



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

Facultad de Ciencias
Licenciatura en Biología

“Variación morfológica inducida por dos tipos
de dieta en *Girardinichthys multiradiatus*;
especie vulnerable del Alto Lerma, Estado de
México”

Tesis

Que para obtener el título de

Biólogo

Presenta

David Pérez Guerra

Asesores

Dra. Mónica Vanessa Garduño Paz

Dr. José Fernando Méndez Sánchez



Toluca de Lerdo, Estado de México, 2017

Tabla de Contenidos

INTRODUCCIÓN	1
ANTECEDENTES	2
DEFINICIÓN Y CAUSAS DE VARIACIÓN FENOTÍPICA	2
RESTRICCIONES DE LA VARIACIÓN FENOTÍPICA	4
DEFINICIÓN DE PLASTICIDAD FENOTÍPICA	5
EFECTOS DEL AMBIENTE SOBRE LA PLASTICIDAD FENOTÍPICA	5
LA DIETA Y SUS RELACIONES CON EL MANTENIMIENTO DE LA DIVERSIDAD Y LA PLASTICIDAD	6
PERTURBACIÓN ANTROPOGÉNICA EN EL MANTENIMIENTO DE LA DIVERSIDAD	7
PLASTICIDAD FENOTÍPICA EN PECES	8
EVALUACIÓN DE VARIACIÓN MORFOLÓGICA: MORFOMETRÍA GEOMÉTRICA (TPS)	9
DESCRIPCIÓN DE LA ESPECIE DE ESTUDIO: <i>GIRARDINICHTHYS MULTIRADIATUS</i>	10
DESCRIPCIÓN DEL HÁBITAT DE ESTUDIO: POBLACIONES DE LA SUBCUENCA DEL ALTO LERMA	11
PROBLEMÁTICAS DE CARL	11
DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO: BORDO SAN ELÍAS Y EX-HACIENDA	13
PROBLEMÁTICAS DE LOS BORDOS SAN ELÍAS Y EX-HACIENDA	14
JUSTIFICACIÓN	15
OBJETIVOS	16
GENERAL	16
PARTICULARES	16
HIPÓTESIS	16
METODOLOGÍA.....	16
CAPTURA DE ORGANISMOS	16
JUSTIFICACIÓN DEL USO DE DIETAS.....	18
DESCRIPCIÓN DE <i>HYALELLA</i> SP. (MORFOLOGÍA Y COMPORTAMIENTO)	18
DESCRIPCIÓN DE <i>DAPHNIA PULICARIA</i> . (MORFOLOGÍA Y COMPORTAMIENTO)	19
OBTENCIÓN DE ALIMENTO (<i>HYALELLA</i> SP. Y <i>DAPHNIA</i> SP.)	20
DISEÑO EXPERIMENTAL.....	21
FOTOGRAFÍA DE ESPECÍMENES Y ANÁLISIS DE IMAGEN.....	23
ANÁLISIS ESTADÍSTICO	24
RESULTADOS.....	24
VARIACIÓN MORFOLOGÍA INTER-POBLACIONAL ENTRE DIETAS EXPERIMENTALES	24
Talla.....	24
Forma	24
VARIACIÓN MORFOLÓGICA ENTRE ORGANISMOS EN DIETAS EXPERIMENTALES Y ORGANISMOS PROVENIENTES DE LAS POBLACIONES ORIGINALES.....	27
DISCUSIÓN	31
CONCLUSIONES	36
PERSPECTIVAS PARA FUTURA INVESTIGACIÓN EN <i>G. MULTIRADIATUS</i>	36
REFERENCIAS	38
TABLAS	44

Resumen

La plasticidad fenotípica es cualquier cambio en las características de un organismo en respuesta a una señal del medio. Estas diferencias en la morfología de los individuos dentro de las mismas poblaciones causadas por el efecto del ambiente son importantes pues aportan información sobre las posibles estrategias de sobrevivencia que presentan los individuos y donde, la variación morfológica y de comportamiento inducida por el consumo de diferentes presas, parece ser común en peces. La familia Goodeidae en México está representada por aproximadamente 42 especies de peces vivíparas. *Girardinichthys multiradiatus* conocido comúnmente como mexcalpique, es una especie vivípara endémica de la cuenca del río Lerma, considerado de interés especial, debido a su confinada distribución y abundancia. La presente investigación determinó la variación morfológica de *Girardinichthys multiradiatus* inducida por dos tipos de dietas: *Hyaella sp.* y *Daphnia sp.* en dos poblaciones distintas (Bordo Ex Hacienda y San Elías) de la Cuenca del Alto Lerma. Para la determinación de la morfología, los organismos capturados sometidos dos meses de experimentación fueron fotografiados y se utilizaron softwares de morfometría geométrica para el análisis del cuerpo y de la cabeza, asignado *landmarks* para describir la forma de estos y herramientas de TPS para su análisis. Se utilizó un método de superposición procrustes para obtener nuevas variables de forma llamadas *partial warps*, las cuales fueron sometidas a un método de ordenación conocido como *relative warps* (RW) (análisis de componentes principales), sobre los cuales se realizaron análisis estadísticos. Los resultados mostraron que los individuos que fueron alimentados con *Hyaella* tienen cuerpo delgado, ojos compactos, cabezas compactas, pedúnculo caudal delgado y tiende a adelgazarse hacia la aleta caudal (formando un cuerpo pentagonal). En contraste los individuos que se alimentaron de *Daphnia* presentan cuerpos robustos, ojos grandes, cabeza robusta, pedúnculo caudal robusto y tiende a ensancharse hacia la aleta caudal (formando un cuerpo rectangular). Dichos morfotipos corresponden a morfologías efectivas relacionadas a la mejor eficiencia de depredación de organismos bénticos y limnéticos (respectivamente) y a la mejor eficiencia de nado para la caza de los mismos, lo que muestra una respuesta plástica en *Girardinichthys multiradiatus* explicando la sobrevivencia de la especie en hábitats desfavorables.

Introducción

La morfología se refiere en una serie de características fenotípicas que se encuentran relacionadas con el funcionamiento ecológico de los organismos y nos da idea de dónde y cómo depredan, son depredados, se reproducen, interactúan con otras especies, etc. La plasticidad es un trascendental medio de adaptación, donde los alelos alternativos o sus productos reaccionan de manera diferente al ambiente, aquellos organismos con reacciones favorables persisten mientras que otros se extinguen (Pigliucci, 2005). La gran variación morfológica debida a la plasticidad fenotípica, incluso dentro de una misma población, pueden indicar de forma importante como los organismos responden a los cambios ambientales (Pigliucci, 2005). Desde el 2004 el término ha aumentado el interés de las investigaciones biológicas (Google Trends, 2017) y se ha mantenido su estudio desde entonces con el objetivo clarificar su desarrollo, importancia evolutiva y su efecto ecológico de las poblaciones.

La plasticidad produce organismos flexibles que responden a cambios ambientales con cambios fenotípicos benéficos (Fordyce, 2006). Aunque la visión de la plasticidad como causa de adaptaciones elaboradas ha estimulado un auge reciente en la investigación, la plasticidad también puede ser una desventaja para los organismos, si un solo fenotipo es el mejor en todas las circunstancias, la desviación inducida por el medio lejos de mejorar al fenotipo reduciría la adecuación donde los costos y los límites de la plasticidad pueden hacer que sea subóptima en comparación con un nivel de compromiso de plasticidad más económico (Berrigan & Scheiner, 2004).

La variación morfológica y su inducción experimental a partir de factores ambientales controlados como lo son temperatura, dieta, disponibilidad de oxígeno, etc. son elementos claves en el conocimiento del funcionamiento de los organismos en entornos variables (Gavrilets & Scheiner, 1993). La realización de estos estudios en especies mexicanas endémicas vulnerables como lo es *Girardinichthys multiradiatus*, es prácticamente nula e importante para generar estrategias de preservación y conservación en especies afectadas por los cambios ambientales en nuestro país.

Girardinichthys multiradiatus, conocido comúnmente como “mexcalpique”, es una especie en peligro de extinción, vulnerable ante la IUCN (2016) pero no en la NOM-059. La distribución se limita a bordos de la cuenca del Alto Lerma, los cuales están aislados y son afectados por sequías y contaminación, esto limita el flujo genético, aislando y diferenciando a las poblaciones, las cuales pueden desaparecer si las condiciones de su ambiente se agravan (Fusco & Minelli, 2010).

La importancia de *G. multiradiatus* radica en que es endémica al eje neovolcánico transversal y en comparación con especies relacionadas como *Skiffia lermaense*, *Girardinichthys turneri*, *Allodontichthys polylepsis*, *Allotoca goslinei*, etc., las cuales están extintas, ésta especie ha sobrevivido en condiciones de fragmentación, contaminación industrial, agrícola, ganadera y urbana, así como a las drásticas condiciones que implica el vivir a una altitud de 2650 msnm (comunicación personal, Garduño-Paz, 2017).

