



**UNIVERSIDAD MICHOACANA DE SAN NICOLAS DE
HIDALGO**



**PROGRAMA INSTITUCIONAL DE MAESTRIA EN
CIENCIAS BIOLÓGICAS**

FACULTAD DE BIOLOGÍA

**FILOGEOGRAFÍA Y TAXONOMÍA DE *Xenotoca melanosoma* Fitzsimons,
1972 (Cyprinodontiformes: Goodeidae)**

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS (ECOLOGÍA Y CONSERVACIÓN)

PRESENTA

BIOL. ADAN FERNANDO MAR SILVA

DIRECTOR DE TESIS: Doctor en Ciencias. OMAR DOMÍNGUEZ DOMÍNGUEZ

CO-ASESOR: Doctor en Ciencias. IGNACIO DOADRIO VILLAREJO

MORELIA, MICHOACÁN

AGOSTO 2014

Dedicatoria

Este trabajo y todos mis logros siempre estarán dedicados a las personas que más amo en el mundo y que siempre me ayuda a salir del pozo cuando más lo necesito, gracias a mi familia por darme las alas que me han permitido alcanzar las metas que un día soñé. Son la parte más importante en mi vida. Mis los pilares sobre los que me apoyo y que me permiten continuar todos los días.

Mamá, Papá, Vale y Güich

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar mi más grande agradecimiento al Dr. Omar Domínguez Domínguez, por el apoyo y ayuda durante la realización de este trabajo que comenzó hace ya algún tiempo, por sopórtame desde la licenciatura y ayudarme a obtener un logro más en mi camino profesional. Gracias por los consejos y las ideas que me han ayudado a crecer como persona.

Al Dr. Ignacio Doadrio (Nacho), por permitirme crecer en el ámbito académico y personal al permitirme realizar una estancia de investigación en el Museo de Ciencias Naturales en Madrid, gracias en verdad me resulto una grata y fantástica experiencia.

Al Dr. Brian Langerhans de la Universidad De Carolina del Norte, por brindarme todo el apoyo y ayuda en la parte morfométrica del trabajo, gracias por su amistad y los buenos consejos

Al comité tutorial conformado por el Dr. Antonio González Rodríguez, la Dra Isabel Israde Alcántara y la Dra. Sabina Lara Cabrera. Agradezco los consejos, y apoyo brindado durante la realización del trabajo que permitió enriquecerlo en gran medida.

Gracias al Museo Zoológico de la Universidad de Michigan, en especial a Andrea Thomaz y a la división de peces por facilitarme imágenes de los organismos de la localidad tipo.

A mi familia a mi Mamá Ma. Teresa Silva Chávez y a mi Papá Valentín Mar Tiburcio, a mis hermanos Luis Martín Mar Silva y Valentín Mar Silva de nueva cuenta mi agradecimiento es infinito, como en el ciclo anterior han estado conmigo dándome apoyo y caminando a mi lado para ser mejor persona, siempre con el consejo adecuado en el tiempo exacto. A pesar de que ha sido un camino complicado, nunca desistieron en su apoyo y es por eso que me encuentro ahora escribiendo estas líneas que significan la finalización de un trabajo arduo.

A Taly muchas gracias por ayudarme a dar el último esfuerzo para terminar la tesis, en verdad que eres una parte importante de este logro me ayudaste a centrarme y poner los objetivos claros en mi mente, permitiste que me reencontrara con el camino que había perdido. Y más que el trabajo me has ayudado a sanar como persona, gracias por siempre estar allí, por los buenos momentos juntos, por permitirme volver a creer.

Rodo de nueva cuenta me ayudaste con tus consejos e ideas que son siempre muy atinadas, Lia de igual forma gracias por ese jalón de orejas y apoyo final para terminar la parte morfométrica.

Al Carnal Diushi que te puedo decir, mil gracias por todo, siempre estas cuando alguien te necesita, estuviste en momentos muy importantes, el poder convivir contigo durante mi estancia en España en verdad fue grandioso, esas idas a correr, las buenas cenas que nos dábamos, las aventuras del metro, en fin tantas cosas que quedaran en mi memoria por siempre.

A mis hermanos “moleculeros” como nos puso el buen Edgar, gracias por que comenzamos un camino juntos y que parecía muy largo sin embargo y gracias a todas esas horas de buenos ratos hicieron que pasaran volando, resumir en pocas líneas dos años de aventuras es muy complicado, y además esos momentos prefiero guardarlos en mis recuerdos. Elo gracias por no matarme durante nuestro periodo de convivencia en España, por convertirme en una persona en la que puedo confiar y a quien puedo recurrir cuando algo no va bien, sabes que siempre serás mi caos de la vida. A mi ama (Carmen), gracias por esa persona de buenos sentimientos y sincera que eres, por darme un consejo adecuado cuando lo necesitaba y por estar en los malos momentos, pero sobre todo en los buenos. Mi estimado Edgar que te puedo decir, momentos juntos sobran, que bueno fue el poder compartir viajes y platicas; como ese viaje con los daneses en los que por un momento pensé que moriríamos asfixiados por sus manos.

Gracias en verdad se han convertido en parte importantes de mi vida. A los amigos del lab con los cuales de igual forma tuve la oportunidad de compartir ratos de viajes, trabajo y demás experiencias durante estos dos años. Gracias por estar allí Adri, Chavo, Gina, Bere, Pao (Palmerin), Pao, Moi, Lore, Alma, Isai, Aly Juan, Oscar y todos aquellos que me falten pos ya saben que el agradecimiento es grande.

Por último y no menos importantes agradecer a mis amigos de toda la vida y los nuevos que se han sumado durante este ciclo que está por finalizar gracias por confiar en mí y echarme una mano cuando lo necesitaba. A Martin (Doc), Adrian, Alex, Mimi, Joss, Karliux, Tomás, Alfredo, Domingo, Ivonne, Karlita, Fany, Lili, Marce, el buen Sami y Gaby Marco, Chava Lulu, Tita, Mons, Zan, Gorrion, el Dr Estévez y a muchos que debido a la falta de espacio no menciono.

Agradecimiento aparte a CONACYT por el apoyo económico brindado, sin el cual no hubiera logrado cumplir con esta importante meta.

Gracias a las instituciones que me brindaron apoyo y los medios necesarios para la finalización de mi trabajo. En primer lugar gracias al Laboratorio de Biología acuática que se aha convertido en mi segundo hogar. El departamento de Biología de la Universidad de Carolina del Norte por brindarme un espacio adecuado durante mi estancia. Y al Museo Nacional de Ciencias Naturales en Madrid España, en particular al laboratorio de biología molecular por todo el apoyo brindado.

Tabla de contenido

I.	LISTA DE FIGURAS	i
II.	LISTA DE TABLAS	ii
III.	RESUMEN	iii
IV.	SUMMARY.....	iv
1.	INTRODUCCIÓN.....	1
1.1.	Modelos biológicos para probar hipótesis paleohidrológicas.....	2
1.2.	Filogeografía.....	4
1.3.	Conservación de la especie.....	6
2.	ANTECEDENTES	8
1.4.	Estudios filogenéticos en la subfamilia Goodeinae	10
1.5.	Fuentes de evidencia en la determinación de la historia evolutiva a nivel intraespecífico.....	13
2.	HIPÓTESIS	15
3.	OBJETIVOS.....	15
3.1.	OBJETIVO GENERAL.....	15
3.2.	OBJETIVOS PARTICULARES	15
4.	ÁREA DE ESTUDIO.....	16
4.1.	Historia Geológica y Climática.....	17
4.2.	Cuencas hidrológicas en el occidente del centro de México	19
5.	LITERATURA CITADA.....	21
6.	CAPITULO I Filogeografía de <i>Xenotoca melanosoma</i> Fitzsimons 1972 (Cyprinodontiformes:Goodeidae).....	27
7.	INTRODUCCIÓN.....	27
8.	MATERIALES Y MÉTODOS	29
8.1.	Análisis moleculares.....	29
8.2.	Métodos filogenéticos.....	30
8.3.	Índices de diversidad, demografía histórica y estructura poblacional.....	31
9.	RESULTADOS	33
9.1.	Relaciones filogenéticas.....	35
9.2.	Red de haplotipos	42
9.3.	Índices de diversidad.....	46
9.4.	Estructura Genética	49
9.5.	Demografía histórica.....	50

9.6.	Tiempos de divergencia	52
10.	DISCUSIÓN	53
10.1.	Inferencia filogenética y filogeográfica	53
10.2.	Demografía y estructura poblacional.....	55
10.3.	Biogeografía	56
10.3.1.	<i>Aislamiento de clados principales</i>	56
10.3.2.	<i>Implicaciones biogeográficas clado I</i>	57
10.3.3.	<i>Implicaciones biogeográficas clado II</i>	58
10.4.	Implicaciones taxonómicas	58
10.5.	Implicaciones en la conservación.....	59
11.	CONCLUSIÓN.....	60
12.	LITERATURA CITADA.....	61
13.	CAPÍTULO II Análisis morfométricos en poblaciones de <i>Xenotoca melanosoma</i> Fitzsimons 1972 (Cyprinodontiformes:Goodeidae).....	65
14.	INTRODUCCIÓN.....	65
15.	MATERIALES Y MÉTODOS	68
15.1.	Análisis Morfológicos y Morfométricos.....	68
15.1.1.	<i>Morfometría geométrica</i>	68
15.1.2.	<i>Medidas lineales</i>	69
15.1.3.	<i>Datos merísticos</i>	70
16.	RESULTADOS.....	71
16.1.	Morfometría	72
16.1.1.	<i>Morfometría geométrica</i>	72
16.1.2.	<i>Medidas lineales</i>	76
16.1.3.	<i>Caracteres merísticos</i>	80
16.2.	Diferencias entre grupos	80
16.2.1.	<i>Descripción morfológica del grupo II</i>	80
16.2.2.	<i>Patrones de pigmentación</i>	80
16.2.3.	<i>Dimorfismo sexual y reproducción</i>	81
16.2.4.	<i>Distribución</i>	81
16.2.5.	<i>Hábitat y Ecología</i>	81
16.2.6.	<i>Conservación</i>	82
16.2.7.	<i>Divergencias genéticas entre grupos</i>	82
17.	DISCUSIÓN	86

18.	LITERATURA CITADA.....	89
19.	CONCLUSIONES GENERALES.....	91
20.	ANEXOS.....	93
20.1.	ANEXO I	93
20.2.	ANEXO II	94
20.3.	ANEXO III	95
20.4.	ANEXO IV	96
20.5.	ANEXO V.....	97
20.6.	ANEXO VI.....	98
20.7.	ANEXO VII.....	99

I. LISTA DE FIGURAS

Figura 2 Filogenia de la tribu Chapalichthyini	11
Figura 2 Distribución de <i>Xenotoca melanosoma</i>	12
Figura 3 Intervalo de distribución de <i>Xenotoca melanosoma</i>	16
Capítulo I	
Figura 1 Hipótesis Filogenética de <i>X. melanosoma</i> utilizando el gen mitocondrial <i>cit-b</i> , basada en Inferencia Bayesiana.....	36
Figura 2 Hipótesis Filogenética de <i>X. melanosoma</i> utilizando el gen mitocondrial <i>cit-b</i> , basada en Máxima Verosimilitud	37
Figura 3 Hipótesis filogenética de <i>X. melanosoma</i> utilizando el gen nuclear Rodopsina, basada en Inferencia Bayesiana	38
Figura 4 Hipótesis filogenética de <i>X. melanosoma</i> utilizando el gen nuclear Rodopsina, basada en Máxima Verosimilitud	39
Figura 5 Hipótesis filogenética de <i>X. melanosoma</i> utilizando el <i>cit-b</i> y Rodopsina, obtenida con Inferencia Bayesiana	41
Figura 6 Red de haplotipos obtenida con <i>cit-b</i> de las poblaciones de <i>X. melanosoma</i> , con un valor de confianza del 95%.....	43
Figura 7 Red de haplotipos con <i>cit-b</i> de las poblaciones de <i>X. melanosoma</i> obtenida, con un valor de confianza 90%	44
Figura 8 Red de haplotipos de las poblaciones de <i>X. melanosoma</i> , obtenida con el gen nuclear Rodopsina	45
Figura 9 Gráfico de la distribución mismatch del clado I	51
Figura 10 Gráfico de la distribución mismatch del clado II	51
Figura 11 Hipótesis de los tiempos de divergencia de <i>X. melanosoma</i>	52
Capítulo II	
Figura 1 Vectores divergentes en hembras	76
Figura 2 Gradilla de deformación región pélvica, hembras.....	76
Figura 3 Gradilla de deformación dorso, hembras	76
Figura 4 Vectores en machos	77
Figura 5 Gradilla de deformación región abdominal, machos	77
Figura 6 Componentes principales, hembras	78
Figura 7 Componentes principales, machos	79
Figura 8 Análisis de varianza canónico, hembras	80
Figura 9 Análisis de varianza canónico, machos	80

II. LISTA DE TABLAS

CAPÍTULO I

Tabla 1 Localidades de colecta de organismos	33
Tabla 2 Modelos evolutivos de sustitución y parámetros estimados para <i>cit-b</i> y Rodopsina	34
Tabla 3 Valores de diversidad genética de las poblaciones de <i>Xenotoca melanosoma</i>	46
Tabla 4 Valores de diversidad genética de las poblaciones de <i>Xenotoca melanosoma</i>	47
Tabla 5 Valores de diversidad genética de ambos clados	48
Tabla 6 Valores de diversidad genética de ambos clados	48
Tabla 7 AMOVA de las poblaciones de <i>X. melanosoma</i>	49
Tabla 8 AMOVA de las poblaciones de <i>X. melanosoma</i> agrupando el clado II y separando el clado I	49
Tabla 9 AMOVA de las poblaciones del clado I de <i>Xenotoca melanosoma</i>	50
Tabla 10 Distribución mismatch de los dos clados en las poblaciones de <i>Xenotoca melanosoma</i>	50

CAPÍTULO II

Tabla 1 Localidades de colecta de organismos.....	72
Tabla 2 Valores medios de las tallas entre hembras y machos utilizando el valor del centroide como covariante	73
Tabla 3 Valores medios de las tallas entre hembras y machos utilizando el valor de la longitud estándar como covariante	74
Tabla 4 Valores estadísticos que muestran los valores de dimorfismo sexual con base a caracteres morfológicos utilizando Relative warps	74
Tabla 5 Valores estadísticos obtenidos entre hembras y machos utilizando relative warps	75
Tabla 6 Valores estadísticos obtenidos en el MANCOVA.....	75
Tabla 7 Eigenvalores y porcentaje de varianza acumulada en los tres primeros componentes principales	78
Tabla 8 Valores estadísticos de ANOVA.....	79
Tabla 9 Diferencias genéticas entre grupos y especies.....	84
Tabla 10 Medidas lineales en proporción a la longitud Estándar y caracteres merísticos.....	85

III. RESUMEN

La especie *Xenotoca melanosoma*, se encuentra restringida a la región occidental del centro de México y se distribuye en nueve cuencas aisladas de esta zona. En, los ríos Ayuquila, Tamazula, Ameca y Etzatlán, además de los lagos de Magdalena, Atotonilco, Sayula, Zapotlán y San Marcos. El presente estudio tuvo como finalidad determinar el patrón filogeográfico de la especie. Se colectó en 13 localidades que correspondieron a las cuencas donde se encuentra registrada la especie. Se obtuvieron 96 secuencias del gen mitocondrial Citocromo b y 36 del gen nuclear Rodopsina. Las relaciones filogenéticas obtenidas con inferencia Bayesiana y Máxima Verosimilitud, formaron dos clados principales; el primero conformado por las poblaciones de Ayuquila y Tamazula, que se considera clado I. El clado II está constituido por las poblaciones de los lagos de la zona occidental y los ríos de Ameca y Etzatlán. La red de haplotipos basada en Citocromo b, muestra dos haplogrupos independientes que concuerdan con los clados principales. Trece haplotipos fueron encontrados en las poblaciones, dos corresponden al clado I y los once están presentes en el clado II. Con el gen nuclear obtuvieron los mismos clados principales, sin embargo, la red de haplotipos no formó dos haplogrupos independientes. Se obtuvieron siete haplotipos, dos para el clado I y cinco para el clado II. El valor de diversidad haplotípica fue mayor en el clado II con un valor de 0.738, mientras que el clado I tiene un valor de 0.476. Los valores de D Tajima y F de Fu y Li indicaron un tamaño efectivo poblacional constante. La estructura poblacional fue explicada en su mayor parte por los clados principales con un valor de Φ_{st} 0.971 $p < 0.05$, y con un porcentaje del 82.60%. La distribución mismatch en el clado I es bimodal, lo que indicaría que en este clado las dos poblaciones se encuentran aisladas; por el contrario, el clado II muestra una distribución unimodal, que sugiere un contacto más reciente entre las diferentes poblaciones. La separación entre los clados principales ocurrió aproximadamente hace 2.7 millones de años durante el Plioceno Superior, y se asocia la actividad del complejo volcánico de Colima. En específico a la formación del Volcán de Colima. Por otro lado, se llevaron a cabo análisis de morfometría lineal, geométrica y de caracteres merísticos. Se digitalizaron 151 individuos de la especie para llevar a cabo los análisis. Tanto el grupo I como el II presentan dimorfismo sexual, siendo las hembras de mayor tamaño que los machos. En machos la diferencia en la forma del cuerpo entre los dos grupos, la encontramos en la región abdominal. Mientras que en hembras la encontramos en la región pélvica. Las medidas lineales, corroboraron la formación de los dos clados principales. En los machos la distancia entre el final de la aleta dorsal y la parte superior del pedúnculo caudal, es la medida que mayor información aporta a la variación entre grupos. En las hembras la variable que mayor información aporta a la variación entre grupos fue la distancia Preorbital. Los caracteres merísticos no muestran una separación clara entre los dos grupos, e inclusive muchos de estos se traslapan. Solo existe variación en los radios de la aleta caudal, presentando 37 el grupo I y 35 el grupo II. Los poros cefálicos también varían entre los grupos presentando diez en el grupo I y nueve en el grupo II.

Palabras clave: Clados Principales, haplogrupos, estructura genética, dimorfismo sexual, forma del cuerpo

IV. SUMMARY

Xenotoca melanosoma is restricted to the western region of central Mexico and it is dispersed in nine isolated basins from this area. In the Ayuquila, Tamazula, Ameca and Etzatlán rivers, besides Magdalena, Atotonilco, Sayula Zapotlán and San Marcos lakes. The purpose of this study was to determine the phylogeographic pattern of the species. The specimens were collected in 13 localities where there were previous records of it. 96 sequences of the cytochrome b mitochondrial gene and 36 of the rhodopsin nuclear gene were used. The phylogenetic relationships obtained by Bayesian inference and maximum likelihood formed two main clades. The first consisting of the Ayuquila and Tamazula populations, which were called clade I. The clade II consisted of the populations of the lakes in western and Etzatlán and Ameca rivers. The haplotype network based in cytochrome b shows two independent haplogroups consistent with the main clades. Thirteen haplotypes of the mitochondrial gene were obtained, two for the clade I and eleven to clade II. With the nuclear gene we obtained the same main clades, however no haplotype network formed two independent haplogroups. Seven haplotypes were obtained, two belonging to clade I and five to clade II. Haplotype diversity values were higher in the clade II with a value of 0.738, while clade I has a value of 0.476. The values of D Tajima and F of Fu and Li indicated a constant effective population size. The population structure was explained mostly by the main clades with a value of Φ_{st} 0.971 $p < 0.05$, and with a percentage of 82.60%. Mismatch distribution in clade I is bimodal, suggesting that the two populations are isolated in this clade. Conversely the Clade II shows a unimodal distribution suggesting a more recent contact between different populations. The spacing between the major clades took place approximately 2.7 million years ago during the upper Pliocene, and is associated with the activity of the Colima volcanic complex, and more specifically to the formation of Colima Volcano. Both the clade I and II are sexually dimorphic, with females larger than males. 151 individuals of the species were digitized to perform geometric morphometrics, linear morphometrics analysis and meristics characters were counted. Both group I and II are sexually dimorphic, with females larger than males. In males the difference in body shape between the two groups is found in the abdominal region. While in females we found the difference in pelvic region. Linear measurements corroborated the formation of the two main clades. In males the distance between the end of the dorsal fin and upper caudal peduncle is as more information contributes to the variation between groups. In females the variable that provides more information to the variation between groups was preorbital distance. The meristic characters show no clear separation between the two groups, and even many of these are overlapped. There is only variation in the rays of the caudal fin, featuring 37 in group I and 35 in group II. The cephalic pores have variation between groups showing ten in group I and nine in group II.

Key words: Main clades, haplogroups, genetic structure, sexual dimorphism, body shape

1. INTRODUCCIÓN

México es un país con una gran diversidad de peces dulceacuícolas ya que cuenta con alrededor de 520 especies de las cuales 163 son endémicas (Domínguez-Domínguez y Pérez-Ponce de León, 2007a). Esta diversidad de organismos representa cerca del 6% de las especies del planeta, mientras que, teniendo una extensión 10 veces más grande, Estados Unidos y Canadá, cuentan con 792 especies (Lydeard y Mayden 1995; De la Vega-Salazar, 2006), poniendo de manifiesto la importancia que tiene México en cuanto a la diversidad ictiofaunística. Uno de los grupos de peces endémicos más representativos del centro de México son los pertenecientes a la subfamilia Goodeinae, la cual ha evolucionado en los cuerpos de agua de esta región desde hace aproximadamente 15 millones de años (Domínguez-Domínguez *et al.*, 2012). Además, esta familia presenta características evolutivas, biológicas y ecológicas únicas como es la fertilización interna y la matrotrofia (Domínguez-Domínguez y Pérez-Ponce de León, 2007a).

Para la fertilización interna, los machos han desarrollado una modificación en los primeros 5 a 7 radios anales, los cuales se encuentran reducidos y forman un pequeño abultamiento llamado espermatopodio. El espermatopodio tiene como función la transferencia del paquete espermático (espermatozoos) a la hembra. El espermatopodio forma una pequeña bolsa cuando es presionado contra la abertura genital de la hembra, momento en el cual un órgano muscular interno en forma de anillo se contrae y expulsa el paquete espermático, siendo introducido en la apertura genital de la hembra, y así es como se lleva a cabo la fertilización interna (Domínguez-Domínguez, 2008). Al ser fecundado el ovulo en el folículo, este es expulsado al lumen del ovario donde el embrión completa su desarrollo (gestación intraluminal) (Domínguez-Domínguez, 2008).

Su forma de nutrición embrionaria, la matrotrofia, podría ser considerada como una de las características más distintivas de la subfamilia. Los embriones desarrollan una estructura especializada llamada trofotenia, la cual está formada por un tejido altamente vascularizado que se desarrolla a partir del ano del embrión, con el cual obtienen nutrientes y macromoléculas, además de realizar el intercambio gaseoso con la madre. La trofotenia tiene diferentes formas y tamaños dependiendo de la especie, e incluso puede llegar a estar muy reducida como en el caso de *Ataenobius toweri*. Se ha observado otros tipos de nutrición embrionaria en

goodeidos, sin embargo la trofotenia es la que más aporta nutrientes al embrión y la más característica del grupo. El desarrollo interno ofrece ventajas para los goodeidos, ya que las crías nacen en un estado avanzado de desarrollo, una mayor talla y la posibilidad de acceder a una gama mayor de alimentos y por lo tanto la posibilidad de sobrevivir es mayor. Sin embargo, la cantidad de descendencia es mucho menor al compararla con los peces ovíparos (Domínguez-Domínguez, 2008).

El contacto que es requerido para lograr la fertilización en los goodeidos ha permitido la aparición de estrategias de selección sexual entre miembros de esta familia, que han sido discutidas ampliamente como posibles causas de radiación adaptativa de este grupo (Macías-García *et al.*, 1994; Macías-García y Ramírez, 2005). Los procesos de selección sexual han provocado un dimorfismo entre machos y hembras de algunas especies, así mismo han contribuido a la aparición de elaborados cortejos que los machos de algunas especies tienen que adoptar para atraer la atención de la hembra (Domínguez-Domínguez y Pérez-Ponce de León, 2007).

1.1. Modelos biológicos para probar hipótesis paleohidrológicas

El origen de la subfamilia Goodeinae está asociada a la fuerte actividad tectovolcánica en la Sierra Madre Occidental durante el Mioceno (Domínguez-Domínguez *et al.*, 2006). Esta actividad se relaciona con la apertura del Proto-Golfo de California (Aranda-Gómez *et al.*, 2000). Sin embargo no solo la actividad tectónica ha influenciado la historia evolutiva del grupo, cambios climáticos, como la desertificación del noreste del país y la formación del desierto de Sonora (Parenti, 1981), también han contribuido en los procesos evolutivos de la subfamilia. Por estas razones los goodeinos han servido como un excelente modelo biológico para probar hipótesis paleohidrológicas en el centro de México, esto principalmente debido a los siguientes criterios: (1) su limitada capacidad de dispersión, ya que son peces primarios, por lo que sus movimientos o eventos de aislamiento están regidos por el cambio en la hidrografía de los sistemas acuáticos, como lo es la conexión de cuerpos aledaños o la captura de tributarios (Domínguez-Domínguez *et al.*, 2008a); (2) su origen Miocénico está fuertemente asociado a los principales eventos geológicos y climáticos que configuraron los sistemas hidrográficos en el centro de México (Doadrio y Domínguez, 2004, Domínguez-Domínguez *et al.*, 2010); (3) su

amplia distribución en el centro de México y (4) su alto nivel de endemismo en la región (Doadrio y Domínguez, 2004).

Es por esto que los patrones de distribución de las especies de goodeinos que cuentan con poblaciones en cuencas actualmente independientes, sugieren la existencia de conexiones históricas entre estos sistemas. El conocer la variación y estructura genética entre estas poblaciones es una importante aproximación para el entendimiento de los patrones biogeográficos actuales, y como estos pueden ser asociados a eventos geológicos que han afectado la hidrografía del centro de México desde el Mioceno Medio (Domínguez-Domínguez *et al.*, 2010).

Tal es el caso de la especie *Xenotoca melanosoma* Fitzsimons, 1972, la cual se distribuye en ocho cuencas independientes de la zona de humedales en el centro-occidente de México: los lagos de Zapotlán, Sayula, Atotonilco, Magdalena y los ríos Ayuquila, Tamazula, Ameca y Etzatlán (Mar-Silva, 2011). Se ha sugerido que la intensa actividad geológica en los últimos dos millones de años (m.a.) pudo moldear la estructura genética de las poblaciones de peces que habitan esta zona (Mateos *et al.*, 2002), lo cual puede incluir a *X. melanosoma*. Un estudio previo utilizando el gen mitocondrial Citocromo b (*cit-b*) (Mar-Silva, 2011), encontró una fuerte estructura en dos grupos, estos grupos presentaban diferencias genéticas más altas del promedio reportado para otras especies de vertebrados (2%; Avise, 2000), incluso por encima del valor mínimo del rango reportado para especies de goodeinos, que va de 1.7% a 11%, y muy cercana a las diferencias que presentan especies hermanas del género *Zoogoneticus* que es del 3% (Doadrio y Domínguez, 2004). Aún dentro de cada grupo se pudo observar estructuración genética con distancias de 0.9% entre poblaciones de cuencas aledañas, como los ríos Ayuquila y Tamazula (distancias Tamura-Nei).

En este sentido, *X. melanosoma* es una fuerte candidata para estudiar los procesos y eventos que han determinado la historia evolutiva de las especies y poblaciones de esta región de México. Por lo que, el realizar un estudio filogeográfico que incluyan análisis demográficos y de genética de poblaciones, nos permitiría determinar o encontrar dichos proceso en espacio y tiempo, y con ello poder vincularlos con eventos geológicos o climáticos y así obtener la historia evolutiva de la especie.

1.2. Filogeografía

El marco teórico de la presente investigación se fundamenta en la filogeografía, la cual estudia los principios y procesos que gobiernan la distribución de los linajes genealógicos (Avice *et al.*, 1987; Avice, 2000). Al estudiar aspectos históricos de la actual distribución de los linajes genealógicos, la filogeografía se considera como una subdisciplina de la biogeografía histórica, en donde se integran conceptos y técnicas de biología molecular, genética de poblaciones, demografía, sistemática filogenética, etología y paleontología (Avice, 2000). Además puede ser considerada como parte de la biología evolutiva, al ser el parteaguas entre el estudio de los procesos microevolutivos (relaciones tocogenéticas) y macroevolutivos (relaciones jerárquicas) (Domínguez-Domínguez, 2008). La filogeografía aplica el análisis de genealogías genéticas al estudio de la evolución de poblaciones. Por lo que determina el impacto que tienen los eventos históricos en la composición genética y en la estructura de las poblaciones modernas (Avice *et al.*, 1987).

Comúnmente, la filogeografía es utilizada como una herramienta para establecer patrones evolutivos entre poblaciones de una misma especie, sin embargo, los estudios filogeográficos también son útiles para inferir procesos demográficos históricos como el flujo génico, tamaño efectivo poblacional, secuencia de colonización, cuellos de botella, trayectorias evolutivas y fronteras entre especies (Domínguez-Domínguez, 2008). El uso de la distribución geográfica de datos filogenéticos constituye la base para descubrir eventos históricos, tal como la fragmentación de hábitat o expansión del intervalo de distribución, eventos de migración, o la extinción de linajes en áreas determinadas (Hardy *et al.*, 2002).

La filogeografía se basa en la idea de que la mayoría de las especies en la naturaleza tienen un cierto grado de estructura genética asociada con la geografía, la cual puede ser muy compleja en especies que habitan en áreas con fuerte actividad tecto-volcánica o paleoclimática, como el caso de la subfamilia Goodeinae, o bien puede ser de menor complejidad en especies que experimentan migración de individuos frecuentemente (Domínguez-Domínguez, 2008).

En general la filogeografía se puede dividir en dos escuelas que difieren en sus bases y análisis. La primera es una idea gráfico-descriptiva de las ramificaciones de un árbol para convertirla en una hipótesis de la historia biogeográfica de los organismos, basándose en la reconstrucción filogenética de árboles de genes, o

bien, en la construcción de redes de haplotipos, estos se basan en la reconstrucción de árboles bifurcados arreglados a manera de redes bajo métodos filogenéticos o de coalescencia. La segunda se basa en fundamentos estadísticos y matemáticos de demografía y estructura poblacional (Hey y Machado, 2003).

La filogeografía puede ser utilizada como herramientas en estudios taxonómicos. En sistemática, los taxa son utilizados como punto de partida para la clasificación biológica y los estudios filogenéticos, sin embargo, cuando el taxón se convierte en el objeto de estudio para determinar entidades evolutivas, encontrar fronteras y atributos de un taxón se vuelve complejo (Hey y Machado, 2003). Los conceptos de especie son muy discutidos y no existe un concepto universalmente aceptado, sin embargo, el uso de caracteres moleculares en la delimitación de especies se ha utilizado para acuñar el concepto filogenético de especie, el cual se define como el agrupamiento mínimo de individuos, de poblaciones o grupo de poblaciones que son diagnosticables por un número dado de caracteres compartidos, dentro de los cuales hay un patrón claro de ancestría-descendencia (McKittrick y Zink, 1988; Nixon y Wheeler, 1990; Davis y Nixon, 1992).

El concepto evolutivo de especie delimitado por caracteres moleculares se define de igual forma como un grupo de organismos o poblaciones que presentan monofilia recíproca, los cuales son candidatos a ser identificados como unidades evolutivas independientes (Simpson, 1961). Sin embargo la monofilia recíproca no es el único concepto implícito. El problema persiste en cuanto a qué nivel jerárquico la monofilia recíproca es aplicable a la delimitación de especie o es una mera representación de unidades dentro de una especie, por lo que el uso de relaciones filogenéticas infraespecíficas se ha mencionado como inapropiada en la delimitación de especies (Golstein *et al.*, 2000).

Templeton en el 2001 indica que los árboles de genes tienen el potencial de encontrar la interface entre la evolución intra- e interespecífica. De manera que propone el concepto de especie cohesiva, el cual se define como un linaje evolutivo cuyas fronteras se pueden ubicar a partir de las fuerzas genéticas y evolutivas que crean una cohesión reproductiva en la comunidad (Templeton, 1999). En 2001 Templeton denomina un linaje evolutivo como una población o grupo de poblaciones reproductivas con suficiente historia de relaciones de ancestría-descendencia, la cual presenta sus propias trayectorias y tendencias evolutivas.

1.3. Conservación de la especie

Sin embargo, a pesar de la importancia que tienen ciertas poblaciones de *X. melanosoma* debido a su marcada estructuración genética, han existido cambios en sus hábitats que ponen en riesgo su sobrevivencia (De la Vega-Salazar, 2006; Domínguez-Domínguez *et al.*, 2008a; Pedraza-Marrón, 2011). En general, en el centro de México, ha existido un marcado declive de los intervalos de distribución de las especies de peces de aguas continentales, las especies de la subfamilia Goodeinae son unas de las más afectadas debido a las actividades antropogénicas en la zona de mayor presión ambiental hacia los sistemas hídricos en el país, el centro de México. En el caso de *X. melanosoma* ha habido una disminución del intervalo de distribución del 75% y una reducción del 99% en las localidades en donde existían registros previos (De la Vega-Salazar, 2006; Domínguez-Domínguez *et al.*, 2008a). A pesar de esta disminución del intervalo de distribución, se considera que la especie es de tolerancia media a ambientes con degradación, es decir que puede sobrevivir en zonas con deterioro, pero ha sido desplazada de aquellas con mayor daño ambiental (De la Vega-Salazar, 2006).

Las condiciones más favorables para que las especies de goodeinos sobrevivan en el medio natural son aquellas zonas con altas concentraciones de oxígeno, aguas transparentes y corrientes que tengan bajas concentraciones de amonio y fosfato, así como sitios poco eutrofizados (De la Vega-Salazar, 2006). Desafortunadamente, muchas de las localidades donde se encuentra *X. melanosoma* presentan problemas de deterioro. Por mencionar solo un ejemplo, desde 1998 se había reportado el alto grado de contaminación industrial y municipal en una de las porciones del río Ayuquila (Lyons *et al.*, 1998), cuenca en donde actualmente *X. melanosoma* se considera extirpada (Lyons y Mercado-Silva, 2005).

Los resultados de la presente investigación pueden aportar datos importantes para proponer e implementar medidas de manejo y conservación de especies, esto a través de la determinación de unidades operativas de conservación (OCU's por sus siglas en inglés). Las OCU's son definidas como áreas adyacentes limitadas por una barrera geográfica que son habitadas por una o más poblaciones con un patrón genético similar (Doadrio *et al.*, 1996; Domínguez-Domínguez *et al.*, 2007b). La delimitación de OCU's sería una relevante contribución para la conservación de la especie, puesto que, al igual que otros peces del centro de México, la zona de

distribución de esta especie está sujeta a una intensa actividad antropogénica (*sensu* Barbour, 1973; Echelle y Echelle, 1984).

A la par de estas OCU's existen una importante número de definiciones para nombrar a grupos operativos, entre los más utilizados se encuentra el término de ESUs, el cual se describe como un grupo de organismos que han estado aislados de otros grupos de la misma especie por un periodo de tiempo suficiente para haber desarrollado divergencias genéticas significativas entre ellos (Ryder, 1986). Posteriormente, el concepto de ESU es definido como un grupo de poblaciones que presentan monofilia recíproca en marcadores mitocondriales y divergencias significativas en frecuencias alélicas en loci nucleares, considerándose poblaciones, especies o subespecies, y tomando en cuenta el tiempo que las poblaciones han estado aisladas (Avice y Ball, 1990; Moritz, 1994).

El presente proyecto presenta la historia evolutiva de las diferentes poblaciones de *X. melanosoma* en su intervalo de distribución y su posible relación con los eventos geológicos y climáticos ocurridos en los últimos 2 m.a. De esta forma se asocian los procesos que han llevado a conformar la fuerte estructura genética entre las poblaciones de *X. melanosoma*. Además, y a la par del análisis de la distribución histórica de la especie, el estudio permitirá proponer estrategias de conservación desde una base genética, con lo que se pretende aportar datos para la conservación de esta especie catalogada como en peligro de extinción en la NOM-ECOL-059-2011.

