *A. fasciatus* (Cuvier, 1819) ha sido recientemente reasignada dentro del género *Psalidodon* (Terán *et al.*, 2020). Mientras que las formas de cueva, que habían sido asignadas al género *Anoptichthys* Hubbs y Innes, 1936, reconocidas como *Anoptichthys hubssi* Álvarez 1947; actualmente son consideradas como *Astyanax jordani* o *Astyanax mexicanus* dependiendo del autor (Fricke *et al.*, 2020; Sepúlveda Jiménez, 2012).

Estos dos casos forman parte de un amplio historial de conflictos taxonómicos—entre los que se encuentran complejos de especies, sinonimias y cambios de género—que han exacerbado la confusión y la controversia entre los investigadores respecto al grupo. Ello ha dado lugar a múltiples intentos por brindar nueva luz al conflicto bajo distintos métodos. Desde los estudios morfológicos (Paulo-Maya, 1994; Sepúlveda Jiménez, 2012), que incluyen análisis osteológicos (Schmitter-Soto, 2017; Schmitter-Soto, 2016; Valdez Moreno, 1997) hasta los genéticos, que abarcan desde marcadores mitocondriales y nucleares (Hausdorf *et al.*, 2011; Herman *et al.*, 2018; Ornelas *et al.*, 2008; Strecker *et al.*, 2003; Strecker *et al.*, 2004; Terán *et al.*, 2020), y más recientemente la secuenciación de genomas completo (Herman *et al.*, 2018) y uso de códigos de barras (Rossini *et al.*, 2016).

La monofilia del género *Astyanax* ha sido cuestionada por estudios basados tanto en datos morfológicos como moleculares, lo cual resalta la importancia y necesidad de resolver la taxonomía del grupo (Mirande, 2010; Ornelas *et al.*, 2008; Schmitter-Soto, 2016; Strecker *et al.*, 2004; Terán *et al.*, 2020). Aunado al problema de la monofilia, estudios previos sugieren otros problemas con la taxonomía actual del grupo. Strecker *et al.* (2004), por ejemplo, encontró que la distribución de haplotipos obtenida de análisis del gen mitocondrial *CYB* coincidía solo parcialmente con las propuestas taxonómicas basadas en morfología para Norteamérica. Otro ejemplo surge al comparar los estudios de Ornelas *et al.* (2008) y Hausdorf *et al.* (2011). El primero, tras un análisis de linajes con marcadores mitocondriales—entre ellos también *CYB*—mostraba resultados significativos que permitían incluso proponer varias nuevas especies en la zona de Mesoamérica. Mientras que el segundo, en el cual se analizaron grupos tanto mitocondriales como nucleares,

encontró que sus clados de microsatélite no eran congruentes con los nucleares y postuló que al menos cuatro de las especies propuestas por Ornelas *et al.* (2008) no podrían considerarse como diferentes debido a tal discordancia en la organización de los grupos (Hausdorf *et al.*, 2011a; Ornelas *et al.*, 2008a). Aunado a esto, en varias ocasiones se ha encontrado que los grupos tienen bajas tasas de divergencia genética y que la introgresión genética suele ser un fenómeno relativamente frecuente, por lo que la identificación de linajes genéticos no parece una tarea trivial (Dowling *et al.*, 2002; Hausdorf *et al.*, 2011a; Herman *et al.*, 2018; Rossini *et al.*, 2016; Strecker *et al.*, 2004).

Antecedentes en contexto de la zona de estudio

La identidad de las especies de *Astyanax* en la PY refleja también las complejidades de la taxonomía del género, e incluye reportes históricos de *A. aeneus*, *A. altior*, *A. fasciatus*, y *A. petenensis*, esta última restringida a la región del Petén, Guatemala (Contreras-Balderas & Lozano-Vilano, 1988; Hausdorf *et al.*, 2011b; Miller, 2009). En la revisión más reciente de las especies de *Astyanax* de Centro y Norte América, Schmitter-Soto (2017) concluye que la presencia del género en la sección mexicana de la PY está limitada a tres especies: *A. angustifrons*, *A. altior* y la recién descrita *A. bacalarensis*. Las dos últimas estarían comúnmente asociadas a cenotes de la mitad norte de la PY. Tras un cuidadoso escrutinio, sin embargo, esta propuesta resulta problemática. Las diagnósias ofrecidas por Schmitter-Soto (2017) para diferenciar a estas dos especies no son lo suficientemente satisfactorias ya que están basadas mayormente en caracteres morfométricos y merísticos que presentan un considerable grado de solapamiento en sus estados de carácter. Más allá de sus distribuciones geográficas aparentemente disyuntas, no parecen existir caracteres contrastantes que permitan una diferenciación inequívoca entre *A. altior* y *A. bacalarensis*.

Hubbs (1936) fue el primero en describir a la forma '*altior*', asignándola como una subespecie de *A. fasciatus*, con distribución hacia el norte de la PY y dejando a *A. fasciatus aeneus* al sur de la misma (actualmente *A. angustifrons* y *A. bacalarensis*, distribuidas al oeste y al este de la porción sur de la PY, respectivamente) (Hubbs, 1936). Posteriormente Schmitter-Soto (1998) realizó la primera diagnósia para separar a '*altior*' como especie

independiente, donde tras comparar cinco caracteres morfológicos en 324 individuos de 21 poblaciones de la PY, encontró una separación significativa de ambos grupos a pesar del claro solapamiento de sus caracteres (Schmitter-Soto, 1998).



Fig. 2. *Astyanax altior* en Cenote Xlaká, Dzibilchaltún, Yucatán. © M. Salazar González. Figura utilizada bajo el permiso de M. Salazar González. El permiso para reusarla deberá ser obtenido del autor y portador de sus derechos.

Un conflicto de solapamiento de caracteres similar había ocurrido antes, cuando Schuppa (1984) encontró diferencias significativas al comparar poblaciones de *A. fasciatus* del norte y sur de México. A pesar de ello, decidió no separar las especies dado que consideraba que los caracteres tenían un alto grado de solapamiento (Schmitter-Soto, 2017; Sepúlveda Jiménez, 2012; Valdez Moreno, 1997). En contraste, Schmitter-Soto (1997) argumentó que dado que probablemente la mayoría, si no es que todas las poblaciones de *Astyanax* en México podrían tener descendencia fértil, el aislamiento reproductivo no parece un factor contundente para brindar un diagnóstico certero. Por lo tanto, bajo la perspectiva del concepto evolutivo de especie, estableció como mejor opción recurrir a la separación de linajes como criterio para dividir los grupos. Posteriormente Hausdorf *et al.* (2011) encontraron un clúster mitocondrial exclusivo para todos los individuos de la Laguna Chichankanab. Sin embargo, argumentaron que este no concordaba con ninguna descripción morfológica específica para la laguna, contrastando también con la alta tasa de mezcla de haplotipos entre el resto de poblaciones de la PY estudiadas

(Hausdorf *et al.*, 2011a). No obstante, Schmitter-Soto (2017) en su revisión del género, consideró que dicho clúster podría corresponder a *A. altior* (Hubbs 1936) (Fig. 2).

A pesar de ello, los estudios filogeográficos efectuados hasta la fecha no han logrado identificar a este grupo específicamente (Hausdorf *et al.*, 2011; Ornelas *et al.*, 2008; Strecker *et al.*, 2004). Los estudios genéticos indican que ni la distribución de clados mitocondriales, ni la de agrupamientos genotípicos nucleares, se correlacionan con barreras geográficas evidentes en la PY, además de que la discordancia entre el patrón de secuencias impide reflejar verdaderos eventos de vicarianza (Hausdorf *et al.*, 2011). Ante ello se ha señalado que la falta de estructuramiento genético puede explicarse por eventos de colonización reciente, radiación rápida, y varios eventos de invasión y extinción en la historia evolutiva del grupo en la región (Hausdorf *et al.*, 2011; Herman *et al.*, 2018; Ornelas *et al.*, 2008; Rossini *et al.*, 2016).

Por su parte, *A. bacalarensis* (Fig. 3) es una especie recientemente descrita, con una distribución que abarca todo Quintana Roo y la vertiente del Caribe de la PY, en México; el sur del Río Sittle, en el distrito de Toledo, Belice; y el oeste de Mopán, Guatemala (Fricke *et al.*, 2020; Schmitter-Soto, 2017). No obstante, considerando su previa clasificación como *A. aeneus* y que se encuentra dentro de la misma región, es posible asumir que está sujeta a los mismos conflictos *que* el grupo '*altior*' (Fricke *et al.*, 2020; Schmitter-Soto, 2017).



Fig. 3. *Astyanax bacalarensis* vivo en Lago Bacalar, Quintana Roo. Schmitter-Soto (2017).

Debido a los problemas taxonómicos anteriormente expuestos, este trabajo de tesis se plantea hacer una revisión morfológica con énfasis en forma corporal de las formas de *Astyanax* de la PY—en su mayoría habitantes de cenotes—mediante análisis de morfometría tradicional y geométrica, con el objetivo de determinar si efectivamente es posible discernir entre estas especies con base en su forma en conjunto e información métrica complementaria con base en un muestreo de ejemplares y poblaciones mayor que el de cualquier estudio previo.

OBJETIVOS

Objetivo general

Determinar la variación morfológica (lineal y geométrica) de las poblaciones de *Astyanax* spp. asociadas a cenotes de la PY y poner a prueba las unidades taxonómicas correspondientes.