El presente trabajo tiene como objetivo la determinación de la variación morfológica de *G. multiradiatus* inducida por dos tipos de dietas: *Hyaella* sp. y *Daphnia* sp. De esta manera se pretende identificar si *G. multiradiatus* manifiesta plasticidad fenotípica, y abrir la puerta a futuras investigaciones que puedan extender estos cambios a lo largo de diferentes generaciones que, junto con análisis genéticos y epigenéticos, podrían darnos información sobre los aspectos evolutivos de la especie. Por lo tanto, la pregunta a responder es: si existe una respuesta plástica de la morfología en una generación de *Girardinichthys multiradiatus* debido a la influencia de dos dietas.

Antecedentes

Definición y causas de variación fenotípica

La variación genética y la plasticidad ontogénica son propiedades inherentes de todos los seres vivos, los cuales, poseen genomas distintivos y todos tienen fenotipos que responden a insumos genéticos y ambientales (Berrigan & Scheiner, 2004). Estas variaciones forman parte en las variaciones correspondientes a la estructura, fisiología y comportamiento de los individuos, las cuales surgen durante el desarrollo y pueden estar influenciados por factores ambientales que reflejan variación genética y ambiental presente en generaciones anteriores (West-Eberhard, 2005).

La variación fenotípica, por lo tanto, se puede definir como la variación intraespecífica en las trayectorias del desarrollo de los individuos y es el resultado de una interacción única entre su genoma, los ambientes a los que se expone durante su vida y los eventos aleatorios sobre las interacciones moleculares en sus tejidos (Fusco, 2001; Garland & Kelly, 2006).

La variación fenotípica durante se puede expresar por los cambios atribuidos a la edad y madurez de los organismos (tamaño corporal, tasas de crecimiento, la producción de hormonas, la pigmentación, la tasa metabólica, etc.) o en los cambios internos que se exhiben en los órganos secuencialmente producidos (los cuales pueden cambiar con el tiempo) o en los órganos modulares (Mazer & Damuth, 2001).

Cualquier nuevo aporte, ya sea que provenga del genoma, como una mutación, del ambiente externo, un patógeno o el efecto del cuidado parental, tiene un efecto en el desarrollo sólo si el fenotipo preexistente responde a él. Sin la plasticidad ontogénica los genes desnudos y las imposiciones del ambiente, no tendrían efecto ni importancia para la evolución (West-Eberhard, 2003). Por consiguiente, el desarrollo de nuevos rasgos requiere de poblaciones capaces de producir variantes fenotípicas bajo la influencia de nuevos aportes del genoma y del ambiente (West-Eberhard, 2005).

Fusco & Minelli (2010) retoman la frase "el desarrollo es mayor que solo la genética del desarrollo" utilizada originalmente por Gilbert et al., (2010), y explican que existe un exceso de componentes inducidos por el ambiente en la variación ontogénica, las cuales, son relevantes tanto para la ecología como para la evolución de una especie.

Si estos cambios en el fenotipo causan variación en la sobrevivencia o el éxito reproductivo de algún organismo a esto se le conoce como "selección a favor" (West-Eberhard, 2003). Si la variación fenotípica que causa selección tiene algún componente genético, la selección conduce a una "acomodación genética" (*genetic accommodation*), ésta causará cambios en las frecuencias genotípicas (West-Eberhard, 2005). Bajo estos conceptos se puede decir que la selección depende de la variación y de los factores ambientales sin la necesidad de la variación genética; sin embargo, la variación genética

es indispensable para que la selección tenga un efecto intergeneracional y un efecto en la evolución de las especies (Stern, 2000; West-Eberhard, 2005).

El ambiente tiene factores físicos, químicos y biológicos los cuales pueden incidir en un individuo o población de manera lenta o rápida. Las respuestas lentas a estos factores ocurren en escalas de tiempo que son generalmente más grandes que el tiempo de vida de una sola generación y donde, la población se verá afectada por un entorno constante durante muchas generaciones (Wagner, 2011). En contraste, también existe la rápida variación ambiental la cual ocurre en escalas de tiempo cortas y durante el tiempo de vida de un solo individuo. Ejemplos de ello son los ambientes en constante cambio y diferencias en calidad y cantidad de nutrientes causado por épocas de sequía y lluvia, especies introducidas, etc. (Futuyma, 2013).

Los organismos que pueden sobrevivir a cambios ambientales rápidos deben ser capaces de hacer frente a una alta diversidad de ambientes a lo largo de su vida, para lograrlo, los organismos se adaptan fisiológicamente al cambio, produciendo diferentes fenotipos, es decir, muestran una plasticidad fenotípica, por lo tanto, la plasticidad fenotípica es una característica poblacional la cual genera variación fenotípica en los individuos (Wagner, 2011).

Restricciones de la variación fenotípica

La variación fenotípica puede estar sujeta a varias restricciones, la más comunes suelen ser: restricciones fisicoquímicas que impulsa la eliminación o mejora de órganos o tejidos (i. e., sistemas vasculares complejos en organismos grandes generado por la limitada difusión de nutrientes) (Maynard-Smith et al., 1985). Las restricciones selectivas las cuales evitan que ocurra “variación en exceso” perjudicando a los individuos (i. e., secuencias deletéreas en las proteínas cambiando la distribución de fenotipos) y restricciones genéticas que limitan a cualquier genotipo o sus mutantes a sólo poder producir un pequeño subconjunto (o ninguno) de un amplio espectro de variantes fenotípicas concebibles (i. e., variación en formas de ala y morfología ocular fácilmente producidas en *Drosophila subobscura* pero no en su especie hermana *Drosophila melanogaster*) (Stern, 2000; Wagner, 2011; Futuyma, 2013).

Definición de plasticidad fenotípica

La plasticidad fenotípica se puede definir como la capacidad del genotipo de los organismos de producir diferentes fenotipos en respuesta a variaciones de las condiciones ambientales (Pigliucci, 2001; Fordyce, 2006). El concepto de plasticidad originalmente se aplicaba a aspectos morfológicos, sin embargo, también afecta la bioquímica, fisiología, comportamiento e historia de vida de los individuos, e incluye la posibilidad de modificar las trayectorias del desarrollo en respuesta a señales ambientales específicas, y también la capacidad de un organismo individual para cambiar su estado o actividad fenotípica (por ejemplo, su metabolismo) en respuesta a variaciones en las condiciones ambientales (Garland & Kelly, 2006).

La plasticidad fenotípica es un tema debatido, donde se reconoce generalmente que es una propiedad importante en el desarrollo de los individuos, pues les permite hacer frente a la impredecibilidad y/o heterogeneidad ambiental, pero su papel en la evolución adaptativa sigue siendo complicado de definir (Fusco, 2001). La supervivencia del organismo bajo condiciones específicas, no hay un acuerdo general sobre si la plasticidad puede impulsar la evolución de rasgos novedosos y promover la diversidad taxonómica o si tiene el efecto de acelerar o retardar el cambio evolutivo (Whitman & Agrawal, 2009).

Efectos del ambiente sobre la plasticidad fenotípica

Durante el desarrollo, los individuos pueden responder a una gran diversidad de señales ambientales, sin necesidad de que los propios procesos de desarrollo sean sensibles al ambiente. Todos los polifenismos (variación fenotípica irreversible que carece de fijación genética; Lincoln et al., 2009) conocidos tienen este tipo de sensibilidad ambiental indirecta, estos efectos indirectos se dan cuando las señales ambientales provocan respuestas en los individuos mediadas por varios eventos fisiológicos y ontogénicos (Whitman & Agrawal, 2009). En estos casos, las condiciones ambientales que inducen un fenotipo en particular no necesariamente requieren de ser las mismas condiciones en las cuales el fenotipo se presenta como una adaptación (por ejemplo, la variación en la secreción hormonal en insectos causada por el fotoperíodo,

provocando cambios en el desarrollo, generando fenotipos mejor adaptados a la temperatura, etc. (Nijhout, 2003).

También existe plasticidad generada por efectos directos del ambiente sobre los individuos durante la ontogenia, donde los efectos del ambiente afectan directamente a un proceso ontogénico o fisiológico en particular, en tales situaciones, la plasticidad es posiblemente no adaptativa (Fusco & Minelli, 2010). Un ejemplo de los diferentes efectos que generan plasticidad, el caso del escarabajo *Onthophagus taurus*, donde el tamaño del cuerpo está determinado completamente por el tamaño y la calidad de la fuente de alimento otorgada por la madre pues inicia metamorfosis inmediatamente después de que el alimento se agota (efecto directo) (Shafiei et al., 2001). El tamaño del cuerpo genera una adaptación expresada en el tamaño del cuerno de los machos, los cuales pueden presentar la casi ausencia de cuerno (individuos pequeños) o cuernos bien desarrollados (individuos grandes) que, a su vez, determinan el comportamiento y dan origen a diferentes estrategias reproductivas (efecto indirecto) (Emlen, 1997).

Por lo tanto, las condiciones ambientales en constante cambio ya sean naturales o causadas por efectos humanos (i. e., cambio climático), son fuentes importantes de presiones de selección que impulsan la adaptación y la evolución de los organismos. Junto con la adaptación genética, los organismos pueden responder a desafíos ambientales a través de la plasticidad fenotípica, que se refiere a un cambio no genético en las características medias (fenotipo) de una población hacia un óptimo evolutivo.