2. ANTECEDENTES

La subfamilia Goodeinae está representada por 41 especies en 19 géneros (Domínguez-Domínguez, 2008). Los trabajos encaminados en conocer la diversidad del grupo iniciaron en 1837, sin embargo la mayor cantidad de trabajos en cuanto a descripciones de especies se llevaron a cabo durante la segunda mitad del siglo XIX y principios del XX (Bustamante, 1837; Bean, 1887; Meek, 1902; Jordan y Gilbert, 1882). En un principio, la mayoría de las especies fueron descritas como pertenecientes a las familias Poeciliidae (Jordan y Everman, 1900; Meek 1902) y Cyprinodontidae (Regan 1906-1908).

El primero en reconocer a la familia Goodeidae como un grupo natural fue Carl Hubbs en 1924. Posteriormente Hubbs y Turner (1939) realizaron el primer estudio sistemático del grupo, enfatizando las diferencias morfológicas con respecto a Cyprinodontiformes. El género *Xenotoca* fue propuesto por Hubbs y Turner (1939) después de su revisión del género *Characodon* Bean, 1887, género donde tradicionalmente se incluía la especie *Xenotoca variata* (Bean, 1887). Posteriormente, en una revisión de los géneros *Xenotoca* y *Characodon* se llevó a cabo la re-descripción de *Xenotoca eiseni* (Rutter, 1896), y la descripción de *Xenotoca melanosoma* Fitzsimons, 1972, con base en caracteres morfológicos y etológicos (Fitzsimons, 1972). Años después, el mismo autor (Fitzsimons, 1974) corrobora la diferenciación de *X. melanosoma* como una especie válida mediante un estudio cariológico.

Las especies del género *Xenotoca* son descritas como goodeinos de un tamaño mediano a grande (75-85 mm de Longitud Estándar (LE)), presentan trofotenia en forma de cinta, el dimorfismo sexual se presenta en las aletas caudales de los machos y realizan exhibiciones o bailes para cortejar a las hembras (Fitzsimons, 1972).

En estudios realizados en el comportamiento de las tres especies del género *Xenotoca* mostraron diferencias en el cortejo, lo que sirvió para corroborar que se trataban de especies distintas (Fitzsimons, 1976). Sin embargo, al efectuar cruza forzadas, en el caso de *X. melanosoma* vs *X. eiseni* se obtuvo descendencia híbrida. Dado que en el medio natural donde habitan de manera simpátrica no se han observado híbridos y las cruza en condiciones de laboratorio no se dan si las hembras pueden elegir entre machos de las dos especies, el autor considera que la

diferencia de comportamiento reproductivo exhibido funciona como una barrera en poblaciones simpátricas. Por su parte, la hibridación no fue exitosa entre estas dos especies y *X. variata* en las cruas forzadas (ni por inseminación artificial), por lo que se sugirió que *X. variata* es la especie más diferenciada del género (Fitzsimons, 1976).

Xenotoca melanosoma presenta un intervalo de distribución que se limita al estado de Jalisco. Al sureste se puede encontrar en el río Tamazula, hacia la parte norte se localiza en manantiales y riachuelos cercanos a Guadalajara, en la porción oeste de su distribución incluye los Lagos de Atotonilco, el río Ameca y Etzatlán, así como las cuencas del río Grande de Santiago en la Quemada, cerca de la frontera entre Jalisco y Nayarit (Fitzsimons, 1972).

Es el miembro más grande del género llegando a alcanzar tallas de hasta 85 mm. En machos la aleta dorsal es grande, alcanzando a la aleta caudal cuando se relaja. Usualmente presenta entre 14 o 16 (13-17) radios en la aleta dorsal. Entre 34-35 (31-38) escamas a lo largo del cuerpo y 19 o 20 (18-21) alrededor del pedúnculo caudal. Catorce o 15 branquiespinas. Los dientes de la fila exterior fuertemente bífidos. Cinco poros sensoriales en la mandíbula. Presenta 48 cromosomas, de los cuales 8 son subtlocéntricos y 40 telocéntricos (Fitzsimons, 1972).

Además de la reducción de la parte anterior de la aleta anal como en todos los miembros de la subfamilia, el dimorfismo sexual es marcado en la longitud de las aletas dorsal y anal, estas son más largas en machos. Una de las características más llamativas es la longitud de la aleta dorsal. El crecimiento en la aleta dorsal es alométrico (Fitzsimons, 1972).

En los machos la coloración es oscura, parecido a un negro muy intenso, solamente la mejilla por debajo del ojo y la barbilla, además de la garganta y la región del pecho son de una tonalidad más opaca. En machos el color del cuerpo es gris uniforme en ambos lados y se va oscureciendo, presentan un patrón irregular de pequeñas manchas en la cabeza, nuca y dorso. El mentón, pecho y abdomen son de un color gris claro a blanco. Dependiendo de la madurez y tamaño del pez la aleta dorsal puede ser oscura. La aleta anal es oscura, sin embargo puede no observarse coloración en la membrana presente en los primeros seis radios. Las aletas pareadas son de color gris a negro (Fitzsimons, 1972).

Las hembras también presentan un color oscuro en el cuerpo, pero no muestran la fuerte pigmentación en las aletas observada en machos. Las aletas pareadas son grises o claras. El opérculo es plateado pálido. De tres a ocho barras verticales dispersas, variando en longitud entre una a tres veces el diámetro del ojo, estas se observan en el lado del cuerpo entre la base de la aleta pectoral y el origen de la anal (Fitzsimons, 1972).

La especie habita en manantiales y ríos de agua muy clara, muy poco turbia y casi sin contaminación. Se encuentra asociado con vegetación sumergida, predominando las algas filamentosas verdes, las cuales son abundantes en ciertas localidades. Los géneros *Cyperus* y *Lemna*, *Nasturtium* así como *Scirpus* y *Potamogeton* son encontrados en las localidades donde se distribuye la especie. La temperatura del agua puede variar entre 21 a 29 °C. Suelen vivir en cuerpos de agua con profundidades no mayores a un metro. Son omnívoros, alimentándose principalmente de animales acuáticos y en menor cantidad de algas (Fitzsimons, 1972; Miller *et al.*, 2005).

1.4. Estudios filogenéticos en la subfamilia Goodeinae

En un principio los trabajos que se realizaron para buscar las relaciones filogenéticas entre la subfamilia Goodeinae se basaron principalmente en caracteres del ovario y la trofotenia, así como caracteres morfológicos (Webb, 1998), sin embargo, esto implicaba una gran dificultad para poder reconstruir la historia evolutiva de los Goodeidos, debido a que en el caso de la trofotenia resultaba ser un carácter homoplásico (Doadrio y Domínguez, 2004).

El desarrollo de las técnicas moleculares permitió tener un nuevo enfoque en el estudio de la sistemática de peces. La cantidad de métodos desarrollados para la sistemática molecular, provee nuevas herramientas para el análisis de relaciones entre este grupo de vertebrados (Hillis *et al.*, 1996). Gracias a esto, se ha logrado aplicar y resolver preguntas a diferentes niveles taxonómicos (Doadrio y Domínguez, 2004; Webb *et al.*, 2004; Domínguez-Domínguez *et al.*, 2007c; 2008b; c).

La primera reconstrucción filogenética de la familia Goodeidae con base en caracteres morfológicos, Osteológicos, Cariológicos, Aloenzimas y características reproductivas, además de caracteres moleculares (Citocromo oxidasa subunidad I), soportaron la monofilia de la familia así como la de todos los géneros con excepción

de *Xenotoca*, ya que se observa que *X. variata* está más relacionado con *Ameca splendens*, que con *X. eiseni* y *X. melanosoma* (Fig. 1) (Webb, 1998). Con base en esto, Webb (1998) considera la utilización del género *Xenodontichthys* para las especies *X. melanosoma* y *X. eiseni*. Un estudio filogenético más exhaustivo de la subfamilia Goodeinae, utilizando el gen mitocondrial *cit-b* y basado en 162 individuos de 138 poblaciones y 41 especies soportó la monofilia de la subfamilia, corroborando la polifilia de *Xenotoca* reportada inicialmente por Webb (Domínguez-Domínguez *et al.*, 2010). La especie *X. melanosoma* junto con *X. eiseni* se ubicaron en la parte basal de la tribu Chapalichthyini, y se observaron indicios de una marcada estructura poblacional al interior de ambas especies (Domínguez-Domínguez *et al.*, 2010).

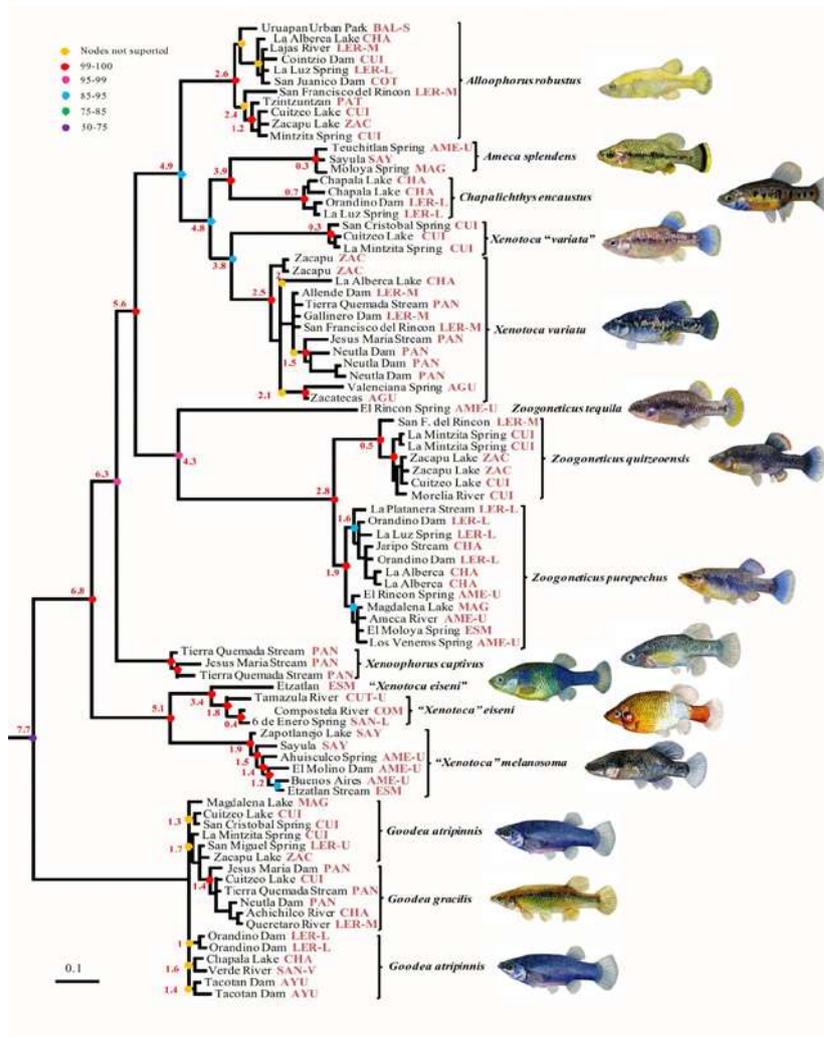


Fig. 1 Filogenia de la tribu Chapalichthyini, obtenida por Domínguez-Domínguez *et al.* (2010), la cual presenta también las posibles dataciones de los eventos cladogenéticos (números en rojo) obtenidos con el reloj molecular, el cual fue calibrado con la tasa de sustitución de 0.9% por millón de años. El soporte de los clados es representado por los puntos en color y la nomenclatura se encuentra en la parte superior de la imagen. (Tomado de Domínguez-Domínguez *et al.*, 2010).

Un estudio previo con 35 individuos de 15 poblaciones de *X. melanosoma* utilizando el gen *cit-b* mostró una fuerte estructuración genética entre las poblaciones de la especie (Mar-Silva, 2011). Se formaron dos grupos bien diferenciados, mostrando que las poblaciones del noreste y del sureste son genéticamente divergentes (Fig. 2). Las poblaciones del noreste con poca estructuración incluyen los organismos de los lagos de Magdalena, Sayula, Zapotlán, San Marcos, Atotonilco y el río Ameca, mientras que las poblaciones del sureste muestran una estructuración mayor, ríos Ayuquíla y Tamazula, presentando distancias genéticas del 0.9% entre poblaciones de ambas cuencas (Mar-Silva, 2011). Estos dos grandes clados formados en las hipótesis filogenéticas para *X. melanosoma*, presentan distancias genéticas que se encuentran por encima del valor mínimo reportado para especies bien reconocidas de vertebrados (2% Avise, 2000).

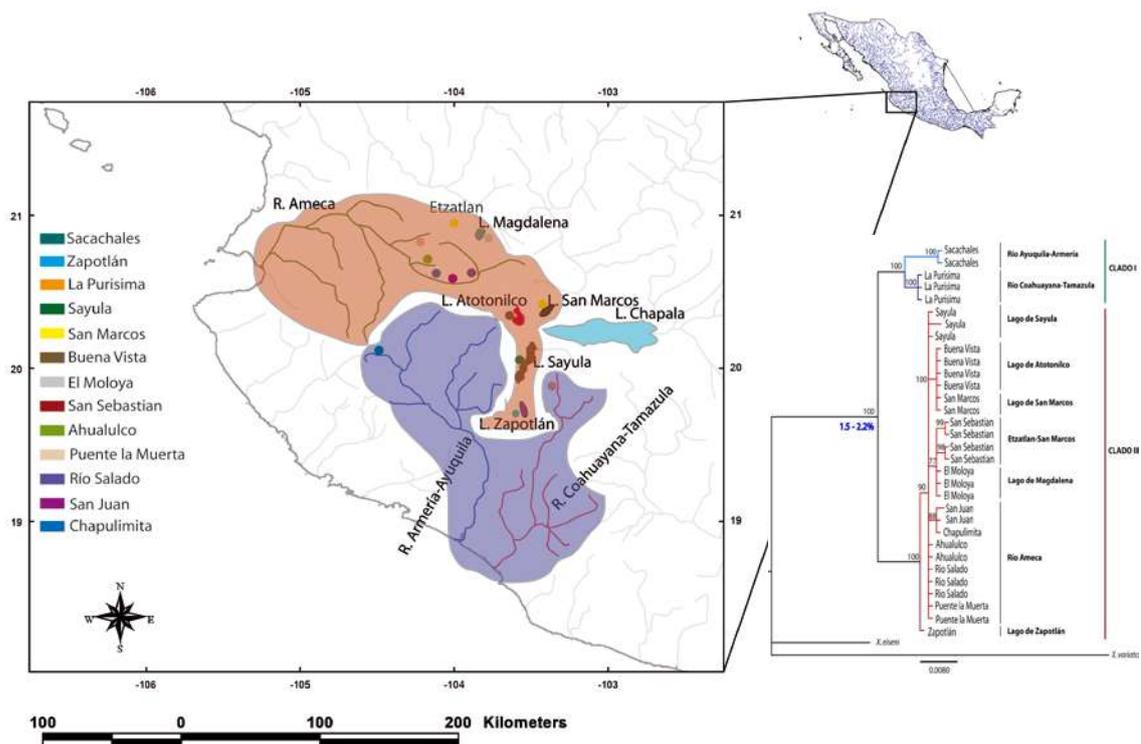


Fig. 2 Distribución de *Xenotoca melanosoma* mostrando los clados principales obtenidos en la hipótesis filogenética de Mar-Silva, (2011), en rojo el clado I y en morado clado II, los cuales concuerdan con la formación de los clados principales en la hipótesis filogenética mostrada a la derecha (Tomado de Mar-Silva, 2011).

1.5. Fuentes de evidencia en la determinación de la historia evolutiva a nivel intraespecífico

En general, los estudios filogeográficos y filogenéticos en vertebrados están basados en secuencias mitocondriales, esto es debido a que el ADN mitocondrial tiene una tasa de mutación alta, no recombina y su herencia es matrilineal (Lanteri y Confalonieri, 2003). Uno de los genes más utilizados para estudios filogenéticos en vertebrados es el gen mitocondrial citocromo *b* (*cit-b*). Particularmente en peces ha sido empleado para resolver preguntas a diferentes niveles taxonómicos, que incluyen relaciones entre especies muy cercanas y relaciones más profundas (Bernardi, 1997; Stepien y Kocher, 1997; Sturmbauer *et al.*, 1997). Esta característica tan versátil del *cit-b* es atribuida principalmente a las dos regiones o dominios que presenta, uno conservado y el otro altamente variable, así como a la variación en la tasa evolutiva en las tres posiciones del codón (Stepien y Kocher, 1997; Lydeard y Roe, 1997; Farías *et al.*, 2001).

A pesar de las ventajas que presentan las reconstrucciones filogenéticas utilizando regiones del genoma mitocondrial, puede llegar a ser arriesgado basarse sólo en este marcador, porque implica un solo locus y puede estar ligado a selección, o puede presentar problemas de introgresión (Vázquez-Domínguez, 2007). Por lo que la utilización de otra fuente de información tal como el genoma nuclear resulta adecuada para contrastar las relaciones jerárquicas que presenten las especies.

El análisis de secuencias con intrones provee una resolución en filogenias comparable a la del ADN mitocondrial (Palumbi, 1996), su amplia aplicabilidad (primers universales), las altas tasas de variabilidad y su contexto genético bien entendido, lo hacen un marcador atractivo para estudios de poblaciones y diversidad genética (Palumbi, 1996). El gen codificante Rodopsina (*rod*) se ha utilizado en especies de peces dulceacuícolas, permitiendo identificar relaciones de parentesco en especies relacionadas entre sí, a pesar de que cuenta con un bajo grado de variabilidad (Perea *et al.*, 2010; Denys *et al.*, 2013)

Otra fuente de información que permite descubrir procesos adaptivos en los organismos, es la morfometría geométrica, ya que la forma del cuerpo juega un papel muy importante en distintos tipos de estudios biológicos, diferencias en la forma del cuerpo podrían indicar diferentes roles funcionales realizados por las

mismas partes corporales, y que pueden ser debidas a diferentes respuestas a las mismas o a distintas presiones selectivas (Zelditch *et al.*, 2004)

En el caso particular de peces se emplea para estudiar modelos evolutivos por presiones de depredación en organismos que se distribuyen en cuerpos de agua dulceacuícolas en las Bahamas (Langerhans y Makowicz, 2009). El género *Gambusia* Poey, 1854, presenta modificaciones en diferentes partes del cuerpo provocadas por la presencia o ausencia de depredadores, y estas diferencias se han encontrado gracias a la utilización de la morfometría geométrica (Langerhans y Makowicz, 2009). La morfometría geométrica permite aislar en variables independientes el tamaño y la forma, lo que es de relevancia en organismos como los peces con un fuerte componente alométrico. Además, frente a la morfometría tradicional hay un mayor peso en la evolución de estructuras homólogas, lo que la hace más adecuada para los estudios de selección y adaptación.

2. HIPÓTESIS

La actividad volcánica en el graben de Colima originó una fuerte estructura genética en las poblaciones de *Xenotoca melanosoma* formando dos entidades biológicas independientes a cada lado del graben.

3. OBJETIVOS

3.1. OBJETIVO GENERAL

- Realizar un estudio filogeográfico y taxonómico de *Xenotoca melanosoma* en todo su intervalo de distribución.

3.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- Describir los patrones filogeográficos de las poblaciones de *Xenotoca melanosoma*.
- Obtener la historia demográfica de la especie en todo su intervalo de distribución.
- Identificar los eventos geológicos o climáticos que pudieron haber influido en la diversificación de la especie y compararlo con información de otras especies de peces co-distribuidas.
- Llevar a cabo un análisis taxonómico de las poblaciones de *Xenotoca melanosoma*.

4. ÁREA DE ESTUDIO

El centro de México es uno de los principales componentes fisiográficos del país. Comprende la parte sur del Altiplano Mexicano e incluye el Cinturón Volcánico Trans-Mexicano, y con excepción de su parte norte se encuentra bien delimitado, al oriente por la Sierra Madre Oriental, al occidente por la Sierra Madre Occidental y al sur por la Depresión del Balsas (Alaniz-Álvarez *et al.*, 2005; Domínguez-Domínguez y Pérez-Ponce de León, 2009). El presente estudio se realizó en la parte occidental de esta región, particularmente en la porción lacustre al sur del estado de Jalisco. Geológicamente esta zona es conocida como graben de Colima e incluye a los lagos de Zacoalco, Atotonilco, San Marcos, Sayula y Zapotlán, además de las partes altas de los ríos Ameca, Coahuayana-Tamazula y Ayuquila y las cuencas endorreicas de Etzatlán y Magdalena (Fig. 3) (Mar-Silva, 2011).

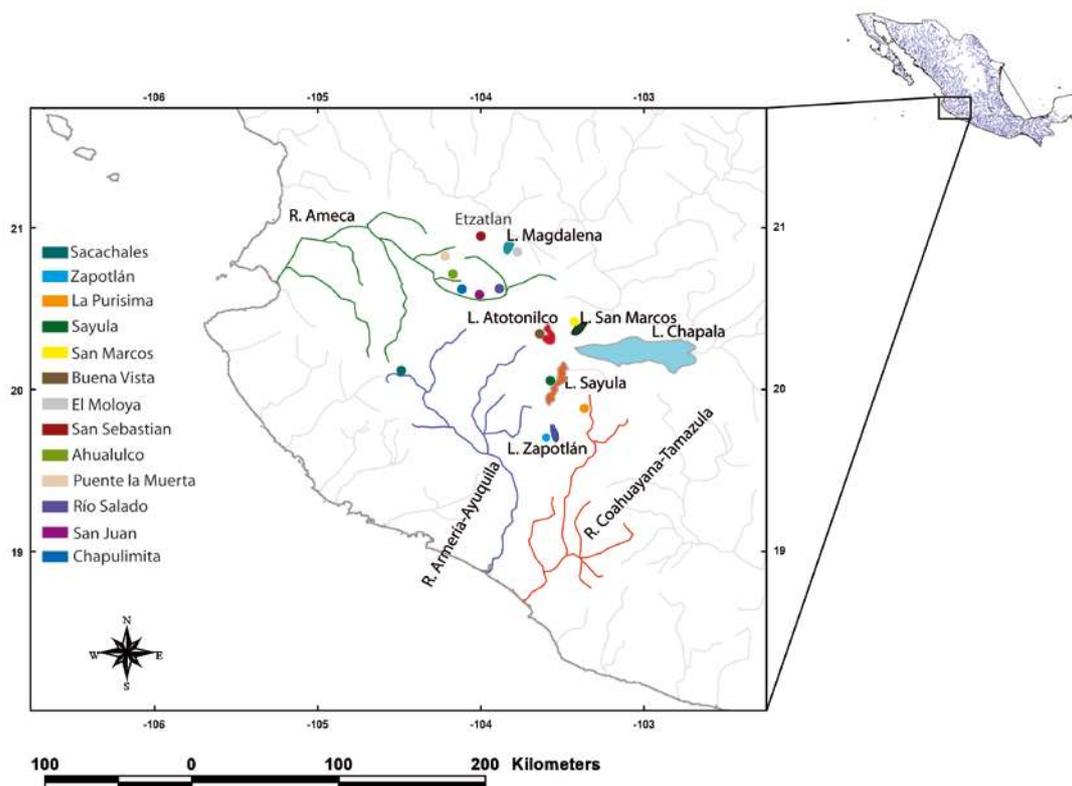


Fig. 3 Intervalo de distribución de *Xenotoca melanosoma*. Los puntos de colores corresponden a las poblaciones muestreadas de *Xenotoca melanosoma*.

4.1. Historia Geológica y Climática

La tectónica cenozoica del occidente de México se ha desarrollado de una manera muy dinámica a lo largo de la historia, esto debido a la subducción de la placa oceánica por debajo de la continental (Luhr *et al.*, 1985; Bourgois *et al.*, 1998). La zona lacustre en la región occidental del centro de México se encuentra asentada en el graben de Colima, el cuál es una fosa tectónica, estando su formación asociada a la actividad volcánica de la región (Schaaf, 2002).

El Graben de Colima es una de las zonas con mayor actividad de la región, ya que se encuentra en el centro de la triple unión formada por el bloque de Jalisco, Bloque de Mazamítla y el bloque de Tepic-Zacoalco (Allan y Carmichael, 1984; Garduño-Monroy *et al.*, 1998; Ferrari y Rosas-Elguera, 1999; Nieto-Samaniego *et al.*, 1999). Esta triple unión consiste en una bien definida zona interior de 70 km de longitud y 20 km de ancho, así como una zona exterior de 40 a 60 km de ancho, que representa una falla del Plioceno temprano con una orientación N-S del Cinturón Volcánico Trans-Mexicano (Allan y Carmichael, 1984).

Este graben es considerado como el límite oriental del bloque de Jalisco y lo separa del bloque de Michoacán. Está conformado por la parte norte y parte sur, los cuales a su vez están separados por el complejo volcánico de Colima. La parte norte está constituido por el semi-graben Amacueca de dirección N-E y por el graben de Sayula de dirección N-S, la cual comenzó su extensión durante el Plioceno con el emplazamiento de rocas volcánicas (Rosas-Elguera, 1998), el fallamiento normal tuvo un desplazamiento vertical de 2.5 km (Allan, 1986). La prolongación hacía el mar del graben de Colima junto con la falla de Barra de Navidad son consideradas el límite activo del Bloque de Jalisco (Rosas-Elguera, 1998).

La actividad tectónica en el interior del graben se encuentra influenciada por una cadena de volcanes en la región sur, originados durante el Plioceno temprano y culmina con la aparición del Volcán de Colima (Allan y Luhr, 1982). Durante el Plioceno tardío los sistemas volcánicos presentes en el graben han presentado erupciones de lavas, que se encuentran asociadas a basaltos alcalinos (Allan y Carmichael, 1984).

Dentro de la zona hay una serie de depresiones que también han configurado la región. La depresión de Amatlán de Cañas cuenta con alturas máximas en la

planicie de 1000 msnm y esta seccionada por el río Ameca, en la parte norte la región está delimitada por la sierra de Guamuchil, en donde las elevaciones mayores llegan a los 1500 msnm. Se piensa que esta estructura es reciente debido a lo bien preservados de las facetas triangulares del escarpe que limita la planicie (Rosas-Elguera, 1998).

El vulcanismo en la depresión es de afinidad alcalina y calcoalcalino, llegándose a encontrar intercalados con conglomerados formados por fragmentos de rocas volcánicas y plutónicas. Restos de Mamut encontrados ubican a las rocas en el Pleistoceno (Nieto-Obregón *et al.*, 1992). Los volcanes situados en la depresión de Amatlán de Cañas son los de Amajaquillo, Ciénega y Laja. Los dos primeros son de carácter calcoalcalino; por otro lado el volcán la Laja es de carácter alcalino, al igual que las mesas de basaltos entre los ríos Ameca y Atenguillo, así mismo el volcán el Vigía, que también se encuentra en esta zona, muestra el mismo carácter antes mencionado (Nieto-Obregón *et al.*, 1992; Richter y Carmichael, 1992). Las edades calculadas indican que se trata de un vulcanismo reciente, entre 0.64 y 3.6 m.a., respectivamente (Richter y Carmichael, 1992).

La depresión de Ameca es una planicie menor a 1300 msnm, la sierra de la Laja forma el límite norte, siendo la base roca granítica (Grajales-Nishimura y López-Infanzón, 1983). Los sedimentos que descansan son conglomerados y areniscas del cretácico tardío (Rosas-Elguera, 1998). En la región suroeste aflora un intrusivo cuarzomonzonítico (González-Partida y Martínez-Serrano, 1989). Su límite oriental son rocas riolíticas y andesíticas del plioceno tardío, aflora al igual una parte vulcanosedimentaria (Rosas-Elguera, 1998). Un escarpe de dirección este-oeste de 30 Km de longitud, que hacia el oriente cambia a una dirección N 35° O, marca el límite norte de esta depresión, el espesor de los sedimentos es de unos 1000 m. Estudios en la sierra de la Laja indican un fallamiento inverso (Rosas-Elguera, 1998). Además existe un fechamiento de 3.29 Ma. La cual indicaría la entrada de la presa en esta zona, esta fecha se encuentra en el rango de edades inferidas para el represamiento en el sector (Com. Pers. Israde-Alcántara, 2014).

La depresión Atotonilco-Zacoalco presenta una altura promedio de 1400 msnm, es el extremo suroeste del graben de Tepic, en esta zona se ubican las cuencas de Zacoalco, San Marcos y Atotonilco, los ejes mayores tienen una dirección NO-SE, al igual que las anteriores, el límite norte está dado por un escarpe cuya dirección es

casi E-O, las direcciones son considerablemente menores que en las anteriores depresiones y cambia de dirección E-O a S-NE, la traza de la falla San Marco sirve como conducto de las manifestaciones termales, donde se pueden alcanzar temperaturas de hasta 90 °C (Rosas-Elguera, 1998). El espesor de los sedimentos lacustres y vulcano-sedimentarios es de al menos 750 m (Gutiérrez-Negrín, 1984), aunque podría ser que el espesor alcance los 900 m como sucede en el graben de Colima (Allan, 1985). Al norte la característica principal de esta depresión es la naturaleza bimodal de su vulcanismo calco-alcalino con edades de 2.0 y 0.65 m.a. (Allan, 1986; Delgado-Granados, 1991).

El complejo volcánico La Primavera marca el límite norte del graben, sus rocas hiperalcalinas son del Pleistoceno (Mahood, 1977; Demant y Vicent, 1978). La sierra de San Marcos limita hacia el oriente con la depresión de Atotonilco-Zacoalco. Una secuencia de rocas volcánicas del Mioceno tardío-Plioceno tardío es el límite sur, el espesor de estos es de 750 m. El vulcanismo presente en esta depresión muestra una diferencia clara con respecto a las depresiones antes mencionadas ya que los volcanes monogénéticos están prácticamente ausentes en la depresión de Ameca (Rosas-Elguera, 1998), mientras que en la depresión de Amatlán la afinidad volcánica es Alcalina y calco-alcalina (Nieto-Obregón *et al.*, 1992; Righter y Carmichael, 1992). Por su parte la depresión de Zacoalco-Atotonilco es calco-alcalina (Delgado-Granados, 1991).

Los bloques hundidos en la depresión son los ubicados en el suroeste, es común encontrar manantiales asociados con esta falla (San Marcos, Villa Corona y Aguacalientes), cuyas temperaturas pueden ser de 40 a 90 °C. El límite norte es una falla normal con una dirección de máxima extensión NE-SO (Rosas-Elguera, 1998).

Además de la actividad tectónica en la zona, la actividad climática ha tenido un papel importante en la configuración hidrológica, durante el Plioceno se experimentó una sequía y por lo tanto un bajo nivel de agua en las cuencas del centro de México que fue un factor importante en la diversificación de los Goodeidos (Doadrio y Domínguez, 2004; Ortega *et al.*, 2010; Domínguez-Domínguez *et al.*, 2010)

4.2. Cuencas hidrológicas en el occidente del centro de México

La región occidental del centro de México ha sufrido una fuerte actividad tectovolcánica por lo que los sistemas hidrológicos de la región son muy complejos.

Existe una hipótesis que indica que los lagos de esta zona han estado en contacto en el pasado. Sedimentos encontrados en el Lago de Chapala indican que este presentaba una mayor extensión a la actual. Estos depósitos sugieren una condiciones ambientales uniformes durante un largo periodo de tiempo, a pesar de que también indican una fuerte actividad volcánica. Depósitos lacustres de Jocotepec podrían indicar la presencia de un arroyo que fluía al Oeste, el cuál era un afluente del Lago de Chapala y que posiblemente lo conectaba con otras regiones, por ejemplo el Río Ameca (Mateos *et al.*, 2002).

El lago de San Marcos es una cuenca endorreica, la cual contenía varios lagos someros que presentan una importante fluctuación temporal. Hallazgos de sedimentos lacustres proponen una posible conexión entre el antiguo lago de Chapala, San Marcos, Zacoalco y Atotonilco, por lo que es muy probable que la antigua salida del Lago de Chapala fluía de Jocotepec a San Marcos (Miller y Smith, 1986). Así mismo, en base a depósitos aluviales en la cuenca del Río Ameca, se sugiere que los lagos del centro de México fluían a la cuenca de Chapala (Barbour, 1973), para posteriormente fluir a la cuenca de Ameca, representando el río Ameca la salida al mar del Río Lerma (Tamayo y West, 1964; Barbour, 1973).

Las partes altas de los ríos Ayuquila-Armería (Ayuquila) y Coahuayana-Tamazula (Tamazula), forman parte de la distribución actual de *X. melanosoma*. En el caso de la cuenca Armeria-Ayuquila se origina en las montañas de Talpa, Quila y Manantlán, en la Sierra Madre Occidental. Parte de sus drenajes se encuentran en el estado de Jalisco, presentando salida hacia el océano Pacífico por el estado de Colima. Sus principales tributarios son los ríos Tuxcacuesco, Autlan, San Pedro, Apozol, Tecomates y Ayuquila. Por otra, parte la cuenca Coahuayana-Tamazula nace en la sierra de Mazamitla para posteriormente drena hacia el pacífico. Sus principales tributarios incluyen a los ríos Tuxpan, Tamazula, Pihuamo, Naranjo y Guzman (Domínguez-Domínguez *et al.*, 2006).