Objetivos particulares

- 1) Documentar la presencia de *Astyanax* spp. en la PY con énfasis en las poblaciones asociadas a cenotes.
- 2) Medir y cuantificar la variación en caracteres merísticos y morfométricos (forma corporal) de las poblaciones de *Astyanax* spp. de la PY.
- 3) Analizar los patrones de variación en morfología externa, con énfasis en forma corporal, con el fin de evaluar la correspondencia de esta variación con las especies reconocidas en la taxonomía actual del grupo.

JUSTIFICACIÓN

La taxonomía de *Astyanax* es problemática, principalmente por la dificultad en la definición de sus linajes y la alta plasticidad de sus caracteres morfológicos. La designación de las especies *A. bacalarensis* y *A. altior* en la PY no parece estar muy soportada por evidencia morfológica en forma de diagnosis diferenciales, y la principal forma de distinguir entre estas es con base en su distribución geográfica supuestamente disyunta. Ya que la especie *A. altior* se considera vulnerable (IUCN, 2020 y NOM-059-SEMARNAT) y no existe certidumbre acerca de la situación de vulnerabilidad del resto de las poblaciones y especies presentes en la PY, es imprescindible una revisión exhaustiva y actualización sistemática y taxonómica de este grupo para lograr la correcta identificación y conservación de estas especies.

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es el grado de variación morfológica entre las poblaciones de *Astyanax* spp. asociadas a cenotes de la PY?

¿La variación morfológica de estas poblaciones es coherente con la taxonomía actual que reconoce a las especies *A. altior* y *A. bacalarensis* (Schmitter-Soto, 2017)?

HIPÓTESIS

Hipótesis nula: No existen diferencias considerables en morfología externa (merística y morfométrica) entre las especies de *Astyanax* asociadas a cenotes de la PY, *A. altior* y *A. bacalarensis*, que permitan ofrecer diagnosis diferenciales y apoyar su validez como unidades taxonómicas y evolutivas independientes.

MATERIALES Y MÉTODOS

Obtención de muestras

Como material comparativo se utilizaron 393 especímenes provenientes de un total de 25 localidades repartidas entre tres tipos de hábitats: cenotes, lagunas y ojos de agua asociados a ciénaga; todos localizados en los estados de Yucatán y Quintana Roo (Tabla 1; Fig. 4). La mayoría de los especímenes fueron recolectados bajo los permisos de colecta científica: SGPA/DGVS/04259/17 (expedido por la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales [SEMARNAT] al Dr. Jairo Arroyave [IBUNAM]) y PPF/DGOPA-043/18 (expedido por la Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación [SAGARPA] al Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional [CINVESTAV], Unidad Mérida). Los ejemplares fueron sacrificados de acuerdo con las recomendaciones de la guía de para el uso de peces en la investigación (Jenkins *et al.*, 2014) y las muestras se encuentran preservadas en alcohol al 70%; mayormente catalogadas y depositadas en la Colección Nacional de Peces de la UNAM (CNPE). El resto de los ejemplares estudiados proviene de la colección personal de la Dra. Patricia Ornelas (Instituto de Biología, UNAM).

Debido al reto que representa una identificación taxonómica exacta, como resultado de la ambigüedad en las diagnósis de las especies en cuestión, los ejemplares muestreados fueron determinados taxonómicamente con base en sus distribuciones geográficas como *Astyanax altior* (Hubbs, 1936) (para aquellos distribuidos en el estado de Yucatán) y *Astyanax bacalarensis* Schmitter-Soto, 2017 (para los distribuidos en el estado de Quintana Roo).

Tabla 1. Listado de localidades de muestreo por estado, taxón, ejemplares y coordenadas correspondientes. *Localidad tipo. **de la colección personal de la Dra. Patricia Ornelas

Taxón	Hábitat	Catálogo	Voucher	Localidad	Lat	Long	Municipio	Estado
<i>A. bacalarensis</i>	Cenote	CNPEIUNAM23309	AX-1-01/13 JA3147317	Cenote Jail House	20.194167	-87.496111	Tulúm	QRoo
<i>A. bacalarensis</i>	Cenote	CNPEIBUNAM23320	AX-3-01/04 JA341/343	Cenote Nohoch Nah Chich	20.297500	-87.404167	Tulúm	QRoo
<i>A. bacalarensis</i>	Cenote	No catalogado	JA257	Cenote SN (05- 24-17)	20.135833	-87.577778	Tulúm	QRoo
<i>A. bacalarensis</i>	Cenote	CNPEIBUNAM23369	AX-7-01/05 JA609/617	Cenote Tembuc Ha	20.344722	-87.354167	Chemuyil	QRoo
<i>A. bacalarensis</i>	Cenote	CNPEIBUNAM23317	AX-8-01/44 JA318/321	Cenote Tortugas	20.277500	-87.475278	Tulúm	QRoo
<i>A. bacalarensis</i>	Cenote	CNPEIBUNAM23305	AX-9-01/05 JA304/308	Cenote Escondido	20.200278	-87.500000	Tulúm	QRoo
<i>A. bacalarensis</i>	Cenote	CNPEIBUNAM23305	AX-10-01/19 JA335/338	Cenote Vaca Ha	20.270833	-87.480556	Tulúm	QRoo
<i>A. bacalarensis</i>	Cenote	CNPEIBUNAM23301	JA296/300	Cenote Cristal	20.200278	-87.500000	Tulúm	QRoo
<i>A. bacalarensis</i>	Cenote	CNPEIBUNAM23293	AX-12-01/20 JA241/243	Cenote Isla Alamos	20.282222	-87.464167	Tulúm	QRoo
<i>A. bacalarensis</i>	Cenote	CNPEIBUNAM23312	AX-13-01/07	Cenote Dream Gate	20.305278	-87.392500	Tulúm	QRoo
<i>A. bacalarensis</i>	Cenote	CNPEIBUNAM23376	JA648, JA649	Cenote Gran Cenote (Snake Cenote)	20.246111	-87.462778	Tulúm	QRoo
<i>A. bacalarensis</i>	Cenote	CNPEIBUNAM23290	AX-15-01/36 JA947/951	Cenote Car Wash	20.274722	-87.486111	Tulúm	QRoo
<i>A. bacalarensis</i>	Cenote	CNPEIBUNAM23373	JA634/637	Cenote Gran Cenote	20.246111	-87.463889	Tulúm	QRoo
<i>A. bacalarensis</i>	Laguna	No catalogado**	AX-25-01/10 T6832/6847	Laguna Chichankanab	19.834167	-88.745556	José María Morelos	QRoo
<i>A. bacalarensis</i>	Laguna	No catalogado**	T5862, T6863	Laguna Bacalar*	18.650833	-88.398333	Bacalar	QRoo
<i>A. altior</i>	Cenote	CNPEIUNAM23361	AX-2-01/09 JA558/565	Cenote Xlakah	21.092500	-89.597500	Dzibilchaltun	Yuc
<i>A. altior</i>	Cenote	CNPEIBUNAM23258	JA082/089	Cenote Kambul	21.073611	-89.721111	Mérida	Yuc
<i>A. altior</i>	Cenote	CNPEIBUNAM23238	AX-6-01/10 T5553,5558/5 570	Cenote Xel Aktún	20.889722	-90.081111	Kinchil	Yuc
<i>A. altior</i>	Cenote	No catalogado**	T1696/1711	Cenote Noc Ac	21.073671	-89.720980	Mérida	Yuc
<i>A. altior</i>	Cenote	No catalogado**	T6736/6741	Cenote Kakapia	21.162929	-90.031144	Sisal	Yuc
<i>A. altior</i>	Ciénaga	No catalogado**	T6699/6722	Makes (Sisal)	21.152500	-90.031667	Sisal	Yuc
<i>A. altior</i>	Ciénaga	No catalogado**	AX-21-01/04 T6678/6693	Ojo de Agua la Sirenita	21.153611	-90.021944	Sisal	Yuc
<i>A. altior</i>	Ciénaga	No catalogado**	AX-23-01/09 T6635/6647 T6665/6670	Ojo de agua Mirador de Pecis	21.179722	-89.977222	Sisal	Yuc
<i>A. altior</i>	Cenote	No catalogado**	T6763/6784	Cenote Cervera	21.376111	-88.833889	Dzilam de Bravo	Yuc
<i>A. altior</i>	Ciénaga	No catalogado**	T6623	Ciénaga Sisal, Agua Dulce	21.162929	-90.031144	Sisal	Yuc