La dieta y sus relaciones con el mantenimiento de la diversidad y la plasticidad

Para mantener una biodiversidad estable necesitan existir perturbaciones moderadamente intensas que reduzcan la dominancia de especies permitiendo la reacomodación de dominancias en el ecosistema y la división de recursos o la utilización de estos en diferente espacio y tiempo (McKane et al., 2002; Chesson & Kuang 2008). Además, la biodiversidad puede mantenerse mediante la facilitación interespecífica, la cual ocurre cuando las especies interactúan positivamente entre sí aumentando la disponibilidad de recursos. Cuando las especies consumen diferentes

recursos o consumen los mismos recursos en diferentes espacio o tiempo, la competencia de recursos será más fuerte entre dos individuos de la misma especie que entre dos individuos de diferentes especies. En consecuencia, las especies tienen una ventaja cuando son poco comunes porque la competencia es relativamente débil y una desventaja cuando es común porque la competencia es relativamente fuerte. Esto puede propiciar el equilibrio en el aumento de biodiversidad porque imposibilita a las especies a excluir por competencia a todas las demás especies. Esto puede promover la estabilidad del ecosistema en diversos ecosistemas, ya que da lugar a la asincronía de especies, en la que las disminuciones en la abundancia de algunas especies son compensadas por aumentos en la abundancia de otras especies (Levine, 2000; Kennedy et al., 2002; Cardinale et al., 2002).

En sí, es la interacción ecológica entre especies y los efectos de un ambiente variable lo que genera adaptabilidades que, eventualmente, por medio de fuerzas selectivas pueden establecerse como adaptaciones fijando el genotipo correspondiente a dicha variación y así originar un efecto intergeneracional, lo que genera especiación.

Perturbación antropogénica en el mantenimiento de la diversidad

La acción antropogénica también puede generar cambios en la biodiversidad, las cuales, usualmente resultan en la disminución de esta por su gran impacto y acelerada velocidad. Los cambios en el uso de la tierra, las invasiones de especies exóticas, el enriquecimiento de nutrientes y el cambio climático son, a menudo, los cambios globales más comunes en los ecosistemas (Vitousek et al., 2000; Thuiller, 2007; Naeem, 2009).

Aunque la pérdida de biodiversidad tiene efectos negativos aparentemente obvios, no es sencillo probarlos experimentalmente y la observación y medición de estos en los ecosistemas naturales solo puede ser realizada una vez establecido de su impacto ecológico. Estos estudios se realizan usualmente en ecosistemas de laboratorio, pastizales, bosques, marinos y de agua dulce. La variedad de estudios realizados, concluye que la disminución de la biodiversidad tiene su consecuente en la disminución del funcionamiento y estabilidad de los ecosistemas. El funcionamiento de los

ecosistemas a menudo depende de la riqueza de especies, la composición de las especies, la uniformidad de las especies y de la diversidad genética (Vitousek et al., 2000; Naeem, 2009; Mier, 2017). De esta forma, la biodiversidad es crucial para el mantenimiento de sistemas ecosistémicos como la regulación de la composición química de la atmósfera, el suministro de materias primas hacia otras especies, el reciclaje de nutrientes, el control biológico de las poblaciones de flora y fauna, etc. (Slingenberg et al., 2009).

Las actividades antropogénicas impactan principalmente la elevada diversidad acuática que existe en el mundo se ve rápidamente disminuida (Vörösmarty et al., 2010). Actualmente existen aproximadamente 29,000 especies en 515 familias y 62 órdenes, de estos, 108 son peces sin mandíbula (70 hagfishes y 38 lampreas) y 970 son tiburones cartilaginosos. Las otras 26,000 especies restantes son peces óseos, de los cuales el 41% de las especies vive en aguas dulces, el 58% en agua de mar y el 1% se desplaza entre agua dulce y mar durante sus ciclos de vida (Pough et al., 2013). De las especies de peces óseos son aquellos que habitan ecosistemas dulceacuícolas los más amenazados, con altas tasas de extinción de especies consecuencia de la dependencia humana de los recursos de agua dulce, combinada con disturbios causados por redes de drenaje aguas agravada por el cambio climático antropogénico (Vörösmarty et al., 2010).

Plasticidad fenotípica en peces

La variación morfológica y de comportamiento inducida por el consumo de diferentes presas, parece ser común en peces. Por ejemplo, cuando se invierten las dietas de una especie "bentónica" y una "limnética" del género *Gasterosteus* (Gasterosteidae), las diferencias morfológicas entre ellas se reflejan a grados que van desde 1% a 58%, dependiendo de la característica. El estrés mecánico relacionado con la dieta afecta el cartílago y el hueso, que a su vez está asociado con el cambio en varios rasgos de otra manera correlacionados, especialmente longitud branquiespinal, profundidad de la cabeza, y la longitud del hocico (Mcphee et al., 2012). Cambios similares también se encuentran entre las especies de peces ciprínidos (Cyprinidae) del género *Barbus* (West-Eberhard, 2003). En *Salvelinus alpinus* (Salmonidae) por ejemplo, se ha observado como individuos con cabeza robusta hocico en punta roma y una boca

excavadora con la cabeza en una posición más ventral son más propensos a buscar presas bentónicas que presas pelágicas. En contraste, los individuos con un cuerpo delgado y fusiforme, ojos más grandes y tamaño corporal ligeramente más pequeño, son más propensos a cazar organismos pelágicos (Garduño-Paz & Adams, 2010). Otro ejemplo se da en la dentición, Kornfield, I., & Taylor (1983) y Hulsey et al., (2006) describieron la variación en el cíclido (Cichlidae) mexicano *Herichthys minckleyi* (antes *Cichlasoma minckleyi*), donde los individuos que se alimentaron con plantas desarrollaron una pequeña dentición faríngea papiliforme (en forma de papila), en contraste, aquéllos que se alimentaron con caracoles una dentición molariforme robusta (en forma de diente molar, baja y redondeada). Al respecto de lo anterior, existe amplia información en muchas especies, sin embargo, en aquéllas sin importancia comercial y poco conocidas pero muy importantes ecológica, evolutiva y culturalmente hablando como los individuos de la familia Goodeidae la descripción y análisis de este tipo de variaciones morfológicas es prácticamente nulo; sin embargo, el carácter endémico de la familia y la reducción significativa del tamaño sus poblaciones (De la Vega-Salazar y Macías-García, 2005) hacen importante la descripción de sus estrategias de adaptación.

Evaluación de Variación Morfológica: Morfometría geométrica (TPS)

La morfometría o el análisis morfométrico (*morphometrics*) puede definirse como un conjunto de procedimientos principalmente estadísticos y métricos para analizar la variabilidad en el tamaño y la forma de órganos u organismos, comparar las diferencias entre poblaciones y las interacciones entre forma y los factores a los cuales los organismos de estudio están sometidos (Toro-Ibacache et al., 2010; Adams et al., 2013).

Actualmente el análisis morfométrico se facilita gracias al desarrollo de técnicas más eficientes y potentes (como el análisis de imágenes) para detectar diferencias entre grupos y diferenciar especies similares. Un método altamente utilizado y accesible (utilizado en la presente investigación) es la morfometría geométrica basada en puntos de referencia o *landmarks*, marcas asignadas al objeto de estudio que describen un punto del espacio y coordenadas cartesianas (x, y) en formas bidimensionales, y (x, y, z) en tridimensionales, describiendo su posición (Bookstein, 1997). Las *landmarks*

permiten que los datos sean recolectados en forma de arreglos espaciales a lo largo de una estructura biológica. Esta técnica es efectiva y puede capturar diferencias en las estructuras que no se observan fácilmente a través de los tipos tradicionales de mediciones o a simple vista (Park et al., 2013).

Una técnica altamente utilizada para determinar la forma de organismos es la utilización del software *Morphometrics* desarrollado por Rohlf (2004). El software permite utilizar la técnica Tps (*thin-plate splin*) la cual permite utilizar *landmarks* para indicar la forma general de los individuos a analizar y visualizar las diferencias entre las formas de los individuos analizados, basándose en la deformación de la forma promedio de todos los especímenes. Esta forma media también se denomina forma consenso (*consensus shape*) y es representada por una cuadrilla de deformación (Ibañez et al., 2007; Requieron et al., 2012). Un aspecto importante de esta técnica es que separa la forma y el tamaño, siendo representada la forma por *relative warps* o Deformaciones relativas y el tamaño en todas sus dimensiones representado por el tamaño del Centroide o *centroid size* (CS) (Park et al., 2013)

Descripción de la especie de estudio: *Girardinichthys multiradiatus*

La familia Goodeidae en México está representada por 42 especies de peces vivíparas, representa el 32% de las especies endémicas de la Mesa Central de México (De la Vega-Salazar, 2006). Una de éstas es la especie *Girardinichthys multiradiatus* conocido comúnmente como mexcalpique, considerado de interés especial debido a su confinada distribución y abundancia. La especie se distribuye en las cuencas altas de los ríos, Balsas, Lerma-Santiago y Panuco en los Estados de México, Michoacán y Querétaro y es una especie amenazada, enlistada en la Lista Roja de Especies amenazadas (IUCN, 2016).