5. LITERATURA CITADA

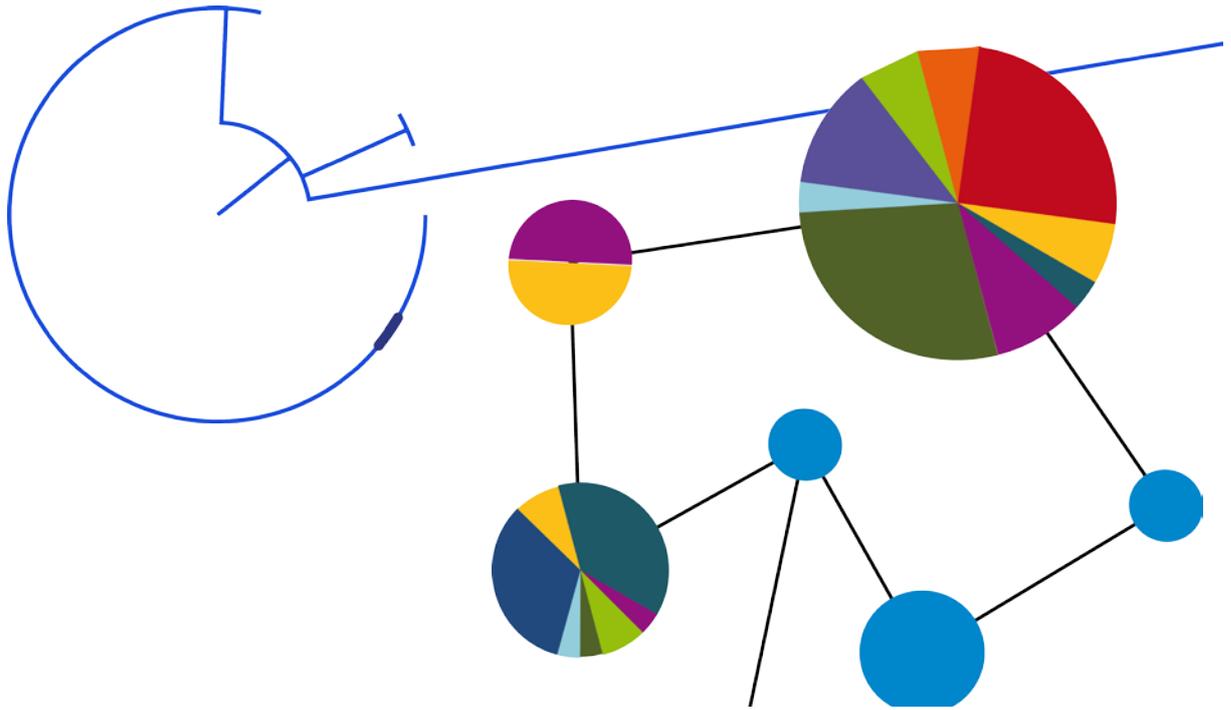
- Alaniz-Álvarez, S. A. y A. F. Nieto-Samaniego. 2005. **El sistema de fallas Taxco-San Miguel de Allende y la Faja Volcánica Transmexicana, dos fronteras tectónicas del centro de México activas durante el Cenozoico.** Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana. 57 (1): 65-82.
- Allan, J. F. y J. F. Luhr. 1982. **K-Ar ages of Late-Cenozoic alkaline and calc-alkaline lavas of the Colima Graben, SW Mexico.** *EOS Transactions Am Geophys Union.* 63 (45):1154.
- Allan, J. F. e I. S. E. Carmichael. 1984. **Lamprophyric lavas in the Colima graben, SW Mexico.** 88: 203-216.
- Allan, J.F. 1985. **Sediment depth in the Northern Colima Graben from 3-D interpretation of gravity.** *Geofísica International.* 24 (1): 21-30.
- Allan, J. F. 1986. **Geology of the Colima and Zacoalco grabens, SW: Late Cenozoic rifting in the Mexican Volcanic Belt.** *Geological Society of America Bulletin.* 97:473-485.
- Aranda-Gómez J.J., C.D. Henry y J.F. Luhr. 2000. **Evolución tectomagmática post-paleocénica de la Sierra Madre Occidental y de la porción meridional de la provincia tectónica de Cuencas y Sierras, México.** *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana,* 53: 57-59.
- Avise, J.C., J. Arnold, R. M. Ball, E. Bermingham, T. Lamb, L.E. Neigel, C.A. Reeb, y N.C. Saunders. 1987. **Intraspecific phylogeography: The mitochondrial DNA bridge between populations genetics and systematic.** *Annual reviews in Ecology Systematics.* 18: 489-522.
- Avise, J. C. y Jr. R. M. Ball. 1990. **Principles of genealogical concordance in species concepts and biological taxonomy.** 7: 45-67.
- Avise, J. C. 2000. **Phylogeography: The history and formation of species.** Harvard University Press, Cambridge. 447 p.
- Barbour, C. D. 1973. **A biogeographical history of *Chirostoma* (Pisces:Aterinidae): a species flock from the Mexican plateau.** *Copeia.* 3: 533-556.
- Bean TH. 1887. **Descriptions of five new species of fishes sent by Prof. A. Duges from the province of Guanajuato, Mexico.** *Proc. U.S. Nat. Mus,* 10: 370-275.
- Bernardi, G. 1997. **Molecular Phylogeny of the Fundulidae (Teleostei, Cyprinodontiformes) Based on the Cytochrome b Gene.** En: Kocher, T. D. y Stepien C. A. (Ed) **Molecular systematic of fishes.** Academic press. Pp. 285-302.
- Bustamante M. 1837. ***Cyprinus viviparus*, (vulo) mexlapique.** **El Mosaico Mexicano.** Tom. II. *Historia Natural, Ichthyologia*
- Bourgois j., V. Renard, J. Aubouin, W. Bandy, E. Barrier, T. Calmus, J.C. Carfantan, J. Guerrero, J. Mammerickx, B. Mercier de Lepinay, F. Michaud Y M. Sosson. 1998. **Fragmentation en cours du bord Oues du Continent Nord-Américain: Les frontières sous-marines du Bloc Jalisco (Mexique).** *Académie des Sciences Comptes Rendus.* Paris. 307:617-626.
- Davis, J. I. & Nixon, K.C. 1992. **Population, genetics variation, and delimitation of phylogenetic species.** *Systematic Biology.* 41: 421-435.
- Delgado-Granados, H. 1991. **Características del Rift de Chapala.** Convención sobre la Evolución Geológica de México. Memoria. Resúmenes. 40 p. En Rosas-Elguera, J. 1998. **Tectónica Extensional en el Occidente de la Faja Volcánica Trans-Mexicana Frontera norte del bloque de Jalisco.** Tesis Doctoral UNAM. 113p.
- De la Vega-Salazar, M.Y. 2006. **Estado de Conservación de los peces de la familia Goodeidae (Cyprinodontiformes) en la mesa central de México.** *Rev. Biol. Trop.* 54(1):163-177.
- Demant, A. y P.M. Vicent. 1978. **A preliminary report on the comenditic dom and ash flow complex of Sierra La Primavera, Jalisco; Discussion.** *Revista del Instituto de Geología.* 2: 218-222.
- Denys, G.P.J., A. Dettai, H. Persat, I. Doadrio, C. Cruaud y P. Keith. 2013. **Status of the Catalan chub *laietanus* (Actinopterygii, cyprinidae) in France: input from morphological and molecular data.** *Knowl. Managt. Aquatic Ecosyst.* 408, 04.
- Doadrio, I., A. Perdices y A. Machordom. 1996. **Allozymic variation of the endangered killifish *Aphanius iberus* and its application to conservation.** *Environmental Biology of Fishes.* 45: 259-271.
- Doadrio, I. y O. Domínguez. 2004. **Phylogenetic relationship Within the Fish Family Goodeidae Based on Cytochrome b Séquence data.** *Molecular Phylogenetics and Evolution.* 31: 416-430.

- Domínguez-Domínguez, O., I. Doadrio y G. Pérez-Ponce de León. 2006. **Historical biogeography of some river basins in central Mexico evidenced by their goodeine freshwater fishes: a preliminary hypothesis using secondary Brooks parsimony analysis.** *Journal of Biogeography*. 33:1437-1447.
- Domínguez-Domínguez, O. y G. Pérez-Ponce de León. 2007a. **Los Goodeidos, Peces Endémicos del Centro de México.** *Biodiversitas*. 75: 12-15.
- Domínguez-Domínguez, O., L. Boto, F. Alda, G. Pérez-Ponce de León e I. Doadrio. 2007b. **Human Impacts n Drainages of the Mesa Central, Mexico, and Its Genetic Effects on an Endangered Fish, *Zoogoneticus quitzeoensis*.** *Conservation Biology*. 21 (1): 168-180.
- Domínguez-Domínguez, O., A. Pompa-Domínguez e I. Doadrio. 2007c. **A New Species of the genus *Yuriria* Jordan y Everman, 1896 (Actinopterygii, Cyprinidae) from the Ameca Basin of the central Mexican plateau.** *Graellsia*. 63 (2): 259-271.
- Domínguez-Domínguez, O. 2008 **Filogeografía de *Zoogoneticus quitzeoensis*, *Xenotoca variata* y *Allophorus robustus* (Cyprinodontiformes:Goodeidae) en el centro de México: implicaciones taxonómicas y de conservación.** Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología. Universidad Autónoma de México. 241 p.
- Domínguez-Domínguez, O., L. Zambrano, L.H. Escalera-Vázquez, R. Pérez-Rodríguez y G. Pérez-ponce de Leon. 2008a. **Cambio en la distribución de goodeidos (Osteichthyes: Cyprinodontiformes: Goodeidae) en cuencas hidrológicas del centro de México.** *Revista Mexicana de Biodiversidad* 79: 501-512.
- Domínguez-Domínguez, O., F. Alda, G. Pérez-Ponce de León, J. L. García-Garitagotia y I. Doadrio. 2008b. **Evolutionary history of the endangered fish *Zoogoneticus quitzeoensis* (Beab, 1898) (Cyprinodontiformes: Goodeidae) using a sequential approach to phylogeography based on mitochondrial and nuclear DNA data.** *Evolutionary Biology. BMC Evolutionary Biology*, 8:161.
- Domínguez-Domínguez, O., R. Pérez- Rodríguez, e I. Doadrio. 2008c. **Morphologic and genetic comparative analyses of populations of *Zoogoneticus quitzeoensis* (Bean, 1898) (Cyprinodontiformes: Goodeidae) from Central Mexico, with description of a new species.** *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 79:373-383.
- Domínguez-Domínguez, O. y G. Pérez-Ponce de León. 2009. **¿La mesa central de México es una provincia biogeográfica? Análisis descriptivo basado en componentes bióticos dulceacuícolas.** *Revista Mexicana de Biodiversidad*. (80):835-552.
- Domínguez-Domínguez, O., C. Pedraza-Lara., N. Gurrola-Sánchez., R. Pérez-Rodríguez, I. Israde-Alcántara, V. H. Garduño-Monroy, I. Doadrio, G. Pérez-Ponce de León, y D. Brooks. 2010. **Historical biogeography of the Goodeinae (Cyprinodontiforms).** in Uribe-Aranzabal, M. C. and H. Grier, editors. *Viviparous fishes II*. New Life Publications, Florida. En prensa.
- Echelle, A. A. y A. F. Echelle. 1984. **Evolutionary generics of “species flock”: Aterinid fishes on the Mesa Central of Mexico.** *In* Evolution of fish species flocks. A.A. Echelle e I. Kornfield (eds). University of Maine at Orono Press. P 93-110.
- Farías, I. P., G. Ortí, I. Sampaio, H. Schneider y A. Meyer. 2001. **The cytochrome b gene as a phylogenetic marker: the limits of resolution for analyzing relationships among cichlid fishes.** *Journal of Molecular Evolution* 53: 89-103.
- Ferrari, L. y J. Rosas Elguera 1999. **Late Miocene to Quaternary extension at the northern boundary of the Jalisco block, western Mexico: The Tepic-Zacoalco rift revised.** En Delgado-Granados, H., G. Aguirre-Díaz y J. M. Stock. (eds). **Cenozoic Tectonics and Volcanism of Mexico: Boulder Colorado.** Geological Society of America Special paper 334.
- Fitzsimons, J. M. 1972. **A Revision of Two Genera of Goodeid Fishes (Cyprinodontiformes, Osteichthyes) from the Mexican Plateau.** *Copeia*. 1972 (4): 728-756.
- Fitzsimons, J. M. 1974. **Morphological and Behavioral Intermediacy in Hybrids of Two Species of Goodeid Fishes (Cyprinodontiformes, Osteichthyes) from México.** *Copeia*. 1974 (4): 848-855.
- Fitzsimons, J. M. 1976. **Ethological Isolating Mechanisms in Goodeid Fishes of the Genus *Xenotoca* (Cyprinodontiformes, Osteichthyes).** *Bulletin of the Southern California Academy of Science*. 75:84-99.
- González-Partida, E. y R. Martínez-Serrano. 1989. **Geocronometría, termometría e isotopía de azufre y carbono de la brecha cuprífera La Soepresa, Estado de Jalisco.** *Revista del Instituto de Geología*. 8:202-210

- Garduño-Monroy, V. H., R. Saucedo-Girón, Z. Jiménez, J. C. Gavilanes-Ruiz, A. Cortés-Cortés y R.M. Uribe-Cifuentes. 1998. **La Falla de Tamazula, límite suroriental del bloque de Jalisco, y sus relaciones con el complejo volcánico de Colima, México.** *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*. 15 (2): 132-144.
- Golstein, P. Z., R. DeSalle, G. Amato y A. P. Voger. 2000. **Conservation genetics as the species boundary.** *Conservation Biology*. 14: 120-131.
- Grajales-Nishimura, M. y M. López-Infanzón. 1983. **Estudio Petrogenético de las rocas ígneas y metamórficas del Prospecto Tomatlán-Guerrero-Jalisco.** Proyecto C-1160. Instituto Mexicano del Petroleo. Open File Report.
- Gutiérrez-Negrín, L.C.A. 1984. **Petrografía y mineralogía secundaria en el pozo SM-1, San Marcos, Jal.** Informe 9-84. C.F.E. Inédito. En Rosas-Elguera, J. 1998. **Tectónica Extensional en el Occidente de la Faja Volcánica Trans-Mexicana Frontera norte del bloque de Jalisco.** Tesis Doctoral UNAM. 113 p.
- Hardy, M.E. Grady, J.M. & Routman, E.J. 2002. **Intraspecific phylogeography of slender madtom: the complex evolutionary history of Central Highlans of United States.** *Molecular Ecology*. 11: 2393-2403.
- Hey, J. & Machado, C.A. 2003. **The study of structured populations-new hope for difficult and divided science.** *Nature*. 4: 535-543.
- Hillis, D. M., C. Moritz y B. K. Mable. 1996. **Molecular Systematic.** 2a. ed. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. USA. 651 pp. Huelsenbeck, J. P. y F. Ronquist. 2001. **MR BAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees.** *Bioinformatic*. 17 (8): 754-755.
- Hubbs C.L. 1924. **Studies of the fishes of the Order Cyprinodontes.** I-IV. *Misc. Publ. Mus. Zool. Univ. Mich*, 13: 1-31.
- Hubbs, C. L., C. L. Turner. 1939. **Studies of the fishes of the order Cyprinodontes. XVI. A revision of the Goodeidae.** *Misc. Publ. Mus. Zool. Univ. Michigan* 42: 1-80.
- Jordan, D.S. & C.H. Gilbert. 1882. **List of fishes collected by John Xantus at Colima, Mexico.** *Proc. U.S. Nat. Mus.* 5: 353-371.
- Jordan, D. S., B. W. Everman. 1900. **The Fishes of North and Middle America.** *Bull. Us Nat. Mus.* 47, 1-3313. En Webb S. A., J. A. Graves, C. Macías-García, A. E. Magurran, D. O. Foighil y M. G. Ritchie. 2003. **Molecular phylogeny of the livebearing Goodeidae (Cyprinodontiformes).** *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 30: 527-544.
- Langerhans R. B. y A. M. Makowicz. 2009. **Shared and unique features of morphological differentiation between predator regimes in *Gambusycaymanensi*.** *J. Evol Biol.* 22:2231-2242.
- Lanteri, A. y V. Confalonieri. 2003. **Filogeografía: Objetivos, métodos y ejemplos.** P. 185-195. En Morrone, J. y J. Llorente (Eds). **Una persepectiva latinoamericana de la biogeografía.** CONABIO, México D.F.
- Luhr, J.F., A. Nelson, J.F. Allan y I.S.E.Carmichael. 1985. **Active rifting in Southwestern Mexico: manifestations of an incipient eastward spreading-ridge jump.** *Geology* 13:54-57.
- Lydeard, C. y R.L. Mayden. 1995. **A Diverse and Endangered Aquatic Ecosystem of the Southeast United States.** *Conserv. Biol.*9: 800-805.
- Lydeard, C. y K. Roe. 1997. **The phylogenetic utility of the mitochondrial cytochrome b gene for inferring relationships among Actinopterigian fishes.** En: Kocher, T. D. y Stepien C. A. (Ed) **Molecular systematic of fishes.** Academic press. Pp. 285-302.
- Lyons, J., G. González-Hernández, E. Soto-Galera y M. Guzmán-Arroyo. 1998. **Decline of freshwater fishes in selected drainages of west-central México.** *Fisheries*. 23(4):10-18.
- Lyons, J. y N. Mercado-Silva. 1999. **Patrones taxonómicos y ecológicos entre comunidades de peces en ríos y arroyos en el oes de Jalisco, México.** *Anales del Instituto de Biología Universidad Nacional Autnoma de México. Serie Zoológica*. 70(2):169-190.
- Macías-García, C. Jimenez, G. y Contreras, B. 1994. **Correlational evidence of a sexually-selected handicap.** *Behavioral Ecology and Sociobiology*. 35: 253-259.
- Macías-García, C. y E. Ramirez. 2005. **Evidence that sensory traps can evolve into honest signals.** *Nature*. 434: 501-505.
- Mahood, G. 1977. **A preliminary report on the commenditic dome and ash flow complex of Sierra La Primavera, Jalisco: Replay.** *Revista Inst. Geol.* 3 (2): 184-189.

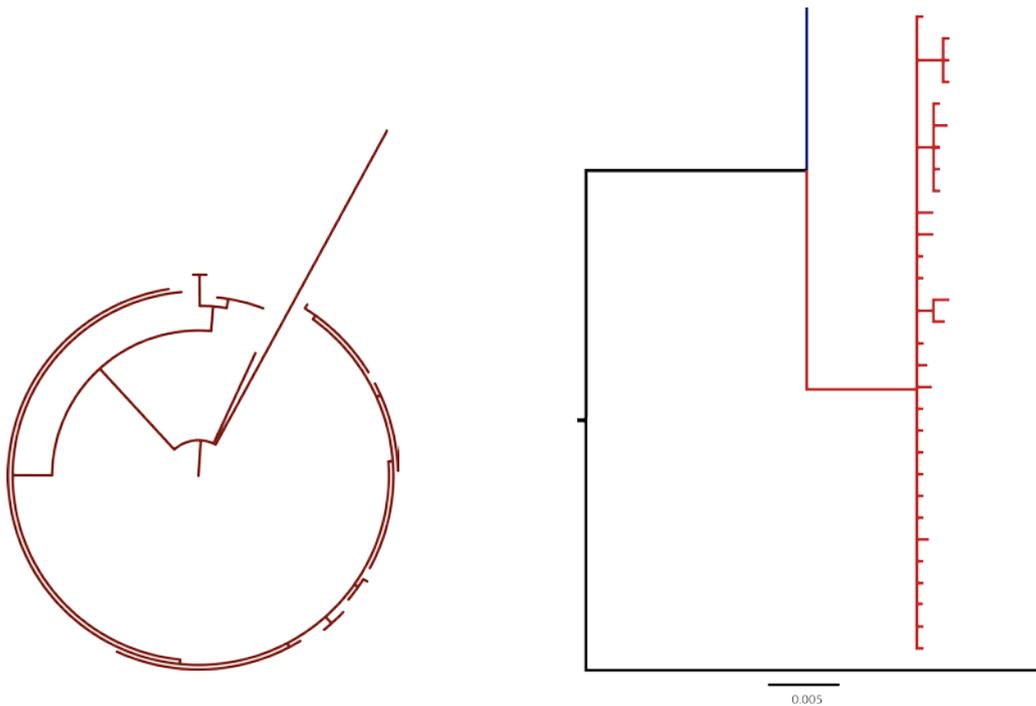
- Mar-Silva, A. F. 2011. **Diferencias Genéticas entre poblaciones de *Xenotoca Melanosoma***. Tesis de Licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 56 pp.
- Mateos, M., O. I. Sanjur y R. C. Vrijenhoek. 2002. **Historical biogeography of the fish genus *Poeciliopsis* (Cyprinodontiformes)**. *Evolution*. 56: 972-984.
- McKittrick, M.C. y R. M. Zink. 1988. **Species concept in ornithology**. *Condor*. 90: 1-14.
- Meek, S. E. 1902. **A contribution to the ichthyology of Mexico**. Field Columbian Mus. Publ. 65 (Zool) 3 (6): 63-128. En Webb S.A., J.A. Graves, C. Macias-García, A.E. Magurran, D.O. Foighil y M.G. Ritchie. 2003. **Molecular phylogeny of the livebearing Goodeidae (Cyprinodontiformes)**. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 30: 527-544.
- Miller, R.R. y M.L. Smith. 1986. **Origin and geography of the fishes of Central México**. En Hocutt, C.H. y E.O. Wiley (Eds). *The Zoogeography of North American freshwater fishes*. Wiley-Intersciences publication. USA. P. 487-519.
- Miller, R. R., W. L. Minckley y S. M. Norris. 2005. **Freshwater fishes of México**. University of Chicago Press. 625p.
- Moritz, C. 1994. **Defining “evolutionarily significant units” for conservation**. *Trend in Ecology and Evolution*. 9:373-375.
- Nieto-Samaniego, A. F., L. Ferrari, S. F. Alaniz-Álvarez, G. Labarthe-Hernandez y J. Rosas-Elguera. 1999. **Variation of Cenozoic extension and volcanism across the southern Sierra Madre Occidental volcanic province, Mexico**. *GSA Bulletin*, 3(3): 347-363.
- Nieto-Obregón, J., J. Urrutia-Fucugauchi, E. Cabral-Cano y Guzmán-de la Campa. 1992. **Listric faulting and Continental rifting in western Mexico-A paleomagnetic study**. *Tectonophysics*. 208:514-523 pp.
- Nixon, K.C. y Q.D. Wheeler. 1990. **An amplification of the phylogenetics species concept**. *Cladistics*. 6: 211-223.
- Ortega, B., G. Vázquez, M. Caballero, I. Israde-Alcantara, S. Lozano-García, P. Schaaf y E. Torres. 2010. **Late Pleistocene: Holocene record of environmental changes in Lake Zirahuén, central Mexico**. *Springer*. 44: 745-76.
- Palumbi, S. R. 1996. **Nucleic acids II: polymerase chain reaction**. En Hillis, D. M., C. Moritz y B. K. Mable (Ed). **Molecular Systematics**. Sinauer Associates, Inc. Sunderland. Massachusetts. USA.
- Parenti, L. 1981. **A phylogenetic and biogeographic analysis of cyprinodontiform fishes (Teleostei, Atherinomorpha)**. *Bulletin American Musseum of Natural History*. 168: 335-557.
- Perea S., M. Böhme, P. Zupancic, J. Freyhof, R. Sanda, M. Özulug, A. Abdoli e I. Doadrio. 2010. **Phylogenetic relationships and biogeographical patterns in Circum-Mediterranean subfamily Leuciscinae (Teleostei, Cyprinidae) inferred from both mitochondrial and nuclear data**. *BMC Evol. Biol.*, 10, 1–27.
- Pedraza-Marrón, C.R. 2011. **Cambios en la Distribución de los Peces de agua dulce del centro de México y sus posibles causas**. Tesis de Licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 138 pp.
- Ramírez, G. 1981. **Estudio Geohidrológico de la Zona Geotérmica La Primavera-San Marcos-Hervores de la Vega, Edo. Jalisco, Plano geológico estructural. No.**
- Regan, C. T. 1906-1908. **Pices**. En Webb S. A., J. A. Graves, C. Macias-García, A. E. Magurran, D. O. Foighil y M. G. Ritchie. 2003. **Molecular phylogeny of the livebearing Goodeidae (Cyprinodontiformes)**. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 30:527-544.
- Righter, K. e I. S. E. Carmichael. 1992. **Hawaiites and related lavas in the Atenguillo graben, western Mexican Volcanic Belt**. *Geological Society of America Bulletin*. 104: 1592–1607.
- Rosas-Elguera, J. 1998. **Tectónica Extensional en el Occidente de la Faja Volcánica Trans-Mexicana Frontera norte del bloque de Jalisco**. Tesis Doctoral UNAM. 113p.
- Rutter, C. 1896. **Notes on fresh-water fishes of the Pacific slope of North America**. *Proc. Calif. Acad. Sci.* 6:245-269.
- Ryder, O. A. 1986. **Species conservation and systematic: the dilemma of subspecies**. *Trends in Ecology and Evolution*. 1: 9-10.
- Schaaf, P. 2002. **Geología y geofísica de la costa de Jalisco**. En Noguera F.A., J.H. Vega-Rivera, A.N. García-Aldrete y M. Quesada-Avenidaño. (Ed.). **Historia Natural de Chamela**. Instituto de Biología UNAM. México. Pp. 11-16.
- Simpson, G.G., 1961. **Principles of Animal Taxonomy**. New York: Columbia University Press.

- Stepien, C. A. y T. D. Kocher. 1997. **Molecules and morphology in studies of fish evolution**. En: Kocher, T. D. y Stepien C. A. (Ed) **Molecular systematic of fishes**. Academic press. Pp. 1-11.
- Sturmbauer, C., E. Verheyen, L. Rüber y A. Meyer. 1997. **Phylogeographic in Populations of Cichlid Fishes from Rocky Habitats in Lake Tanganyika**. En: Kocher, T. D. y Stepien C. A. (Ed) **Molecular systematic of fishes**. Academic press. Pp. 285-302.
- Tamayo, L.T. y R.C. West. 1964. **The Hidrology of Middle America**. En Wanchope, R. y R.C. West. (eds). **Handbook of Middle America Indians**. University of Texas press. USA. P. 85-120.
- Templeton A. R. 1999. **Using gene trees to infer species from testable null hypothesis: coeshion species in the *Spalax ehrenbergi* complex**. 171-192 p. En Wasser, S.P. (ed.). **Evolutionay Theory and Preocesses: Modern Perspectives Papers in Honor of Eviatar Nevo**. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
- Templeton, A.R. 2001. **Using phylogeographic analyses of gene trees to test species status and processes**. *Molecular Ecology*. 10: 779-791.
- Vázquez-Domínguez, E. 2007. **Filogeografía y ertebrados**. P. 441-446. En Eguiarte, L., V. Souza y X. Aguirre. **La Ecología Molecular de Plantas y animales**. México.
- Webb, S. A., 1998. **A phylogenetic analysis of the Goodeidae (Teleostei: Cyprinodontiformes)**. Tesis Doctoral, Universidad de Michigan. Ann Arbor. Michigan USA.
- Webb, S. A., J. A. Graves, C. Macias-García, A. E. Magurran, D. O. Foighil y M. G. Ritchie. 2004. **Molecular phylogeny of the livebearing Goodeidae (Cyprinodontiformes)**. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 30:527-544.
- Zelditch, M., D. Swiderski, H. Sheets y W. Fink. 2004. **Geometric Morphometrics for Biologist**. Academic Press. USA. 443 pp.



CAPITULO I

FILOGEOGRAFÍA



6. CAPITULO I Filogeografía de *Xenotoca melanosoma* Fitzsimons 1972 (Cyprinodontiformes:Goodeidae).

7. INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas acuáticos del centro de México han estado sometidos a una intensa actividad geológica y climática desde el Mioceno, la cual continúa hasta nuestros días (Doadrio y Domínguez, 2004; Webb *et al.*, 2004; Domínguez-Domínguez *et al.*, 2008a), lo que ha moldeado un complejo sistema hidrológico debido a eventos de conexión y aislamiento de los cuerpos de agua. Estos eventos están estrechamente relacionados con la evolución y dispersión de los peces primarios, que son aquellos que no toleran cambios bruscos en la salinidad (Durand *et al.*, 1999). Por lo que, poblaciones distribuidas en cuencas actualmente independientes, podrían servir para corroborar eventos geológicos que han influenciado su historia evolutiva. Tal es el caso de la subfamilia Goodienae, la cual es endémica de México y que ha sido utilizada como modelo para probar hipótesis paleohidrológicas en la zona, esto gracias a los siguientes criterios: (1) su limitada capacidad de dispersión, ya que son peces primarios, por lo que sus movimientos o eventos de aislamiento están regidos por el cambio en la hidrografía de los sistemas acuáticos, como lo es la conexión de cuerpos aledaños o la captura de tributarios (Domínguez-Domínguez *et al.*, 2008b); (2) su origen Miocénico está fuertemente asociado a los principales eventos geológicos y climáticos que configuraron los sistemas hidrográficos en el centro de México (Doadrio y Domínguez, 2004; Domínguez-Domínguez *et al.*, 2010); (3) su amplia distribución en el centro de México y (4) su alto nivel de endemismo en la región (Doadrio y Domínguez, 2004).

La subfamilia cuenta con aproximadamente 41 especies agrupadas en 19 géneros (Webb *et al.*, 2004; Domínguez-Domínguez *et al.*, 2008a), además de presentar características evolutivas y ecológicas únicas como lo es la fertilización interna, matrotrofia y viviparidad (Parenti, 1981; Domínguez-Domínguez y Pérez-Ponce de León, 2007). En el género *Xenotoca* se encuentra la especie *X. melanosoma*, la cual se distribuye en nueve cuencas independientes de la región occidental del centro de México (Miller *et al.*, 2005) principalmente en los lagos de Sayula, Magdalena, Zapotlán, Atotonilco, San Marcos, así como en la parte alta de los ríos Ayuquila-Armería y Coahuayana-Tamazula, y la cuenca endorreica Etzatlán-San Marcos, en el estado de Jalisco. Estos sistemas lacustres han experimentado eventos de

conexión y aislamiento, en el caso del Lago de Chapala formo parte del Paleolago de Jalisco, que incluía los lagos actualmente endorreicos de Zacoalco, Atotonilco y San Marcos, los cuales fueron aislados debido a la actividad volcánica (Rosas-Elguera y Urrutia-Fucugachi, 1998).

Trabajos previos han demostrado que existe una fuerte estructuración genética entre las poblaciones de *X. melanosoma* (Doadrio y Domínguez, 2004). La zona en donde se distribuye la especie ha estado sometida a una intensa actividad geológica, debido a que se ubican en el graben de Colima, una fosa tectónica formada por la actividad volcánica (Schaaf, 2002) y la interacción que existe entre tres bloques; el de Jalisco, Mazamitla y Tepic Zacoalco, los cuales forman la triple unión (Allan y Carmichael, 1984; Garduño-Monrroy *et al.*, 1998). Hacia el interior del graben la actividad está fuertemente influenciada por una larga cadena de volcanes que se encuentran en la región sur, la cual se originó durante el Plioceno temprano y culmina con la formación del graben de Colima (Allan y Luhr, 1982).

Las aproximaciones filogeográficas han servido para indagar en la historia evolutiva en poblaciones aisladas geográficamente, pero también han sido utilizadas para entender los procesos demográficos históricos de las especies como es el flujo génico, tamaño efectivo poblacional, cuello de botella, expansión poblacional, entre otros (Avise, 2000). El conocer la historia evolutiva de las especies es una importante aproximación al entendimiento de los procesos y eventos que influenciaron la evolución e historia demográfica de una región y su biota (Bernatchez, 2001).

Por lo tanto el objetivo del presente estudio es el conocer la historia evolutiva de la especie y su posible relación con eventos geológicos de la región occidental del centro de México.

8. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron jornadas de campo en todas las cuencas donde existan registros previos de la especie durante los años 2011 y 2012, para la obtención de los organismos se utilizaron redes tipo chinchorro y de mano, así como equipo de pesca eléctrica, todos los organismos fueron fijados en formol al 6% y preservados en alcohol al 70%, para posteriormente ser depositados en la colección de Peces de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Se obtuvo un trozo de aleta caudal para los análisis genéticos, el cual se preservó en criotubos con alcohol grado analítico y fueron depositados en el área de biología molecular del laboratorio de biología acuática de la misma universidad y mantenidos a -75°C.

8.1. Análisis moleculares

Se secuenciaron dos genes, el mitocondrial citocromo b (*cit-b*) y el primer intrón del gen nuclear rodopsina (*rod*). La obtención del ADN se llevó a cabo mediante el método convencional de extracción proteinasa K/fenol/cloroformo (Hillis *et al.*, 1996), se utilizó además el kit de extracción BioSprint 15 DNA Handbook, de QIAGEN. La amplificación se realizó mediante la técnica de PCR (por sus siglas en inglés, Polymerase Chain Reaction), las reacciones individuales fueron hechas con un volumen final de 12 µl y con las siguientes concentraciones: 0.25mM de cada dNTP, 1.5M de MgCl₂ y 1U de Taq ADN polimerasa. Las condiciones de la PCR consistieron en 2 min a 94°C para la reactivación de la ADN polimerasa, 94 °C durante 45 s. para la desnaturalización, 1 min a 46 °C para el alineamiento de los primers y a 72 °C por 1.5 min para la síntesis, durante 35 ciclos a partir de la desnaturalización. Al final de los ciclos fue incluido un periodo de síntesis final por 5 min a 72 °C. Una vez obtenidos los productos de PCR fueron sometidos a electroforesis en gel de agarosa al 1.5% y visualizados en luz UV. Los fragmentos amplificados fueron enviados al servicio de secuenciación de la Universidad de Washington htSEQ (High Troughput Genomics Center).

Los primers utilizados para el gen mitocondrial *cit-b* (Palumbi, 1996), fueron los siguientes: GLUDG (*forward*) 5' TGA CTT GAA RAA CCA YCG TTG 3' y H16460 (*Reverse*) 5' CGA YCT TCG GAT TAA CAA GAC CG 3'. En el caso de la rodopsina, se utilizaron los primers de Chen *et al.* (2003) RhF193 (*forward*) 5' CNT ATG AAT AYC CTC AGT ACT ACC 3' RhR1039 (*reverse*) 5' TGC TTG TTC ATG CAG ATG TAGA 3'

Debido a que el *Cit-b* y la rodopsina no presentan indels, se alinearon y revisaron las secuencias de manera visual con el programa Bioedit (Hall, 1999) y MEGA 4.1 (Kumar *et al.*, 2008). Para obtener el modelo evolutivo que mejor se ajustó a los datos se utilizó el software Jmodeltest v 3.7 (Posada, 2008), el criterio utilizado para la selección del modelo fue el de Akaike (AIC). En el caso de la matriz de datos del gen mitocondrial se obtuvo un modelo evolutivo distinto para cada posición del codón (Tabla 1), ya que el gen mitocondrial *cit-b* cuenta con dos dominios, uno conservado y otro altamente variable, y una variación en la tasa evolutiva en las tres posiciones del codón (Lydeard y Roe, 1997; Stepien y Kocher, 1997; Farías *et al.*, 2001). Para el gen nuclear se obtuvo un modelo evolutivo para toda la matriz de datos (tabla 1).

8.2. Métodos filogenéticos

La reconstrucción de las relaciones filogenéticas fueron llevadas a cabo mediante Inferencia Bayesiana (BY) y Máxima Verosimilitud (MV). En el caso de BY para ambos genes fueron utilizadas 2 simulaciones a través de 10, 000, 000 de generaciones, 4 cadenas de Markov y muestreando cada 500 árboles, basados en el modelo TPM2uf+I para rodopsina, y un modelo evolutivo distinto para cada posición del codón en el caso del gen mitocondrial. Además se realizó un análisis concatenado utilizando los dos genes, nuclear y mitocondrial. Los modelos evolutivos utilizados fueron los mismos que se obtuvieron para las bases de datos independientes (Tabla 2). Para este análisis es necesario contar con la secuencia del mismo individuo tanto para el *cit-b* como para la rodopsina, por lo que solo se utilizaron 36 secuencias en el caso del gen mitocondrial. Los valores de probabilidad posteriores (pp) representan la probabilidad de que un clado sea verdadero de acuerdo al modelo de sustitución y los datos (Huelsenbeck *et al.*, 2002). Los clados con valores de $pp \geq 95\%$ se consideran soportados, por lo que valores inferiores a este porcentaje se tomarían en cuenta como valores sin un buen soporte (Pedersen *et al.*, 2007). El análisis de MV se realizó utilizando el programa raxmlGUI v 1.3 (v7.3.2 Stamatakis, 2006; Silvestro y Michalak, 2012) el cual permite encontrar topologías de árboles basados en matrices de datos grandes, en el menor tiempo posible y obteniendo valores de soporte. Se utilizó el modelo GTRGAMMAI (Generalized Time Reversible+Gamma+Proporción de Sitios Invariables), que es el que cuenta con una mayor cantidad de parámetros, el cual asume que cada sustitución nucleotídica, independientemente de si es una transición o una

transversión, tiene la misma tendencia relativa de ser sustituida por otra (tasa de intercambiabilidad) (Tavaré, 1986). El análisis se realizó por separado para cada matriz de datos, ya que en este programa no está incluida la opción de concatenar el conjunto de datos. Se utilizaron 1000 réplicas de bootstrap, y un análisis de bootstrap rápido, los valores de bootstrap (bs) son considerados como un estimador de soporte conservador (Hillis y Bull, 1993), por lo que se consideran clados soportados aquellos que muestren un valor mayor a 70 y sin soporte clados inferiores a este valor (Pedersen *et al.*, 2007).

Para la obtención de la red de haplotipos se utilizó el programa TCS, ya que permite realizar la reconstrucción utilizando valores de confianza distintos, en el presente estudio se utilizaron dos valores 90% y 95% en el gen mitocondrial. En el caso del gen nuclear presento heterocigosis, por lo que fue necesario utilizar la base degenerada que correspondía, una vez hecho esto en el programa DNAsp se obtuvieron tanto homocigotos como heterocigotos, por lo que se duplicaron el número de secuencias, quedando conformada la red por 72 secuencias.