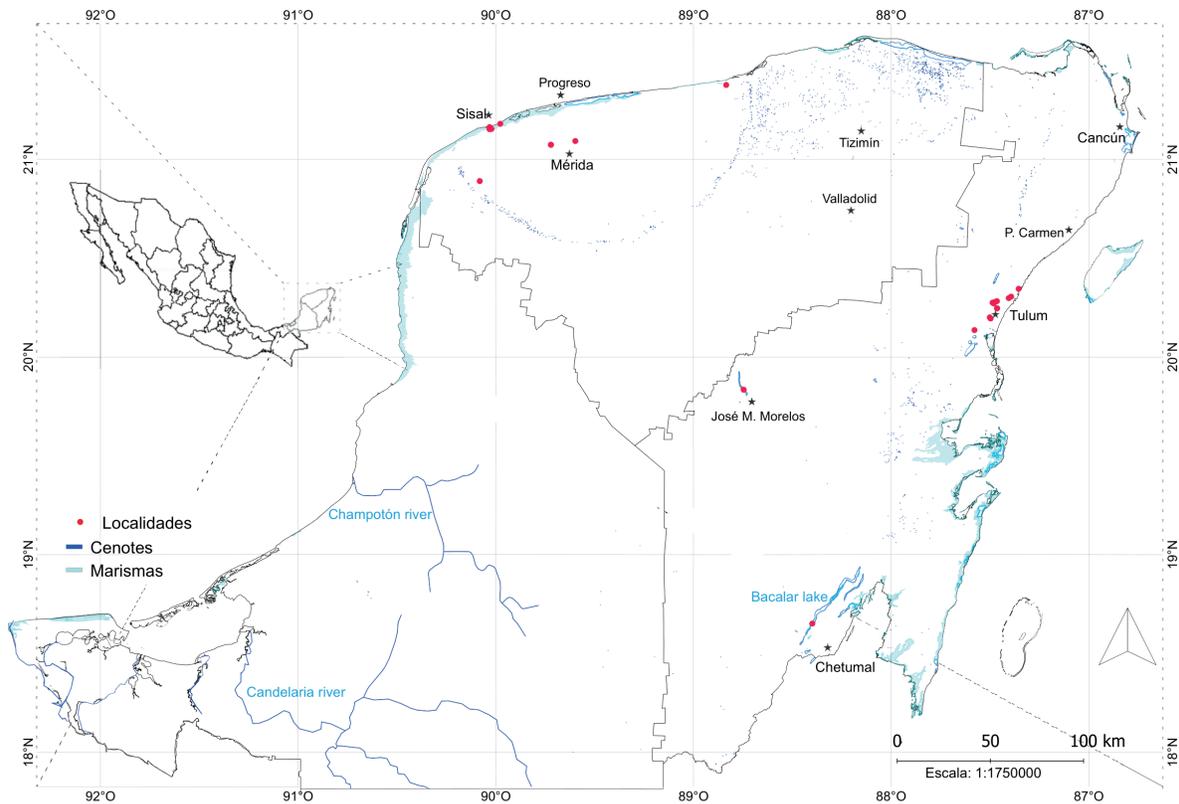


Fig. 4. Mapa de sitios de muestreo (se utiliza “Marisma” como equivalente de ojos de agua asociados a ciénaga).

Obtención de datos

Para los análisis de morfometría lineal se registraron un total de 30 caracteres, de los cuales 21 pertenecen a caracteres continuos (longitudes y distancias), y los nueve restantes a caracteres merísticos discretos (conteos de radios y escamas) (Tabla 2). Se seleccionaron los caracteres de mayor relevancia taxonómica, basados principalmente en trabajos previos del género, y caracteres diagnósticos de las especies de *A. altior* y *A. bacalarensis*. (Salas *et al.*, 2012; Schmitter-Soto, 2017; Schmitter-Soto, 1997). Los caracteres continuos fueron medidos con un vernier digital de 15 cm y resolución de 0.01 mm; mientras que los caracteres merísticos se evaluaron mediante conteo directo en caracteres fácilmente visibles, o con la ayuda de microscopio estereoscópico y una aguja de disección en los caracteres menos visibles.

Tabla 2. Listado de caracteres morfológicos evaluados.

Lineales	Abreviación
Longitud estándar	LE
Longitud total	LT
Longitud de cabeza	LC
Distancia hocico-borde anterior del ojo	H-aO
Distancia hocico-aleta pectoral	H-P
Distancia hocico-aleta dorsal	H-D
Distancia hocico-aleta pélvica	H-PI
Distancia hocico-aleta adiposa	H-Ad
Distancia hocico-aleta anal	H-A
Distancia hocico-borde posterior del ojo	H-pO
Distancia hocico-inserción posterior de aleta dorsal	H-pD
Distancia hocico-inserción posterior de aleta anal	H-pA
Altura total (desde el origen de aleta dorsal)	AT
Altura cefálica (desde el borde del opérculo)	AC
Altura del pedúnculo caudal	APC
Longitud del pedúnculo caudal	LPC
Distancia Inter orbital	DIO
Longitud de aleta pectoral	LP
Longitud de aleta pélvica	LPI
Longitud del segundo radio dorsal	LSRD
Longitud del primer radio dorsal	LPRD
Merísticos	
Número de radios de aleta dorsal	RD
Número de radios de aleta anal	RA
Número de radios de aleta caudal	RC
Número de radios de aleta pectoral	RP
Número de radios de aleta pélvica	RPI
Número de escamas de la línea lateral	ELL
Número de escamas predorsales	EPD
Número de escamas circumpedunculares	SP
Número de escamas predorsales de la línea lateral	EPDLL

Los ejemplares con estados de carácter ausentes o dañados/maltratados (ya sea por causas naturales u ocurridos durante colecta o preservación) fueron descartados del estudio. A su vez, con el objetivo de reducir el riesgo de sesgos por errores de medición, una vez finalizada la recopilación de datos, se efectuó una búsqueda de valores atípicos (o

outliers). Para ello, se realizó un histograma de frecuencias por cada carácter evaluado y se identificaron los ejemplares a los que pertenecieran aquellos valores inusualmente desplazados a las colas del histograma; posteriormente, los valores en los que hubo error de medición fueron corregidos, y los que no, se mantuvieron en el estudio sin modificación alguna.

La selección de landmarks para los análisis de morfometría geométrica se basó en los métodos efectuados en trabajos previos de morfometría geométrica del género *Astyanax*, donde cada punto corresponde a características homólogas para los grupos estudiados (Ornelas *et al.*, 2014; Sepúlveda Jiménez, 2012). Se eligieron muestras parciales de cada localidad, considerando a los ejemplares mejor conservados (92 en total); estos fueron fotografiados en una sala bien iluminada, con una cámara digital profesional fijada a una base y en posición vertical hacia abajo, evitando cualquier inclinación. Los ejemplares fueron montados utilizando alfileres de disección sobre una placa de unicel forrada con papel lustre de color azul como fondo, con el objetivo de contrastar con los ejemplares (Fig. 5), la digitalización de los landmarks a sets de coordenadas en formato TPS, se efectuó con ayuda de los programas tpsUtil64, y tpsDig232 (Rohlf, 2015).

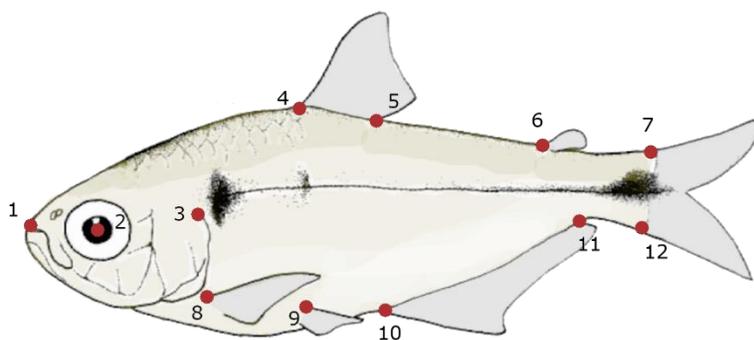


Fig. 5. Caricaturización de la colocación de landmarks durante la digitalización de los ejemplares.

Análisis de datos

Todos los análisis fueron efectuados en el ambiente Rstudio (R-Core-Team, 2019); se utilizaron los paquetes Geomorph (Adams *et al.*, 2020), para la mayoría de los análisis multivariados y ggplot2 (Wickham, 2016), para el tratamiento de los gráficos en general.

Previo a los análisis, es necesario que los datos crudos lleven cierto tratamiento de depuración y estandarización, de forma que, a la hora de realizar los análisis, estos evalúen la información de la forma pura. Para ello, los datos geométricos fueron sometidos a un análisis generalizado de Procrustes (GPA, por sus siglas en inglés), indispensable para la obtención del “espacio de forma”, producto de la remoción de los efectos de escala, rotación y traslación que ocurren por la naturaleza de los ejemplares y durante los procesos de digitalización de datos (Toro Ibacache *et al.*, 2010). A su vez, se eliminaron los efectos de alometría (variación de la forma dada por el tamaño de los ejemplares) estandarizando las medidas respecto a la longitud estándar, para los datos lineales.

Una vez realizado este tratamiento, se corrieron dos tipos de análisis: 1) análisis exploratorios, cuyo objetivo es el de caracterización y visualización de la variación de la forma y 2) análisis discriminativos, con el propósito de distinguir entre grupos definidos *a priori*, con peso estadístico para el rechazo/aceptación de hipótesis.

1) Análisis exploratorios

Para este estudio, se realizaron Análisis de Componentes Principales (ACPs) como análisis exploratorios, para ambos datos, geométricos y lineales. El ACP es un análisis utilizado para la búsqueda de patrones en datos multidimensionales (Smith, 2002) y al carecer de designación de grupos *a priori*, no tiene ningún peso de carácter discriminativo. En el caso de los datos lineales, el ACP evalúa los patrones en la variación morfológica de los ejemplares a partir de los valores numéricos de todos sus caracteres evaluados; mientras que el análisis geométrico, evalúa las variaciones de la forma en términos de coordenadas cartesianas, comparando todos los landmarks a la vez, lo que permite detectar variaciones más complejas y de forma más integrada (Benítez *et al.*, 2014). A su vez, dado que los datos devueltos por los análisis geométricos están dados en coordenadas al igual que la

información de entrada, es posible y común generar “rejillas de transformación” como representación gráfica de la variación morfológica. Esta presentación permite visualizar los cambios de los vectores (Zelditch *et al.*, 2012) correspondientes a cada componente principal (en su expresión máxima y mínima), lo que facilita una interpretación más clara e intuitiva.