G. multiradiatus es un pez omnívoro que no se restringe a consumir presas al fondo de la zona litoral, sino que también hace un uso más integral de la columna de agua, lo que lo hace ideal para estudios de plasticidad inducidos por la dieta. Se ha registrado que en algunos embalses esta especie es de tendencias insectívoras, principalmente himenópteros, colémbolos y quironómidos (Navarrete-Salgado et al., 2007; Trujillo-

Jiménez & Espinosa de los Monteros Viveros, 2006). Muestra un marcado comportamiento de cortejo, donde la elección es determinada por la hembra y es determinada por la morfología y el comportamiento del macho. La elección de La hembra es determinante pues la especie carece de gonopodio intrometente lo que requiere la cooperación de la hembra para que se realice exitosamente la inseminación artificial y la cual presenta un tipo de paridad vivípara (Macías-García, 1994; Macías-García & Saborio, 2004).

Descripción del hábitat de Estudio: Poblaciones de la Subcuenca del Alto

Lerma

La Cuenca Alta del Río Lerma (CARL) corresponde a la parte de la cuenca Lerma-Chapala que inicia en el Estado de México, región en la que se encuentra altamente contaminada. CARL pasa a través de 34 municipios (incluyendo Toluca, Atlacomulco y Lerma), abarcando un total de 5 354 km² (CONABIO, 2012). El curso de CARL está dividido en tres porciones: alto, medio y bajo. El curso alto de la cuenca incluye la vertiente norte de la sierra Nahuatlaca Matlazinca y la vertiente norte nororiental del Nevado de Toluca a una altitud de 2570 msnm y con una superficie de 2117.88km². A partir del Valle de Ixtlahuaca se inicia el curso medio que termina con el descenso del río hasta la fosa tectónica Solis-Acambay a una altitud de 2500 msnm, donde inicia el curso bajo hasta el límite del Estado de México” (Antón & Delgado, 2000).

Problemáticas de CARL

La subcuenca ha sufrido daños ecológicos debido a la actividad antropológica, como lo es la urbanización, industrialización, producción de alimentos, etc., la cual se ha expandido recientemente, ya no limitándose a una zona concreta o alguna comunidad en particular (Mendoza & Orozco, 2014). Existen varios problemas en la zona: la baja capacidad de tratamiento de aguas, sedimentación de componentes tóxicos por contaminación industrial, la acumulación de materia orgánica procedente de zonas urbanas, altas concentraciones de fósforo y nitrógeno aportadas por el sector agropecuario y acumulación de sedimentos (Anda et al., 1998).

El primer impacto antropogénico sobre el Río Lerma se dio entre 1970 y 1980 cuando se iniciaron obras de excavación para captar las aguas de los manantiales que alimentaban las Lagunas de Almoloya del Río, Texcaltengo, Alta Empresa y Ameyalco. Estas obras concluyeron en la excavación de varias galerías y 230 pozos, las cuales abarcaron 170 km, modificando profundamente los sistemas lacustres de la zona (Cedeño & Torres, 2013).

Otro factor que afecta a la CARL es la contaminación por materiales de arrastre, éstos pueden incluir sustancias contaminantes (ej. bifenilos policlorados, usados en la industria y en la agricultura) o materiales que alteran la calidad del agua (Cedeño & Torres, 2013). Ambos llegan al río por el escurrimiento causado por la deforestación y las fuertes precipitaciones que presenta la zona. Además, esta ausencia de cubierta vegetal suele incrementar las velocidades con que se mueve el agua en la cuenca, reduce la cantidad de agua infiltrada en el suelo y la interceptada por la vegetación (Mendoza & Orozco, 2014; López-Hernández et al., 2012)

Actualmente, uno de los efectos más devastadores en la ecología de la subcuenca es el causado por la alta contaminación provocada por los desechos de la Zona Industrial de Lerma y de las poblaciones cercanas a la cuenca, complementada por el uso de plaguicidas y pesticidas en el sector agrario cercano a la cuenca. La alta contaminación en la cuenca no solo afecta a los ecosistemas, también es un riesgo para la salud de la población del Estado de México (Cedeño & Torres, 2013). Como consecuencia de estas problemáticas ambientales el Río Lerma tiene una baja diversidad de fauna y es uno de los más contaminados del país (CONABIO, 2017).

Por estos motivos en el 2003 la Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales (SEMARNAT) y la Comisión Nacional del Agua (CNA) establecieron como prioridad restablecer el equilibrio hídrico ambiental a través de la recuperación, preservación y conservación de los recursos naturales de la cuenca hidrográfica; sin embargo, Escolero et al. (2016) registraron que los decretos establecidos en los programas ambientales no son implementados efectivamente y que los problemas de contaminación son hoy,

prácticamente iguales a los que enfrentaba la cuenca hace 15 años cuando el decreto aun no existía.

Descripción del Área de Estudio: Bordo San Elías y Ex-Hacienda

A pesar de que el Río Lerma es ahora un canal de aguas negras, dentro de la CARL existen aún ríos tributarios limpios que son aprovechados para riego, el agua es canalizada hacia pequeñas presas artificiales conocidas como bordos los cuales están distribuidos dentro de toda la CARL, para la especie de *G. multiradiatus* estos cuerpos de agua representan indirectamente relictos, ya que la distribución natural de la especie se ha reducido y la especie es “transportada” por los canales, sin embargo dentro de cada bordo ya hay poblaciones establecidas. Se han considerado como sitios de estudio Los bordos San Elías (SnE) y Ex-Hacienda (ExH) que se encuentran en la localidad de El Cerrillo Piedras Blancas, en la localidad de San Cayetano Morelos, situado en el Municipio de Toluca noroeste del Estado de México. El bordo San Elías se localiza en el paralelo 19.406704 de latitud Norte y el meridiano -99.686367 longitud Oeste, con una altitud de 2606.56 m y tiene una longitud promedio de 291.73 m. El bordo Ex-Hacienda se localiza en el paralelo 19.416467 de latitud Norte y el meridiano -99.697235 longitud Oeste, con una altitud de 2608.54 m y una longitud promedio de 280.6 m (Google Maps, 2017) (Ver Figura 1). Los bordos reducen significativamente su nivel de agua en época de sequía (septiembre-marzo), aunque a veces sin secarse completamente y por ello las poblaciones de *G. multiradiatus* pueden sobrevivir entre la vegetación y mantenerse hasta el inicio de lluvias (observación personal).



Tabla 1. Mapa de San Cayetano de Morelos indicando los bordos cercanos y mostrando imágenes satelitales de los Bordos San Elías y Ex-Hacienda (SEDUR, 2013; Google Maps, 2017).

Problemáticas de los Bordos San Elías y Ex-Hacienda

Además de los problemas que presenta toda la subcuenca del Alto Lerma, los bordos SnE y ExH son afectados por la comunidad rural y urbana El Cerrillo Piedras Blancas.

Al ser propiedad privada y al estar alejada de la población urbana, el Bordo ExH no sufre el mismo impacto que el Bordo SnE, sin embargo, es parte del sistema de riego de los terrenos agrícolas colindantes, por lo que su volumen no solo depende de las épocas de sequía y lluvia, también varía al inicio de la temporada de cosecha.

Ambos bordos son afectados por la contaminación de la población local, la cual suele contaminarlo con residuos inorgánicos (PET, envolturas plásticas, vidrio, etc.). Esta problemática es más evidente en el Bordo SnE, pues se encuentra en medio de viviendas y a menos de 100 m de la avenida Independencia Pte.

Existe otro problema en ambos bordos, la introducción de especies invasivas. En el bordo ExH el dueño introduce ocasionalmente *Cyprinus carpio communis* (carpa común), sin embargo, en el Bordo SnE al ser propiedad de un ejido, la presidencia municipal de Toluca constantemente introduce varias especies de carpas a el bordo como parte de un programa establecido para la salud alimentaria. La siembra de alevines de carpas se realiza casi anualmente, aunque solo las últimas dos se han documentado extensivamente. La siembra se da entre octubre y noviembre para ser pescadas en marzo-abril del siguiente año. En el 2016 y 2015 se introdujeron 80 mil y 450 mil alevines respectivamente de *Cyprinus carpio communis*, *Ctenopharyngodon idella* (carpa herbívora) y *Cyprinus carpio rubrofuscus* (carpa barrigona) (SAGARPA, 2015; Eduardo CM, 2016).

Justificación

Es de gran importancia para el ecosistema el nativo encontrar estrategias que puedan generar adaptabilidad en los organismos, especialmente en organismos vulnerables, es por esto que la presente investigación se enfoca en la plasticidad fenotípica inducida por dos diferentes dietas *G. multiradiatus* pues, de encontrarse, se podría explicar la resistencia que la especie ha presentado en su ambiente el cual cada vez se ve más amenazado y en constante cambio. De encontrar un efecto plástico, se ampliaría el entendimiento ecológico y evolutivo de la especie, prácticamente nulo, y de gran importancia no solo por su papel en los ecosistemas si no como parte de la gran diversidad de especies nativas y endémicas de México, prácticamente en su totalidad vulnerables. La investigación también tiene el objetivo de abrir las puertas a futuras investigaciones que adopten a la especie como un organismo modelo para experimentación epigenética, genética y evolutiva y en conjunto generar más conciencia en la urgente necesidad de programas de conservación y protección ambiental en el Estado de México.