8.3. Índices de diversidad, demografía histórica y estructura poblacional

Se obtuvo el número de haplotipos, la diversidad nucleotídica (π ; Nei, 1987), diversidad haplotípica (H_d ; Nei, 1987), número promedio de diferencias nucleotídicas por pares (K , Tajima, 1983) y el número de sitios polimórficos a través del programa DNAsp v5.0 (Librado y Rozas, 2009). Se obtuvieron las pruebas de neutralidad de Tajima (1993), Fu y Li (1993) y Fu (1997) con el objetivo de examinar la existencia de desviaciones del modelo esperado de neutralidad. Para determinar la estructura poblacional se realizaron pruebas de F_{st} y Análisis de Varianza Molecular, los cuales fueron obtenidos con ayuda de los programas ARLEQUIN 2.0 (Schneider, *et al.*, 2000), BEAST 1.3 (Drummond y Rambaut, 2007) y MEGA 4.1 (Kumar *et al.*, 2008).

Se analizó la distribución de las diferencias por pares (mismatch). El programa utilizado fue DNAsp, ya que aporta un gráfico que permite representar los valores esperados y los observados. Además el programa estima los estadísticos "Raggedness r " (Harpending *et al.*, 1993) y R^2 (Ramos-Onsis y Rozas, 2002), los cuales cuantifican el ajuste de la distribución de las diferencias por pares, distinguiendo entre poblaciones de tamaño constante y en crecimiento. Valores bajos de r y R^2 indicarían crecimiento poblacional, esto debido a que estos

parámetros se fundamentan en que los números esperados de conjuntos de un solo elemento, después de un crecimiento poblacional reciente, sería de $k/2$.

La estimación de los tiempos de divergencia se realizó mediante el método del reloj relajado basado en inferencia bayesiana, con el programa Beast (Drummond y Rambaut, 2007). El reloj relajado permite realizar estimaciones del tiempo de divergencia entre regiones de genes que no presenten una tasa homogénea de sustitución (Renner, 2005). Para la calibración del reloj se utilizó la tasa de mutación estimada para teleósteos 0.76-2.2% MA (($3.8 \cdot 10^{-9}$ - $1.1 \cdot 10^{-8}$ sust/linaje/sitio/año) (Zardoya y Doadrio, 1999; Machordom y Doadrio, 2001; Perdices *et al.*, 2001).

Para el análisis se utilizaron un total de 80, 000, 000 generaciones, muestreando cada 500 topologías y valores de $-lnL$. Se revisaron los valores posteriores de los “priors” con base en los Tamaños Efectivos de Muestra a través de Tracer v1.5, posteriormente se descartó el 10% de las topologías para la reconstrucción del árbol consenso. Esto se realizó tomando las topologías con valores de soporte mayores al 50% que posean límites de confianza mayor o igual al 95%. El módulo de Beast Tree-Annotator se utilizó para obtener la escala de tiempo.

9. RESULTADOS

Se colectaron un total de 100 organismos en 13 localidades donde existían registros previos a lo largo de nueve cuencas actualmente independientes (Tabla 1). Se obtuvieron un total de 96 secuencias de una longitud de 1140 pb del gen *cit-b* de *Xenotoca melanosoma*, así como una secuencia de *X. variata* y una de *X. eiseni* que fueron utilizadas como grupos externo en los análisis. Por otra parte, se obtuvieron 37 secuencias de una longitud de 847 pb del gen nuclear rodopsina de *X. melanosoma* y una más de *X. eiseni*, utilizada como grupo externo.

Tabla 1. Localidades en donde se realizó la colecta de organismos
SD=Sin Datos ODL=Organismos Dejadados en Libertad

Cuencas	Poblaciones	Localización	# de Catalogo
Lago de Sayula	Manantial Cuyapan	SD	ODL
Lago de Zapotlán	Zapotlán	19°42'14.1"N 104°8'37.9"W	4187
Lago de Atotonilco	Buena Vista	20°20'05.8" N 103°45'19.7" W	4345
Etzatlán	San Sebastián	20°49'25"N 104°7'10.8"W	4201
Río Ameca	Ahualulco	20°43'17.5"N 103°57'53.1"W	4300
	Río Salado	20°41'12.3"N 103°41'36.1"W	4199
	Puente la Muerta	20°31'43"N 104°7'47.8"W	4302
	San Juan	20°49'25" N 104°7'10.8" W	ODL
Lago de Magdalena	Chapulimita	20°45'36.2"N 103°56'30-65"W	5794
		El Molya	20°54'5.5" N 104°4'44.8" W
Lago de San Marcos	San Marcos	20°20'0.4"N 103°34'47.6"W	4044
Río Tamazula	La Purísima	19°31'19.8" N 103°20'32.9" W	4351
Río Ayuquila	Sacachales	19°42'16.6" N 104°8'36.5" W	5225

Los modelos evolutivos que mejor se ajustaron a los datos se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Modelos evolutivos de sustitución y parámetros estimados para *cit-b* y Rodopsina obtenidos por el criterio de información Akaike (AIC).

Criterio	Gen	Posición	Modelo Evolutivo	InL	Frecuencia de bases nucleotídicas empíricas	Parámetro: Forma de la distribución Gamma	Proporción de sitios invariables
AIC	<i>cit-b</i>	Primera posición	F81	488.5803	A = 0.1977 C = 0.2664 G = 0.1317 T = 0.4042	-----	-----
AIC	<i>cit-b</i>	Segunda Posición	TIM2+I	566.6156	A = 0.3275 C = 0.3622 G = 0.0145 T = 0.2958	-----	0.6660
AIC	<i>cit-b</i>	Tercera Posición	K80	528.0117	----- ----- ----- -----	-----	-----
AIC	Rod	Fragmento completo	TPM2uf	1255.701 4	A = 0.1830 C = 0.2942 G = 0.2245 T = 0.2983	-----	0.9730

9.1. Relaciones filogenéticas

Las reconstrucciones filogenéticas obtenidas con el *cit-b* con el método BY y MV fueron congruentes, mostrando la formación de dos clados principales con valores de pp y bs de 100 (Fig. 1 y Fig. 2).

En el clado I se forman dos grupos, uno que contiene las poblaciones del río Tamazula y el otro con las poblaciones del río Ayuquila, el valor de soporte entre estos dos grupos fue de pp=100% y bs=93 (Fig. 1). En el caso del clado II se encuentra formado por los organismos muestreados en las cuencas de los lagos Zapotlán, Magdalena, Sayula, San Marcos, Atotonilco y todas las poblaciones del Río Ameca (Fig. 1).

En el clado II se puede observar una politomía en las poblaciones del río Ameca, sin embargo se forman subclados como el de Atotonilco+San Marcos con valores de soporte altos para pp 99%, pero no soportados en los valores bs. En el análisis bayesiano se muestran otros subclados, como el de San Juan y Chapulimita, ambas poblaciones del río Ameca, o el subclado de las cuencas Etzatlan-San Marcos+Magdalena+Ameca (aunque solamente se encuentra un individuo de chapulimita), pero todos con valores bajos de pp (Fig 1). Para el análisis de MV, el subclado formado por San Marcos+Magdalena+Ameca se mantiene, pero además incluye un individuo de la población del río salado (Fig. 2). Zapotlán aparece como grupo basal en el clado II en ambos métodos, con valores altos de soporte pp y bs=100 (Fig. 1 y 2).

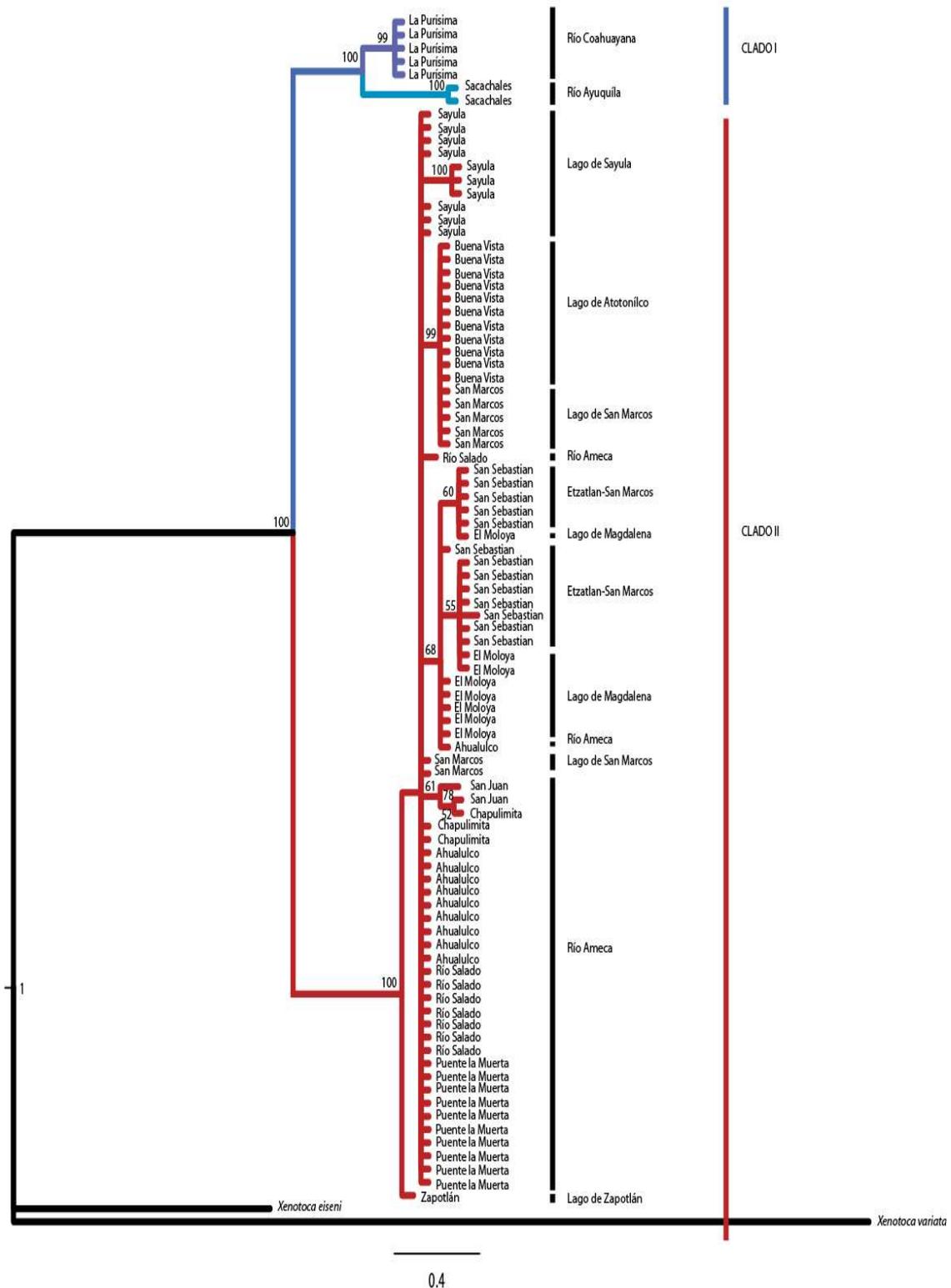


Fig. 1 Hipótesis Filogenética de *X. melanosoma* utilizando el gen mitocondrial *cit-b*, basada en Inferencia Bayesiana. Los valores en los nodos indican valores de soporte de probabilidad posterior, la escala representa distancia Tamura-Nei.

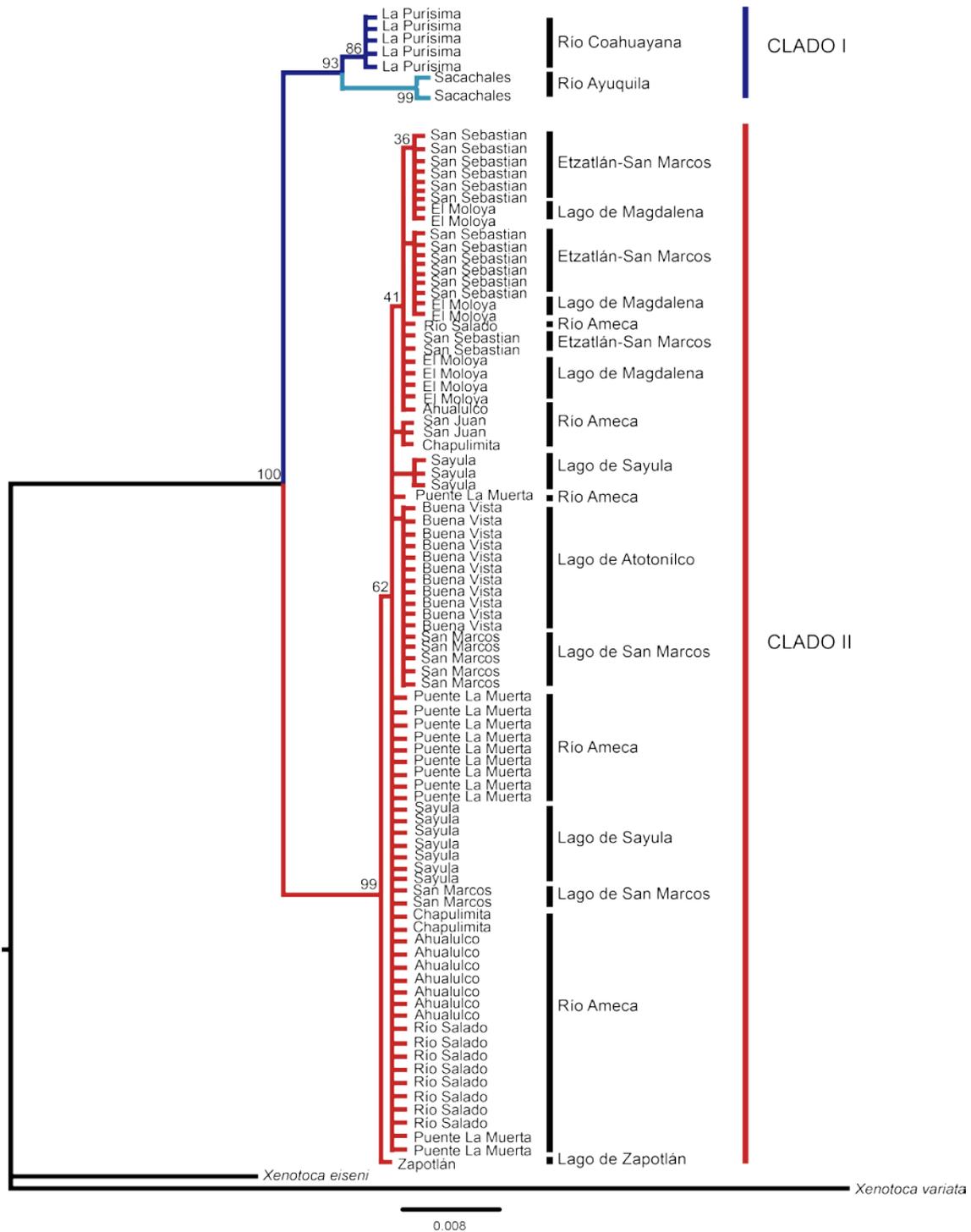


Fig. 2. Hipótesis filogenética de *X. melanosoma* utilizando el gen mitocondrial *cit-b* basada en Máxima Verosimilitud. Los valores en los nodos indican el soporte de Bootstrap, la escala representa las distancias Tamura-Nei.

Con el gen nuclear solo se recupera el clado II, ya que el clado I está representado por las muestras de Sacachales que se agrupan y las muestras de la Purísima que forman una politomía (Figs. 3 y 4).

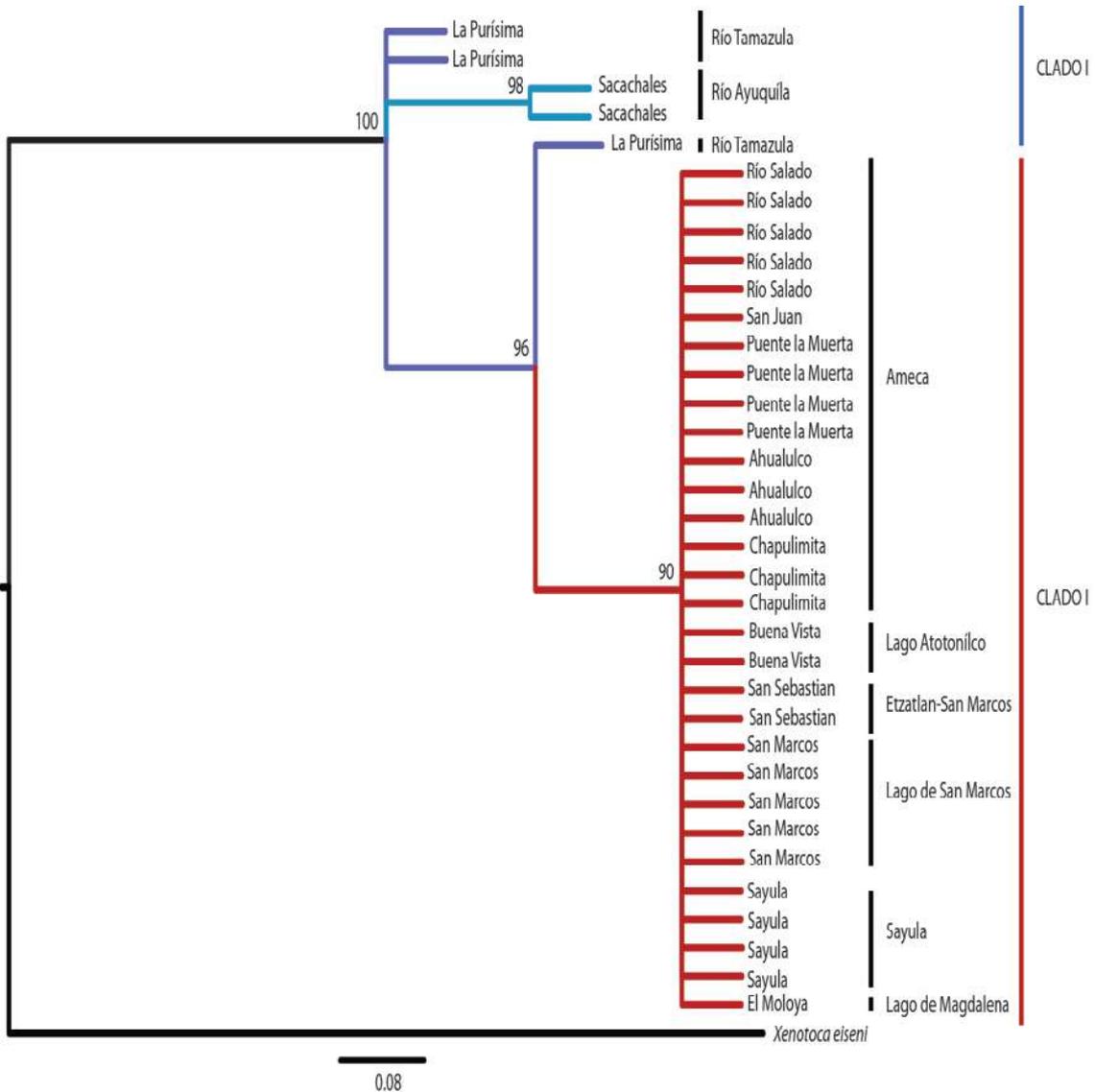


Fig. 3 Hipótesis filogenética de *X. melanosoma* utilizando el gen nuclear Rodopsina, basada en Inferencia Bayesiana. Los valores en los nodos indican valores de soporte de probabilidad posterior, la escala representa distancia Tamura-Nei.

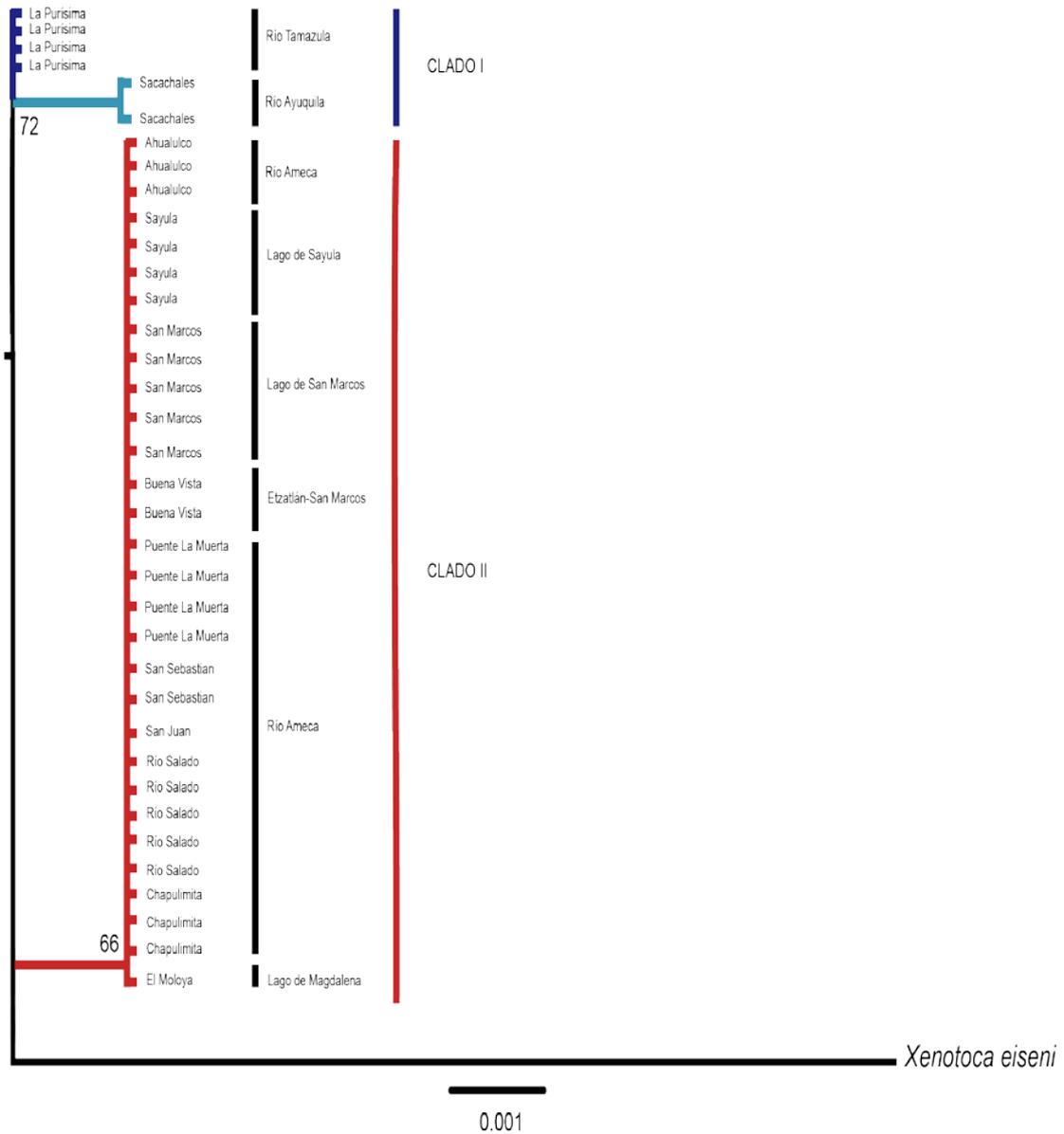


Fig 4. Hipótesis filogenética de *X. melanosoma* utilizando el gen nuclear Rodopsina basada en Máxima Verosimilitud. Los valores en los nodos indican el soporte de Bootstrap, la escala representa las distancias Tamura Nei

El árbol concatenado, al igual que el árbol de *cit-b*, muestra la formación de dos clados con altos valores de soporte $pp=100$ (Fig. 6). El Clado I está compuesto por las poblaciones de los ríos Ayuquila y Tamazula, lo cual es congruente a lo obtenido con los análisis por separado (Figs. 1 y 2). En este clado se observa la formación de dos grupos, uno representado por las poblaciones de Tamazula y otro por las poblaciones de Ayuquila, con una diferencia genética de $D_{T-N}=0.9\%$.

En el caso del clado II las relaciones entre las poblaciones no son claras, mostrando una politomía entre casi todas, solamente las poblaciones del Lago de San Marcos y Atotonilco forman un grupo bien soportado (Fig. 6), lo cual es congruente con los análisis previamente mostrados. Las Poblaciones del río Ameca forman una politomía (Puente la Muerta+Río Salado+ Ahualulco).



Fig. 5. Hipótesis filogenética de *X. melanosoma* utilizando el *cit-b* y rodopsina, obtenida con Inferencia Bayesiana. Los valores en los nodos indican los valores de soporte (pp)

9.2. Red de haplotipos

La red de haplotipos muestra dos haplogrupos, uno formado por las poblaciones del río Ayuquila y Tamazula (clado I), y el segundo compuesto por los lagos de Sayula, San Marcos, Zapotlán, Atotonilco, San Marcos y los ríos de Ameca y Etzatlán (clado II). Con el valor de confianza del 95% se observa la separación en dos haplogrupos independientes, los cuales no se unen debido a que el número de pasos mutacionales está por encima del número máximo de pasos estadísticamente aceptables (Fig. 6), mientras que con el valor de confianza del 90% esta se une por 16 pasos mutacionales en el caso de la población del río Ayuquila y 22 para la población del río Tamazula con respecto al resto de las poblaciones, mientras que las poblaciones de Tamazula y Ayuquila están separadas por 9 pasos mutacionales (Fig. 7). Estos haplogrupos concuerdan con las hipótesis obtenidas mediante los métodos BY y MV en la formación de los dos clados principales (Figs. 1, 2 y 3).

Se obtuvieron un total de 13 haplotipos con el gen mitocondrial *cit-b*, de los cuales 11 pertenecen al clado II y que se comparten entre las cuencas que forman parte del grupo, por otro lado, los otros dos haplotipos son los correspondientes al clado I, y estos no se comparten con ninguno de los haplotipos del clado II, debido a que se encuentran en dos cuenca en específico (Tamazula y Ayuquila). El haplotipo ancestral es el que comparten las cuencas del lago de Sayula y Río Ameca, del cual se derivan los demás haplotipos presentes en las poblaciones (Figs. 6 y 7).

En la figura 7 se puede observar que el haplotipo al cual se unen los dos clados es el de la población del Lago Zapotlán, por lo que se puede inferir que las poblaciones de este lago son las ancestrales dentro del haplogrupo II, esto se puede también observar en las relaciones filogenéticas obtenidas (Figs. 1 y 2), en donde la población de Zapotlán aparece como grupo basal del resto de las poblaciones dentro del clado II.

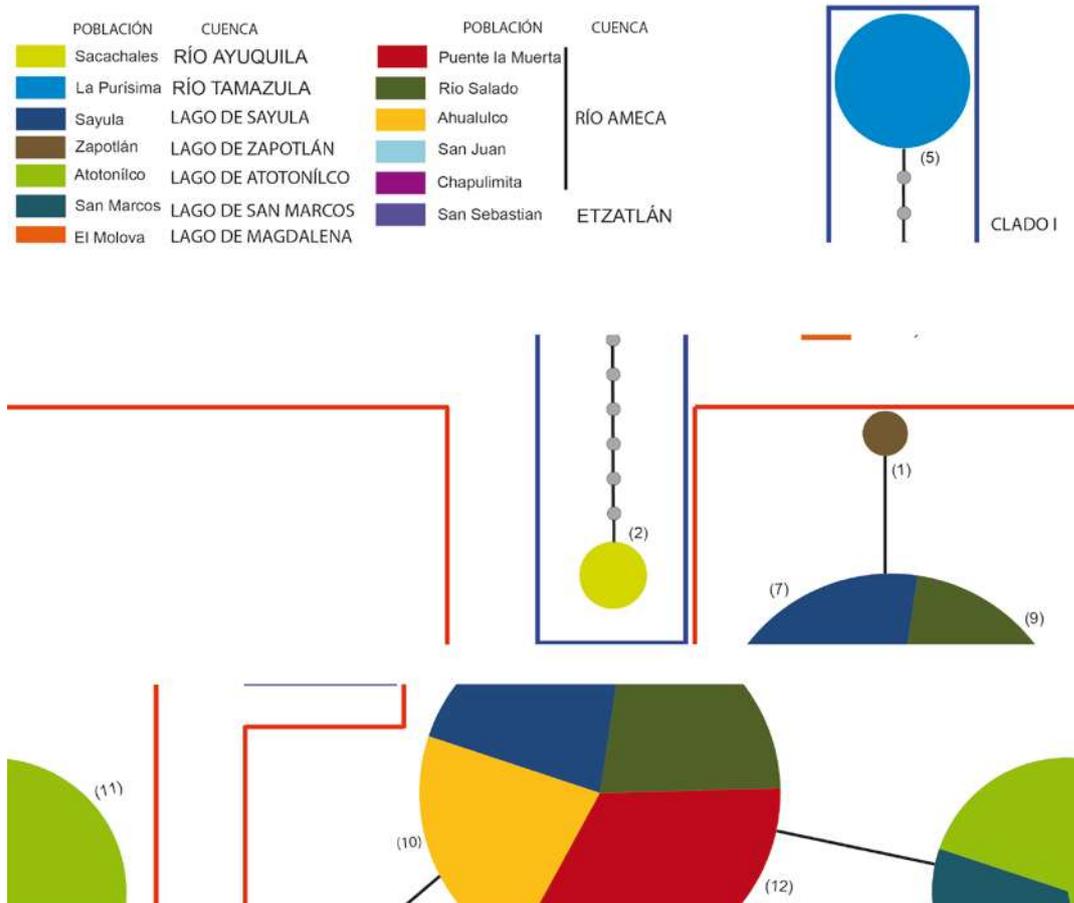


Fig. 6. Red de haplotipos obtenida con *cit-b* de las poblaciones de *X. melanosoma* con un valor de confianza del 95%.

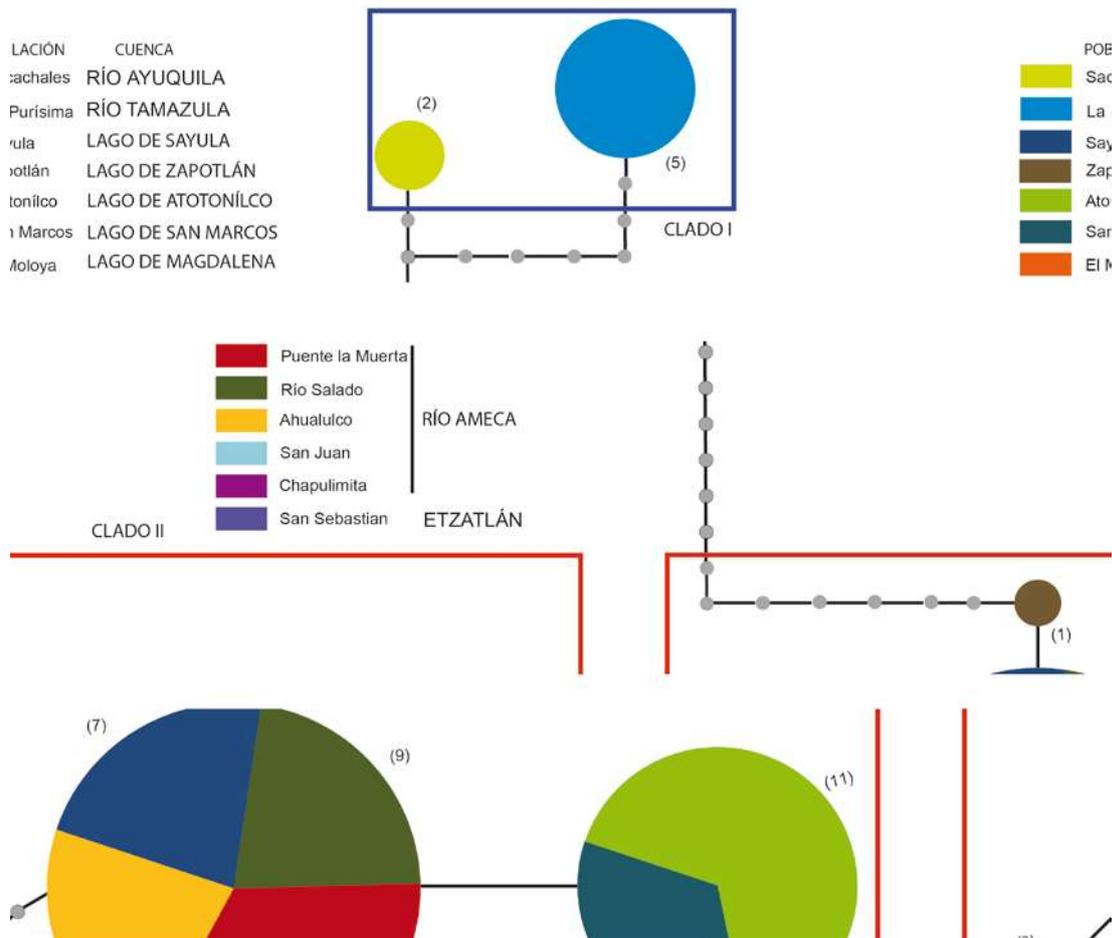


Fig7. Red de haplotipos de las poblaciones de *X. melanosoma*, con un 90% de confianza, en el paréntesis muestra la cantidad de organismos que comparte el haplotipo.

En el caso del gen nuclear se encontraron siete haplotipos, cinco son haplotipos pertenecientes al Clado II y se comparten entre las cuencas de este grupo, por otro lado, el clado I está representado por dos haplotipos únicos, uno se encuentra en la población de la cuenca de Tamazula y el otro lo encontramos en río Ayuquila (Fig. 8). Como se menciona en materiales y métodos, se presentaron organismos heterocigotos, y en la red se puede observar que estos no comparten el mismo haplotipo, las poblaciones de Chapulimita, San Marcos y San Juan, fueron las que

mostraron heterocigotos, los haplotipos de la copia 1 se compartieron con el grupo de 32 haplotipos y que lo conforma las poblaciones de las cuencas de Ameca + Etzatlán + Atotonilco + Magdalena + San Marcos, mientras que la copia 2 se relacionó con el grupo de 24 haplotipos que comprende las poblaciones de las cuencas de San Marcos + Ameca + Atotonilco + Sayula (Fig. 8), en el caso de San Marcos una de las copias del gen se comparte con el grupo de Ameca y Sayula, y la otra copia se agrupa con las cuencas de Sayula + Ameca + Etzatlán + Magdalena. Lo mismo ocurre con la población de Chapulimita, perteneciente a Ameca, donde una copia se agrupa con Sayula + Ameca + San Marco y otra con el grupo de Ameca (Fig.8).