Por otro lado, para los análisis de morfometría lineal, se tomó la decisión de excluir los caracteres merísticos de los análisis por dos motivos: 1) ya que las variables merísticas son caracteres discretos y los lineales son continuos, tienen una estructura de variación distinta, por lo que no son compatibles en un análisis integrado, sino que tendrían que evaluarse de manera independiente y; 2) Las variables merísticas no brindan información directamente asociada a la forma de los individuos, sino que suelen ser utilizados como distintivos descriptivos, por lo que su inclusión no brindaría ningún valor significativo al estudio. De igual manera, a pesar de ser evaluado, el carácter lineal de longitud total de los ejemplares también fue excluido del estudio debido a que su medición puede resultar inexacta gracias a la variabilidad de la aleta caudal por distintos efectos tales como mutilaciones, o su extensión imprecisa.

Dado que el ACP se realiza sin considerar grupos *a priori* y que sus resultados son multidimensionales, resulta necesario graficar un subespacio del total de datos para facilitar la visualización e interpretación de los resultados. Para ello se seleccionan los primeros dos componentes principales del análisis (para un plano bidimensional) ya que estos son los que explican la mayor varianza de los datos. Una vez en el plano, se asigna una referencia que distinga a que categoría designada corresponden los puntos en el plano para así, visualizar los posibles patrones de variación. En este caso, dichas categorías se asignaron de acuerdo con dos grupos mayores: 1) “estado”, al cual corresponden las categorías “Quintana Roo” y “Yucatán”, de acuerdo con las distribuciones geográficas descritas en las descripciones de Schmitter-Soto (2017) y 2) “hábitat”, que corresponde a los distintos tipos de cuerpos de agua donde fueron colectados los ejemplares, a saber, “cenotes”, “lagunas”, y “ciénagas” (incluyendo ojos de agua asociados a estas) (Figs. 6, 9 y 10). Esta última categoría se eligió

con el fin de explorar los patrones de diferenciación morfológica bajo una variable comparativa alternativa.

2) Análisis discriminativos

Como análisis discriminativo, se realizó un Análisis Multivariado de Varianza (MANOVA, por sus siglas en inglés), para ambos tipos de datos (lineales y geométricos) y ambos grupos categóricos (estado y hábitat). Similar a como ocurre en un ANOVA, este análisis pretende encontrar si cierto factor o tratamiento (variable independiente) tiene un efecto significativo sobre algún parámetro evaluado en los ejemplares; la diferencia con el ANOVA radica en que dicho efecto se evalúa respecto a más de una variable de respuesta (dependiente) (David Garson, n.d.; Zelditch *et al.*, 2012), que en este caso, refiere a la forma de los ejemplares (tanto a partir de las medidas de sus caracteres como del conjunto de coordenadas geométricas). Aunado a ello, el MANOVA explica también el grado de asociación de la variable independiente con las dependientes; es decir, la proporción en la que la variable explicativa (en este caso su distribución por estado y el hábitat en que viven) afecta a la forma de los ejemplares.

Dado que la variable “hábitat” incluye más de dos niveles (categorías), posterior al MANOVA es necesario realizar un análisis que distinga cómo se comportan estas categorías entre sí. En este trabajo se realizó un MANOVA pareado que indica la distancia estadística entre cada uno de los grupos a la vez que aporta un nivel de significancia respectivamente.

Como antes mencionado, para estos análisis se utilizaron las medidas estandarizadas respecto a la longitud estándar (LE), en los datos lineales y respecto al tamaño del centroide, en los datos geométricos, y se corrieron a 10,000 permutaciones, utilizando el Procedimiento de Permutación por Aleatorización de Residuales (RRPP, en inglés) (Collyer y Adams, 2018, 2020). Seguido a ello, con la intención de tener una visualización más intuitiva de las diferencias en la forma bajo cada categoría y en ambas variables comparativas, se elaboraron gráficos de la distribución de los residuales por cada carácter posterior a los análisis comparativos. Este procedimiento se realizó exclusivamente para los datos lineales porque 1) a diferencia de los análisis geométricos, es posible obtener

los residuales de cada carácter de manera independiente y 2) aunque en los datos geométricos esto no es posible, la visualización de los cambios en la forma puede darse desde la obtención de las rejillas de deformación.

RESULTADOS

Morfometría lineal

Una vez efectuado el ACP para los datos lineales, de este se obtuvieron 19 componentes principales de los cuales, los primeros cinco representan el 61.52% de la variación total y a su vez, cada uno de ellos explica más del 5% de la misma (Tabla 3).

Tabla 3. Variación explicada por los primeros 5 componentes principales.

Componente	Porcentaje de variación individual	Porcentaje acumulativo
1	24.77	24.77
2	13.81	38.59
3	8.98	47.56
4	7.49	55.56
5	6.46	61.52

Con el objetivo de tener una referencia visualmente interpretable, se asignó un color a cada categoría en la distribución de del plano correspondiente al primer vs. el segundo componentes principales (Fig. 6). En este caso se puede observar que existe un elevado solapamiento en las nubes de datos, tanto para las categorías por estado, como por hábitat; con ligeras tendencias de diferenciación, representadas por algunos puntos desplazados a los extremos del plano.

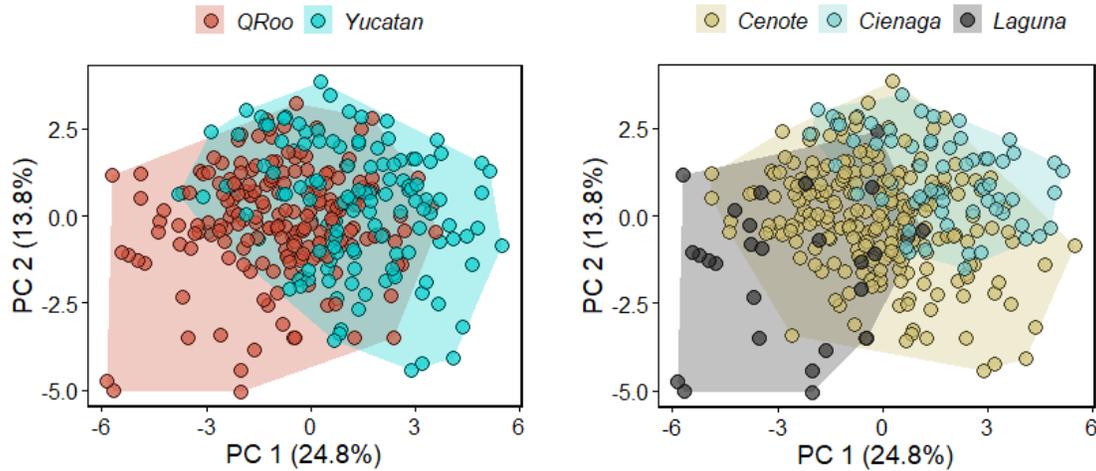


Fig. 6. Plano de los primeros dos componentes principales de morfometría lineal, separados por estado (izq.) y hábitat (der.)

Al comparar la variación de la forma respecto a los estados mediante el MANOVA (Tabla 4), se encontró un nivel de significancia de $P < 0.0001$ (estadísticamente significativo) donde la variable “estado” explica el 5.52% de la variación de la forma de los ejemplares.

Tabla 4. Valores de MAOVA por estado en morfometría lineal.

	Variación explicada por la variable	Valor de significancia
Estado	0.05519	1.00E-04
Residuales	0.94481	

Por otro lado, al evaluar la variación de la forma respecto al tipo de hábitat (Tabla 5), el análisis mostró que bajo un nivel de significancia similar al anterior ($P < 0.0001$), dicha variable explica un 10.28% de variación. Posterior a este segundo análisis, en el MANOVA pareado se encontró que existe una distancia estadísticamente significativa ($P < 0.0001$) entre todos los hábitats, (Tabla 6).

Tabla 5. Valores de MANOVA por hábitat en morfometría lineal.

	Variación explicada por la variable	Valor de significancia
Estado	0.10282	1.00E-04
Residuales	0.89718	

Tabla 6. Distancias entre grupos del MANOVA pareado.

	Cenote	Laguna
Cenote	--	--
Laguna	0.2413846	--
Ciénaga	0.1958408	0.4005312

Al graficar las distribuciones de los residuales por carácter, se obtuvieron 19 graficas por cada grupo, con una asignación de colores igual que en los análisis previos. Se puede notar que para todos los caracteres hay un cierto grado de solapamiento en las nubes de datos; tanto por estado (Fig. 7), como por hábitat (Fig. 8).

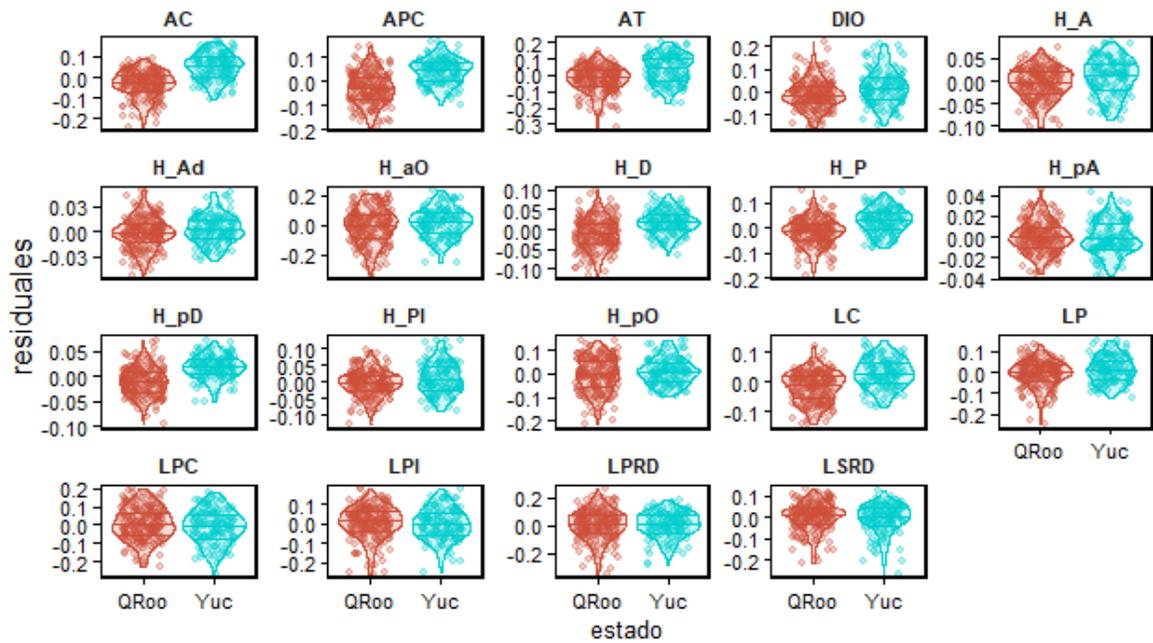


Fig. 7. Distribución de los residuales por carácter, por estado (las abreviaciones de los caracteres corresponden a los enunciados en la Tabla 2).