Objetivos

General

Determinar la respuesta plástica a la dieta en diferentes grupos experimentales de *Girardinichthys multiradiatus* de los Bordos San Elías y Ex-Hacienda.

Particulares

- Determinar la morfología de tres grupos experimentales (un control, un tratamiento dieta *Hyaella sp.* y un tratamiento dieta *Daphnia sp.*) de *Girardinichthys multiradiatus* establecidos para las poblaciones provenientes de los Bordos San Elías y Ex-Hacienda.
- Comparar la morfología entre los tres grupos experimentales por cada población (un control, un tratamiento dieta *Hyaella sp.* y un tratamiento dieta *Daphnia sp.*).
- Comparar la morfología entre poblaciones por cada grupo experimental.

Hipótesis

Existe una respuesta plástica a los dos tipos de dietas experimentales, por tanto, la morfología será significativamente diferente entre grupos experimentales y entre el grupo control.

Metodología

Captura de Organismos

Los organismos fueron capturados con redes de arrastre estilo “chinchorro” y redes de cuchara entre julio y agosto del año 2016 de los Bordos SnE y ExH. Se capturaron 16 hembras gestantes de los dos cuerpos de agua dentro de la microcuenca Toluca-Ixtlahuaca del Alto Lerma, nueve del Bordo SnE y siete del Bordo ExH. Las hembras gestantes son fácilmente determinadas por la deformación causada por el tipo de paridad (vivípara) y por lo que no se realizó en ellas ningún tipo de medición. Las hembras fueron transportadas al laboratorio de Ecofisiología Animal de la Facultad de Ciencias de la UAEMéx, y fueron asignadas aleatoriamente a 12 peceras de 40 litros y mantenidas a temperatura ambiente con un intervalo de luz-obscuridad de 12/12 h.

Les fue asignada una dieta tratamiento, seis peceras bajo el tratamiento de *Hyalella sp.* y seis peceras bajo el tratamiento de *Daphnia sp.* (ver Figura 1). En promedio, pasaron 15 días bajo estas condiciones antes de parir, en promedio cada hembra pario 22 crías (la hembra con más crías tuvo 35 y la hembra con menos crías tuvo 7).

Los individuos utilizados como grupo control fueron capturados a finales de febrero del 2017 de los bordos SnE y ExH, los cuales fueron trasladados a 2 peceras (una por población) de 40 litros y mantenidas a temperatura ambiente con un intervalo de luz-obscuridad de 12/12 h. El día de la captura se suministró a los peces capturados hojuela (*Tetra® TetraMin Tropical Flakes*) y fueron fotografiados al día siguiente. Los organismos capturados fueron principalmente juveniles (cría; 2, juvenil; 6, juvenil maduro; 5 y adulto; 1) y se mantuvo una proporción equitativa entre sexos.

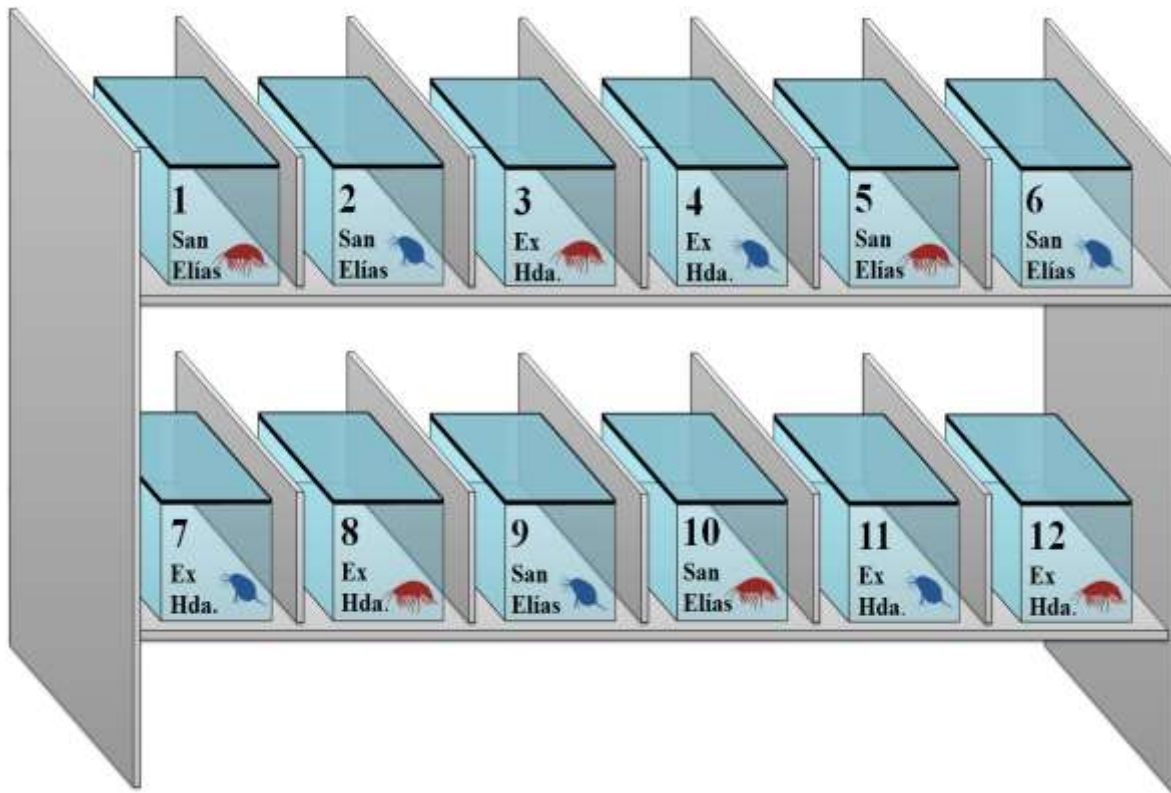




Figura 2. Representación del diseño experimental con distribución aleatoria. Las peceras se colocaron en dos niveles con seis peceras en cada nivel, entre peceras se colocaron barreras de acrílico para evitar la influencia visual de peces vecinos. La figura representa el orden exacto de la distribución de las peceras junto con su respectiva dieta y población, simbolizada por para la dieta de *Daphnia*  y para la dieta de *Hyalella* .

Justificación del uso de dietas

Los organismos utilizados como dietas fueron crustáceos cuya zona de distribución coincide con la de *Girardinichthys multiradiatus* y las cuales forman parte de su dieta natural (González, 2015).

El destacado control motriz de *Hyaella* les permite desplazarse con agilidad a través del cuerpo de agua, evitando con rapidez a los depredadores, y así, forzando al depredador (*Girardinichthys multiradiatus*) a exhibir un comportamiento de caza más activo y a desarrollar estrategias de caza más complejas (Covich et al., 2009; Rice & Hale, 2010). Para evitar que las *Hyaella* suministradas como dieta pudieran ocultarse de *Girardinichthys multiradiatus* se utilizó como sustrato arena de sílice de 1-2mm y no se equipó ningún tipo de vegetación en las peceras.

El particular nado de *Daphnia pulex*, junto con sus características nutrimentales fue la razón por la cual se seleccionó como dieta para la experimentación, pues en contraste con otras presas, obliga al comportamiento de caza de *Girardinichthys multiradiatus* a ser menos energético, minimizando el nado. En promedio, las especies de *Daphnia* tienen un contenido de proteínas de alrededor del 50% en peso seco y un contenido de grasas de 20-27% para los organismos adultos (4-6% para los juveniles) (Munirasu et al., 2016).

Descripción de *Hyaella* sp. (Morfología y comportamiento)

Hyaella es un anfípodo de agua dulce, perteneciente a la Familia Hyalellidae, Suborden Gammaridea. En general, los organismos del Suborden Gammaridea (gammaridos) son fototaxicos negativos (evita la luz), por lo tanto, usualmente permanecen ocultos debajo de la vegetación o de los escombros/piedras durante el día. Generalmente se aferran a la vegetación o cavan, enterrándose en el sustrato, con el fin de evitar ser movidos por corrientes de agua o depredados. Ese comportamiento los categoriza como bentónicos, donde se alimentan de materia orgánica en descomposición y de algas (Ingersoll et al., 1994; Smith, 2001; Covich et al., 2009).

El cuerpo de *Hyalella* se divide en tres partes distintas: una cabeza, abdomen y cola (formada por uropodos y telson). En la cabeza, se encuentran dos pares de antenas, un aparato masticador y ojos sésiles. Se unen al abdomen siete pares de apéndices torácicos segmentados (pereopodos), recubiertos de finos cilios. Estos invertebrados se reproducen sexualmente, promediando quince ciclos de apareamiento cada 152 días. Su tamaño varía entre 3.0 y 8.0 mm y son típicamente de color marrón claro, blanco, verde o amarillo oscuro (Smith, 2001).