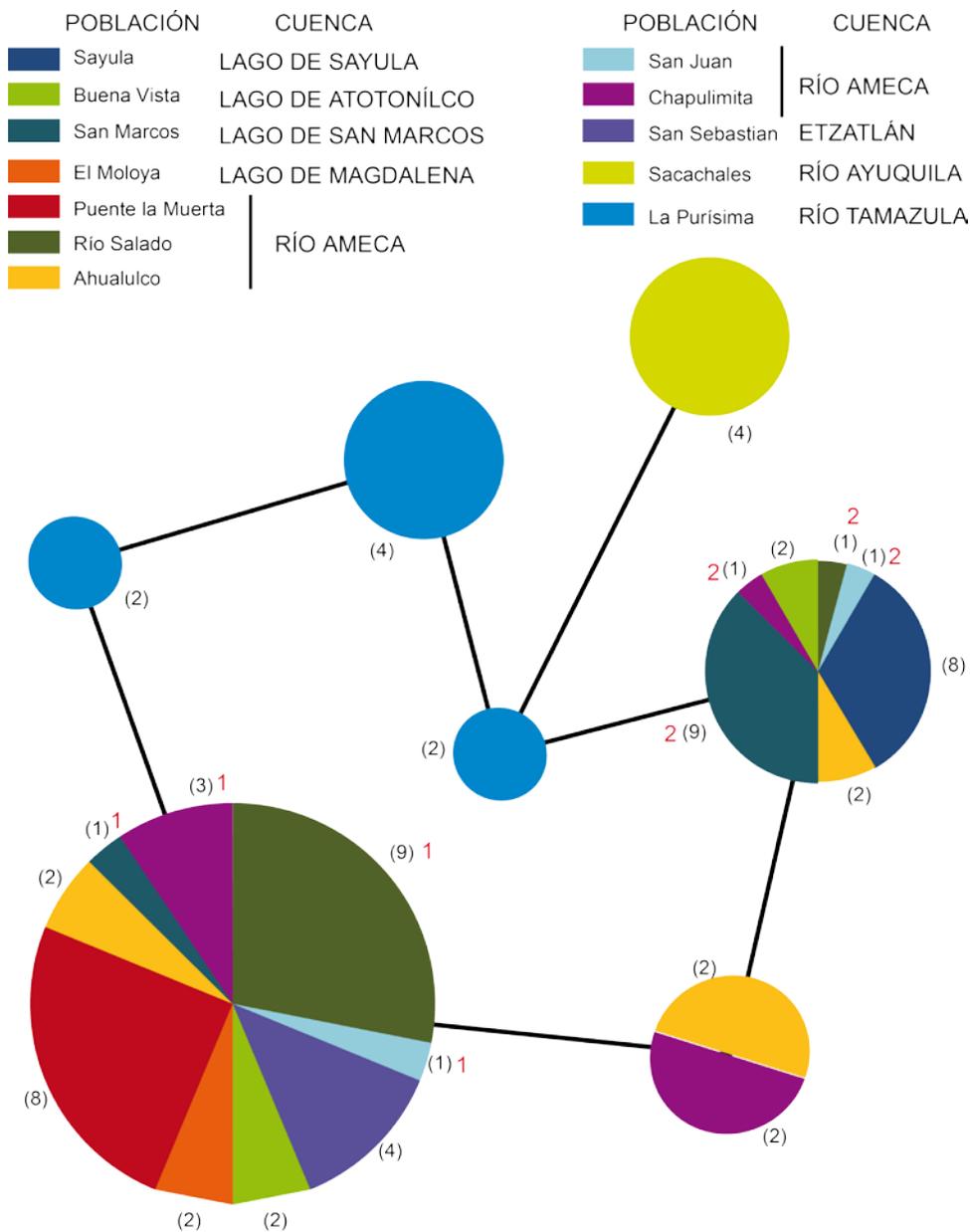


Fig. 8. Red de haplotipos de las poblaciones de *Xenotoca melanosoma*, obtenida con el gen nuclear Rodopsina, los valores en el paréntesis indican el número de secuencias y número de individuos entre poblaciones, los números rojos se indican la copia del heterocigoto que se presentaron en individuos de la especie.

9.3. Índices de diversidad

Se obtuvieron un total de 13 haplotipos para el gen *cit-b* de las 13 poblaciones muestreadas. El número de individuos, número de haplotipos, diversidad haplotípica, diversidad nucleotídica, el número promedio de diferencias nucleotídicas por pares y el número de sitios polimórficos se resumen en las tablas 3 y 4. Se realizaron los análisis por poblaciones y por clados, los cuales, de acuerdo a los resultados antes mencionados, fueron nombrados como Clado I y Clado II. Los valores más altos de diversidad haplotípica los encontramos al analizar las poblaciones independientemente, la diversidad haplotípica es mayor que la obtenida al agrupar los datos en clados, esto se debe a que hay haplotipos que se comparten entre poblaciones, e inclusive entre cuencas. La diversidad nucleotídica (π) y haplotípica (H_d) son nulas en las poblaciones de La Purísima, Sacachales, Atotonilco, Puente la Muerta y Zapotlán, esto debido a que presentan un haplotipo único. La diversidad nucleotídica es muy baja en todas las poblaciones (Tabla 3). La población con mayor diversidad haplotípica es San Juan, encontrando valores de 1, sin embargo este dato se debe tomar con cautela ya que se trata de solo dos individuos, le sigue en valor las poblaciones del Moloya y Magdalena con valor de $H_d = 0.7143$.

Tabla 3. Valores de diversidad genética de las poblaciones de *Xenotoca melanosoma*

Cuenca	Población	N	Hn	H_d	π	k	S
Tamazula	La Purísima	5	1	0.0000	0.0000	0	0
Ayuquila	Sacachales	2	1	0.0000	0.0000	0	0
Sayula	Sayula	10	2	0.4667	0.00086	0.93333	
Atotonilco	Buena Vista	11	1	0.0000	0.0000	0	0
San Marcos	San Marcos	7	2	0.4762	0.00044	0.47619	1
Magdalena	El Moloya	8	3	0.7143	0.0079	0.85714	2
Etzatlán	San Sebastián	14	4	0.7143	0.00098	1.06593	2
Ameca	San Juan	2	2	1.0000	0.00092	1.00000	1
	Chapulimita	3	2	0.6667	0.00061	0.66667	1
	Ahualulco	10	2	0.2222	0.00018	0.20000	1
	Río Salado	9	2	0.2222	0.00020	0.22222	1

	Puente la Muerta	12	1	0.0000	0.0000	0	0
Zapotlán	Zapotlán	1	1	0.0000	0.0000	0	0

N=Número de individuos, Hn=número de haplotipos, H_d=diversidad haplotípica, π=diversidad nucleotídica, k=promedio de diferencias nucleotídicas por pares, S=número de sitios polimórficos.

En aquellas poblaciones donde fue posible obtener las pruebas de neutralidad mediante los estadísticos de D_t Tajima y F de Fu y Li, fueron no significativos para la desviación con respecto a la hipótesis nula que asume neutralidad para el marcador utilizado. La D_t fue positiva en casi todas las poblaciones, a excepción de las poblaciones de Ahualulco y río Salado tabla 4.

Tabla 4. Valores de diversidad genética de las poblaciones de *Xenotoca melanosoma*. Solo se muestran aquellas poblaciones donde se logró obtener los estadísticos.

Cuenca	Población	F de Fu	D de Tajima
Sayula	Sayula	1.02623ns	1.03299ns
San Marcos	San Marcos	0.91788ns	0.55902ns
Magdalena	El Moloja	1.03790ns	0.41421ns
Etzatlán San Marcos	San Sebastián	1.33904ns	1.88563ns
AMECA	Ahualulco	-1.34668ns	-1.11173ns
	Río Salado	-1.28293ns	-1.08823ns

En los análisis realizados por clados la diversidad haplotípica fue mayor en el Clado II con un valor de 0.738 con respecto al valor de 0.476 del Clado I, los valores de diversidad nucleotídica son considerablemente bajos, en este caso el valor es menor en el caso del Clado II (Tabla 5).

Tabla 5. Valores de diversidad genética de ambos clados.

Clados	N	Hn	H _d	π	K	S
Clado I	7	2	0.476	0.00395	4.28571	9
Clado II	87	10	0.738	0.00120	1.29965	8

N=Número de individuos, Hn=número de haplotipos, H_d=diversidad haplotípica, π=diversidad nucleotídica, k=promedio de diferencias nucleotídicas por pares, S=número de sitios polimórficos.

Las pruebas de neutralidad en este caso fueron en sus mayorías positivas y no significativas, con excepción de la D de Tajima para el clado II en donde se obtuvo un valor de -0.45027 y no significativo.

Tabla 6. Valores de diversidad genética de ambos clados.

Clados	N	F de Fu	D de Tajima
Clado I	7	1.52022ns	0.88581ns
Clado II	87	0.19443ns	-0.45027ns

N=Número de individuos; ns = no significativo

9.4. Estructura Genética

La mayor variación fue explicada entre los clados principales con un valor de Φ_{st} 0.971 $p < 0.05$ (tabla 7). Al dividir el clado I en las dos poblaciones que lo componen y realizar el análisis con tres grupos obtenemos un valor de $\Phi_{st}=0.935$ $p < 0.001$ (tabla 8). Por lo que la estructuración genética es mayor entre los clados principales. La variación entre los clados explica un 82.60%, lo cual es congruente con la estructuración genética entre los clados principales.

Tabla 7. Estructura genética a través del análisis de varianza molecular (AMOVA) para las poblaciones de *X. melanosoma*.

Clados	Φ_{st}	%Entre los clados	%Dentro de poblaciones en los clados	% Entre las poblaciones en los clados	p
Clado I					
Clado II	.971	82.60	2.81	7.59	<0.005

Se puede observar que a pesar de que el valor es menor existe de igual forma una fuerte estructuración genética entre los tres grupos, con un valor de $\Phi_{st}=0.935$ $p < 0.001$ (tabla 8). El porcentaje de variación es de igual forma importante entre las poblaciones dentro de los grupos (Tabla 7), esto se debe a que en el caso de las poblaciones del clado I muestran diferenciación genética.

Tabla 8. Estructura genética a través del análisis de varianza molecular (AMOVA) para las poblaciones de *X. melanosoma*, en este caso se agrupo en el clado II todas las poblaciones, pero en el clado I se separan en las cuencas que componen este grupo.

Clado y grupo	Φ_{st}	%Entre los grupos	%Dentro de poblaciones en los clados	% Entre las poblaciones en los clados	p
Ayuquila					
Tamazula	.935	49.88	6.47	43.71	<0.001
Clado II					

Se obtuvo el valor de Φ_{st} entre los grupos dentro del clado I, observándose que existe una fuerte estructuración genética con un valor de $\Phi_{st}=1$ $p<0.001$, toda la variación se encuentra entre los grupos (tabla 9).

Tabla 9. Estructura genética a través del análisis de varianza molecular (AMOVA) para las poblaciones del clado I de *X. melanosoma*.

Grupos	Φ_{st}	%Entre los grupos	%Dentro de las poblaciones en los grupos	P
Ayuquila				
Tamazula	1.000	100	0	<0.001

9.5. Demografía histórica

Las distribuciones de mismatch se realizaron de igual forma considerando dos grupos evolutivos distintos, basándonos en los dos clados principales formados en los análisis filogenéticos. En el caso del clado I, en el cuál se encuentran las poblaciones de Tamazula y Ayuquila, podemos observar una distribución multimodal (Fig. 9) y se encuentran valores altos tanto de r como de R^2 (Tabla 10), lo que indicaría que se tratan de dos poblaciones que aisladas (tabla 7), apoyando los resultados previos.

Por otro lado el clado II mostro una distribución unimodal (Fig. 10) y bajos valores de r y R^2 (Tabla 10), por lo que se trata de una población en expansión y con crecimiento poblacional.

Tabla 10. Distribución mismatch de los dos clados encontrados entre poblaciones de *X. melanosoma*, valores de los estadísticos r y R^2 .

Clados	Numero de secuencias	R	R^2
Clado I	7	0.7279	0.2381
Clado II	87	0.0438	0.0733

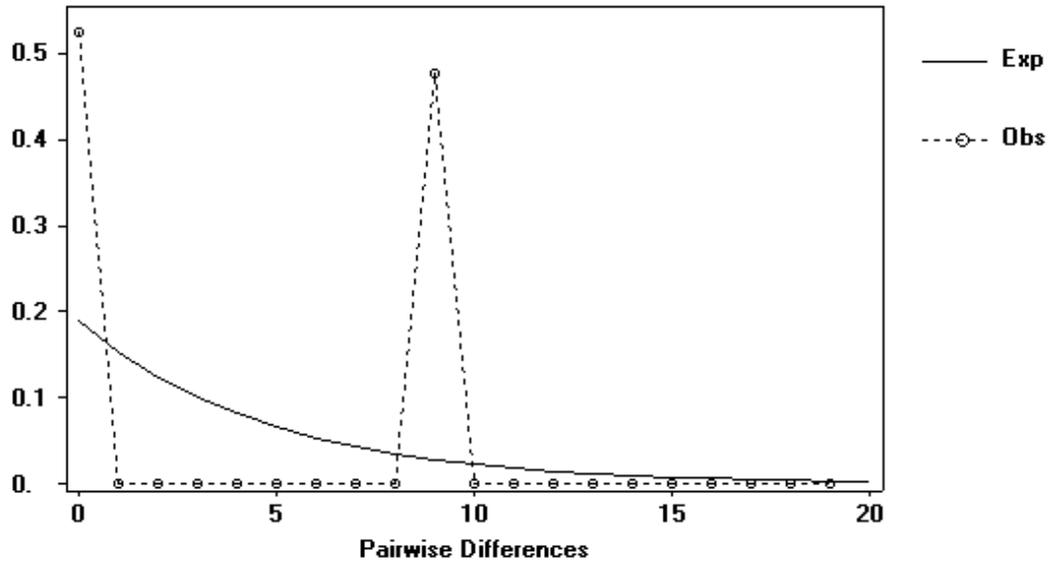


Fig. 9. Gráfico de la Distribución Mismatch del clado I Exp = frecuencia de diferencias esperadas. Obs = frecuencias de diferencias observadas.

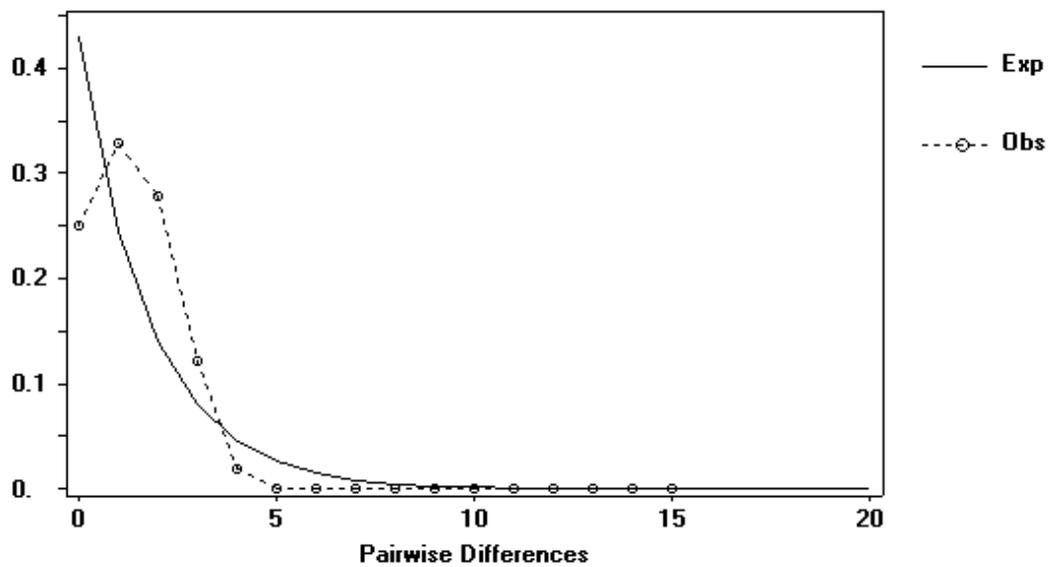


Fig. 10. Gráfico de la distribución mismatch del clado II Exp = frecuencia de diferencias esperadas. Obs = frecuencias de diferencias observadas.

9.6. Tiempos de divergencia

La estimación del tiempo de divergencia del evento cladogenético que separó las poblaciones de *X. melanosoma* en dos clados principales fue de aproximadamente 2.7 m.a., durante el Plioceno superior (Fig. 11).

En cuanto al clado I, en donde existe una separación entre las poblaciones de las cuencas de Ayuquila y Tamazula, el evento de aislamientos de estas dos cuencas fue aproximadamente 0.560 m.a., comprendido dentro del periodo Pleistoceno, periodo durante el cual se produjo el evento desconexión de la población de Zapotlán con respecto a las demás poblaciones que comprenden el clado II, fechado en aproximadamente 0.480 m.a (Fig. 11).

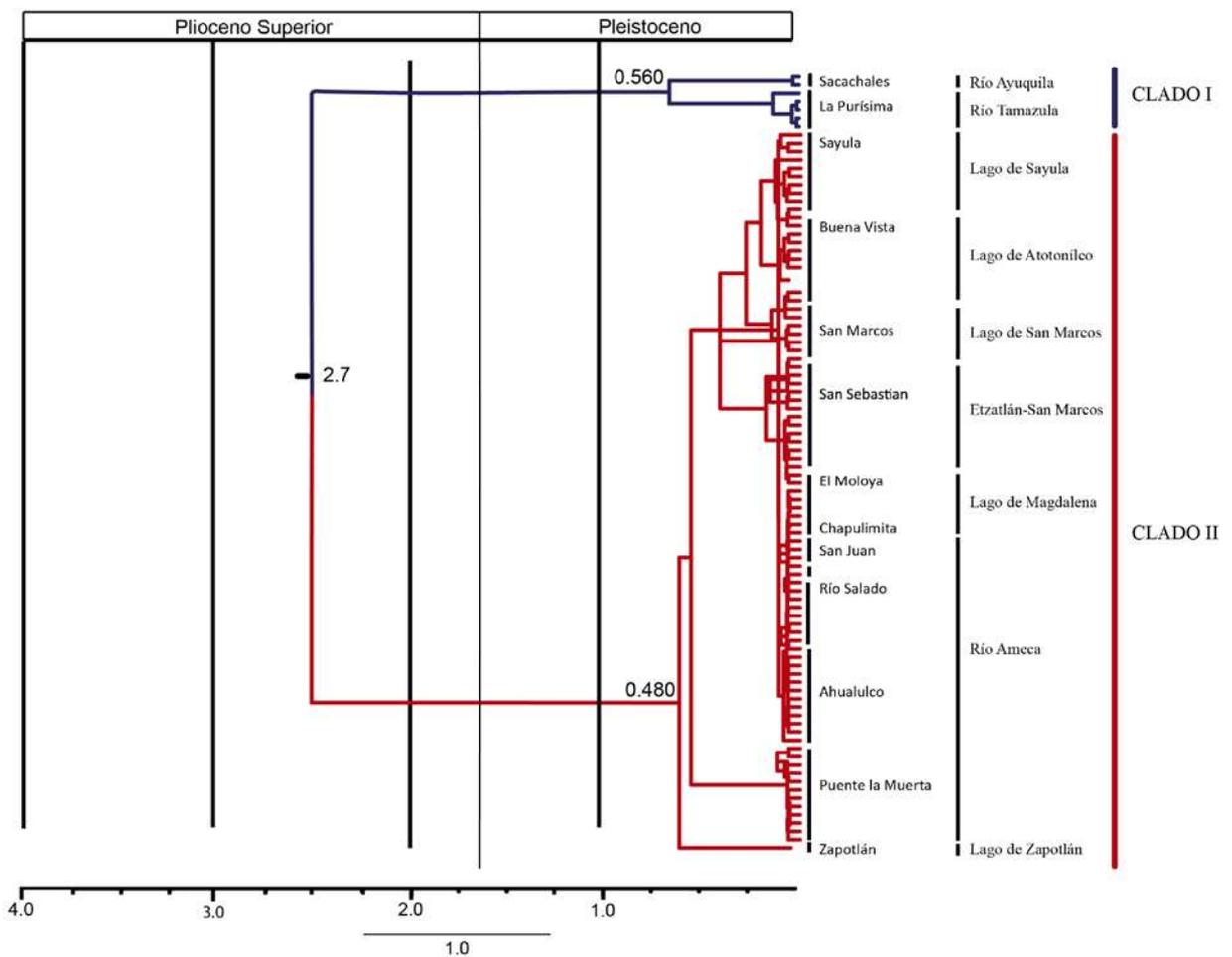


Fig. 11. Hipótesis de los tiempos de divergencia de *X. melanosoma*. Los valores en la escala inferior y en los nodos representan millones de años.

10. DISCUSIÓN

10.1. Inferencia filogenética y filogeográfica

Las hipótesis obtenidas con ambos métodos de reconstrucción filogenética MV y BY resultaron congruentes entre sí, se forman dos clados principales con diferencias de $D_{T-N} = 2.2\%$ con el gen *cit-b*, lo cual es congruente con trabajos previos (Mar-Silva, 2011), distancias que se encuentran por encima del valor considerado como mínimo (2%) para especies bien reconocidas (Avice, 2000). Las hipótesis filogenéticas obtenidas han permitido observar relaciones filogenéticas entre los grupos y los métodos que se utilizan han permitido resolver relaciones entre poblaciones divergentes en la subfamilia Goodeinae (Doadrio y Domínguez, 2004; Webb *et al.*, 2004; Domínguez-Domínguez *et al.*, 2008a; Domínguez-Domínguez *et al.*, 2010). Pero en el caso de poblaciones que están estrechamente relacionadas el emplear un método de coalescencia, como lo es la red de haplotipos, permitió observar mejor las relaciones entre las poblaciones, ya que considera procesos que podrían influir en el tiempo de coalescencia de las poblaciones (Lanteri y Confalonieri, 2003). Con el gen *cit-b* las redes de haplotipos muestran que el clado I está compuesto por dos haplotipos únicos pertenecientes a las cuencas de Ayuquila y Tamazula, los cuales, al utilizar un valor de confianza del 90%, se separan del clado II por 16 pasos mutacionales en el caso de Ayuquila y 22 en el caso de Tamazula, (Fig. 7), al utilizar un valor de confianza más elevado del 95% estos dos haplogrupos no se unen, esto debido a que el número de pasos superan el valor mínimo de pasos mutacionales (Fig. 6). En la red nuclear no se recuperan estos dos grupos, mostrando una relación reticulada, pero se mantiene como haplotipos únicos y no compartidos los presentados en las poblaciones de Ayuquila y Tamazula, lo que podría indicar que se tratan de dos entidades biológicas independientes.

El utilizar otra fuente de información para obtener las relaciones filogenéticas en entidades biológicas es muy importante, ya que un solo marcador podría mostrar la historia de un gen y no del grupo bajo estudio. La utilización de genes mitocondriales para resolver relaciones filogenéticas está basada en el hecho de que presenta una elevada tasa de mutación, no recombina y su herencia es matrilineal, por lo que se podría considerar como en congruencia con la teoría de la neutralidad y coalescencia (Lanteri y Confalonieri, 2003), además el gen *cit-b* es muy versátil, ya que cuenta con una región conservada que permite determinar relaciones ancestrales y otra muy variable, que ayuda a resolver relaciones entre organismos

estrechamente emparentados (Farías *et al.*, 2001). En el caso de la subfamilia Goodeinae ha logrado resolver relaciones entre taxa cercanamente emparentados (Doadrio-Domínguez, 2004, Webb *et al.*, 2004, Domínguez-Domínguez *et al.*, 2008a). Sin embargo, la utilización exclusiva de regiones mitocondriales podría llegar a ser riesgoso, ya que se trata de un solo locus y podría ser afectado por selección, deriva génica, presentar introgresión o que la conducta sexual afecte su dispersión al mostrar distintos niveles de éxito reproductivo, esto dependiendo del comportamiento de cada especie (Vázquez-Domínguez *et al.*, 2007). Es por esto que se ha recurrido al uso de genealogías obtenidas con ADN nuclear, el cual también presentan inconvenientes como la recombinación o la posibilidad de cada uno de los locus arroje resultados independientes (Vázquez-Domínguez *et al.*, 2007). A pesar de lo anterior, si consideramos que la reconstrucción filogenética resultante con la utilización del gen mitocondrial y el gen nuclear, a pesar de no ser del todo concordantes en la reconstrucción de las relaciones filogenéticas, si existe evidencia de que las poblaciones de *X. melanosoma* que se agrupan en dos clados principales, se trata en realidad de dos entidades biológicas distintas, las cuales, muy probablemente, han tenido una historia evolutiva asociada a un evento de aislamiento entre cuencas, que puede estar relacionado a la actividad geológica del graben de Colima y en particular a la actividad del Complejo Volcánico de Colima (Mateos *et al.*, 2002), es por esto que consideramos que la probabilidad de que la historia filogeográfica que estamos obteniendo sea la de la especie y no la de un gen. Estos mismos resultados se obtienen en el análisis concatenado (Fig. 3), lo cual corrobora que se trata de la hipótesis evolutiva de la especie y no solo de un gen.

Los microsatélites han sido utilizados en el grupo de los goodeidos para obtener relaciones filogenéticas de distintos locus, obteniendo buenos resultados, como la ratificación de linajes evolutivos independientes como en el género *Zoogoneticus* o identificar entidades biológicas que se consideraban como especies distintas en subgrupos de otra especie (género *Allotoca*) (Domínguez-Domínguez *et al.*, 2008a; Corona-Santiago, 2013). En la Subfamilia Goodeinae no existen trabajos en el que empleen intrones (locus nuclear) en reconstrucciones filogeográficas, estas regiones proveen resoluciones comparables al ADN mitocondrial (Palumbi, 1996). El intrón utilizado en este trabajo presenta relaciones más ambiguas que el gen mitocondrial, a pesar de las características antes mencionadas que presentan estas regiones nucleares, por lo que cabe acotar que esto puede ser debido a que existen intrones

mucho más variables que el de la rod, como es el caso del primer intrón de la proteína ribosomal s7, que se ha utilizado en cyprinidos y que ha resuelto relaciones entre especies estrechamente relacionadas (Pérez-Rodríguez *et al.*, 2009; Perea *et al.*, 2010). Es por esto que al realizar un análisis combinado podría estar afectando la poca tasa de mutación del gen nuclear a la resolución de los arboles.

10.2. Demografía y estructura poblacional

Las poblaciones de la especie mostraron una fuerte estructura genética con un valor de $\Phi_{st}=0.971$ y en donde la mayor variación es explicada entre los grupos con un 87%. Esto es congruente con la formación de los dos clados principales y las relaciones de los haplogrupos. Este tipo de estructura se había observado en grupos que se consideraban como poblaciones de una misma especie, pero que resultaron en dos entidades biológicas distintas. Por ejemplo, los trabajos de *Z. quitzeoensis* y de *X. variata* encontraron una fuerte estructura genética y permitieron describir a la especie *Z. purepechus*, y proponer en el caso de *variata* que se pueda tratar de dos especies (Domínguez-Domínguez, 2008; Domínguez-Domínguez *et al.*, 2008a). En el clado I los valores tanto de F_s de F_u como D_t positivos y no significativos (Kimura, 1984), podrían indicar que la variación genética es atribuida a deriva génica y mutación, además, las distribuciones de Mismatch son concordantes al observarse una distribución multimodal y con dos aparentes grupos que han sufrido una disminución en el tamaño poblacional y que no se encuentra en expansión. Además la distribución de Mismatch indica que este clado está estructurada genéticamente, esto corrobora los valores de variación genética encontradas en trabajos previos (Mar-Silva, 2011). Las disminución en las poblaciones de especies nativas en el centro de México se han relacionado a la actividad antropogénica, las cuales han modificado su hábitat y por lo tanto han reducido las poblaciones drásticamente (Domínguez-Domínguez, 2008; Pedraza-Marrón, 2011). En el caso del clado II presentó un valor positivo y no significativo en el estadístico F_s de F_u y un valor negativo del estadístico D_t , que junto con la distribución de mismatch podría indicar que se trata de una población discreta que se encuentra en expansión y con crecimiento poblacional, es decir, que posterior al evento de colonización, las poblaciones comenzaron a expandirse y ocupar las distintas cuencas en las que ahora se encuentran.

Los valores de diversidad nucleotídica para ambos clados son bajos ($\pi=0.00395$ y $\pi=0.00120$ respectivamente), lo cual ya había sido reportado para peces de la

misma subfamilia (Domínguez-Domínguez, 2008; Corona-Santiago, 2013). Los valores bajos de diversidad nucleotídica asociados a los altos niveles de diversidad haplotípica podrían indicar que las poblaciones del clado I se han enfrentado a un cuello de botella seguido de expansión poblacional. La diversidad haplotípica encontrada fue moderadamente alta en el caso del clado II ($H_d=0.738$), sin embargo en el caso del clado I fue baja ($H_d=0.476$), esta baja diversidad genética se ha observado en poblaciones que se encuentran amenazadas (Domínguez-Domínguez, 2008), por lo que podría ser la explicación de esta baja diversidad, sin embargo, valores bajos también han sido asociado a procesos de “linajes incompletos” o “especies incipientes”, o un alto flujo génico (Maddison, 1997; Arbogast *et al.*, 2002; Rosenfield *et al.*, 2012). Sin embargo, los resultados obtenidos no podrían soportar estas hipótesis, ya que el clado I presenta dos poblaciones con haplotipos únicos y que muestran una estructura en cuanto a sus relaciones filogenéticas. Las dos cuencas en donde se encuentran estas poblaciones (Ayuquila y Tamazula) han permanecido aisladas desde hace aproximadamente 1.5 m.a. (Mateos *et al.*, 2002), por lo que, la existencia de flujo génico reciente sería difícil entre este grupo de peces, sobre todo considerando que se trata de especies primarias, las cuales deben sus patrones de distribución a eventos de aislamiento y conexiones de cuerpos de agua (Domínguez-Domínguez *et al.*, 2008b).

10.3. Biogeografía

10.3.1. Aislamiento de clados principales

La separación de los dos clados principales entre las poblaciones de *X. melanosoma* se ha estimado en 2.7 m.a. (Fig. 11), lo que concuerda con hipótesis previas de aislamientos de grupos biológicos en la zona, como el caso de especies co-distribuidas de la familia Poeciliidae (Mateos *et al.*, 2002), en el cuál se encontró que las poblaciones que habitan el norte y sur del graben de Colima se habían aislado de su ancestro común entre 2.8 y 5.6 m.a., y que esta separación se asocia principalmente a la actividad volcánica, por lo que este mismo evento de especiación se le puede atribuir a las poblaciones de la especie en estudio.

La presencia de sedimentos lacustres en los ríos Ayuquila y Tamazula indicaría la posible conexión entre estos dos cuerpos de agua con el Lago de Sayula (Lühr y Carmichael, 1981), ello a través de la formación de paleolagos o inclusive la posibilidad de que existiera un río entre ambos, esta conexión se presume

desapareció hace aproximadamente 1.5 m.a., lo cual fue provocado por la actividad volcánica durante el Pleistoceno. La corroboración de esta conexión la podemos encontrar en la presencia de poblaciones de peces de la familia Poeciliidae y Cyprinidae (Mateos *et al.*, 2002; Pérez Rodríguez, *et al.*, 2009), que pertenecen a la misma especie (*Pecilliopsis latidens* y *Algansea aphaea*), sin embargo, estos autores mencionan la conexión entre Ayuquila y Tamazula y el resto de las cuencas a través del Lago de Sayula, a diferencia de la presente investigación, donde la evidencia señala que dicha conexión se llevo a cabo a través del Lago de Zapotlán, esto podría deberse a que las poblaciones de otras especies que se distribuyen en el resto de las cuencas desaparecieron en Zapotlán, por lo que actualmente la única especie que presenta esta relación es *X. melanosoma*, por lo que, de acuerdo con la información obtenida, la conexión entre de Ayuquila y Tamazula y el resto de las cuencas sería a través de Zapotlán y no de Sayula

10.3.2. Implicaciones biogeográficas clado I

La separación genética entre las poblaciones muestreadas en las cuencas de Ayuquila y Tamazula (Clado I) tuvo un fechamiento en 0.560 m.a., lo cual no concuerda con lo estimado por Mateos *et al.* (2002), quienes proponen la separación de estos cuerpos de agua hace 1.5 m.a., lo cual es congruente con lo encontrado en un trabajo realizado con la familia Cyprinidae, en donde el aislamiento de las poblaciones de *A. aphaea* en estas dos cuencas es de 1.5 m.a. (Pérez-Rodríguez *et al.*, 2009). Este autores lo atribuyen a un intercambio de organismos entre cuencas adyacentes por una captura de tributarios, con una posterior sequía debida al cambio de clima durante los ciclos glaciares en el Pleistoceno (Pérez-Rodríguez *et al.*, 2009), lo que provocó el aislamiento entre las cuencas. De nueva cuenta la actividad volcánica jugó un papel importante, ya que una fuerte actividad fue datada entre 1.5 y 3.5 millones de años (Mateos *et al.*, 2002). Estos tiempos de divergencia no concuerdan con los obtenidos en este trabajo, y además, las diferencias genéticas que muestra ambos grupos de organismos son distintas, en el caso de *A. aphaea* presenta una diferencia genética del 0.2% entre estas dos cuencas y un periodo de aislamiento mayor (Pérez-Rodríguez *et al.*, 2009), mientras que *X. melanosoma* presenta mayores diferencias genéticas 0.9% y un periodo de aislamiento menor. La variación en el tiempo de separación indicado en ambos trabajos, puede también deberse a que en la presente investigación se utilizó el método Bayesian Sky Line Plots, que es utilizado a nivel de población, por el

contrario, en el trabajo realizado por Pérez-Rodríguez *et al.* (2009) se utilizó el método de Yules para calcular los tiempos de divergencia, el cual es utilizado para relaciones jerárquicas. Estas diferencias también pueden deberse a que, a pesar de que existió una separación de los dos cuerpos de agua, pudieron existir remanentes de conexiones las cuales pudieron provocar intercambio de organismos de algunas especies pero no de otras, en el caso de *A. aphaea* se trata de organismos que habitan zonas de corrientes y por lo tanto su capacidad de dispersión es muy alta, mientras que los goodeidos, en general, tienen una limitada capacidad de dispersión (Domínguez-Domínguez *et al.*, 2008b). Esto indicaría que las posibles conexiones que pudieron permanecer durante la separación de Ayuquila y Tamazula, tenían las condiciones idóneas para el desplazamiento de una de las especies y el aislamiento paulatino de la otra.

10.3.3. *Implicaciones biogeográficas clado II*

Durante el Pleistoceno el Lago de Sayula era parte del Paleolago de Jalisco, en el cual también formaban parte los actuales Lagos de Atotonilco y San Marcos (Rosas-Elguera y Urrutia-Fucugachi, 1998). El haplotipo más común es el de Sayula y el río Ameca, por lo que, después de la llegada de la especie a través del Lago de Zapotlán, este se podría considerar como el haplotipo ancestral y a partir del cual se dio la expansión a las demás cuencas, en este sentido los linajes del género *Poeciliopsis* muestran esta misma ruta de dispersión, la cual se asocia a la conexión que hubo en los lagos del occidente de México (Mateos *et al.*, 2002).

10.4. *Implicaciones taxonómicas*

Las diferencias genéticas que presentan las poblaciones de *X. melanosoma* podrían indicar que se tratan de dos entidades evolutivas independientes. Las distancias genéticas entre los dos clados son de $D_T \cdot N = 2.2$, estando por encima de las divergencias mínimas para especie bien reconocidas de goodeidos, que son del 1.7% (Doadrio y Domínguez, 2004) y del valor considerado para especie hermanas de vertebrados, que es del 2% (Avise, 2000), además de que la red de haplotipos, los árboles filogenéticos y los datos de diferenciación y estructura apoya esta hipótesis. Existen muchos conceptos de especie, el concepto que consideramos más adecuado en este caso, es el concepto filogenético, el cual se define como “un agrupamiento mínimo de poblaciones, las cuales son diagnosticables por un número dado de caracteres compartidos, dentro de los cuales hay un patrón de ancestría-

descendencia (McKittrick y Zink, 1988; Nixon y Wheeler, 1990; Davis y Nixon, 1992). Por lo que en este sentido, se recomienda la inclusión de otras fuentes de información para comparar la hipótesis molecular en relación a la existencia de dos especies.

10.5. Implicaciones en la conservación

La importancia de los peces dulceacuícolas ha sido ampliamente reconocida (Duncan y Lockwood, 2001; Domínguez-Domínguez, 2008; Pedraza-Marrón, 2011), sin embargo se han realizado muy pocos esfuerzos por mantener las poblaciones estables. Las presiones antropogénicas a las cuales se encuentran sometidas los miembros de la subfamilia Goodeinae (Domínguez-Domínguez *et al.*, 2005; Pedraza-Marrón, 2011), han provocado disminuciones drásticas en las cuencas en las que se distribuían, su poca capacidad de dispersión y sus requerimientos de calidad de agua necesarios para su mantenimiento en la naturaleza los hacen vulnerables. Con este trabajo, y con base en la utilización de análisis filogeográficos y poblacionales, se podrían proponer estrategias para la conservación de la especie (Ryder, 1986; Moritz, 1994). La presencia de tres linajes evolutivos independientes, el primero formado por la población de Ayuquila, el segundo por la población de Tamazula y el tercero en el que se encuentran las poblaciones de los Lagos del centro-occidente de México y el Río Ameca (Fig. 1), puede hacernos considerar tres ESUs. Sin embargo, en el caso del Clado I (Fig 1.), en donde encontramos dos linajes evolutivos, las poblaciones en la naturaleza son muy escasas, en el río Ayuquila, a pesar del esfuerzo de muestreo, solamente se han logrado coleccionar dos individuos, y los representantes vivos se encuentran en acuarios que son mantenidos por personas interesadas en su preservación en el extranjero. En el río Tamazula solamente permanece una población, la cual en su mayoría se trata de organismos juveniles y la zona es de muy difícil acceso, por lo que se propondría para estos dos linajes pertenecientes al clado I, mantener las poblaciones en cautiverio para su posible reintroducción en un futuro. En el caso de la tercer ESU, la cual está conformada por las poblaciones de los lagos del centro-occidente de México, río Ameca y Etzatlán, se deben plantear propuestas de conservación de los cuerpos de agua para el mantenimiento de las poblaciones de la especie y no recurrir a estrategias *ex-situ*, como se recomienda en el caso del clado I.