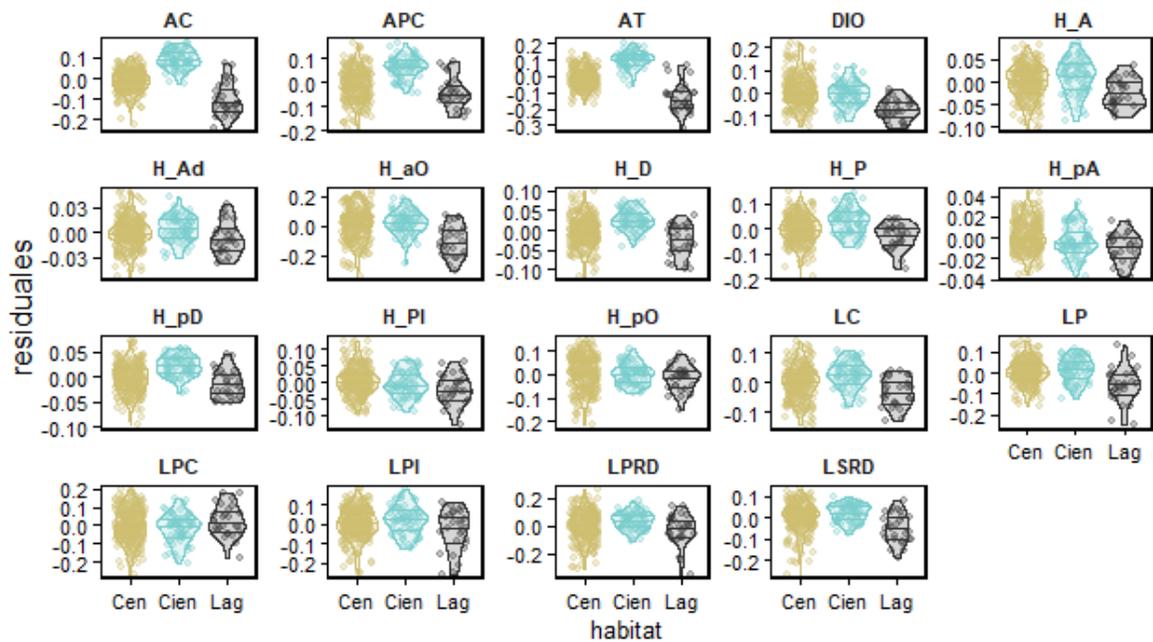


Fig. 8 Distribución de los residuales por carácter, por hábitat (las abreviaciones de los caracteres corresponden a los enunciados en la Tabla 2).

Morfometría geométrica

Al realizar el ACP de los datos geométricos se encontró que la variación morfológica total es explicada bajo 24 componentes principales, de los cuales los primeros 5 representan el 76.95% y cada uno de ellos aporta más del 5% (Tabla 7).

Tabla7. Variación explicada por los primeros 5 componentes principales.

Componente	Porcentaje de variación individual	Porcentaje acumulativo	Eigenvalor
1	31.72	31.72	0.000565
2	19.28	50.99	0.000343
3	12.35	63.34	0.000300
4	7.2	70.55	0.000128
5	6.39	76.95	0.000114

Posterior al ACP, también se graficó el plano correspondiente a los primeros dos componentes principales, y se colorearon las nubes de puntos en función de las mismas categorías antes descritas. De estos análisis, igual que en los lineales, se observa solapamiento en las nubes de ambas agrupaciones. (Figs. 9 y 10).

A su vez, en los ejes de ambos planos se muestran las rejillas de deformación obtenidas, explicando los efectos sobre la forma de cada componente principal: el primer componente principal (eje horizontal de ambos planos, Figs. 9 y 10) parece afectar rasgos asociados a la altura de los ejemplares (mayormente la altura total), haciéndolos más altos en la expresión mínima del componente (hacia la izquierda del plano) y más comprimidos en la máxima (hacia la derecha). Mientras que el segundo componente (eje vertical), afecta aspectos como la longitud de la aleta anal, la distancia de la punta del hocico al origen de la aleta dorsal, y la altura cefálica.

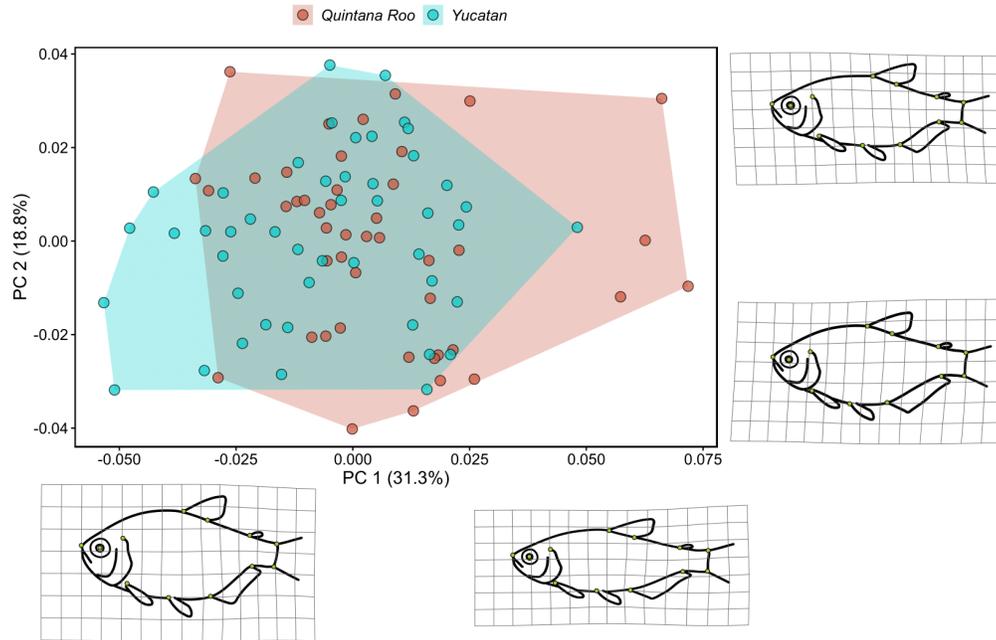


Fig. 9. Plano y rejillas de transformación de los primeros dos componentes principales de morfometría geométrica, separados por estado.

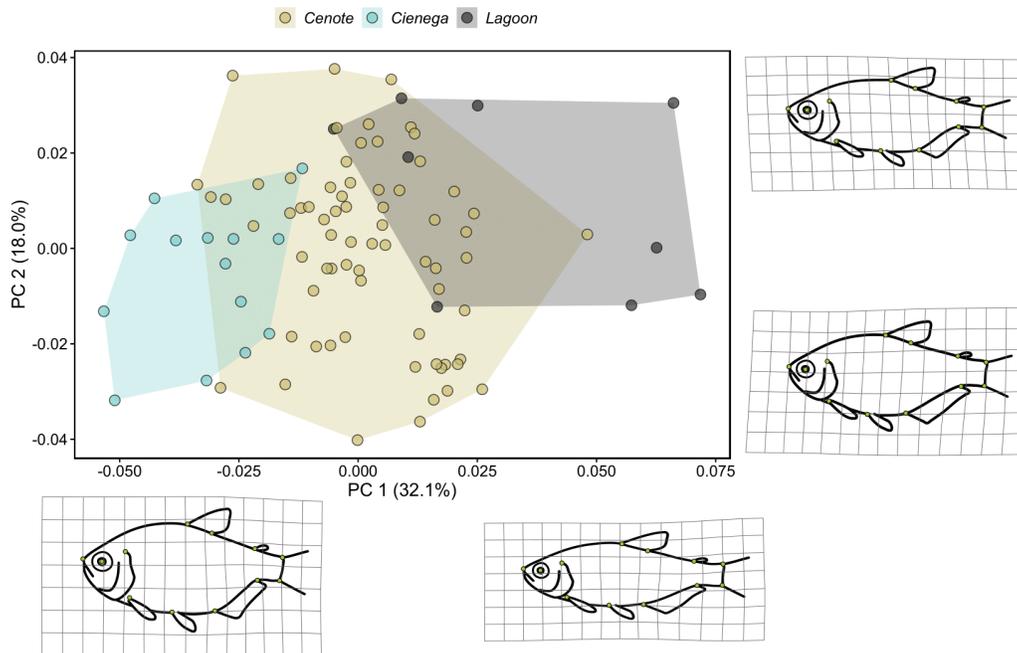


Fig. 10. Plano y rejillas de transformación de los primeros dos componentes principales de morfometría geométrica, separados por hábitat.