El Suborden es nocturno y se desplaza por el sustrato usando sus apéndices para propulsarse. Estos anfípodos dependen en gran medida de sus pleópodos para la locomoción. Para generar movimiento de natación, el anfípodo se relaja y contrae el cuerpo rápidamente, al mismo tiempo que se propulsa con sus pleópodos, realizando un nado “balanceado” (comportamiento que le otorga su nombre común: *sideswimmers*). De manera similar, utiliza el primer par de pleopodos para generar corrientes en la parte inferior para llevar el alimento cerca de la boca, atrayéndolo usando sus gnathopodos, apéndices especializados para sujetar el alimento y transferirlo a la boca. *Hyalella* es un género altamente sensible a las perturbaciones del agua, las cuales detecta con sus antenas y otros apéndices, lo que les ayuda a detectar depredadores a través del movimiento y señales químicas (Brönmark & Hansson, 2005). Existe una amplia literatura donde *Hyalella* (principalmente *Hyalella azteca*) es sujeto de estudio, enfocándose mayoritariamente en pruebas toxicológicas, sin embargo, la historia de vida y ecología del género es poco conocida.

Descripción de *Daphnia pulicaria*. (Morfología y comportamiento)

Los organismos del género *Daphnia* son crustáceos cosmopolitas y cuenta con más de 100 especies, son organismos típicamente planctónicos y están presentes en casi cualquier sistema de agua dulce, son filtradores activos y dependiendo de su dieta, el color del cuerpo muestra cambios: es casi transparente con tonos amarillentos/verdosos en aquellos individuos y especies que se alimentan principalmente de algas verdes, mientras que es más rosado cuando la dieta se basa principalmente en bacterias (Uttieri et al., 2014). Los adultos miden entre 0.2 y 5 mm

de largo y poseen un cuerpo y apéndices sin segmentación clara, con la excepción de las antenas (Dodson et al., 2010).

Su nado típicamente adopta un comportamiento de “salto y hundimiento” (*hop-and-sink*) alternando movimientos ascendentes con períodos de descanso. Este comportamiento es posible gracias al segundo par de antenas, el cual realiza un golpe brusco creando un empuje hacia arriba en el momento que el crustáceo es arrastrado hacia abajo por la gravedad (Dodson et al., 1997).

Según Smith & Baylor (1953) y después retomado por Uttieri et al., (2014) existen dos comportamientos básicos en el nado de *Daphnia sp.*; una serie de “saltos y hundimientos” que le permiten conservar el mismo lugar en la columna de agua (baile rojo) y movimientos horizontales utilizados principalmente si es necesario para la especie buscar alimento en diferentes áreas del hábitat (baile azul). El definido como baile rojo, es su principal modo de nado pues les permite explotar parches de alimento minimizando el gasto energético.

Obtención de alimento (*Hyaella sp.* y *Daphnia sp.*)

El alimento vivo utilizado fue cultivado bajo condiciones de laboratorio y fue aislado y tratado para evitar enfermedades y/o factores externos que pudieran afectar la morfología en los peces. Los cultivos de *Daphnia pulicaria* (Daph) eran alimentadas con el alga *Desmodesmus sp.* que también era cultivada en laboratorio.

El cultivo de *Hyaella sp.* (Hylla) se inició con organismos provenientes del bordo SnE y fueron alimentados con *Desmodesmus sp.* y hojuela (*Tetra® TetraMin Tropical Flakes*). Para la dieta de *Hyaella sp.* se utilizaron individuos provenientes de un cultivo mantenido en el Laboratorio de Ecofisiología. Debido al tardado ciclo de vida de *Hyaella sp.*, los cultivos bajo condiciones de laboratorio no siempre cumplían con el número de individuos necesario para la alimentación de los peces, por lo que se utilizaron, además, *Hyaella* extraídos del Bordo SnE, los cuales se mantuvieron por lo menos tres días bajo condiciones de laboratorio y eran aislados uno por uno antes de ser introducidos en las peceras, así evitando la contaminación de parásitos u otras especies dentro de peceras.

Los anfípodos del bordo SnE son susceptibles a la parasitación de acantocéfalos, cuando estos están parasitados presentan una mancha roja en el exoesqueleto, la cual es detectable a simple vista, facilitando su detección y extracción (Harold, 2002). Para asegurar que los *Hyaella* extraídos del bordo no presentaban riesgo para los peces al estar potencialmente parasitados, se realizó la determinación del hospedero definitivo del acantocéfalo, utilizando la metodología del Dr. Frank Cezilly (comunicación personal). Los *Hyaella* parasitados fueron colocados en dos cajas Petri, una con solución de Ringer a temperatura ambiente y otra con solución a 43°C. Solo los acantocéfalos en la solución a 43° salieron del cuerpo del hospedero, indicando que son parásitos específicos de aves y que no presentan ningún riesgo para los peces ni tienen un efecto en la morfología de los peces en caso de la introducción accidental de individuos parasitados a las peceras.

Diseño experimental

Para realizar el diseño experimental se usaron como referencia estudios de morfometría y plasticidad inducida por diferentes dietas en *Gasterosteus sp.* (Day & McPhail, 1996), *Carassius carassius* (Andersson et al., 2006) y en *Salvelinus alpinus* (Garduño-Paz & Adams, 2010), los cuales comparten prácticamente la misma metodología basada en *landmarks* y análisis de componentes principales utilizando el software TPS.

Para la experimentación se utilizaron crías recién nacidas pues se ha reportado que la respuesta plástica en peces se da principalmente durante la ontogenia prenatal (no medida) y la madurez sexual (Hjelm et al., 2000; West-Eberhard, 2003). Una vez que nacieron las crías, fueron sometidas a experimentación y mantenidas a temperatura ambiente ($18.5^{\circ}\pm 2$), y valores promedio de: pH de 9.033, dureza de 194.23, oxígeno de 10.224 mg/l, nitritos 0.4590, nitratos 0.988, solidos suspendidos 0.6111 y con un intervalo de luz-obscuridad de 12/12 h. Se aplicó tratamiento preventivo con azul de metileno semanalmente para evitar el crecimiento de algas y bacterias y eliminar potenciales parásitos.

En total, 120 crías fueron repartidas aleatoriamente en 12 unidades experimentales (peceras) con un promedio de 10 organismos por pecera. Las crías obtenidas de las hembras gestantes eran asignadas a la misma dieta que las madres y se mantuvieron entre hermanos, sin embargo, la mayoría de las crías obtenidas por hembra no satisfacían en número a las necesarias para cada replica, por lo que se completaron utilizando crías de otras hembras con la misma dieta y población y fecha de nacimiento similares.

Seis peceras correspondían a la población de SnE y seis peceras a la población de ExH, con tres peceras asignadas a la dieta de *Hyalella sp.* y tres asignadas a la dieta de *Daphnia sp.* (pulga de agua) por cada población. Las presas fueron ofrecidas vivas *ad libitum*, y se obtenían de cultivo realizados en laboratorio que inicialmente se generaron a partir de presas obtenidas de los bordos de estudio.

Los organismos fueron alimentados cada tercer día con la dieta correspondiente, alternándola con hojuelas (*Tetra® TetraMin Tropical Flakes*) para evitar un sesgo por el valor nutrimental de las presas (comunicación personal, Méndez-Sánchez, 2016). Los organismos estuvieron bajo tratamiento durante 60 días (o hasta que alcanzaron la madurez sexual).

Del total de 120 crías sometidas a experimentación, 69 sobrevivieron más de dos meses, las cuales fueron utilizadas para análisis morfométricos, las 51 crías restantes murieron en algún momento del experimento y se preservaron en formol a 10%. Algunas de las 69 crías utilizadas para análisis de imagen murieron después de los dos meses bajo experimentación, las cuales se fijaron en formol a 10% para ser fotografías.

Se utilizaron dos meses mínimos de experimentación pues es el tiempo promedio de maduración sexual de *G. multiradiatus*, sin embargo, parte de la experimentación se dio en invierno donde la especie suele disminuir su metabolismo para sobrevivir y reproducirse en el año siguiente (Macías-García, 1994). La disminución metabólica causó que no todos los organismos presentaran maduración sexual al término de dos meses por lo que se asignaron rangos de tamaño con base en su madurez: cría, juvenil, juvenil maduro y adulto.

Fotografía de especímenes y análisis de imagen

Al término de la experimentación los individuos fueron fotografiados con una cámara Nikon® COOLPIX P510 y un stand de fotografía Kaiser® R2N CP. Para fotografiarlos, los organismos fueron anestesiados con lidocaína al 2% durante 3 minutos o hasta que perdieran equilibrio. Una vez fotografiados se trasladaron a separos individuales en peceras con alta aireación, donde estuvieron hasta estar completamente recuperados y posteriormente trasladados a sus respectivas peceras.

Las imágenes fueron sometidas a análisis de morfometría geométrica utilizando los programas TPS. Con el programa *tps Utility ver. 1.58*, las imágenes fueron convertidas a formato *tps*, con el programa *tps Dig ver. 2.17*, se establecieron 19 marcas coordenadas con base en la metodología consultada para explicar la morfología del cuerpo y 13 para la cabeza (ver Figura 2). Con *tps Relative warps ver.1.53*, se utilizó un método de superposición procrustes que traslada, rota y escala para quitar el efecto del tamaño y obtener nuevas variables de forma llamadas *partial warps* (Rohlf, 2013); las nuevas variables obtenidas fueron sometidas a un método de ordenación conocido como *relative warps (RW)* (equivalente a un análisis de componentes principales), sobre los cuales se realizaron análisis estadísticos.