11. CONCLUSIÓN

La presente investigación se realizó utilizando genes mitocondriales y nucleares para dilucidar la historia evolutiva de *X. melanosoma*, las relaciones filogenéticas se presentaron mejor resueltas con el gen mitocondrial, con la formación de dos clados, los cuales son congruentes con la red de haplotipos obtenida, los análisis de estructura genética y las distancias genéticas. Los valores de diversidad haplotípica y nucleotídica en el clado I son bajos, mientras que en el clado II el valor de diversidad nucleotídica es muy bajo y el de diversidad haplotípica moderadamente alto.

El evento de aislamiento propuesto está relacionado con el Complejo Volcánico de Colima hace aproximadamente 2 m.a., el cual separó a los dos clados, las distribuciones de mismatch y valores estadísticos indica que el clado I ha tenido una disminución en su tamaño poblacional, mientras que el clado II presenta una expansión poblacional.

Se proponen tres ESUs, ya que se tratan de linajes evolutivos independientes, sin embargo, se debe tener en cuenta las poblaciones que aún permanecen en la naturaleza.

12. LITERATURA CITADA

- Allan, J. F. y J. F. Luhr. 1982. **K-Ar ages of Late-Cenozoic alkaline and calc-alkaline lavas of the Colima Graben, SW Mexico.** *EOS Transactions Am Geophys Union*. 63 (45):1154.
- Allan, J. F. e I. S. E. Carmichael. 1984. **Lamprophyric lavas in the Colima graben, SW Mexico.** 88: 203-216.
- Arbogast, B.S., S.V. Edwards, J. Wakeley, P. Beerli y J.B. Slowinski. 2002. **Estimating divergence times from molecular data on phylogenetic and population genetic timescales.** *Annual Review of Ecology and Systematics*, 33(1): 707–740.
- Avise, J. C. 2000. **Phylogeography: The history and formation of species.** Harvard University Press, Cambridge. 447 p.
- Bernatchez, L. 2001. **The evolutionary history of brown trout (*Salmo trutta* L.) inferred from phylogeographic, nested clade, and mismatch analyses of mitochondrial DNA variation.** *Evolution*, 55:351-379.
- Corona-Santiago. 2013. **Filogeografía de tres especies de Goodeidos endémicos del Centro de México: *Allotoca catarinae*, *A. diazi* y *A. meeki* (Cyprinodontiformes:Goodeidae).** Tesis Maestría. UMSNH. 136 pp.
- Davis, J. I. & Nixon, K.C. 1992. **Population, genetics variation, and delimitation of phylogenetic species.** *Systematic Biology*. 41: 421-435. *Aquatic Ecosyst*. 408, 04.
- Doadrio, I. y O. Domínguez. 2004. **Phylogenetic relationship Within the Fish Family Goodeidae Based on Cytochrome b Séquense data.** *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 31: 416-430.
- Domínguez-Domínguez, O., N. Mercado-Silva y J. Lyons. 2005. **Conservation status of mexican goodeids: problems, perspectives and solutions.** p 515-524. En : Grier H. J. y M. C. Uribe. (Eds). **fishes.** New life publications, Homestead, Florida.
- Domínguez-Domínguez, O. y G. Pérez-Ponce de León. 2007. **Los Goodeidos, Peces Endémicos del Centro de México.** *Biodiversitas*. 75: 12-15.
- Domínguez-Domínguez, O. 2008. **Filogeografía de *Zoogoneticus quitzeoensis*, *Xenotoca variata* y *Allophorus robustus* (Cyprinodontiformes:Goodeidae) en el centro de México: implicaciones taxonómicas y de conservación.** Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología. Universidad Autónoma de México. 241 p.
- Domínguez-Domínguez, O., F. Alda, G. Pérez-Ponce de León, J. L. García-Garitagoitia y I. Doadrio. 2008a. **Evolutionary history of the endangered fish *Zoogoneticus quitzeoensis* (Beab, 1898) (Cyprinodontiformes: Goodeidae) using a sequential approach to phylogeography based on mitochondrial and nuclear DNA data.** *Evolutionary Biology. BMC Evolutionary Biology*, 8:161.
- Domínguez-Domínguez, O., L. Zambrano, L.H. Escalera-Vázquez, R. Pérez-Rodríguez y G. Pérez-ponce de Leon. 2008b. **Cambio en la distribución de goodeidos (Osteichthyes: Cyprinodontiformes: Goodeidae) en cuencas hidrológicas del centro de México.** *Revista Mexicana de Biodiversidad* 79: 501-512.
- Domínguez-Domínguez, O., C. Pedraza-Lara., N. Gurrola-Sánchez., R. Pérez-Rodríguez, I. Israde-Alcántara, V. H. Garduño-Monroy, I. Doadrio, G. Pérez-Ponce de León, y D. Brooks. 2010. **Historical biogeography of the Goodeinae (Cyprinodontiforms).** in Uribe-Aranzabal, M. C. and H. Grier, editors. **Viviparous fishes II.** New Life Publications, Florida.
- Duncan, J.R. y J.L. Lockwood. 2001 **Extinction in a field of bullets: a search for causes in the decline of the world's freshwater fishes.** *Biol Cons*. 102:97-105.
- Drummond, A. J. y A. Rambaut. 2007. **BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees.** *BMC Evolutionary Biology*. 7:214.
- Durand, J.D., H. Persat e Y. Bouvet. 1999. **Phylogeography and postglacial dispersion of the chub (*Leuciscus cephalus*) in Europe.** *Mol Ecol*. 8:989-997.
- Farías, I. P., G. Ortí, I. Sampaio, H. Schneider y A. Meyer. 2001. **The cytochrome b gene as a phylogenetic marker: the limits of resolution for analyzing relationships among cichlid fishes.** *Journal of Molecular Evolution* 53: 89-103.
- Fu, Y. X. y W. H. Li. 1993. **Statistical Test of Neutrality of Mutations.** *Genetics*. 133:693-709.
- Fu, Y. X. 1997. **Statistical test of neutrality of mutations against population growth, hitchhiking and background selection.** *Genetics*. 147:915-925.
- Garduño-Monroy, V. H., R. Saucedo-Girón, Z. Jiménez, J. C. Gavilanes-Ruiz, A. Cortés-Cortés y R.M. Uribe-Cifuentes. 1998. **La Falla de Tamazula, limite suroriental del bloque**

- de Jalisco, y sus relaciones con el complejo volcánico de Colima, México. *Revista Mexicana de Ciencias Geológicas*. 15 (2): 132-144.
- Hall, T. A. 1999. **BioEdit: a User-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT**. *Nucleic Acids Symposium*. 41: 95-98.
 - Harpending, H. C., S. T. Sherry, A. R. Rogers, y M. Stoneking. 1993. **Genetic structure of ancient human populations**. *Current Anthropology* 34:483-496.
 - Hillis, D. M. y J. J. Bull. 1993. **An empirical test of bootstrapping as a method for assessing confidence in phylogenetic analysis**. *Systematic Biology* 42: 182-192.
 - Hillis, D. M., C. Moritz y B. K. Mable. 1996. **Molecular Systematic**. 2a. ed. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. USA. 651 pp.
 - Huelsenbeck, J. P., B. Larget, R. E. Miller, y F. Ronquist. 2002. **Potential applications and pitfalls of Bayesian inference of phylogeny**. *Systematic Biology* 51: 673-688.
 - Kimura M. 1984. **The Neutral Theory of molecular Evolution**. Cambridge University Press. Cambridge.
 - Kumar, S., M. Nei, J. Dudley y K. Tamura. 2008. MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Briefings in Bioinformatic*. 9 (4): 299-306.
 - Lanteri, A. y V. Confalonieri. 2003. **Filogeografía: Objetivos, métodos y ejemplos**. en Morrone, J. y J. Llorente. (eds.). **Una perspectiva latinoamericana de la biogeografía**. CONABIO, México D. F. 185-194 p.
 - Librado P. y J. Rozas. 2009. **DnaSP v5: a software for comprehensive analysis of DNA polymorphism data**. *Bioinformatics*. 25(11):1451-1452.
 - Lühr, J. F. e I. S. E. Carmichael. 1981. **The Colima Volcanic complex, México; II, Late Quaternary cinder cones: Contributions to Mineralogy and Petrology**. v.76: 127-147.
 - Lydeard, C. y K. Roe. 1997. **The phylogenetic utility of the mitochondrial cytochrome b gene for inferring relationships among Actinopterygian fishes**. En: Kocher, T. D. y Stepien C. A. (Ed) **Molecular systematic of fishes**. Academic press. Pp. 285-302.
 - Machordom, A. e I. Doadrio. 2001. **Evidence of a Cenozoic Betic-Kabilian connection based on freshwater fish phylogeography (Luciobarbus, Cyprinidae)**. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 18: 252-263.
 - Maddison WP. 1997. **Gene Trees in Species Trees**. *Systematic Biology*. 46(3): 523-536.
 - Mar-Silva, A. F. 2011. **Diferencias Genéticas entre poblaciones de Xenotoca Melanosoma**. Tesis de Licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 56 pp
 - Mateos, M., O. I. Sanjur y R. C. Vrijenhoek. 2002. **Historical biogeography of the fish genus Poeciliopsis (Cyprinodontiformes)**. *Evolution*. 56: 972-984.
 - McKittrick, M.C. y R. M. Zink. 1988. **Species concept in ornithology**. *Condor*. 90: 1-14.
 - Miller, R. R., W. L. Minckley y S. M. Norris. 2005. **Freshwater fishes of México**. University of Chicago Press. 625p.
 - Moritz, C. 1994. **Defining "Evolutionary Significant Units" for conservation**. *Trends Ecol Evol* 1994, 9:373-375.
 - Nei, M. 1987. *Molecular evolutionary genetics*. Columbia University press. New York.
 - Nixon, K.C. y Q.D. Wheeler. 1990. **An amplification of the phylogenetics species concept**. *Cladistics*. 6: 211-223.
 - Palumbi, S. R. 1996. **Nucleic acids II: polymerase chain reaction**. En: Hillis, D. M., C. Moritz y B. K. Mable (Ed.) **Molecular Systematics**. Sinauer Associates, inc. Sunderland, Massachusetts. USA.
 - Parenti, L. 1981 **A phylogenetic and biogeographic analysis of cyprinodontiform fishes (Teleostei, Atherinomorpha)**. *B Am Mus Nat Hist*. 168:335-557.
 - Pedersen, N., D. T. Holyoak y A. E. Newton. 2007. **Systematics and morphological evolution within the moss family Bryaceae: A comparison between parsimony and Bayesian methods for reconstruction of ancestral character states**. *Molecular Systematic and Evolution* 43: 891-907.
 - Pedraza-Marrón, C. del R. 2011. **Cambios en la distribución de los peces de agua dulce del centro de México y sus posibles causas antropogénicas**. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. UMSNH. Morelia, Michoacán. 126 pp.
 - Perdices, A.A., J.A.J. Carmona, C.C. Fernández-Delgado e I. Doadrio. 2001. **Nuclear and mitochondrial data reveal high genetic divergence among Atlantic and Mediterranean populations of the Iberian killifish *Aphanius iberus* (Teleostei: Cyprinodontidae)**. *Heredity*, 87: 314-324.

- Perea S., M. Böhme, P. Zupancic, J. Freyhof, R. Sanda, M. Özulug, A. Abdoli e I. Doadrio. 2010. **Phylogenetic relationships and biogeographical patterns in Circum-Mediterranean subfamily Leuciscinae (Teleostei, Cyprinidae) inferred from both mitochondrial and nuclear data.** *BMC Evol. Biol.*, 10, 1–27.
- Pérez-Rodríguez, R., O. Domínguez-Domínguez, G. Pérez-Ponce de León e I. Doadrio. 2009. **Phylogenetic relationships and biogeography of the genus *Algansea* Girard (Cypriniformes: Cyprinidae) of central Mexico inferred from molecular data.** *BMC Evolutionary Biology*. 9 (223): 1-18.
- Posada D. 2008. **jModelTest: Phylogenetic Model Averaging.** *Molecular Biology and Evolution*, 25: 1253-1256.
- Ramos-Onsins, S. E. y J. Rozas. 2002. Statistical Properties of New Neutrality Tests Against Population Growth. *Molecular Biology and Evolution* 19(12):2092–2100.
- Renner, S. S. 2005. **Relaxed molecular clocks for dating historical plant dispersal events.** *TRENDS in Plant Science*. 10 (11): 550-556.
- Rosas-Elguera, J., y J. Urrutia-Fucugachi. 1998. **Tectonic control of volcano-sedimentary sequence of the Chapala graben, western Mexico.** *Int. Geol. Rev.* 40:350–362.
- Ryder OA: Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *Trends Ecol Evol* 1986, 1:9-10.
- Schaaf, P. 2002. **Geología y geofísica de la costa de Jalisco.** En Noguera F.A., J.H. Vega-Rivera, A.N. García-Aldrete y M. Quesada-Avendaño. (Ed.). **Historia Natural de Chamela.** Instituto de Biología UNAM. México. Pp. 11-16
- Schneider, S., D. Roessli y L. Excoffier. 2000. **ARLEQUIN. A software for population genetics data analysis, version. 2**
- Silvestro, D. e I. Michalak. 2012. **raxmlGUI: A graphical front-end for RAxML.** *Organism Diversity & Evolution*, 12: 335-337.
- Stamatakis A. 2006. **RAxML-VI-HPC: Maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models.** *Bioinformatics*, 22(21): 2688-2690.
- Stepien, C. A. y T. D. Kocher. 1997. **Molecules and morphology in studies of fish evolution.** En: Kocher, T. D. y Stepien C. A. (Ed) **Molecular systematic of fishes.** Academic press. Pp. 1-11.
- Tajima, F. 1983. **Evolutionary relationship of DNA sequences in finite populations.** *Genetics*. 105:437-460.
- Tajima, F. 1993. **Simple methods for testing the molecular evolutionary clock hypothesis.** *Genetics*. 135:599-607.
- Tavaré S. 1986. **Some probabilistics and statistical problems in the analysis of DNA sequences.** *Lect. Math. Life. Sci*, 17: 57-86.
- Vázquez-Domínguez, E. L. Eguiarte, V. Souza y X. Aguirre. 2007. **Filogeografía y vertebrados.** *La ecología molecular de plantas y animales*, 441-466.
- Webb, S. A., J. A. Graves, C. Macias-García, A. E. Magurran, D. O. Foighil y M. G. Ritchie. 2004. **Molecular phylogeny of the livebearing Goodeidae (Cyprinodontiformes).** *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 30:527-544.
- Zardoya, R. e I. Doadrio. 1999. **Molecular evidence on the evolutionary and biogeographical patterns of european Cyprinids.** *Journal of Molecular Evolution*, 49: 227-237.

13. CAPÍTULO II Análisis morfométricos en poblaciones de *Xenotoca melanosoma* Fitzsimons 1972 (Cyprinodontiformes: Goodeidae).

14. INTRODUCCIÓN

México cuenta con una gran diversidad de peces dulceacuícolas con más de 500 especies descritas (Miller *et al.*, 2005), y constituye una zona de transición de las biotas del norte y del sur del continente, por lo que podemos observar especies derivadas de las faunas neotropicales y neárticas, así como otras autóctonas. En particular el centro de México (*sensu* Domínguez-Domínguez y Pérez-Ponce de León, 2009) presenta una importante diversidad íctica, con 100 especies nativas de las cuales 70% son endémicas (Guzman-Arroyo, 1994; Miller *et al.*, 2005). Esta gran diversidad biológica es atribuida a la intensa actividad climática y geológica de la zona (Miller *et al.*, 2005; Domínguez-Domínguez *et al.*, 2006; Domínguez-Domínguez, 2008) que ha provocado procesos de especiación durante el Plioceno y Pleistoceno (Webb *et al.*, 2004).

Dentro de los grupos endémicos de la zona se encuentra la subfamilia Goodeinae, que se distribuye principalmente en las cuencas del centro de México (Doadrio y Domínguez, 2004; Webb *et al.*, 2004; Miller *et al.*, 2005). Esta subfamilia presenta características ecológicas, biológicas y evolutivas únicas, relacionadas con su estrategia de reproducción y desarrollo embrionario, ya que presentan fertilización interna, viviparidad y matrotrofia (Domínguez-Domínguez y Pérez-Ponce de León, 2007; Domínguez-Domínguez, 2008).

La subfamilia Goodeinae está representada por 41 especies en 19 géneros (Domínguez-Domínguez, 2008a). Los trabajos encaminados a conocer la diversidad del grupo se realizaron desde el año 1837, sin embargo la mayor cantidad de trabajos en cuanto a descripciones de especies se llevaron a cabo durante la segunda mitad del siglo XIX y principios del XX (Bustamante, 1837; Jordan y Gilbert, 1882; Bean, 1887; Meek, 1902). En un principio, la mayoría de las especies fueron descritas como pertenecientes a las familias Poeciliidae (Jordan y Everman, 1900; Meek 1902) y Cyprinodontidae (Regan 1906-1908). El primero en reconocer a la familia Goodeidae como un grupo natural fue Carl Hubbs en 1924, posteriormente, Hubbs y Turner (1939), realizaron el primer estudio sistemático del grupo, enfatizando las diferencias morfológicas con respecto a otros Cyprinodontiformes.

Las primeras clasificaciones realizadas con base en las características anatómicas de la trofotenia y al septo ovárico resultaban ser altamente variables entre especies, inclusive dentro de la misma especie (Mendoza, 1965; Fitzsimons, 1972), por lo que no se podían considerar como único carácter para las descripciones de las especies. El primer trabajo utilizando una combinación de caracteres tanto de morfología tradicional como con información de cariotipos, fue el realizado por Miller y Fitzsimons, 1972, en el cuál se proponen una serie de cambios en las clasificaciones previas, y en donde se proponían una gran cantidad de sinonimias para géneros y especies ya descritas.

El género *Xenotoca* fue propuesto después de una revisión de *Characodon* en 1937, en donde había sido situada la especie *Characodon variatus* por Jordan y Everman (1896-1900), Meek (1902) y Regan (1906-1908); en la revisión se encontró que difería en una gran cantidad de caracteres internos y externos con respecto a las otras especies del género. Se utilizaron caracteres morfológicos, anatómicos (forma del ovario) y la trofotenia para describir a *X. variata* (Hubbs y Turner, 1939). Actualmente el género está compuesto por tres especies, *X. eiseni* fue descrita en un principio como *C. eiseni* por Rutter en 1896, sin embargo es sinonimizada por presentar caracteres similares a *C. variatus* (Fitzsimons, 1972). En un trabajo previo de los géneros *Characodon* y *Xenotoca* se realizó la re-descripción de la especie, pero ahora incluida en el género *Xenotoca*.

En este mismo trabajo se describe la tercer especie del género, *X. melanosoma*, basándose en caracteres morfológicos y etológicos (Fitzsimons, 1972). Fitzsimons en 1974 y 1976 corrobora la identidad taxonómica de *X. melanosoma* analizando la proporción y tipo de cromosomas entre las tres especies del género; así mismo realiza cruza forzada y analiza el tipo de cortejo en condiciones de laboratorio entre las especies, concluyendo que *X. melanosoma* y *X. eiseni* hibridan si no tienen otra opción más que seleccionar al macho de la otra especie, mientras que *X. variata* no hibrida con ninguna de las dos especies, por lo que considera a esta última como la especie más diferenciada del grupo y que la selección sexual podría ser la explicación de la separación de las dos primeras especies en cuencas donde cohabitan.

Webb (1998), realizó una reconstrucción filogenética de la familia Goodeidae con base en caracteres morfológicos, osteológicos, aloenzimas y características

reproductivas, además de incluir marcadores moleculares (Citocromo oxidasa subunidad I), concluye que el género *Xenotoca* no es monofilético, e incluso propone un nuevo género, *Xenodontichthys*, para situar a las especies *X. eiseni* y *X. melanosoma*.

Reconstrucciones filogenéticas realizadas posteriormente en las cuales se utilizaron marcadores moleculares (Citocromo oxidasa, región control y *cit-b*), corroboran las relaciones filogenéticas dentro del grupo, corroboran que el género *Xenotoca* no es monofilético, y que dos de las tres especies que pertenecen a este género debería ser reconocidas como un género distinto (Webb *et al.*, 2004; Doadrio y Domínguez, 2004)

Xenotoca melanosoma se distribuye en nueve cuencas actualmente independientes de la región occidental del centro de México (Miller, 2005; Mar-Silva, 2011), en donde ha existido una intensa actividad volcánica asociada al complejo volcánico de Colima (Luhr y Carmichael, 1981), esta zona además está influenciada por un sistema de fallas y grabens conocidos como la triple unión. La actividad volcánica ha producido eventos de aislamientos y conexiones entre las cuencas del centro de México, lo que ha provocado diferencias morfológicas y genéticas en poblaciones de diferentes especies de peces (Mateos *et al.*, 2002).

Xenotoca melanosoma es el miembro más grande del género, llegando a alcanzar tallas de hasta 85 mm. En los machos la coloración es oscura, parecido a un negro muy intenso, solamente la mejilla por debajo del ojo y la barbilla, además de la garganta y la región del pecho son de una tonalidad más opaca. La coloración en machos es uniforme en ambos lados y se va oscureciendo, presenta un patrón irregular de pequeñas manchas en la cabeza, nuca y espalda. El mentón, pecho y abdomen son de un color gris claro a blanco. Dependiendo de la madurez y tamaño del pez la aleta dorsal puede ser oscura. La aleta anal es oscura, sin embargo puede no observarse coloración en la membrana presente en los primeros seis radios. Las aletas pareadas son de color gris a negro (Fitzsimons, 1972).

Análisis previos de *X. melanosoma* han mostrado una fuerte estructuración genética entre sus poblaciones (Mar-Silva, 2011, Capítulo I de esta obra), por lo que es necesario utilizar otras fuentes de información, como los análisis merísticos y

morfométrico, que nos permitan proponer una hipótesis más robusta de la identidad taxonómica de los grupos genéticamente diferenciados.

El objetivo de este trabajo es realizar un análisis taxonómico con caracteres merísticos y morfométricos de las poblaciones de *X. melanosoma* y dilucidar si las poblaciones genéticamente diferenciadas corresponden a taxones independientes.

15. MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizaron jornadas de campo en todas las cuencas donde existan registros previos de la especie durante los años 2011 y 2012, para la obtención de los organismos se utilizaron redes tipo chinchorro y de mano y equipo de pesca eléctrica, todos los organismos fueron fijados en formol al 6% y preservados en alcohol al 70%, se depositaron en la colección de Peces de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

15.1. Análisis Morfológicos y Morfométricos.

Debido a que en el capítulo I se encontró dos grupos genéticamente bien diferenciados, y debido a que el presente trabajo pretende ver la congruencia de los datos genéticos con los datos morfológicos, las poblaciones de *X. melanosoma* son tratadas como dos grupos, el grupo I conformado por las poblaciones del manantial Cuyacapan, Zapotlán, Buena Vista, San Sebastián, Ahualulco, Río Salado, Verde, Puente la Muerta y San Marcos) y grupo II, conformado por las poblaciones de Sacachales y La Purísima.

15.1.1. Morfometría geométrica

Se utilizó morfometría geométrica, para ello se digitalizaron 151 individuos, mediante un scanner marca hp; además de estos individuos digitalizados se utilizaron diez fotografías de hembras y ocho de machos de la localidad tipo de *X. melanosoma*, las cuales fueron proporcionadas por el Museo de Zoología de la Universidad de Michigan. Estas fotografías fueron utilizadas solamente para obtener las medidas lineales mediante los landmarks utilizados. Se digitalizaron 19 landmarks en cada individuo mediante el programa tpsDig (Rohlf, 2004a), los cuales fueron seleccionados de manera que la forma del cuerpo tuviera la mayor cobertura posible, los análisis morfométricos fueron posteriormente realizados usando estos landmarks. El alineamiento de los landmarks fue a través del análisis generalizado de Procrustes (rotación, escala y posición, para remover los efectos de la posición y

del tamaño; Bookstein, 1991; Marcus *et al.*, 1996) el proceso anterior fue realizado con el programa tpsRegr (Rohlf, 2004b). La configuración de los landmarks superpuestos fue usada para calcular las variables geométricas de la forma, componentes uniformes y las deformaciones parciales, los cuales son útiles para describir la afinidad o no en la variación de la forma. Las diferencias en cuanto a la forma del cuerpo se obtuvieron usando un Análisis Multivariado de Covarianza (MANCOVA, por sus siglas en Ingles), las variables de la forma sirven como variables dependientes, el “tamaño del centroide (centroide) y la longitud estándar” es utilizado como covariante, el sexo y las poblaciones como variables independientes. La variación de la forma entre las variables canónicas fue visualizada mediante gradillas de deformación.

15.1.2. *Medidas lineales*

De los organismos colectados se tomaron diecisiete medidas lineales, para ello se utilizó la fórmula de la suma de cuadrados, tomando los landmarks como puntos de referencia, esto minimizo el daño a los organismos por la manipulación. Las abreviaturas de las variables de las medidas lineales se tomaron de Domínguez-Domínguez *et al.*, (2008a) y son: LE (Longitud Estándar), LAD (Longitud de la Aleta Dorsal), AMin (Ancho Mínimo), LC (Longitud Cefálica), DPreO (Distancia Preorbital), DO (Diámetro del Ojo), AMax (Altura Máxima), DPA (Distancia entre la aleta Pélvica y Anal), DeOPOA (Distancia Extendida desde Origen de la aleta Pélvica al Origen de la aleta Anal), DDA (Distancia entre la Aleta Dorsal a la Aleta Anal), DEODOA (Distancia Extendida entre el Origen de la aleta Dorsal al Origen de la aleta Anal), LAA (Longitud de la Aleta Anal), DEPAPD (Distancia Extendida entre la parte posterior de la aleta Anal y la parte Posterior de la aleta Dorsal), DFADSP (Distancia entre el Final de la aleta Dorsal y el Extremo Superior de Pedúnculo Caudal), DFADPC (Distancia entre el Final de la Aleta Dorsal y el Extremo Inferior del Pedúnculo Caudal), DFAAPC (Distancia entre el Final de la Aleta Anal al Extremo Superior del Pedúnculo Caudal), DFAAIPC (Distancia entre el Final de la Aleta Anal al Extremo Inferior del Pedúnculo Caudal).

Para identificar las variables que más contribuyen a la diferencia entre grupos de las poblaciones muestreadas, se llevó a cabo un Análisis de Componentes Principales (ACP), además de un Análisis de Varianza Canónico (CVA, por sus siglas en inglés) el cual permitió encontrar diferencia entre las medias de las poblaciones analizadas,

para este análisis se utilizó el programa PAST (Hammer *et al.*, 2001); para eliminar el efecto que pudiera tener el tamaño de los organismos se realizó el ajuste de Burnaby a los datos, de igual forma las medidas lineales fueron divididas entre la LE para obtener las medidas de medias y rangos.

15.1.3. *Datos merísticos*

Además, se tomaron en cuenta nueve caracteres merísticos, cuyas abreviaturas son las siguientes: A (Radios de la Aleta Anal), APt (Radios de la Aleta pectoral), APvD (Radios de la Aleta Pélvica Derecha), APvl (Radios de la Aleta Pélvica Izquierda), C (Radios de la Aleta Caudal), D (Radios de la Aleta Dorsal), EL (Escamas a lo Largo del Cuerpo), EP (Escamas del Pedúnculo Caudal) y P (Poros). Para expresar las diferencias en los caracteres merísticos se construyeron graficas de caja y bigote utilizando el paquete estadístico JMP.

16. RESULTADOS

Se utilizaron especímenes colectados en 11 localidades en donde existían registros de *X. melanosoma* las cuales se presentan en la Tabla 1. Además se incluyeron organismos de la localidad tipo, Tamazula, cuyas fotografías fueron facilitadas por el Museo de Zoología de la Universidad de Michigan, estas fotografías no se utilizaron en los análisis de morfometría geométrica debido a que formaban un grupo aparte (outlier), los cuales no se relacionaba con ninguna de las poblaciones aquí analizadas, sin embargo en los análisis con las medidas lineares si fueron informativos y se agrupaban con las poblaciones en estudio.

Tabla 1. Localidades en donde se realizó las colecta de organismos
SD=Sin Datos ODL=Organismos Dejadados en Libertad

Cuencas	Poblaciones	Localización	# de Catalogo
Lago de Sayula	Manantial Cuyacapan	SD	ODL
Lago de Zapotlán	Zapotlán	19°42'14.1"N 104°8'37.9"W	4187
Lago de Atotonilco	Buena Vista	20°20'05.8" N 103°45'19.7" W	4345
Eztatlán	San Sebastián	20°49'25"N 104° 7'10.8"W	4201
Río Ameca	Ahualulco	20°43'17.5"N 103°57'53.1"W	4300
	Río Salado	20°41'12.3"N 103°41'36.1"W	4199
	Verde	SD	6172
	Puente la Muerta	20°31'43"N 104°7'47.8"W	4302
Lago de San Marcos	San Marcos	20°20'0.4"N 103°34'47.6"W	4044
Río Tamazula	La Purísima	19°31'19.8" N 103°20'32.9" W	4351
Río Ayuquila	Sacachales	19°42'16.6" N 104°8'36.5" W	5225

16.1. Morfometría

16.1.1. Morfometría geométrica

Los análisis morfométricos se realizaron utilizando la superposición de los datos (Relative warps), obtenidos después de eliminar los efectos del tamaño, posición y escala. Se encontró que existe dimorfismo sexual en los dos grupos (Tabla 2), estos valores fueron obtenidos utilizando el centroide, el valor de $F= 2.0176$, $p=0.0588$ indican que los grupos muestran un dimorfismo sexual.

Tabla 2. Valores medios de las tallas entre hembras y machos, utilizando el valor del centroide como covariante, las poblaciones resaltadas indican el grupo I.

Población	Media de la talla en hembras	Desviación estándar	Media de la talla en machos	Desviación estándar
Ahualulco	1.7159534	0.02680736	1.6111222	0.01661512
Atotonilco	1.5352670	0.01547724	1.5342830	0.02034928
Puente la Muerta	1.6517681	0.03171889	1.6407002	0.01608752
Purísima	1.4566443	0.03546280	1.5251375	0.04550238
Salado	1.6938304	0.02364187	1.6323846	0.01940228
San Sebastián	1.7884019	0.04094892	1.6708249	0.02432204
San Marcos	1.6417311	0.04094892	1.6229465	0.02627081
Zapotlán	1.6440994	0.03171889	1.5952976	0.02877823
Sacachales			1.5807060	0.0455023
Verde			1.5221134	0.02877823
Chapulimita			1.6534217	0.03715253

En la tabla 3 en donde fue utilizado el valor de la longitud estándar como covariante para el MANCOVA se observa de nueva cuenta que las hembras son de mayor tamaño que los machos, solamente en caso de la población del río Tamazula las hembras son de menor tamaño, el valor de $F= 2.1356$ $p=0.0454$, indican que existe dimorfismo sexual entre las poblaciones de ambos grupos. Además de lo anterior, en la tabla 2 y 3 se puede observar que las poblaciones de La Purísima y Sacachales, son de menor tamaño que el grupo II.

Tabla 3. Valores medios de las tallas entre hembras y machos, utilizando el valor de la longitud estándar como covariante, las poblaciones en negritas indican el grupo I.

Población	Media de la talla en hembras	Desviación estándar	Media de la talla en machos	Desviación estándar
Ahualulco	1.8969579	0.02789260	1.7840118	0.01692216
Atotonilco	1.7179666	0.01610380	1.7199392	0.02072533
Puente la Muerta	1.8337569	0.03300297	1.8189896	0.01638481
Purísima	1.6335832	0.03689844	1.7047102	0.04634325
Salado	1.8737401	0.02459896	1.8128583	0.01976083
San Sebastián	1.9684636	0.04260665	1.8473611	0.02477151
San Marcos	1.8252521	0.04260665	1.8033408	0.02675629
Zapotlán	1.8265752	0.03300297	1.7785173	0.02931005
Sacachales			1.7586198	0.04634325
Verde			1.6995669	0.02931005
Chapulimita			1.8351699	0.03783911

Tabla 4. Resultados estadísticos que muestran los valores de dimorfismo sexual con base a caracteres morfológicos utilizando Relative warps

Factor	R	R²	Error	df	F	p
Centroide						
Sexo				1	6.3936	0.0128
Población				7	14.5798	<0.0001
Población*Sexo	0.528123		113	7	2.0176	0.0588
LE						
Sexo				1	6.5471	0.0118
Población				7	13.1290	<0.0001
Población*Sexo	0.509256		113	7	2.1356	0.0454

Una vez observando que existía dimorfismo sexual, se procedió a comprobar si existían diferencias en cuanto al tamaño entre las diferentes poblaciones de *X. melanosoma*, se encontró que las poblaciones del grupo II tiende a ser de mayor tamaño tanto hembras como machos (Tablas 2 y 3) con valores de $F=13.188$ $p<0.0001$ en hembras y $F=0.361$ $p<0.0002$, estos valores se obtuvieron considerando el centroide (Tablas 2 y 5).

Tabla 5. Valores estadísticos obtenidos entre hembras y machos utilizando los Relative warps.

Factor	R²	Error	df	F	P
Hembras					
Csize	0.653	49	7	13.1882	<.0001
LE	0.634	49	7	12.1362	<.0001
Machos					
Csize	0.361	71	10	4.0129	<.0002
LE	0.339	71	10	3.6461	<.0006

El MANCOVA realizado para observar las diferencias entre las poblaciones arrojó que tanto hembras como machos muestran diferencias en cuanto a la forma de cuerpo, mostrando valores de Wilks' Lamda (η^2) en machos de 0.313 y con una probabilidad de <0.0001, mientras que en hembras este valor es 0.389 con una probabilidad de <0.0001 (Tabla 6). La principal variación la encontramos cuando comparamos la población junto con el sexo, esto es congruente con los resultados mostrados anteriormente.

Tabla 6. Valores estadísticos obtenidos en el MANCOVA, n= número de individuos, η^2 =valor de Wilks' lamda representado por la suma parcial de cuadrados y p=probabilidad

Sexos	n	η^2	P
Hembras	57		
Csize		0.81480623	<.0001
Población		0.50036048	<.0001
Población*Sexo		0.38919597	<.0001
Machos	82		
Csize		1.91237314	<.0001
Población		0.46030107	<.0001
Población*Sexo		0.31315342	<.0001

Al analizar los vectores (**d**) las hembras difieren principalmente en el vector **d₂**, este eje exhibe que no hay heterogeneidad entre todas las cuencas, esto se puede observar en las poblaciones que muestran una amplia dispersión en la gráfica (Fig. 1). Las poblaciones de las cuencas que pertenecen al grupo I tienden a estar situado en el final del eje negativo, mientras que las poblaciones del grupo II tiende a agruparse en el lado positivo. En **d₃** de igual forma el grupo I tiende a desplazarse hacia el lado negativo. La gradilla de deformación nos muestra que en el caso de las hembras la variación entre grupos se encuentra en la región pélvica y en la altura de los organismos (Figs. 2 y 3). En los machos **d₁** muestra claras diferencias entre ambos grupos y además muestra una mínima heterogeneidad entre las cuencas

(Fig. 4). Las diferencias en cuanto a la forma del cuerpo la encontramos en la región anal, en donde se observa que hay una ligera contracción en los machos de las poblaciones del grupo I (Fig. 5).