Al comparar la variación de la forma respecto a los estados mediante el MANOVA (Tabla 8), se encontró un nivel de significancia de $P=0.0023$ (estadísticamente significativo) donde la variable “estado” explica el 3.97% de la variación de la forma de los ejemplares.

Tabla 8. Valores de MANOVA por estado en morfometría geométrica

	Variación explicada por la variable	Valor de significancia
Estado	0.03975	2.30E-03
Residuales	0.96025	

Mientras que al evaluar la variación de la forma explicada por el tipo de hábitat (Tabla 9), el análisis indica un nivel de significancia de $P<0.0001$ (estadísticamente significativo), donde la variable “hábitat” explica un 17.56% de variación. Posteriormente, en el MANOVA pareado se encontró que existe una distancia estadísticamente significativa ($P<0.0001$) entre todos los grupos (Tabla 10).

Tabla 9. Valores de MANOVA por hábitat en morfometría geométrica

	Variación explicada por la variable	Valor de significancia
Estado	0.17564	1.00E-04
Residuales	0.82436	

Tabla 10. Distancias entre categorías del MANOVA pareado

	Cenote	Laguna
Cenote	--	--
Laguna	0.03604805	--
Ciénega	0.03522021	0.06974892

DISCUSIÓN

Los resultados del ACP de morfometría lineal (Fig. 6) permiten ver un elevado grado de solapamiento en forma corporal independientemente de la variable predictora (i.e., estado y hábitat). Los resultados del MANOVA (Tablas 4 y 5) indican que a pesar de que bajo ambos predictores categóricos (estado y hábitat) se obtuvo un nivel de significancia similar ($P < 0.0001$), la variable “estado” tiene un menor grado de asociación con la variación morfológica que la variable “hábitat” (5.52 y 10.28%, respectivamente). Esto sugiere que la forma corporal en las poblaciones parece estar más determinada por el hábitat que ocupan que por la región en que se distribuyen. Al analizar el MANOVA pareado consecuente al análisis por hábitat (Tabla 6), se observa—con diferencias significativas entre todos los grupos—que los ejemplares que habitan ciénaga y laguna muestran la mayor distancia entre sí (0.4), mientras que los pertenecientes a cenotes se encuentran en un punto intermedio, aunque más cercanos a los de ciénaga (0.196) que a los de laguna (0.241). Esto sugiere la existencia de un gradiente de variación morfológica de acuerdo con su hábitat en orden laguna-cenote-ciénaga, similar a lo que se observa en el plano del ACP (Fig. 6). En cuanto a las distribuciones de residuales por carácter (Figs. 7 y 8), a pesar del solapamiento en todas las nubes de datos, es posible apreciar una tendencia más pronunciada en caracteres referentes a la altura del cuerpo (AC, APC y AT, véase Tabla 2). Cuando analizados por estado, se observa que los ejemplares con distribución en Yucatán tienden a ser más altos que los de Quintana Roo, con base en los tres caracteres anteriormente mencionados. Mientras tanto, los análisis por hábitat indican que los ejemplares que habitan ciénagas tienden a ser más altos, seguidos por los de cenotes y por último, por los que habitan lagunas.

Similar a lo observado en el ACP de morfometría lineal, en los análisis de morfometría geométrica se observa un solapamiento en las nubes de puntos, independientemente de la variable predictora (Figs. 9 y 10). No obstante, en este caso parece haber una tendencia más acentuada en la variación por hábitat, respecto a su análogo de los análisis lineales (Fig. 10). En este, los ejemplares de ciénaga y laguna no se solapan en ningún punto, mientras que los de cenotes parecen estar en un punto

intermedio a los dos anteriores, lo que mantiene concordancia con los resultados obtenidos de los análisis lineales. Al analizar las rejillas de deformación obtenidas del ACP (Figs. 9 y 10) es posible realizar una interpretación directa de las variaciones morfológicas representadas en el plano antes descrito. De estas se pueden observar tendencias morfológicas que concuerdan con aquellas obtenidas de las gráficas de residuales por carácter de los análisis de morfometría lineal (Figs. 7 y 8), mostrando que las mayores tendencias de cambios morfológicos están asociadas a la altura de los ejemplares. Estos resultados coinciden también con que los ejemplares de ciénaga tienden a ser los más altos y los de laguna los más bajos (eje horizontal de Figs. 9 y 10). Por otro lado, a pesar de que el segundo componente principal explica también un gran porcentaje de variación (19.28%), no parece existir alguna asociación en su variación con ninguna de las categorías aquí evaluadas (eje vertical de Figs. 9 y 10).

Estos resultados se respaldan estadísticamente con los análisis discriminativos (Tablas 8 y 9). Al igual que en el caso de los datos lineales, los análisis de morfometría geométrica indican que la variación en forma corporal tiene un mayor grado de asociación con el hábitat que ocupan los ejemplares (17.59% Tabla 9) que con su distribución geográfica por estado (3.97% Tabla 8); esta vez con niveles de significancia mucho más contrastantes ($P < 0.0001$ y $P = 0.0023$, respectivamente). Mientras que el MANOVA pareado posterior al MANOVA por hábitat sigue soportando el mismo gradiente de similitud morfológica entre los ejemplares de ciénaga, cenote y laguna, esta vez lo hace con los ejemplares de cenotes casi a igual distancia de los de ciénaga (0.035) que de los de laguna (0.036).

Es claro entonces que la mayor variación encontrada en cuanto a forma corporal corresponde a la altura del cuerpo, donde se evidencía un gradiente de mayor a menor altura, desde las zonas más septentrionales de la PY, hacia el sur. Cabe resaltar que dicho gradiente se ajusta a las descripciones que Schmitter-Soto (1998, 2017) ofrece en sus diagnosis, donde identifica entre otras características, que *A. altior* (Yucatán) tiende a tener una altura total superior a la del resto de las especies presentes en la PY, siendo esta superior al 48% en *A. altior* en contraste con nunca mayor al 42% de la longitud estándar

en el resto de las especies (Schmitter-Soto, 2017). No obstante, el gradiente latitudinal observado también coincide con la distribución de los distintos tipos de hábitats presentes en la península, siendo la ciénaga el tipo de hábitat ubicado más hacia el norte, en las costas del estado de Yucatán; los cenotes estando principalmente distribuidos en la mitad norte de la península (con presencia en Yucatán y Quintana Roo); y las lagunas prácticamente restringidas al sur de la península, en el estado de Quintana Roo. En consecuencia y con el respaldo de los valores obtenidos de los análisis aquí efectuados, es posible que esta tendencia de variación en altura corporal esté determinada por la distribución diferencial por hábitat de las poblaciones y no en relación con algún tipo de aislamiento geográfico mantenido gracias a sus distribuciones aparentemente disyuntas. Es decir, que la variación morfológica de las poblaciones de *Astyanax* de la PY podría explicarse más bien como resultado de plasticidad fenotípica y su asociación con tipo de hábitat, y no necesariamente por procesos de divergencia de linajes (especiación) con distribuciones disyuntas.

Está ampliamente documentado que el género *Astyanax* presenta una alta plasticidad fenotípica y especialización morfológica en distintos hábitats, probablemente como resultado de su alta diversidad genética e influenciabilidad por presiones ambientales (do Nascimento *et al.*, 2020; Ornelas *et al.*, 2008). Es común en peces encontrar diferencias morfológicas en caracteres relacionados con el nado entre poblaciones de la misma especie que habitan ambientes contrastantes en términos de los factores ecológicos (Langerhans y Reznick, 2009; Yan *et al.*, 2013). Los diferentes modos de natación y rasgos funcionales asociados con el movimiento y desplazamiento bajo el agua en peces—como aquellos de mayor variabilidad encontrados en este trabajo—dependen de tres factores ecológicos principales: flujo de agua, complejidad estructural ambiental y depredación (Langerhans y Reznick, 2009). La teoría del rendimiento en natación (Langerhans y Reznick, 2010) predice que ambientes lóticos y/o menos complejos estructuralmente van a presentar poblaciones de peces con cuerpos más esbeltos, fusiformes, e hidrodinámicos que les permiten soportar corrientes y turbulencias más pronunciadas en tareas cotidianas como búsqueda de alimentos. Mientras que ambientes lénticos y/o más complejos estructuralmente van a promover la formación de cuerpos más altos, menos esbeltos, pero con mejor desempeño

para su nado en microhábitats estructuralmente complejos y de esta forma se permitan escapar más fácilmente de potenciales depredadores realizando giros pronunciados y teniendo altas velocidades a distancias más cortas.