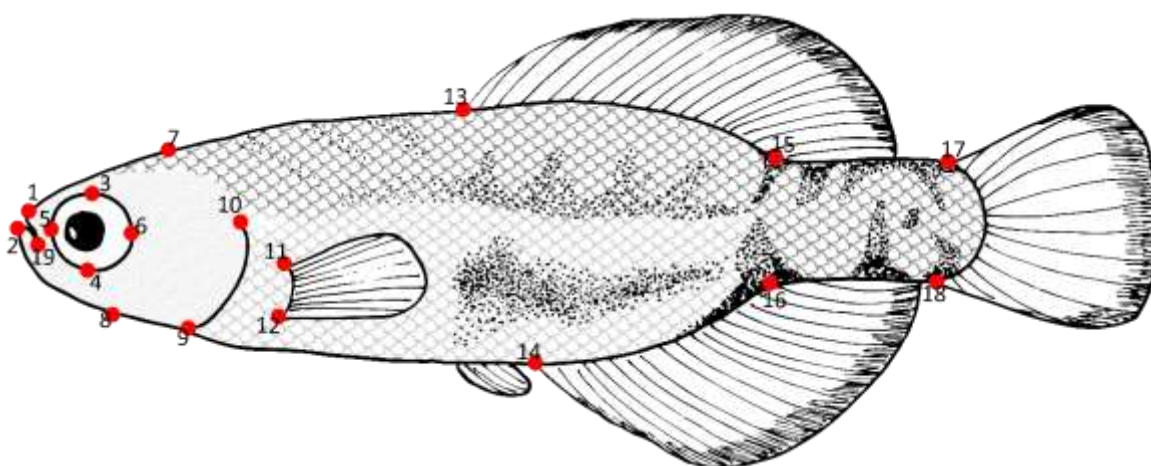


Figura 3. Configuración de *landmarks* para *Girardinichthys multiradiatus*. 1, punta del hocico; 2, borde anterior del labio inferior; 3 y 4, diámetro vertical del ojo; 5 y 6: diámetro horizontal del ojo; 7, extremo superior del neurocráneo; 8, hueso urohyal; 9, inserción del opérculo sobre el perfil lateral; 10, borde extremo superior del opérculo; 11, inserción superior de la aleta pectoral; 12, inserción inferior de la aleta pectoral; 13, inserción anterior de la aleta dorsal; 14, inserción posterior de la aleta anal; 15,

inserción anterior de la aleta anal; 16, inserción posterior de la aleta anal; 17, inserción superior de la aleta caudal; 18, inserción inferior de la aleta caudal; 19, ángulo premaxilar.

Análisis estadístico

Para evaluar si existe diferencia en la varianza del tamaño entre tratamientos experimentales, se realizó un ANOVA simple utilizando el software Statgraphics Centurion XV ver. 15.1.02 con un valor de alfa de 0.05 e incluyendo como variable respuesta CS y como factor la dieta. Además, se buscó la relación entre tamaño y forma mediante una correlación del CS y los RWs. Para dar respuesta a la pregunta planteada se consideraron solo las RWs con mayor porcentaje de variación y se aplicó un modelo lineal generalizado (MLG) para un diseño factorial, considerando como variables dependientes las RW obtenidas del TPS y como factores dieta, población, sexo y estado tamaño.

Resultados

Variación morfología inter-poblacional entre dietas experimentales

Talla

Se realizó el análisis morfométrico del cuerpo de 27 individuos de la población de ExH y 42 individuos de la población de SnE. Con respecto al tamaño determinado por el estadio ontogénico (cría; 30, juvenil; 19, juvenil maduro; 15 y adulto; 5), no se encontraron diferencias significativas en el CS entre grupos experimentales de SnE ($F=3.23$; g.l.=2 $P=0.0789$) ni para ExH ($F=0.15$; g.l.=2; $P=0.7057$). Tampoco se encontraron diferencias significativas de tamaño entre sexos en SnE ($F=2.32$; g.l.=2; $P=0.1344$) ni en ExH ($F=0.77$; g.l.=2; $P=0.3855$).

Forma

Dos análisis morfométricos se realizaron, uno para la forma del cuerpo y otro para la forma de la cabeza, de cada análisis se obtuvieron tres RWs que representan en conjunto el 66.53% y 68.22% respectivamente. Comparando las dos dietas experimentales con un modelo lineal generalizado (Ver Tabla 1) se mostró que la diferencia entre dietas experimentales es estadísticamente significativa para la

morfología del cuerpo. La RW1 representa el 33.50% de la variación total en el cuerpo de *G. multiradiatus* y representa la variación generada netamente por las dietas experimentales, ya que no existe un efecto significativo causado por la población, pero si hay interacción con la dieta entre ambos factores. Con respecto a la RW2 (19.58 %) las diferencias significativas se dan entre poblaciones, pero no para dieta, sin embargo, para esta RW la interacción entre factores también es significativa.

En la Figura 4 se representa la variación de la forma del cuerpo con un gráfico de medias para cada dieta experimental y cada población, éstas están distribuidas a lo largo del RW1 (eje X) y RW2 (eje Y) junto con su respectivo morfologías. Las morfologías distribuidos en los extremos del RW1, 33.50% corresponden a las dietas experimentales. Se observa que los individuos que consumieron *Hyalella* tienen cuerpo delgado, ojos compactos, cabezas compactas, pedúnculo caudal delgado y tiende a adelgazarse hacia la aleta caudal (formando un cuerpo pentagonal). En contraste los individuos que se alimentaron de *Daphnia* presentan cuerpos robustos, ojos grandes, cabeza robusta, pedúnculo caudal robusto y tiende a enchancharse hacia la aleta caudal (formando un cuerpo rectangular). La variación poblacional se distingue al largo de la RW2, los individuos de SnE distribuyen hacia el extremo negativo mientras que los peces de ExH se distribuyen hacia el lado positivo. En contraste con la población de SnE, los individuos de la población de ExH presentan cabezas más compactas, pedúnculo caudal más ancho y boca más alargada.

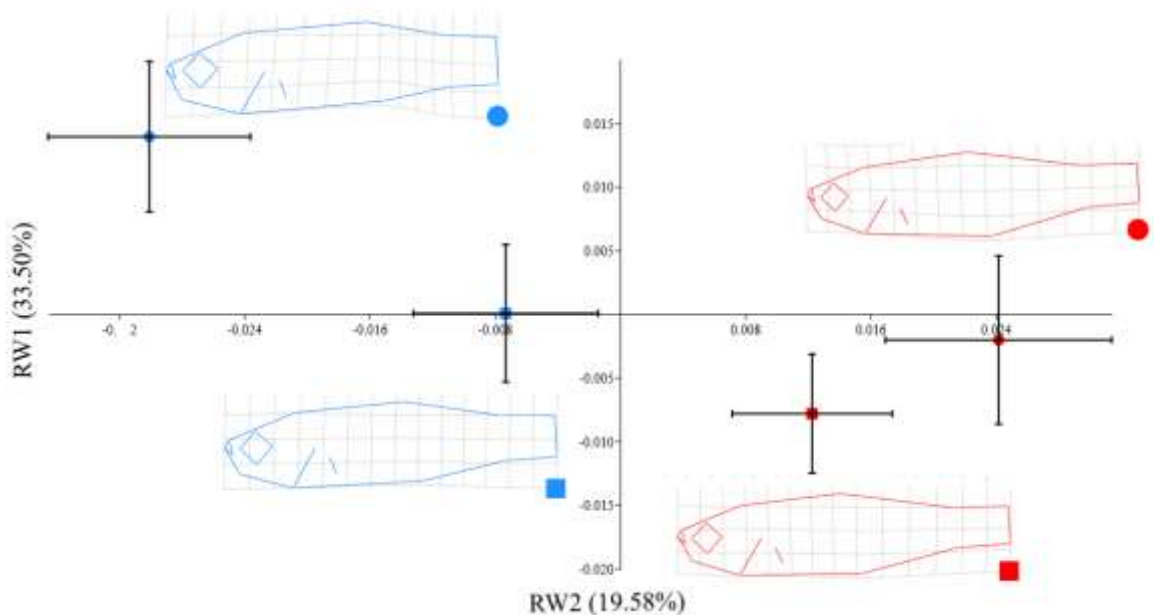


Figura 4. Gráfico de medias \pm E.E. de los RW1 y RW2 de la forma del cuerpo para cada dieta experimental; *Hyallella* (rojo) y *Daphnia* (azul) y cada población; Ex-Hacienda (circulo) y San Elías (cuadrado) de *Girardinichthys multiradiatus*. El porcentaje entre paréntesis indica el porcentaje de variación explicado por cada RW. Se muestran los gráficos de deformación TPS correspondiente a la media para cada categoría de Dieta-Población, cada *landmark* están conectados por líneas para facilitar la visualización de la forma general.

Con respecto a la morfología de la cabeza el efecto de la dieta fue estadísticamente significativo solo para la primera RW explicando el 44.85% de la variación total además de una interacción significativa con las poblaciones. No existen diferencias significativas para el factor población en la morfología de la cabeza (Ver Tabla 2).