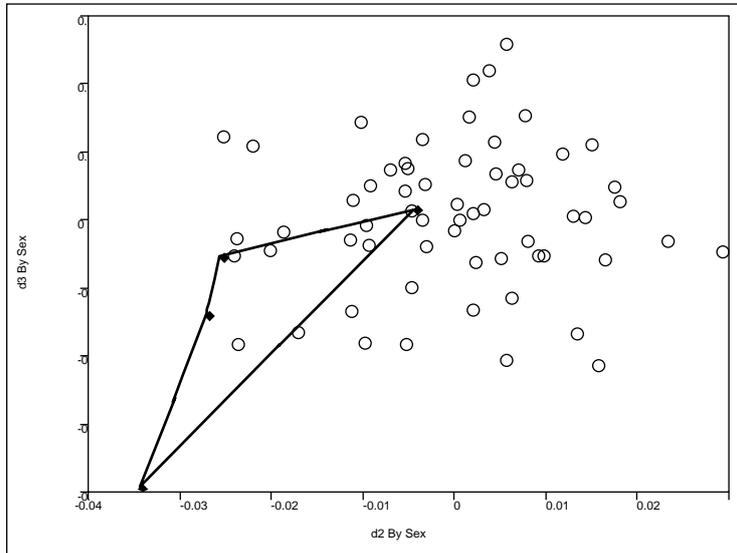
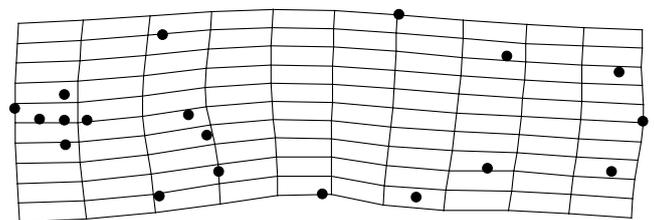
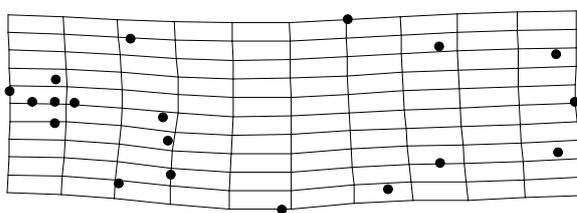


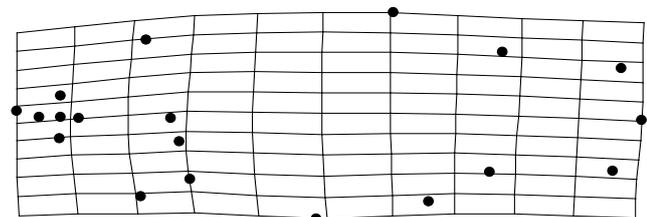
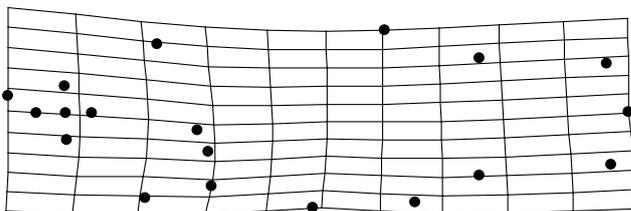
Fig. 1. Vectores divergentes en hembras, los organismos que se encuentran unidos por líneas representan el grupo I



a)

b)

Fig. 2. Gradilla de deformación en donde se muestra la diferencia en la región pélvica entre hembras de ambos grupos a) grupo I y b) grupo II



a)

b)

Fig. 3. Gradilla de deformación en donde se muestra la diferencia encontrado en el dorso de hembras a) grupo I y b) grupo II.

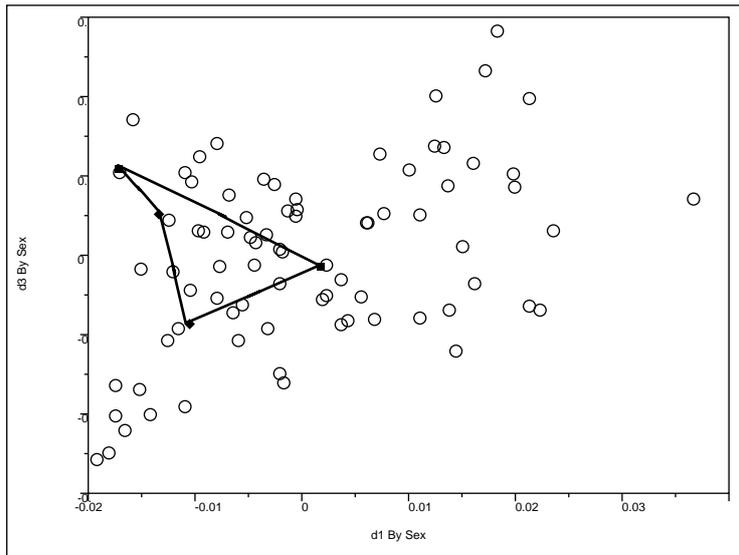


Fig. 4. Vectores en machos, los individuos que se encuentran unidos por líneas conforman el grupo I.

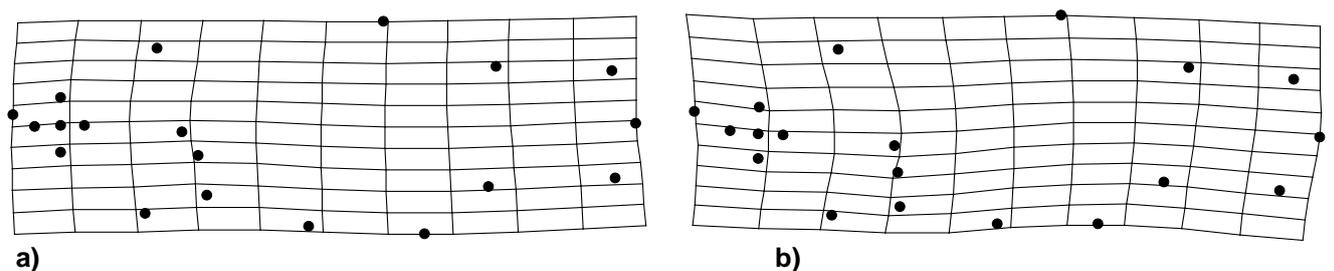


Fig. 5. Gradilla de deformación en donde se muestra la diferencia encontrada en la región abdominal entre ambos grupos a) grupo I y b) Grupo II

16.1.2. Medidas lineales

En el caso de las medidas lineales fueron realizado dos métodos para eliminar el efecto del tamaño en la forma, primero se obtuvo el valor que representa el porcentaje de cada medida con respecto a la LE (Tabla 10), el otro fue el ajuste de Burnaby mediante el paquete estadístico PAST. Una vez hecho esto se realizó un análisis de componentes principales utilizando las bases de datos separadas por sexos, en el caso de las hembras la variación acumulada en el segundo componentes principal (CP2) es del 62.2% (Tabla 7), siendo la distancia preorbital, la longitud de la aleta dorsal y la longitud de la cabeza las variables que más pesan. En la gráfica se observan dos grupos separados, cada uno de los cuales corresponde a los clados observados en los análisis filogenéticos (Capítulo I), aunque el valor de la elipse del 95% indica que si existieran mayor cantidad de

individuos podrían traslaparse ambos grupos (Fig. 6). En el caso de los machos la variación acumulada en los dos primeros CP fue del 57.2% (Tabla 7), En machos la distancia entre el final de la aleta dorsal y la parte superior del pedúnculo caudal es la medida lineal que mayor aporta a la variación entre grupos, seguido de la longitud de la aleta dorsal y por último el tercer en importancia es la distancia entre el final de la aleta anal y la parte superior del pedúnculo caudal, la gráfica en este caso muestra que hay traslape entre las poblaciones lo mismo que la elipse de variación del 95% de confianza (Fig. 7).

Tabla 7. Eigenvalores y % de varianza acumulada en los tres primeros componentes principales.

Hembras	Columna 1	Columna 2	Machos	Columna 3	Columna 4
PC	Eigenvalue	% variance	PC	Eigenvalue	% variance
1	0.00391152	35.157	1	0.00451572	43.021
2	0.00245708	22.085	2	0.00202149	19.259
3	0.00188812	16.971	3	0.00130835	12.465

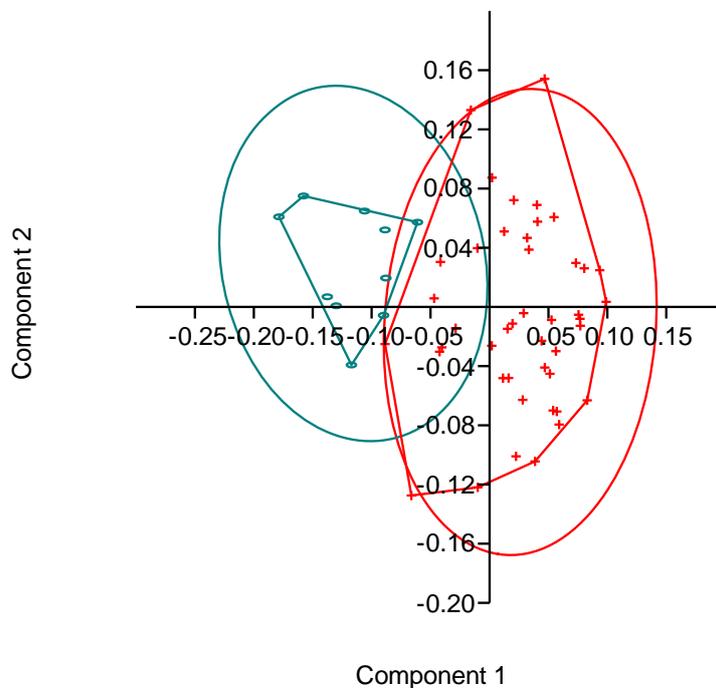


Fig. 6. Gráfico de componentes principales en hembras utilizando los valores de las medidas lineales. En verde las poblaciones del grupo I y en rojo grupo II.

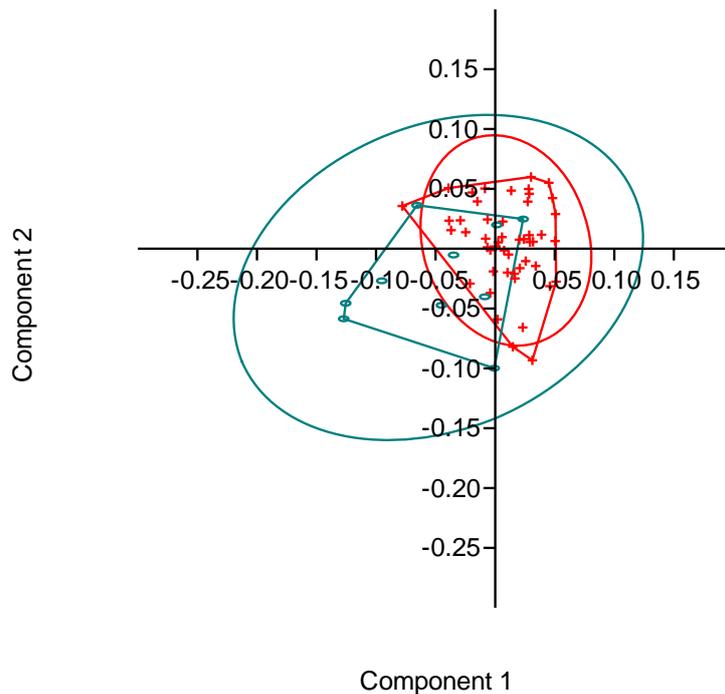


Fig. 7. Gráfico de componentes principales para machos, utilizando los valores de las medidas lineales. En verde las poblaciones del grupo I, en rojo las poblaciones del grupo II

Los análisis de varianza canónico muestran la formación de los dos grupos antes mencionados y de nueva cuenta en hembras es más evidente esta separación (Figs. 8 y 9). En el caso de los machos la separación no es tan evidente, sin embargo, ambos grupos se mantienen separados. La diferencia entre grupos considerando el valor de Wilks' lambda es de 0.0908 en machos y 0.1694, con valores de $p < 0.001$ (Tabla 8)

Tabla 8. Valores estadísticos de ANOVA

ANOVA				
Machos				
	η^2	df	F	p
	0.0908	17	6.46	0.0001
Hembras				
	η^2	df	F	p
	0.1694	17	16.84	0.0001

η^2 = valor de Wilks' lambda

16.1.3. Caracteres merísticos

Los rangos, la media y desviación estándar de estos datos se resumen en la Tabla 10, las gráficas de caja y bigote pueden consultarse en los anexos I-VII. Se observa que estas medidas son muy similares entre los dos grupos. Existen diferencias en los radios de la aleta pectoral (anexo II.), radios de la aleta caudal (ANEXO III), y en la cantidad de poros cefálicos (ANEXO VII y Tabla 10), las diferencias de nueva cuenta la encontramos principalmente en las hembras, algo que ya se había observado con las medidas lineales.

16.2. Diferencias entre grupos

El grupo I difiere del grupo II en los siguientes caracteres para hembras; 37 (30-37) radios en la aleta caudal en grupo I contra 35 radios en grupo II, 10 poros cefálicos en el grupo I contra 9 poros en el grupo II; la longitud de la cabeza es 29% con respecto a la LE en el grupo I contra 27% en el grupo II. En machos 10 poros cefálicos en el grupo I contra 8 poros cefálicos en el grupo II; la longitud de la aleta dorsal es 20% con respecto de la LE en el grupo I contra 17% en el grupo II. Veintidós posiciones nucleotídicas fijadas para el gen mitocondrial *cit-b*, y 2 posiciones nucleotídicas fijadas para el gen nuclear rodopsina.

16.2.1. Descripción morfológica del grupo II

C=37 (30-37), D= 14-16, A= 16 (15-16) en machos, APt 14-17 en machos y de 13-17 en hembras. Es un pez lateralmente comprimido, con cuerpo relativamente ancho y elongado. Los machos tienen una altura máxima de 39% con respecto a LE al igual que las hembras. La cabeza es grande, representando el 32% con respecto a la LE en machos y 27% en hembras. Distancia preorbital corta, representando el 4.9% con respecto a la LE en machos y 4% en hembras. Presentan una aleta dorsal ancha alcanzando la longitud de su base el 25% con respecto a la LE en machos y un 22% en hembras. La base de la aleta anal con un 12% con respecto de la LE en machos y 11% en hembras.

16.2.2. Patrones de pigmentación

La coloración del cuerpo no varía mucho entre localidades, siendo muy similar con respecto al grupo I. El cuerpo es de un color gris a pardo en machos, además de presentar una mancha grande de color oscuro en la región del abdomen,

mostrando una serie de puntos oscuros que al ser observados juntos parecen darles una pigmentación oscura a los machos cuando están vivos. Las hembras presentan un color marrón, pero muestran una pigmentación más marcada en la parte de la cola y conforme se va acercando a la cabeza este patrón de pigmentación forma barras laterales, el moteado que muestran las hembras es mucho más evidente en hembras pequeñas, y conforme van creciendo estas manchas forman el patrón similar a las barras.

El opérculo es de color claro con una tonalidad plata, las aletas son de color amarillo tenue y con una coloración más oscura en las puntas, llegando a observarse un tono negro, esto se observa tanto en machos como en hembras

16.2.3. *Dimorfismo sexual y reproducción*

Presentan un dimorfismo sexual marcado, los machos presentan una modificación en los primeros 5 radios de la aleta anal (Hubbs y Turner, 1939). El análisis de ANOVA mostró diferencias en algunas características, las hembras tienden a ser más grandes $\bar{x}=43.90$ de longitud estándar, mientras que por otro lado los machos presentan una longitud estándar de $\bar{x}=41.42$. Los siguientes caracteres se dividieron entre la longitud estándar: El pedúnculo caudal es más alto en hembras $DFADSPC/LE=0.197$, que en machos $DFADSPC/LE=0.18$, $DFADPC/LE= 0.268$ en hembras y 0.25 en machos. $DFADPC/LE=0.202$ en hembras y 0.199 en machos. La coloración y el tamaño de las aletas es más grande en machos.

16.2.4. *Distribución*

Se distribuye en la región occidental del centro de México. Reportándose para los Lagos de Sayula, Zapotlán, San Marcos, Magdalena, Atotonilco, en la cuenca endorreica de Etzatlán-San Marcos y en el río Ameca, por lo que muestra una amplia distribución.

16.2.5. *Hábitat y Ecología*

En general la especie se encuentra en sitios en donde la corriente es de moderada a nula, las condiciones más favorables para que las especies de Goodeidos sobrevivan en el medio natural son aquellas zonas con altas concentraciones de oxígeno, aguas transparentes y corrientes que tengan bajas concentraciones de amonio y fosfato, así como sitios poco eutrofizados (De la Vega-Salazar, 2006). Por

lo que en la mayoría de las poblaciones en donde encontramos a los individuos cumplen con estas características, aguas claras y en donde no se encuentran contaminantes evidente. En los sitios donde se presenta corriente los organismos de la especie se encuentran asociados a la vegetación.

La vegetación asociada al cuerpo de agua está representada por las especies *Salix* sp y *Taxodium* sp. La vegetación acuática la compone principalmente *Typha dominguensis* y *Potamogetum pectinatum*. Se encuentra co-distribuida con especies representantes de la subfamilia Goodeinae como *X. eiseni*, *Goodea atripinnis*, *Allodontichthys tamazulae*, *Zoogoneticus purepechus*, además de representantes de la familia Poeciliidae *Poeciliopsis infans*, el ciprinido nativo *Yuriria amatlana*, representantes de la familia Catostomidae *Moxostoma austrinum* y la fauna introducida *Cyprinus carpio*, *Poecilia reticulata* y *Xiphophorus hellerii*.

16.2.6. Conservación

Las poblaciones de este grupo están ampliamente distribuida en los lagos del occidente de México, sin embargo su intervalo de distribución ha disminuido (Domínguez-Domínguez *et al.*, 2007a; Pedraza-Marrón, 2011), debido principalmente a la actividad humana, por ejemplo el Lago de Sayula presenta niveles muy bajos de agua y la especie la podemos encontrar solo en manantiales conectados con el cuerpo de agua. Por lo que podría ser importante realizar estudios encaminados a conocer su vulnerabilidad.

16.2.7. Divergencias genéticas entre grupos

Las diferencias genéticas fueron calculadas en base a las secuencias utilizadas en el capítulo previo, utilizando el gen mitocondrial *cit-b*. Los valores más altos de diferenciación los encontramos al comparar los grupos con respecto a las especies del genero *Xenotoca*. Las diferencias que se presentan entre los grupos principales son el promedio de todas las poblaciones que componen el clado I contra el promedio de las diferencias de las poblaciones que componen el clado II (Tabla 9).

Tabla 9. Diferencias genéticas entre grupos y especies

Diferencias genéticas entre especies del género <i>Xenotoca</i>			
	Absolutas	P	T-N
<i>Grupo I vs Grupo II</i>	19.815 ± 3.930	0.018 ± 0.004	0.019 ± 0.004
<i>Grupo I vs X. eiseni</i>	53.200 ± 6.689	0.049 ± 0.006	0.052 ± 0.007
<i>Grupo I vs X. variata</i>	99.200 ± 9.356	0.091 ± 0.009	0.102 ± 0.011
<i>Grupo II vs X. eiseni</i>	53.667 ± 6.613	0.049 ± 0.006	0.052 ± 0.007
<i>Grupo II vs X. variata</i>	103.593 ± 9.632	0.095 ± 0.009	0.106 ± 0.011
<i>X. eiseni vs X. variata</i>	93.000 ± 8.960	0.086 ± 0.008	0.094 ± 0.010

Tabla 10. Medidas lineales en proporción a la Longitud Estándar y caracteres merísticos.

Variables	Grupo I						Grupo II					
	79 machos			62 hembras			8 machos			14 hembras		
	Rango	Media	DE	Rango	Media	DE	Rango	Media	DE	Rango	Media	DE
LE	58.64-27.01	41.42	7.01	78.93-29.32	43.90	10.84	63.71-26.17	47.59	13.35	74.77-20.74	48.03	16.70
LAD	0.257-0.174	0.204	0.0014	0.227-0.148	0.174	0.013	0.242-0.150	0.206	0.032	0.215-0.145	0.193	0.021
AM	0.192-0.163	0.176	0.005	0.189-0.147	0.168	0.008	0.183-0.163	0.172	0.005	0.177-0.141	0.166	0.008
LC	0.328-0.258	0.291	0.016	0.307-0.242	0.276	0.015	0.287-0.265	0.275	0.007	0.303-0.249	0.273	0.019
DPreO	0.0635-0.032	0.048	0.006	0.055-0.029	0.004	0.005	0.0614-0.038	0.049	0.009	0.564-0.035	0.050	0.005
DO	0.100-0.066	0.082	0.007	0.094-0.055	0.075	0.008	0.085-0.0765	0.080	0.003	0.096-0.067	0.075	0.008
AMax	0.393-0.318	0.353	0.0164	0.392-0.297	0.341	0.022	0.379-0.334	0.355	0.014	0.383-0.301	0.343	0.029
DPA	0.223-0.154	0.177	0.010	0.239-0.153	0.173	0.014	0.223-0.156	0.194	0.021	0.195-0.157	0.180	0.012
DEOPOA	0.429-0.362	0.397	0.012	0.442-0.337	0.387	0.017	0.429-0.368	0.404	0.0214	0.436-0.348	0.401	0.028
DDA	0.383-0.316	0.348	0.015	0.358-0.259	0.305	0.018	0.359-0.315	0.342	0.014	0.331-0.266	0.305	0.019
DEODOA	0.337-0.288	0.316	0.011	0.329-0.265	0.297	0.012	0.329-0.298	0.314	0.009	0.320-0.246	0.300	0.019
LAA	0.154-0.112	0.127	0.008	0.134-0.089	0.112	0.009	0.136-0.098	0.112	0.0115	0.158-0.107	0.120	0.013

DEPAD	0.211-0.177	0.193	0.009	0.214-0.171	0.197	0.009	0.204-0.182	0.192	0.007	0.209-0.150	0.190	0.014
DFADSPC	0.217-0.153	0.180	0.011	0.227-0.159	0.197	0.013	0.217-0.128	0.166	0.033	0.206-0.139	0.168	0.023
DFADPC	0.293-0.240	0.257	0.009	0.297-0.237	0.268	0.012	0.293-0.215	0.248	0.182	0.279-0.229	0.246	0.016
DFAAPC	0.296-0.244	0.270	0.008	0.294-0.242	0.273	0.010	0.284-0.244	0.265	0.014	0.282-0.234	0.256	0.013
DFAAIPC	0.230-0.175	0.197	0.010	0.225-0.179	0.202	0.010	0.230-0.170	0.197	0.023	0.24-0.160	0.184	0.023
A	15-19	16	0.631	15-16	16	0.555	15-17	16	0.836	14-17	16	0.894
APt	15-17	16	0.797	13-17	15	1.048	15-16	15	0.4472	-----	15	0
APvD	-----	6	0	-----	6	0	-----	6	0	-----	6	0
APvI	-----	6	0	-----	6	0	-----	6	0	-----	6	0
C	29-35	33	1.423	30-37	37	1.641	29-35	33	1.264	-----	35	0
D	14-17	15	0.600	14-17	16	0.557	15-18	16	1.224	13-16	15	1.303
EL	35-40	39	1.174	30-42	37	2.083	39-40	39	0.547	38-40	39	0.447
EP	8-10	9	0.3484	6-10	9	0.660	6-9	8	1.303	-----	9	0
P	8-11	10	0.739	9-10	10	0.447	6-11	9	0.928	6-10	8	1.788

LE (Longitud Estándar), LAD (Longitud de la Aleta Dorsal), AMin (Ancho Mínimo), LC (Longitud Cefálica), DPreO (Distancia Preorbita), DO (Diámetro del Ojo), AMax (Altura Máxima), DPA (Distancia entre la aleta Pélvica y Anal), DeOPOA (Distancia Extendida desde Origen de la aleta Pélvica al Origen de la aleta Anal), DDA (Distancia entre la Aleta Dorsal a la Aleta Anal), DEODOA (Distancia Extendida entre el Origen de la aleta Dorsal al Origen de la aleta Anal), LAA (Longitud de la Aleta Anal), DEPAD (Distancia Extendida entre la parte posterior de la aleta Anal y la parte Posterior de la aleta Dorsal), DFADSP (Distancia entre el Final de la aleta Dorsal y el Extremo Superior del Pedúnculo Caudal), DFADPC (Distancia entre el Final de la Aleta Dorsal y el Extremo Inferior del Pedúnculo Caudal), DFAAPC (Distancia entre el Final de la Aleta Anal al Extremo Superior del Pedúnculo Caudal), DFAAIPC (Distancia entre el Final de la Aleta Anal al Extremo Inferior del Pedúnculo Caudal), A (Radios de la Aleta Anal), APt (Radios de la Aleta pectoral), APvD (Radios de la Aleta Pélvica Derecha), APvI (Radios de la Aleta Pélvica Izquierda), C (Radios de la Aleta Caudal), D (Radios de la Aleta Dorsal), EL (Escamas a lo Largo del Cuerpo), EP (Escamas del Pedúnculo caudal y P (Poros).

17. DISCUSIÓN

En general, las diferentes medidas y metodologías utilizadas dejan de manifiesto la similitud morfológica de ambos grupos, a pesar de sus distancias genéticas. Esto podría tener varias explicaciones, una de ellas es la cantidad de individuos con los que cuenta el grupo I, ya que se observa que el tamaño de los organismos podría estar influyendo, así como la ausencia de hembras en la población de Ayuquila, ya que se observa que la mayor diferenciación se encuentra precisamente en las hembras. La otra posible explicación es que la diferenciación morfológica es baja pero existente y junto con la diferencia genética sea posible reconocer que estos dos grupos se tratan de entidades biológicas distintas, pero que su similitud fenotípica indicaría la existencia de dos especies crípticas.

La forma del cuerpo resultó ser muy poco informativa, debido a que en la gradilla de deformación se puede observar que existen diferencias en cuanto a ciertas regiones corporales como en el caso de la región pélvica y que es más evidente en las hembras, así como en la altura del grupo I que resulta menor, sin embargo, la principal diferencia que encontramos es en cuanto al tamaños de los grupos. El grupo I muestra un menor tamaño con respecto al grupo II, sin embargo al momento de observar alguna diferencia en dos grupos distintos con las gráficas de los vectores divergentes (Fig. 1 y Fig. 4), podemos ver que no se forman dos grupos y que inclusive estos se traslapan. Las incongruencias entre datos genéticos y morfológicos no son aisladas. Por ejemplo este tipo de incongruencias se han observado en miembros de otras familias de peces dulceacuícolas del genero *Gambusia*, en donde se encontró que existía un flujo génico entre las poblaciones y que se compartían una gran cantidad de haplotipos pero que mostraban una clara diferencia en cuanto a la forma del cuerpo, esto debido a las presiones a las que se encontraban sometidos y al régimen de depredación (Langerhans y Makowicz, 2009). Podemos notar que en este caso y al contrario de nuestro trabajo, la forma del cuerpo si resulto ser muy distinta mostrando un cuerpo más adaptado a una natación más rápida en poblaciones donde existía el depredador y en el caso de las poblaciones donde no existía depredador, tanto cuerpo como aletas, mostraban estar adaptadas a un nado más lento y constante, sin embargo y a pesar de lo anterior, el flujo genético entre ambas especies se mantenía, e inclusive existían haplotipos que se compartían entre las dos especies, por lo que de nueva cuenta se

puede notar que una diferenciación morfológica no necesariamente presentará una separación genética aparente y viceversa.

Las medidas lineales resultaron ser más informativas para separar grupos. En las gráficas de componentes principales se forman dos grupos bien diferenciados en hembras, mientras que el caso de los machos existe solapamiento. Los valores de ANOVA, tanto en hembras como machos, indican que se tratan de dos grupos bien diferenciados ($p=0.0001$), además de presentar un valor de DPreO/LE más pequeño en el caso del grupo I (machos=0.048 y hembras 0.040), mientras que el grupo II es más grande (machos=0.0049 y hembras=0.050), al igual que LAA/LE la cuál es más grande en el grupo I con valores en machos de 0.127 y en hembras de 0.112. Por otro lado en el caso del grupo II es de menor tamaño en machos=0.112 y hembras=0.120. Las medidas lineales han sido utilizadas con éxito para identificar especies dentro de la familia Goodeidae, como en el caso del género *Zoogoneticus*, en donde permitió identificar dos especies entre las poblaciones de *Z. quitzeoensis* (Domínguez-Domínguez, 2008). Así mismo la especie *Ilyodon cortesae* fue descrita y caracterizada mediante la forma y el tamaño de la boca, un perfil cefálico convexo y variación en la anchura del pedúnculo caudal (Paulo-Maya y Trujillo-Jiménez, 2000). Un trabajo en *Xenotoca variata* mostró que había muy poca variación morfológica entre dos grupos bien identificados genéticamente (Domínguez-Domínguez, 2008), lo cual es algo similar a lo encontrado en este trabajo.

Los caracteres merísticos muestran poca información para diferenciar grupos, lo cual es algo que en el género ya se había reportado en revisiones previas, incluso las tres especies reconocidas de *Xenotoca* fueron sinonimizadas en una sola; no es hasta la revisión de Fitzsimons (1972), en donde encuentra que la coloración es un carácter importante para la determinación de las especies. Otras especies de goodeidos como el caso de *Zoogoneticus quitzeoensis* y *Z. purhepechus*, las cuales presentan una diferenciación muy marcada tanto morfológicamente como genéticamente, no presentaban una coloración distinta, a excepción de dos puntos café oscuros que se encuentra en la región de la placa hipural en los machos (Domínguez-Domínguez *et al.*, 2008a). En este trabajo se encontró algo similar, las hembras de los dos grupos presentan distinto patrón de pigmentación, en el caso del grupo II presenta una mayor cantidad de puntos, los cuales conforme están más próximos a la cabeza parecen formar barras laterales.

La zona de distribución de los dos grupos en los que se separan las poblaciones de *X. melanosoma* se encuentra influenciada fuertemente por una serie de volcanes (Complejo Volcánico de Colima), y fallas (Rosas-Elguera, 1998), lo cual ha servido como evento vicariante en poblaciones de peces en esta región, dataciones realizadas indican que hace aproximadamente 2 m.a. tuvo una fuerte actividad, debida principalmente al volcán de Colima (Mateos *et al.*, 2002), este periodo de tiempo concuerda con el tiempo estimado de la separación de las dos entidades biológicas, por lo que la formación del volcán de Colima parece ser el evento vicariante que influyo en la formación de ambos grupos dentro de *X. melanosoma*.

Las diferencias genéticas encontradas indican que las poblaciones de *X. melanosoma* resultaron ser dos entidades biológicas independientes, el grupo II, presenta una amplia distribución en las cuencas de los lagos de Sayula, San Marcos, Zapotlán, Magdalena, Atotonilco, la cuenca endorreica de Etzatlán-San Marcos y el río Ameca. Las diferencias encontradas entre los grupos son de $D_{T-N}=1.9\%$ (tabla 7), pero se observa que entre la población del Río Ayuquila con respecto a las poblaciones del grupo II las diferencias encontradas son del $D_{T-N}=2.2\%$ lo que se encuentra por arriba del valor mínimo para ser considerarla como otra entidad biológica (Avice, 2000), por otro lado estas diferencias se encuentran en el rango del nivel de especies dentro de la subfamilia Goodeinae ($D_p=1.7\%-14.5\%$), lo que estaría soportando la existencia de dos linajes evolutivos independientes. Por otro lado, las diferencias que encontramos con respecto a las otras dos especies del género (*X. eiseni* y *X. variata*) podemos mencionar que entre *X. melanosoma* y *X. eiseni* existen una diferencia del 5%, pero al ser comparadas con *X. variata*, grupo I, grupo II y *X. eiseni* muestran valores de diferenciación genética superiores al 10%, el cuál se encuentra en el rango del nivel de género de la subfamilia ($D_p=3.2\%-24\%$).

Por lo que además de la diferenciación y las características antes mencionadas, podríamos reforzar la idea de que se trata de dos grupos distintos utilizando el concepto filogenético de especie, en donde el agrupamiento mínimo de individuos, de poblaciones o grupo de poblaciones que son diagnosticables por un número dado de caracteres compartidos muestran un patrón claro de ancestría-descendencia (McKittrick y Zink. 1988; Nixon y Wheler, 1990; Davis y Nixon, 1992).

18. LITERATURA CITADA

- Avise, J. C. 2000. **Phylogeography: The history and formation of species**. Harvard University Press, Cambridge. 447 p.
- Bean TH. 1887. **Descriptions of five new species of fishes sent by Prof. A. Duges from the province of Guanajuato, Mexico**. *Proc. U.S. Nat. Mus*, 10: 370-275.
- Bustamante M. 1837. ***Cyprinus viviparus*, (vulo) mexlapique**. El Mosaico Mexicano. Tom. II. *Historia Natural, Ichthyologia*.
- Bookstein, F.L. 1991. **Morphometric tools for landmark data**. New York: Cambridge Univ. Press.
- Davis, J. I. & Nixon, K.C. 1992. **Population, genetics variation, and delimitation of phylogenetic species**. *Systematic Biology*. 41: 421-435.
- De la Vega-Salazar, M.Y. 2006. **Estado de Conservación de los peces de la familia Goodeidae (Cyprinodontiformes) en la mesa central de México**. *Rev. Biol. Trop.* 54(1):163-177.
- Doadrio, I. y O. Domínguez. 2004. **Phylogenetic relationship Within the Fish Family Goodeidae Based on Cytochrome b Séquence data**. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 31: 416-430.
- Domínguez-Domínguez, O. Doadrio, I. and Pérez-Ponced de León, G. 2006. **Historical biogeography of some river basins in Central Mexico evidenced by their goodeine freshwater fishes: a preliminary hypothesis using secondary Brooks parsimony analysis (BPA)**. *Journal of Biogeography*. 33: 1437-1447.
- Domínguez-Domínguez, O. y G. Pérez-Ponce de León. 2007. **Los Goodeidos, Peces Endémicos del Centro de México**. *Biodiversitas*. 75: 12-15.
- Domínguez-Domínguez, O. 2008 **Filogeografía de *Zoogoneticus quitzeoensis*, *Xenotoca variata* y *Allophorus robustus* (Cyprinodontiformes:Goodeidae) en el centro de México: implicaciones taxonómicas y de conservación**. Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología. Universidad Autónoma de México. 241 p.
- Domínguez-Domínguez, O., R. Pérez- Rodríguez, e I. Doadrio. 2008a. **Morphologic and genetic comparative analyses of populations of *Zoogoneticus quitzeoensis* (Bean, 1898) (Cyprinodontiformes: Goodeidae) from Central Mexico, with description of a new species**. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. 79:373-383.
- Domínguez-Domínguez, O. y G. Pérez-Ponce de León. 2009. **¿La mesa central de México es una provincia biogeográfica? Análisis descriptivo basado en componentes bióticos dulceacuícolas**. *Revista Mexicana de Biodiversidad*. (80):835-552.
- Fitzsimons, J. M. 1972. **A Revision of Two Genera of Goodeid Fishes (Cyprinodontiformes, Osteichthyes) from the Mexican Plateau**. *Copeia*. 1972 (4): 728-756.
- Fitzsimons, J. M. 1974. **Morphological and Behavioral Intermediacy in Hybrids of Two Species of Goodeid Fishes (Cyprinodontiformes, Osteichthyes) from México**. *Copeia*. 1974 (4): 848-855.
- Fitzsimons, J. M. 1976. **Ethological Isolating Mechanisms in Goodeid Fishes of the Genus *Xenotoca* (Cyprinodontiformes, Osteichthyes)**. *Bulletin of the Southern California Academy of Science*. 75:84-99.
- Guzmán-Arroyo, F. 1994. **Osteología y variación no geográfica de la suspensión de la aleta anal de *Goodea luitpoldi*, (Osteichthyes : Goodeidae)**. Universidad, Ciencia y Tecnología 3:33-41.
- Hall, T. A. 1999. **BioEdit: a User-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT**. *Nucleic Acids Symposium*. 41: 95-98.
- Hillis, D. M., C. Moritz y B. K. Mable. 1996. **Molecular Systematic**. 2a. ed. Sinauer Associates, Inc. Publishers. Sunderland, Massachusetts. USA. 651 pp. Huelsenbeck, J. P. y F. Ronquist. 2001. **MR BAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees**. *Bioinformatic*. 17 (8): 754-755.
- Hammer, O., D. A. T. Harper y P. D. Ryan. 2001. **PAST: Paleontological statistics software package for education and data analysis**. *Palaeontologia Electronica*. 4 (1):9pp.
- Hubbs, C. L., C. L. Turner. 1939. **Studies of the fishes of the order Cyprinodontes. XVI. A revision of the Goodeidae**. *Misc. Publ. Mus. Zool. Univ. Michigan* 42: 1-80.
- Jordan, D.S. & C.H. Gilbert. 1882. **List of fishes collected by John Xantus at Colima, Mexico**. *Proc. U.S. Nat. Mus*. 5: 353-371.