Estas predicciones han sido corroboradas previamente en *Astyanax*, específicamente en dos formas de la especie suramericana *A. lacustris*, asociados tanto a lagunas como sistemas de ríos (Costa-Pereira *et al.*, 2016). En el caso de las poblaciones de *Astyanax* de la PY, debido a la naturaleza principalmente léntica de sus hábitats, los principales factores potencialmente contribuyentes a la diferenciación morfológica serían la complejidad estructural ambiental y la depredación. Las ciénagas de la costa norte de la PY son sistemas lagunares-estuarinos altamente estructurados caracterizados por la presencia de islotes de selva (selva mediana subperennifolia) que crecen entre pantanos o zacatales inundados y con vegetación de manglar circundante en los que confluyen ojos de agua (manantiales de agua dulce) y aguas salobres, bajo la influencia de lluvias y mareas (Zaldivar, 1999; Guadarrama *et al.* 2018). Su fauna incluye potenciales depredadores de *Astyanax* como aves piscívoras (p.ej., garzas de la especie *Egretta rufescens*), peces de mayor porte (p.ej., *Fundulus grandissimus*) y hasta cocodrilos (*Crocodylus* spp.). Los cenotes por otro lado varían en su arquitectura dependiendo de su proceso de formación, y pueden estar asociados a vegetación circundante que incrementa su complejidad estructural. Estos también incluyen especies de peces de mayor porte (p.ej., *Rhamdia guatemalensis*, *Mayaheros urophthalmus*), que podrían potencialmente ejercer presión depredadora sobre las poblaciones de *Astyanax*. Aunque lagunas como Bacalar y Chichankanab también presentan potenciales depredadores de importancia, su gran tamaño y homogeneidad a lo largo de la mayor área del cuerpo de agua podría implicar una menor complejidad ambiental en comparación a la de los cenotes y las ciénagas del norte de la PY. Por lo tanto, resulta factible considerar que los patrones morfológicos encontrados parecen estar de acuerdo con las predicciones anteriormente mencionadas, por lo menos en cuanto a complejidad estructural ambiental y posiblemente en cuanto a niveles de depredación.

A su vez, varios otros estudios se han realizado indagando las distintas variables ambientales y su potencial efecto en las variaciones morfológicas en *Astyanax*, más allá de

las ampliamente exploradas para formas de cueva. Variables abióticas como la temperatura del agua y la turbulencia, se correlacionan con características como el número de vértebras y el tamaño de las aletas dorsal y anal (Reyes Corral y Aguirre, 2019). Mientras que factores bióticos como los hábitos alimenticios, podrían tener efectos en características como la altura total, altura cefálica, tamaño del hocico, longitud de espinas branquiales, entre otros; y sus efectos pueden verse afectados por la disponibilidad alimenticia del lugar donde se encuentren (do Nascimento *et al.*, 2020; Mise *et al.*, 2013; Ornelas *et al.*, 2018). De esta forma puede tomarse la pauta para explorar el impacto que los factores antes mencionados en las poblaciones de *Astyanax* de la PY en futuras investigaciones.

Bajo este escenario de plasticidad fenotípica, es posible que las poblaciones de *Astyanax* de la PY correspondan a una única especie, muy probablemente *A. aeneus* (Ornelas *et al.*, 2008). Aunque la existencia de una alta plasticidad fenotípica ante una gran diversidad de hábitats en *Astyanax*, ha sido reconocida por autores previos (Dowling *et al.*, 2002; Paulo-Maya, 1994; Strecker *et al.*, 2003), la hipótesis de que las poblaciones de *Astyanax* de la PY corresponden a una sola especie y que la variación morfológica observada entre poblaciones corresponde a plasticidad fenotípica y no a procesos de especiación, tendrá que ser evaluada también con datos moleculares, en un contexto filogeográfico y filogenético, y con base en un muestreo exhaustivo que idealmente incluya las poblaciones aquí evaluadas morfológicamente. De cualquier forma, cabe recordar que trabajos moleculares previos (Hausdorf *et al.*, 2011; Claudia Patricia Ornelas *et al.*, 2008) no encontraron un linaje genético correspondiente a la forma eventualmente descrita como *A. altior* (Eilken *et al.*, 2017; Schmitter-Soto, 1998).

CONCLUSIONES

Los resultados de los análisis multivariados indican que a pesar del alto grado de solapamiento en forma corporal y otros caracteres morfológicos, existen diferencias estadísticamente significativas en forma corporal entre las especies de *Astyanax* asociadas a cenotes de la PY, *A. altior* y *A. bacalarensis*. No obstante, dichas diferencias, aunque

estadísticamente significativas, no son suficientes como para ofrecer diagnosis diferenciales. Adicionalmente, la diferenciación en forma corporal entre poblaciones de *Astyanax* spp. de la PY parece estar más determinada por hábitat (cenote vs. laguna vs. ciénaga) que por distribución geográfica diferencial de especies putativas alopátricas con distribuciones disyuntas. Por consiguiente, se hipotetiza que dicho patrón de diferenciación morfológica podría ser el resultado de plasticidad fenotípica en lugar de divergencia de linajes y especiación. Teniendo en cuenta lo anterior, los resultados de este trabajo no permiten rechazar la hipótesis nula aquí planteada. Futuras investigaciones serán necesarias para poner a prueba de manera más robusta estas nuevas hipótesis taxonómicas y ecológicas.

REFERENCIAS

- Adams, D. C., Collyer, M. L., & Kaliontzopoulou, A. (2020). *Geomorph: software for geometric morphometric analyses*. (3.2.1). <https://cran.r-project.org/package=geomorph>.
- Aguilar Sánchez, L. R., & Rebollar Domínguez, S. (1999). Deforestación en la Península de Yucatán, los retos que enfrentar. In *Madera y Bosques* (Vol. 5, Issue 2).
- Arcifa, M. S., Froehlich, O., & Gordon Northcote, T. (1991). Interactive ecology of two cohabiting characin fishes (*Astyanax fasciatus* and *Astyanax bimaculatus*) in an eutrophic Brazilian reservoir. *Journal of Tropical Ecology*, 7(2), 257–268.
<https://doi.org/10.1017/S0266467400005423>
- Baird, S. F., & Girard, C. F. (1854). *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia.: Vol. v.7 (1854-* (p. 26). Academy of Natural Sciences of Philadelphia.
<https://www.biodiversitylibrary.org/item/17735>
- Benítez, H. A., Püschel, T. A., & Benítez, H. A. &. (2014). Modelando la Varianza de la Forma: Morfometría Geométrica Aplicaciones en Biología Evolutiva Modelling Shape Variance: Geometric Morphometric Applications in Evolutionary Biology. In *Int. J. Morphol* (Vol. 32, Issue 3).
- Camargo-Guerra, T., Escalera-Vázquez, L. H., & Zambrano, L. (2013). Fish community structure dynamics in Cenotes of the Biosphere Reserve of Sian Ka'an, Yucatán Peninsula, Mexico. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 84(3), 901–911. <https://doi.org/10.7550/rmb.33019>
- Collyer, M. L., & Adams, D. C. (2018). *RRPP: RRPP: An R package for fitting linear models to high-dimensional data using residual randomization*. (pp. 1772–1229). *Methods in Ecology and Evolution*. 9(2). <https://besjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/2041-210X.13029>
- Collyer, M. L., & Adams, D. C. (2020). *Linear Model Evaluation with Randomized Residuals in a Permutation Procedure*. <https://cran.r-project.org/web/packages/RRPP>
- Contreras-Balderas, S., & Lozano-Vilano, M. de L. (1988). Problemas nomenclaturales de las formas mexicanas del género *Astyanax* (Pices: Characidae). *Zoología Informa*, 38, 1–13.
- Costa-Pereira, R., Araújo, M. S., Paiva, F., & Tavares, L. E. R. (2016). Functional morphology of the tetra fish *Astyanax lacustris* differs between divergent habitats in the Pantanal wetlands.

Journal of Fish Biology, 89(2), 1450–1458. <https://doi.org/10.1111/jfb.13026>

David Garson, G. (n.d.). *MULTIVARIATE GLM, MANOVA, AND MANCOVA 2015 Edition*.

www.statisticalassociates.com

do Nascimento, C. P., dos Santos, N. C. L., Dal Vesco, B. M., & Gomes, L. C. (2020). Trophic morphology features allow *Astyanax* endemic species coexistence in a Neotropical river system. *Journal of Fish Biology*, 97(3), 776–784. <https://doi.org/10.1111/jfb.14433>

Dowling, T. E., Martasian, D. P., & Jeffery, W. R. (2002). Evidence for Multiple Genetic Forms with Similar Eyeless Phenotypes in the Blind Cavefish, *Astyanax mexicanus*. *Molecular Biology and Evolution*, 19(4), 446–455. <https://academic.oup.com/mbe/article-abstract/19/4/446/995495>

Eigenmann, C. H. (1917). The American Characidae. Part. I. *Memoirs of the Museum of Comparative Zoology*, 43, 1–102.

Eigenmann, C. H. (1921). The American Characidae. Part. III. *Memoirs of the Museum of Comparative Zoology*, 43, 209–310.

Eilken, H. M., Diéguez-Hurtado, R., Schmidt, I., Nakayama, M., Jeong, H. W., Arf, H., Adams, S., Ferrara, N., & Adams, R. H. (2017). Pericytes regulate VEGF-induced endothelial sprouting through VEGFR1. *Nature Communications*, 8(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01738-3>

Fricke, R., Eschemeyer, W. N., & Van der Laan, R. (2020). *ESCHMEYER'S CATALOG OF FISHES: GENERA, SPECIES, REFERENCES*.

<http://researcharchive.calacademy.org/research/ichthyology/catalog/fishcatmain.asp>

Froese, R., & Pauly D. (2019). *FishBase. World wide web electronic publication*. Version 12/2019. www.fishbase.org

Hausdorf, B., Wilkens, H., & Strecker, U. (2011a). Population genetic patterns revealed by microsatellite data challenge the mitochondrial DNA based taxonomy of *Astyanax* in Mexico (Characidae, Teleostei). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 60(1), 89–97. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.03.009>

Hausdorf, B., Wilkens, H., & Strecker, U. (2011b). Population genetic patterns revealed by

microsatellite data challenge the mitochondrial DNA based taxonomy of *Astyanax* in Mexico (Characidae, Teleostei). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 60(1), 89–97.