- Jordan, D. S., B. W. Everman. 1900. **The Fishes of North and Middle America**. Bull. Us Nat. Mus. 47, 1-3313. En Webb S. A., J. A. Graves, C. Macias-García, A. E. Magurran, D. O. Foighil y M. G. Ritchie. 2003. **Molecular phylogeny of the livebearing Goodeidae (Cyprinodontiformes)**. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 30: 527-544.
- Kumar, S., M. Nei, J. Dudley y K. Tamura. 2008. **MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences**. Briefings in Bioinformatic. 9 (4): 299-306.
- Langerhans R. B. y A. M. Makowicz. 2009. **Shared and unique features of morphological differentiation between predator regimes in *Gambusicymanensi***. *J. Evol Biol.* 22:2231-2242.
- Lanteri, A. y V. Confalonieri. 2003. **Filogeografía: Objetivos, métodos y ejemplos**. en Morrone, J. y J. Llorente. (eds.). *Una perspectiva latinoamericana de la biogeografía*. CONABIO, México D. F. 185-194 p.
- Luhr, J. F. e I. S. E. Carmichael. 1981. **The Colima Volcanic complex, México; II, Late Quaternary cinder cones: Contributions to Mineralogy and Petrology**. v.76: 127-147.
- McKittrick, M.C. y R. M. Zink. 1988. **Species concept in ornithology**. *Condor*. 90: 1-14.
- Mar-Silva, A. F. 2011. **Diferencias Genéticas entre poblaciones de *Xenotoca Melanosoma***. Tesis de Licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. 56 pp.
- Marcus, L. F., M. Corti, A. Loy, G.J.P. Naylor y D.E. Slice. 1996. **Advances in Morphometrics, NATO ASI Series A: Life Sciences**. Plenum, New York. Vol. 284.
- Mateos, M., O. I. Sanjur & R. C. Vrijenhoek. 2002. Historical Biogeography of the Livebearing Fish genus *Poeciliopsis* (Poeciliidae: Cyprinodontiformes). *Evolution* 56:972–984.
- Matías, F. N. 2006. **Diferenciación Genética y Sistemática de las Especies *Ambystoma altamiranoi*, *A. leorae*, *A. rivulare* y *A. zempoalaense***. Tesis de Maestría. Posgrado en Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Autónoma de México.
- McKittrick, M.C. y R. M. Zink. 1988. **Species concept in ornithology**. *Condor*. 90: 1-14.
- Meek, S. E. 1902. **A contribution to the ichthyology of Mexico**. Field Columbian Mus. Publ. 65 (Zool.) 3 (6): 63-128. En Webb S.A., J.A. Graves, C. Macias-García, A.E. Magurran, D.O. Foighil y M.G. Ritchie. 2003. **Molecular phylogeny of the livebearing Goodeidae (Cyprinodontiformes)**. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 30: 527-544.
- Mendoza, G. 1965. **The ovary and anal processes of “*Characodon*” *eiseni*, a viviparous Cyprinodont teleost from Mexico**. *Biol. Bull.*, 129: 303–315.
- Miller, R. R. y J. M. Fitzimons,. 1971. ***Ameca splendens*, a new genus and species of goodeid fish from western México with remarks on the classification of the Goodeidae**. *Copeia*, 1971: 1–13.
- Miller, R.R., W.L. Minckley & S.M. Norris. 2005. **Freshwater fishes of Mexico**. University of Chicago Press, Chicago, USA, 652 pp.
- Nixon, K.C. y Q.D. Wheeler. 1990. **An amplification of the phylogenetics species concept**. *Cladistics*. 6: 211-223.
- Paulo-Maya, J. y P. Trujillo-Jiménez. 2000. **Nueva especie de *Ilyodon* (Cyprinodontiformes:Goodeidae) de la cuenca del río Balsas, México**. *Rev. Biol. Trop.* 48(2-3).
- Pedraza-Marrón, C. del R. 2011. **Cambios en la distribución de los peces de agua dulce del centro de México y sus posibles causas antropogénicas**. Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. UMSNH. Morelia, Michoacán. 126 pp.
- Regan, C. T. 1906-1908. **Pices**. En Webb S. A., J. A. Graves, C. Macias-García, A. E. Magurran, D. O. Foighil y M. G. Ritchie. 2003. **Molecular phylogeny of the livebearing Goodeidae (Cyprinodontiformes)**. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 30:527-544.
- Rohlf FJ. 2004a. **TpsDig**. Department of Ecology and Evolution. State Univ. New York, Stony Brook.
- Rohlf FJ. 2004b. **TpsRegr**. Department of Ecology and Evolution. State Univ. New York, Stony Brook.
- Rosas-Elguera, J. 1998. **Tectónica Extensional en el Occidente de la Faja Volcánica Trans-Mexicana Frontera norte del bloque de Jalisco**. Tesis Doctoral UNAM. 113p.
- Rutter, C. 1896. **Notes on fresh-water fishes of the Pacific slope of North America**. *Proc. Calif. Acad. Sci.* 6:245-269.
- Webb, S. A., 1998. **A phylogenetic analysis of the Goodeidae (Teleostei: Cyprinodontiformes)**. Tesis Doctoral, Universidad de Michigan. Ann Arbor. Michigan USA.

- Webb, S. A., J. A. Graves, C. Macías-García, A. E. Magurran, D. O. Foighil y M. G. Ritchie. 2004. **Molecular phylogeny of the livebearing Goodeidae (Cyprinodontiformes)**. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 30:527-544.

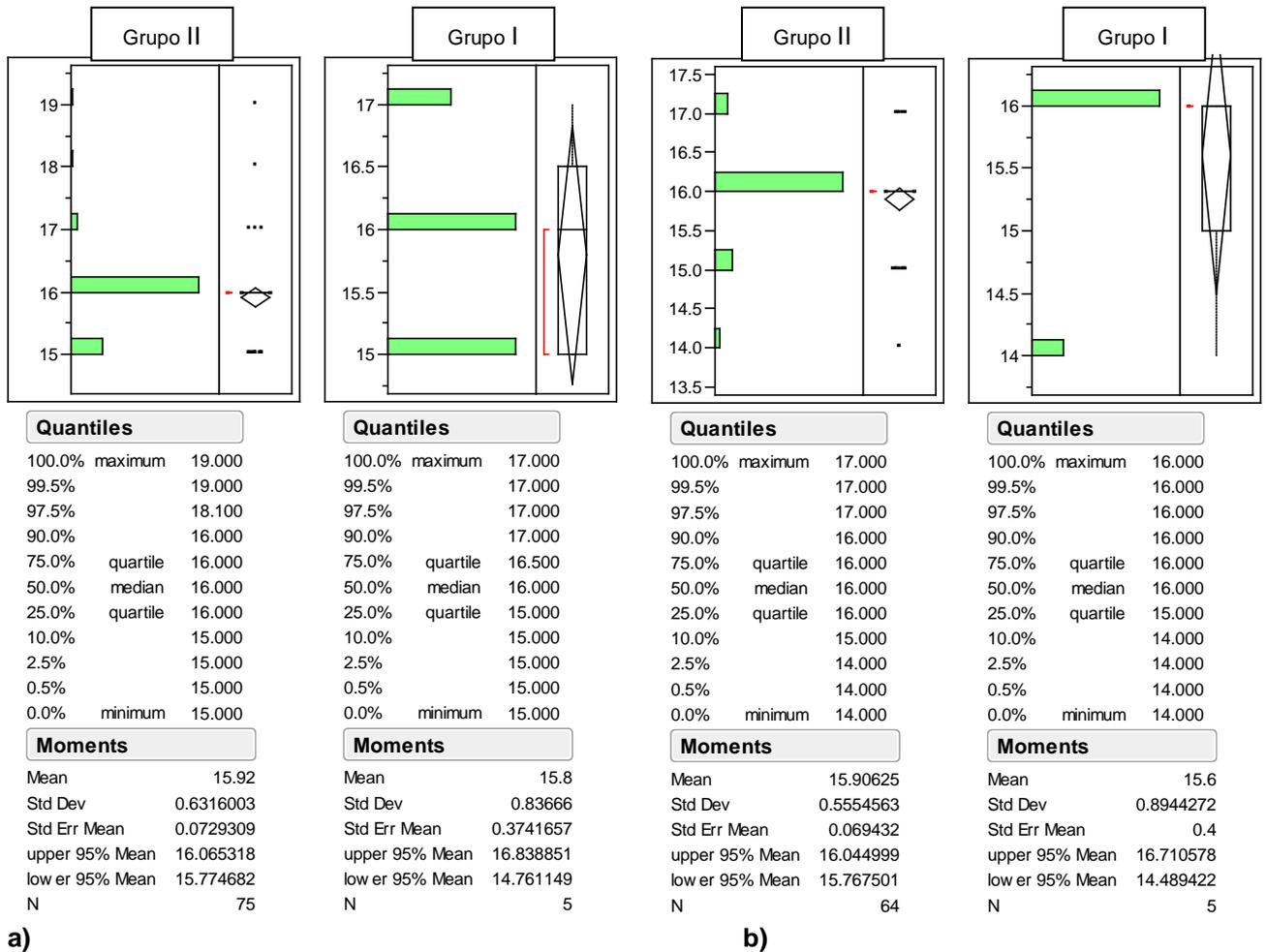
19. CONCLUSIONES GENERALES

- Las hipótesis filogenéticas, con ambos genes por separado y en conjunto, fueron congruentes entre sí con la formación de dos clados, los cuales muestran una diferenciación genética de $D_{T-N}=2.2\%$.
- Las redes de haplotipos obtenidas concuerdan con las hipótesis filogenéticas formando dos haplogrupos, los cuales se separan por 22 pasos mutacionales.
- La red obtenida con el gen nuclear no separa las poblaciones en dos haplogrupos independientes, sin embargo si muestra que los haplotipos del Clado I son únicos y no se comparten con los del clado II y tampoco se comparten entre las poblaciones dentro del clado II.
- La estructuración genética es mayor al comparar entre los dos clados principales obteniendo un valor de $\Phi_{st}=0.97$ $p<0.005$, así mismo el clado I que está conformado por las cuencas de los ríos Ayuquila y Tamazula muestran una marcada estructuración genética con un valor de $\Phi_{st}=1$ $p<0.001$.
- Las distribuciones de mismatch son congruentes con la estructuración genética, muestran en el caso del clado I una distribución bimodal y en el clado II una distribución unimodal.
- Las poblaciones del clado II se encuentran en expansión poblacional, y en el caso de las poblaciones del clado I se enfrentan a una disminución del tamaño poblacional.
- Los tiempos de divergencia de los clados principales fue datado en 2.7 m.a. y este concuerda con la actividad del Complejo Volcánico de Colima y en particular al Volcán de Colima.
- Las medidas lineales que contribuyen a la formación de los grupos son la distancia preorbital, la longitud de la aleta dorsal y la longitud de la cabeza, la mayor diferenciación la encontramos en las hembras.
- Los análisis de MANCOVA realizados con los datos lineales muestran la formación de dos grupos, los cuales concuerdan con los resultados obtenidos en las hipótesis filogenéticas.
- Los caracteres merísticos que muestran diferencias entre grupos son; radios de la aleta caudal y los poros cefálicos.

- Los análisis de morfometría geométrica indican que existe dimorfismo sexual entre las poblaciones, en donde las hembras son de mayor tamaño, esto en el clado II, en el clado I los machos son ligeramente mayores en talla que las hembras.
- Tanto hembras como machos muestran diferencias corporales en la región abdominal y las hembras además presentan diferencias en la altura del cuerpo.
- Se plantea la existencia de tres ESU's, río Ayuquila, río Tamazula y el resto de las poblaciones que conforman el clado II.
- Se propone que entre las poblaciones de *X. melanosoma* se podría tratar de dos entidades biológicas independientes.

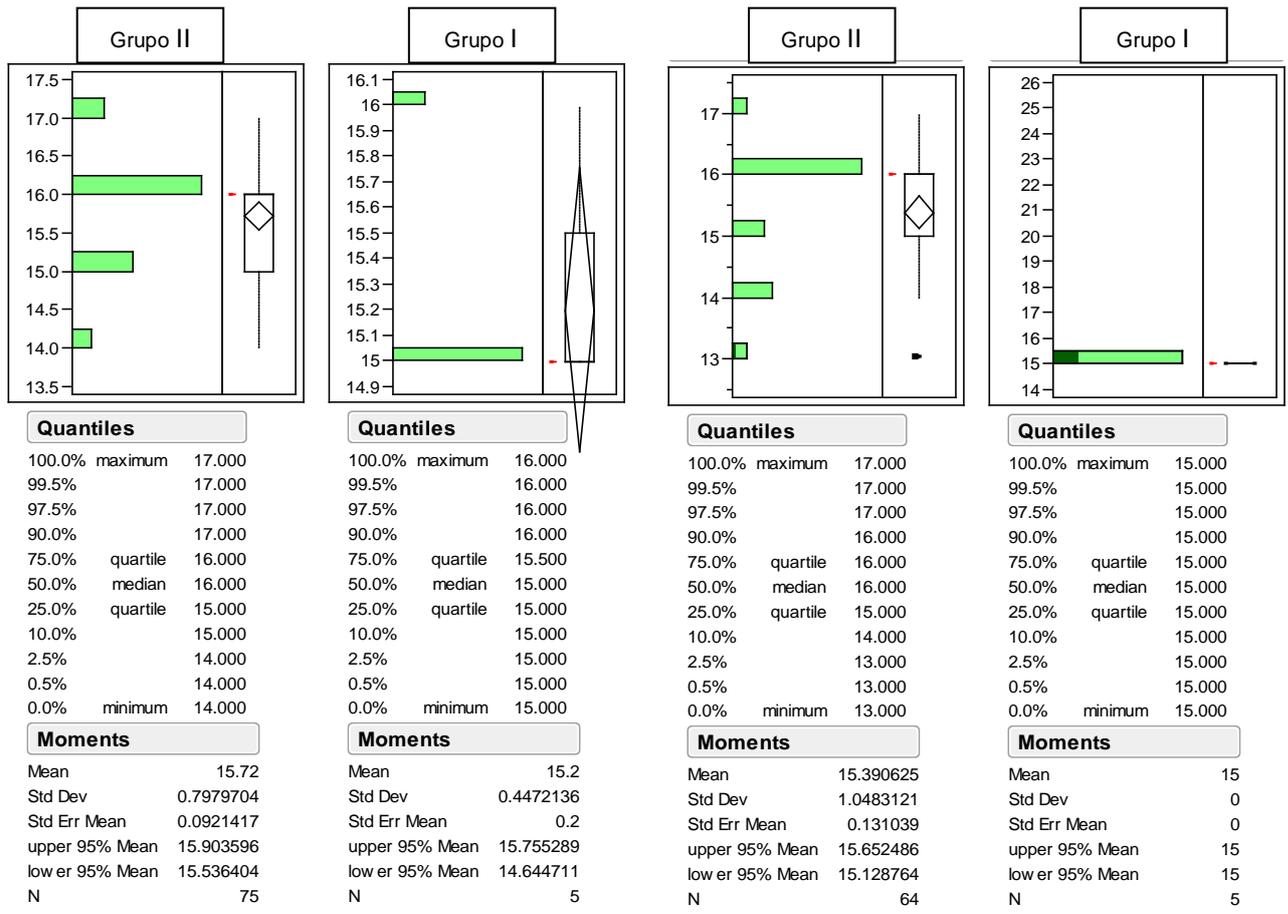
20. ANEXOS

20.1. ANEXO I



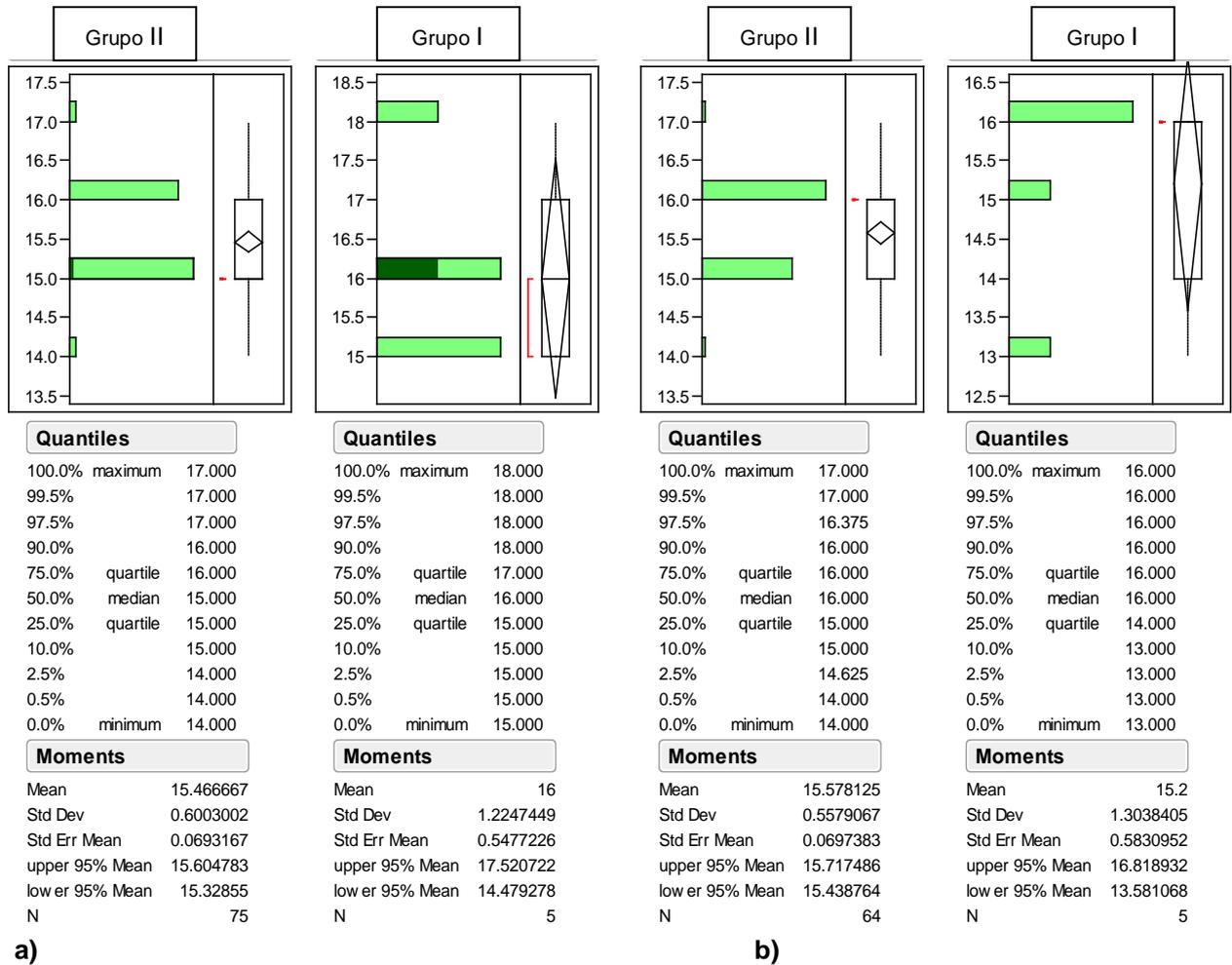
ANEXO I. Gráficas de caja y bigote del número de radios de la aleta anal a) machos y b) hembras

20.2. ANEXO II



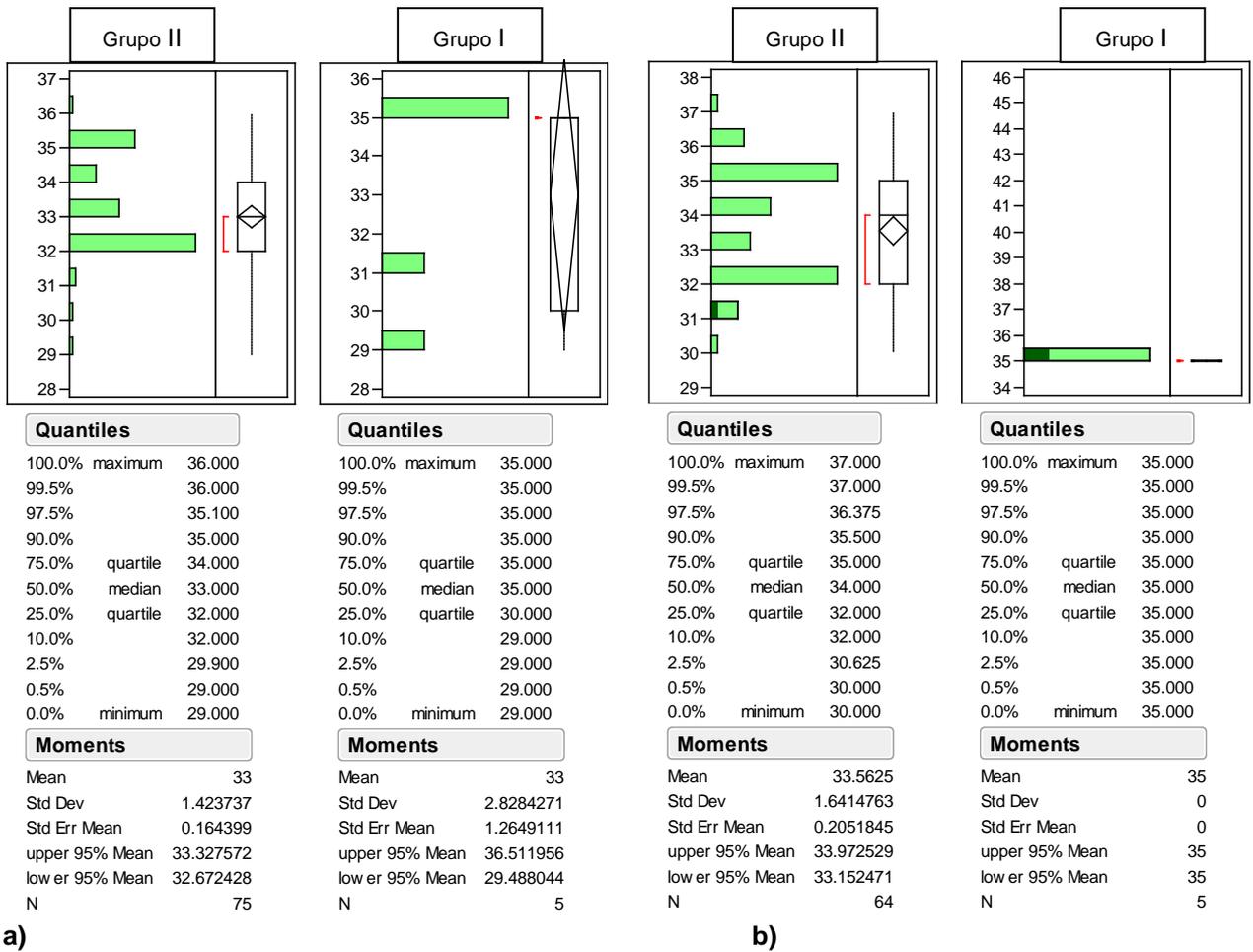
Anexo II. Gráficas de caja y bigote del número de radios de la aleta pectoral a) machos y b) hembras.

20.3. ANEXO III



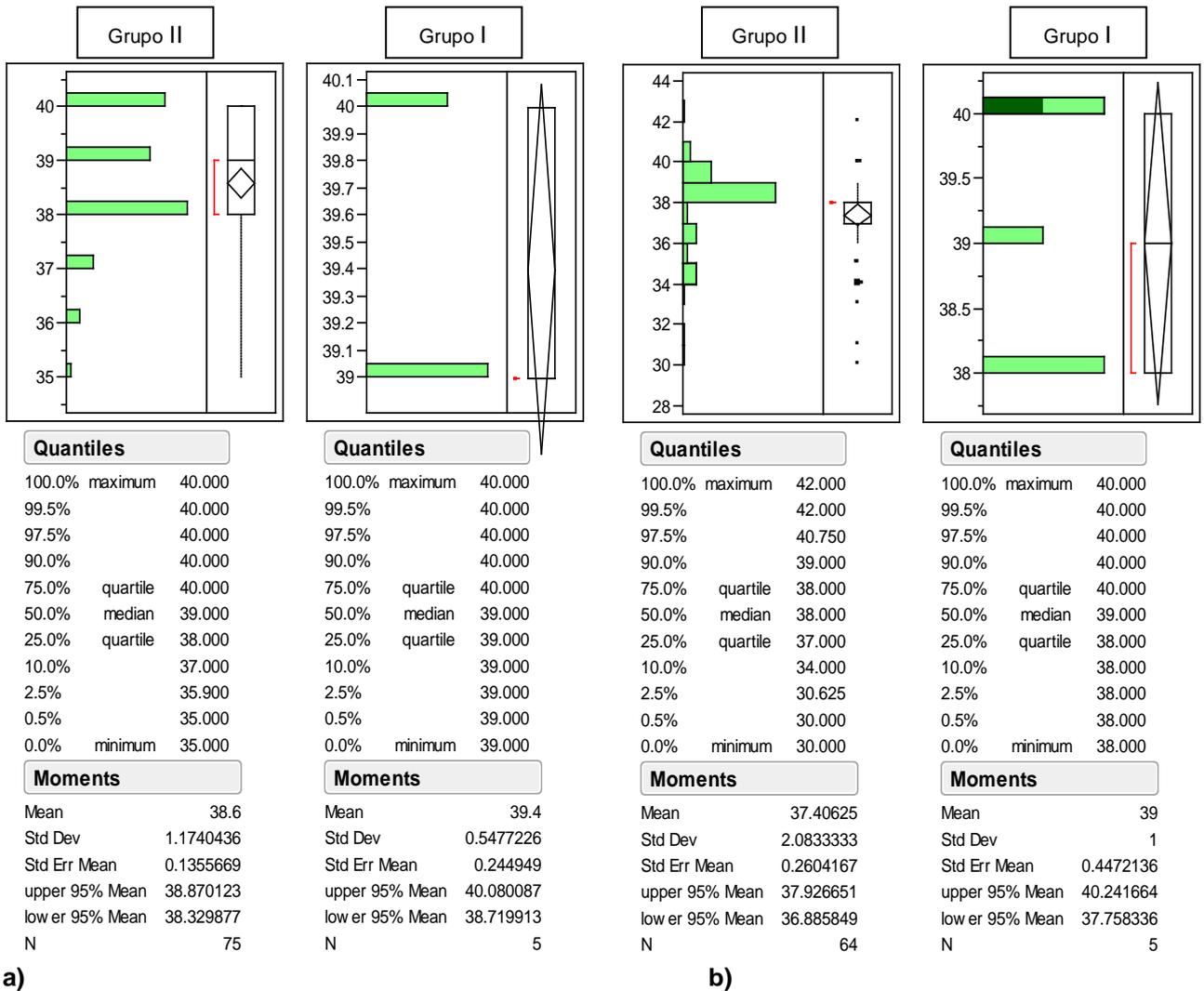
ANEXO III. Gráficas de caja y bigote del número de radios de la aleta caudal a) machos y b) hembras.

20.4. ANEXO IV



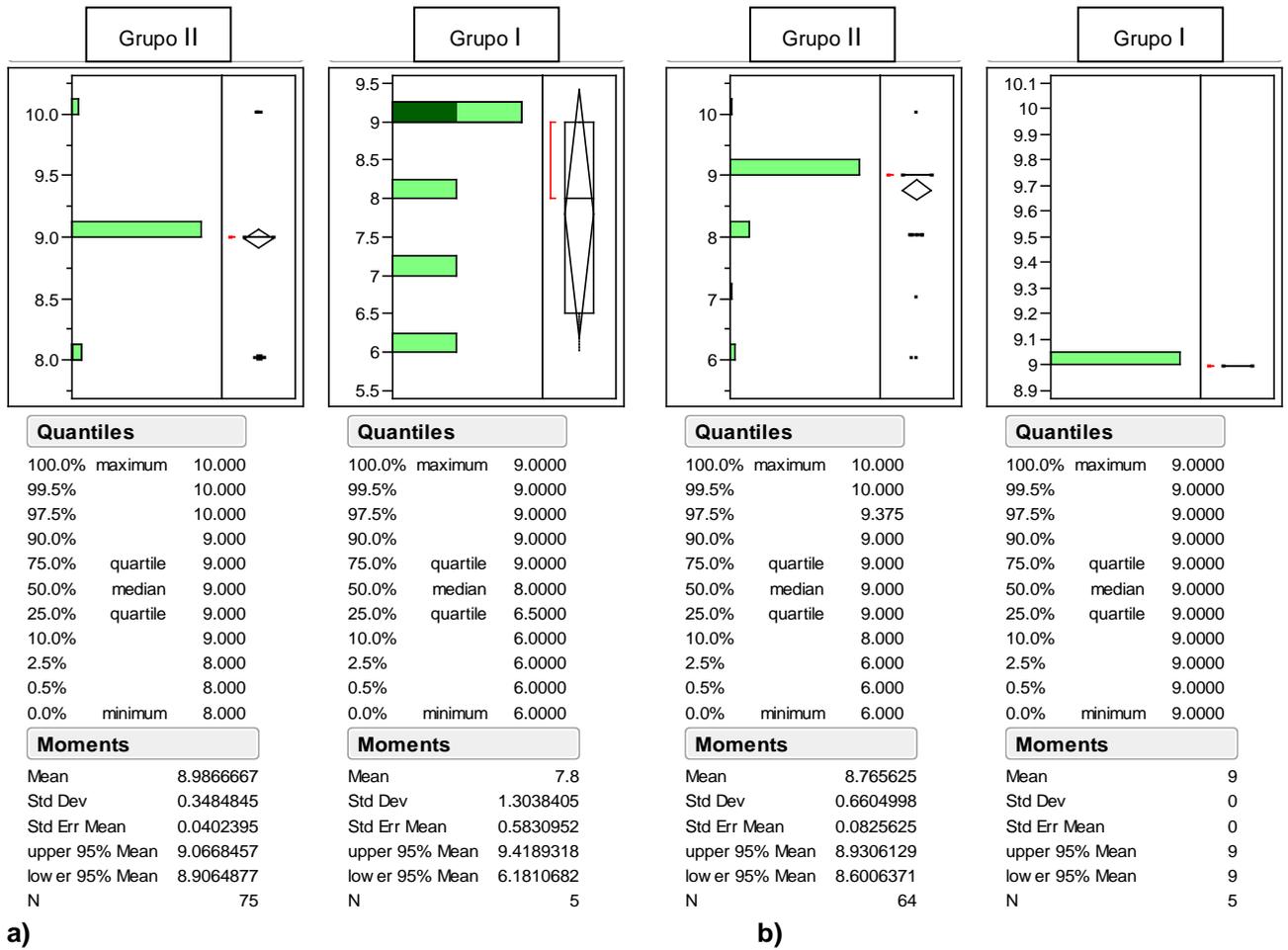
Anexo IV. Gráficas de caja y bigote del número de radios de la aleta dorsal a) machos y b) hembras.

20.5. ANEXO V



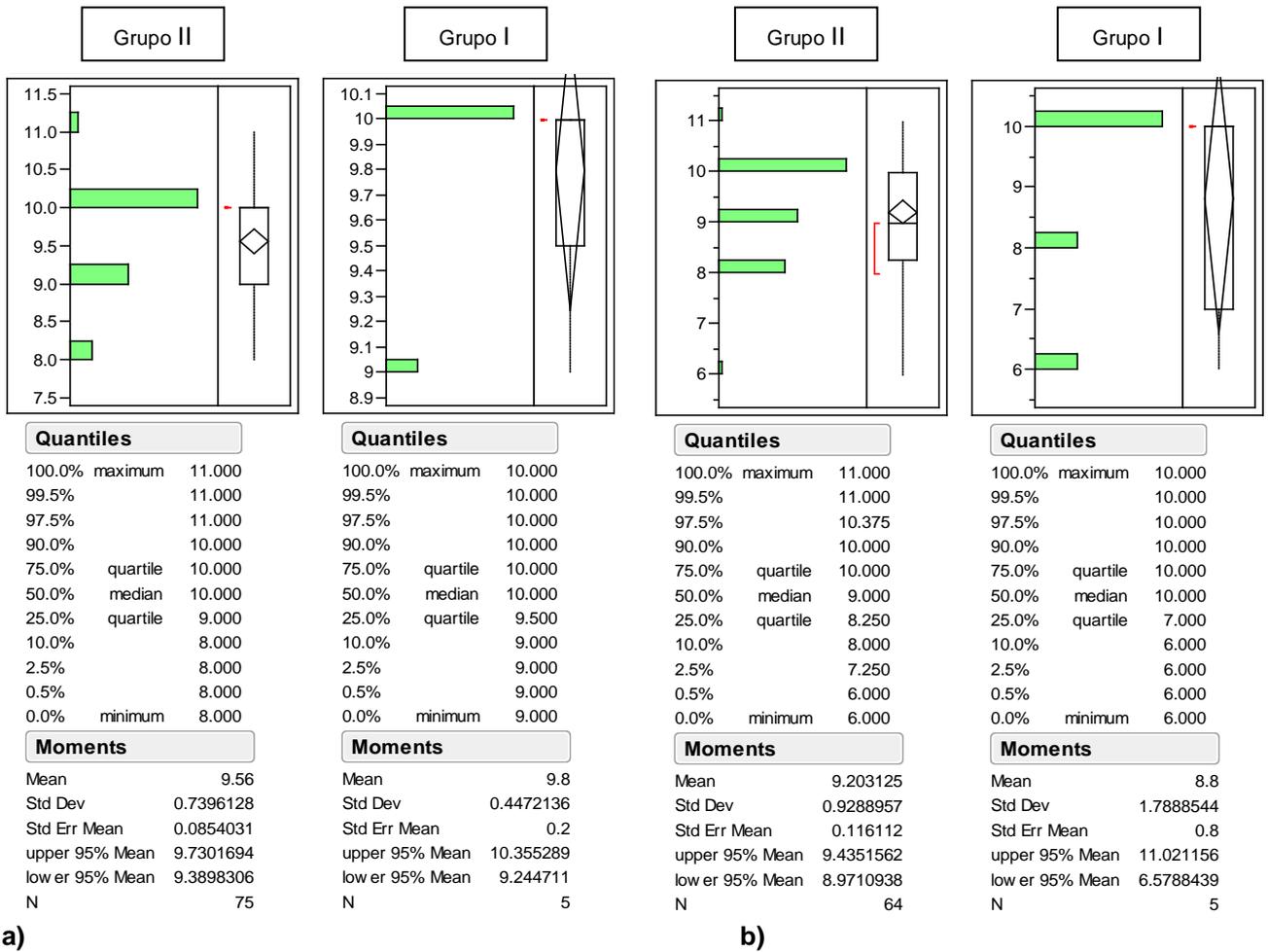
ANEXO V. Gráficas de caja y bigote del número de escamas a lo largo del cuerpo a) machos y b) hembras.

20.6. ANEXO VI



ANEXO VI. Gráficas de caja y bigote del número de escamas en el pedúnculo caudal a) machos y b) hembras.

20.7. ANEXO VII



ANEXO VII. Gráficas de caja y bigote del número de poros cefálicos a) machos y b) hembras.