<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.03.009>

Herman, A., Brandvain, Y., Weagley, J., Jeffery, W. R., Keene, A. C., Thomas, |, Kono, J. Y., Bilandžija, H., Borowsky, R., Carlson, B., Maldonado, E., Gross, J. B., Reed, |, Cartwright, A., Rohner, N., Wesley, |, Warren, C., Mcgaugh, S. E., & Address, P. (2018). The role of gene flow in rapid and repeated evolution of cave-related traits in Mexican tetra, *Astyanax mexicanus*. *Molecular Ecology*, 27. <https://doi.org/10.1111/mec.14877>

Hubbs, C. L. (1936). FISHES OF THE YUCATAN PENINSULA. *Carnegie Institution of Washington Publication*, 457, 157–287.

Jenkins, J. A., Bart, H. L., Bowker, J. D., Bowser, P. R., Macmillan, J. R., Nickum, J. G., Rose, J. D., Sorensen, P. W., & Whitley, G. W. (2014). Guidelines for the Use of Fishes in Research. In *Library of Congress Control Number*. www.fisheries.org

Langerhans, B., & Reznick, D. N. (2009). *Ecology and Evolution of Swimming Performance in Fishes: Predicting Evolution with Biomechanics Reproductive Aging View project Evolution of male color patterns in guppies View project*.

<https://www.researchgate.net/publication/268000677>

López Ramos, E. (1973). *ESTUDIO GEOLOGICO DE LA PENINSULA DE YUCATAN*.

Miller, R. R. (2009). *Peces dulceacuícolas de México* (Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (ed.)).

Mirande, J. M. (2010). Phylogeny of the family Characidae (Teleostei: Characiformes): from characters to taxonomy. *Neotropical Ichthyology*, 8(3), 385–568.

<https://doi.org/10.1590/S1679-62252010000300001>

Mise, F. T., Fugui, R., Paulo, J., Pagotto, A., & Goulart, E. (2013). The coexistence of endemic species of *Astyanax* (Teleostei: Characidae) is propitiated by ecomorphological and trophic variations. In *Biota Neotrop* (Vol. 13, Issue 3).

<http://www.biotaneotropica.org.br/v13n3/en/abstract?article+bn00513032013>
<http://www.biotaneotropica.org.br/v13n3/en/abstract?article+bn00513032013>

- Nelson, J. S., Grande, T. C., & Wilson, M. V. H. (2016). *Fishes of the world* (John Wiley & Sons (ed.); 5°).
- Ornelas-García, Claudia P., Bastir, M., & Doadrio, I. (2014). Morphometric variation between two morphotypes within the *Astyanax* Baird and Girard, 1854 (Actinopterygii: Characidae) genus, From a Mexican tropical lake. *Journal of Morphology*, 275(7), 721–731.
<https://doi.org/10.1002/jmor.20252>
- Ornelas-García, Claudia Patricia, Córdova-Tapia, F., Zambrano, L., Bermúdez-González, M. P., Mercado-Silva, N., Mendoza-Garfias, B., & Bautista, A. (2018). Trophic specialization and morphological divergence between two sympatric species in Lake Catemaco, Mexico. *Ecology and Evolution*, 8(10), 4867–4875. <https://doi.org/10.1002/ece3.4042>
- Ornelas-García, Claudia Patricia, Domínguez-Domínguez, O., & Doadrio, I. (2008a). Evolutionary history of the fish genus *astyanax* baird & Girard (1854) (Actinopterygii, Characidae) in mesoamerica reveals multiple morphological homoplasies. *BMC Evolutionary Biology*, 8(1).
<https://doi.org/10.1186/1471-2148-8-340>
- Ornelas-García, Claudia Patricia, Domínguez-Domínguez, O., & Doadrio, I. (2008b). Evolutionary history of the fish genus *astyanax* baird & Girard (1854) (Actinopterygii, Characidae) in mesoamerica reveals multiple morphological homoplasies. *BMC Evolutionary Biology*, 8(1), 1–17. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-8-340>
- Padilla y Sánchez, R. J. (2007). Evolución geológica del sureste mexicano desde le Mesozoico al presente en el contexto regional del Golfo de México. *Boletín de La Sociedad Geológica Mexicana*, LIX(1), 19–42. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=94320861003>
- Paulo-Maya, J. (1994). *Análisis morfométrico del género Astyanax (Pices: Characidae) en M+exico*. Instituto Politécnico Nacional.
- R-Core-Team. (2019). *R: A language and enviroment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing.
- Reyes Corral, W. daniel, & Aguirre, W. E. (2019). *Effects of temperature and water turbulence on vertebral number and body shape in Astyanax mexicanus (Teleostei: Characidae)*.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0219677>
- Rohlf, F. J. (2015). The tps series of software. *Hystrix*, 26(1), 1–4. <https://doi.org/10.4404/hystrix->

26.1-11264

- Rossini, B. C., Miranda Oliveira, C. A., Gonçalves De Melo, F. A., De Araújo Bertaco, V., Díaz De Astarloa, J. M., Rosso, J. J., Foresti, F., & Oliveira, C. (2016). Highlighting Astyanax Species Diversity through DNA Barcoding. *PLoS ONE*, *11*, 1–20.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0167203>
- Salas, D., Véliz, D., & Scott, S. (2012). Diferenciación morfológica en especies del género Cheirodon (Ostariophysi: Characidae) mediante morfometría tradicional y geométrica. *Gayana (Concepción)*, *76*(2), 142–152. <https://doi.org/10.4067/S0717-65382012000300007>
- Schmitter-Soto, J. J., Comín, F. A., Escobar-Briones, E., Herrera-Silveira, J., Alcocer, J., Suárez-Morales, E., Elías-Gutiérrez, M., Díaz-Arce, V., Marín, L. E., & Steinich, B. (2002). Hydrogeochemical and biological characteristics of cenotes in the Yucatan Peninsula (SE Mexico). In *Hydrobiologia* (Vol. 467).
- Schmitter-Soto, Juan J. (2017). A revision of Astyanax (Characiformes: Characidae) in Central and North America, with the description of nine new species. *Journal of Natural History*, *51*(23–24), 1331–1424. <https://doi.org/10.1080/00222933.2017.1324050>
- Schmitter-Soto, Juan J. (1998). *Diagnosis of Astyanax altior (Characidae), with a morphometric analysis of Astyanax in the Yucatan Peninsula*.
<https://www.researchgate.net/publication/234139741>
- Schmitter-Soto, Juan J. (2016). A phylogeny of Astyanax (Characiformes: Characidae) in Central and North America. *Zootaxa*, *4109*(2), 101–130. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4109.2.1>
- Sepúlveda Jiménez, D. A. (2012). *Análisis por morfometría geométrica de Astyanax (Pices: Characidae) en México*. Universidad Autónoma de México.
- Smith, L. I. (2002). *A tutorial on Principal Components Analysis*.
- Strecker, U., Bernatchez, L., & Wilkens, H. (2003). Genetic divergence between cave and surface populations of Astyanax in Mexico (Characidae, Teleostei). In *Molecular Ecology* (Vol. 12).
- Strecker, Ulrike, Faúndez, V. H., & Wilkens, H. (2004). Phylogeography of surface and cave Astyanax (Teleostei) from Central and North America based on cytochrome b sequence data. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *33*(2), 469–481.

<https://doi.org/10.1016/j.ympev.2004.07.001>

- T Lima, F. C., Andreas Buckup, P., Menezes, N. A., & Alberto Santos de Lucena, C. (2007). *Taxonomic review and osteology of the species complex Hemigrammus geisleri Zarske & Géry (Characiformes: Characidae) View project Diversity and Evolution of Gymnotiformes View project*. <https://www.researchgate.net/publication/234128931>
- Terán, G. E., Benitez, M. F., & Mirande, J. M. (2020). Opening the Trojan horse: phylogeny of *Astyanax*, two new genera and resurrection of *Psalidodon* (Teleostei: Characidae). *Zoological Journal of the Linnean Society*, *XX*, 1–18.
<https://doi.org/10.1093/zoolinnean/zlaa019/5819054>
- Toro Ibacache, V. M., Manriquez Soto, G., & Suazo Galdames, I. (2010). Morfometría Geométrica y el Estudio de las Formas Biológicas: De la Morfología Descriptiva a la Morfología Cuantitativa. In *Int. J. Morphol* (Vol. 28, Issue 4).
- Urrutia-Fucugauchi, J., Chavez-Aguirre, J. M., Pérez-Cruz, L., & De la Rosa, J. L. (2008). Impact ejecta and carbonate sequence in the eastern sector of the Chicxulub crater. *Comptes Rendus - Geoscience*, *340*(12), 801–810. <https://doi.org/10.1016/j.crte.2008.09.001>
- Valdez Moreno, M. E. (1997). *Estudio comparativo osteológico de las formas oculadas actuales del género Astyanax en diversas cuencas de México*. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Velázquez Aguirre, L. (1986). *Aplicación de principios geoquímicos en la hidrología kárstica de la península de Yucatán*.
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer Verlag.
<https://ggplot2.tidyverse.org>
- Yan, G. J., He, X. K., Cao, Z. D., & Fu, S. J. (2013). An interspecific comparison between morphology and swimming performance in cyprinids. *Journal of Evolutionary Biology*, *26*(8), 1802–1815.
<https://doi.org/10.1111/jeb.12182>
- Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., & Sheets, H. D. (2012). Geometric morphometrics for biologists: A primer. In *Geometric Morphometrics for Biologists* (2nd ed.). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/b978-0-12-386903-6.00001-0>