En la Figura 5 se representa la variación de la forma de la cabeza en función de las RW 1 y 2 con un gráfico de medias para cada dieta experimental y para cada población. La mayor variación se encuentra a lo largo de la RW1 (eje X), individuos bajo la dieta de *Daphnia* se encuentran al extremo negativo del eje y presentan ojos en posición más dorsal y cámara opercular más amplia, y en general cabeza más robusta en comparación con los peces que consumieron *Hyallella* sp.

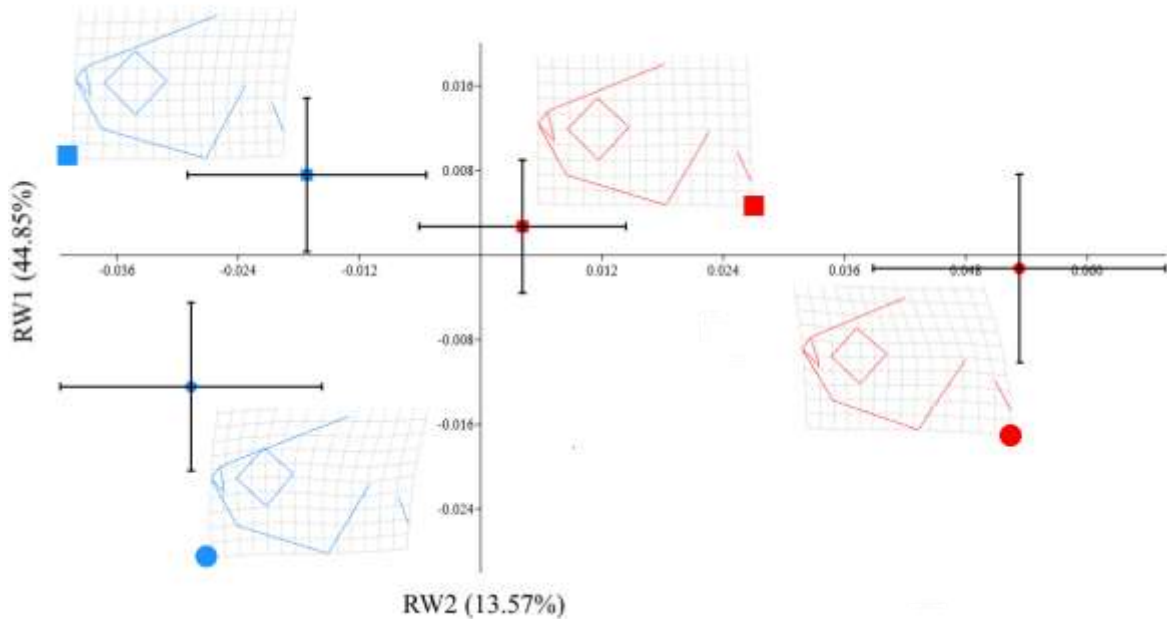


Figura 5. Gráfico de medias \pm E.E. de los RW1 y RW2 de la forma de la cabeza para cada dieta experimental, *Hyalella* (rojo) y *Daphnia* (azul) y; para cada población, Ex-Hacienda (circulo) y San Elías (cuadrado) de *Girardinichthys multiradiatus*. El porcentaje entre paréntesis indica el porcentaje de variación explicado por cada RW. Se muestran los gráficos de deformación TPS correspondiente a la media para cada categoría de Dieta-Población, las *landmark* están conectadas por líneas para facilitar la visualización de la forma general.

Variación morfológica entre organismos en dietas experimentales y organismos provenientes de las poblaciones originales

Para determinar si las condiciones experimentales tenían efectos significativos en la morfología de los organismos con respecto a la morfología de su población original, se realizó un segundo análisis de TPS anexando 14 peces de ambos bordos al análisis del cuerpo. Tres *relative warps* que representan en conjunto el 63.95% de la variación total del cuerpo y 64.58% de la variación total de la cabeza fueron obtenidas.

Se aplicó un modelo lineal generalizado (ver Tabla 3), incluyendo los factores Dieta, Población, Sexo y Categoría de tamaño ontogénico (con cuatro niveles). La RW1 representa el 32.04% de la variación total en el cuerpo de *Girardinichthys multiradiatus*. En esta RW sólo población no presentó diferencias significativas y la única interacción significativa fue la de Dieta vs Población. La RW2 representa el 18.44% de la variación

del cuerpo y es generada por los factores de dieta y categoría de tamaño. La RW3 representa el 13.47% de la variación y es significativa en todos los factores.

En la Figura 6 se observa el gráfico de medias de la forma del cuerpo para las dietas experimentales y la dieta en el ambiente natural de cada población utilizado como grupo control (dieta natural), éstas están distribuidas a lo largo del RW1 (32.04%) y RW2 (18.44%) junto con su respectivo morfotipo. Se observan dos morfotipos generales que describen las diferencias entre dietas distribuidas entre RW1 y RW2. Esos son: 1) Los morfotipos distribuidos en el extremo negativo del RW1 corresponden a ambas poblaciones de la dieta experimental de *Daphnia* y los peces control de SnE, estos presentan cuerpos robustos, ojos que ocupan mayor proporción dentro de la cabeza, cabeza robusta, pedúnculo caudal robusto y tiende a ensancharse hacia la aleta caudal. La parte media del pez desde el final de la cabeza hasta el inicio de la inserción de las aletas dorsal y anal tiene forma rectangular. La morfología del grupo natural SnE es más cercana a la de SnE *Daphnia* que a la de ExH *Daphnia* a lo largo del RW2; 2) Los morfotipos distribuidos en el cuadrante positivo del RW1 que corresponden al grupo control de la población ExH y a la dieta de *Hyallela sp.* Estos organismos presentan cuerpo delgado, ojos reducidos en proporción con la cabeza, cabeza compacta, pedúnculo caudal delgado y tiende a adelgazarse hacia la aleta caudal iniciando desde la parte anterior del cuerpo, la parte media del pez desde el final de la cabeza hasta el inicio de la inserción de las aletas dorsal y anal tiene forma de trapecioide. La morfología del grupo control ExH es más cercana a la de SnE *Hyallela sp.* que a la de ExH *Daphnia sp.* a lo largo del extremo negativo de la RW2.

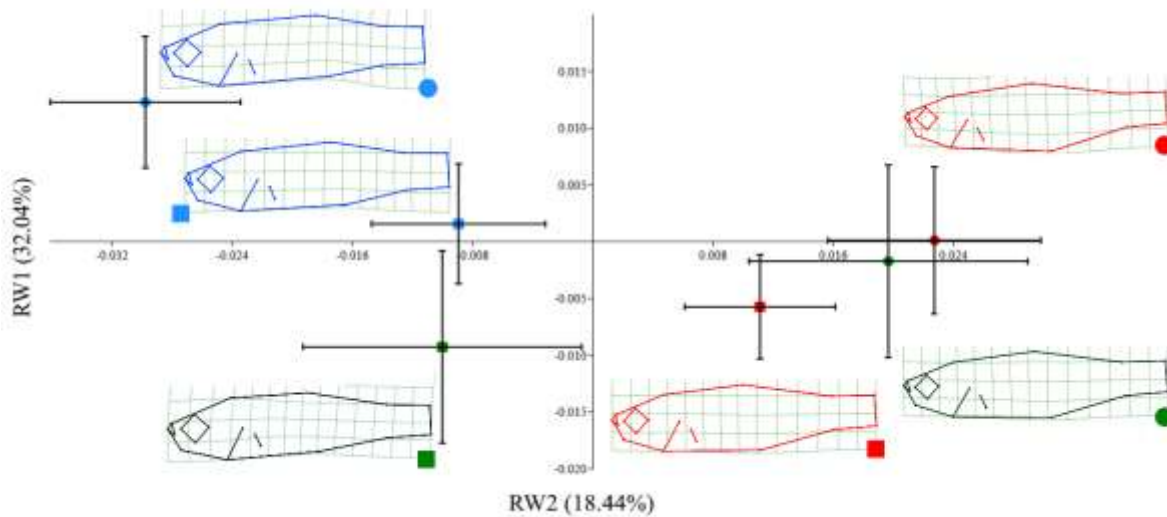


Figura 6. Gráfico de medias \pm E.E. de los RW1 y RW2 de a cabeza para cada dieta experimental y grupo control; *Hyalella* (rojo), *Daphnia* (azul) y grupo control (verde) y cada población; Ex-Hacienda (circulo) y San Elías (cuadrado) de *Girardinichthys multiradiatus*. El porcentaje entre paréntesis indica el porcentaje de variación explicado por cada RW. Se muestran los gráficos de deformación TPS correspondiente a la media para cada categoría de Dieta-Población, cada landmark están conectados por líneas para facilitar la visualización de la forma general.

Se realizó una prueba *post-hoc* para identificar las diferencias pareadas entre dieta *Daphnia sp.*, dieta *Hyallella sp.* y el grupo control las cuales se muestran en la Tabla 5. En esta tabla también se muestra la diferencia entre cada par de medias. Se puede observar que las medias con mayor diferencia están para la RW1 y son ExH control vs ExH Daph, ExH Daph vs ExH Hylla y ExH Daph vs SnE Hylla.

La comparación de la forma de la cabeza en las dietas experimentales con respecto al grupo control de *Girardinichthys multiradiatus* mostro diferencias significativas en los RW1 y RW2 (ver tabla 4). La RW1 representa el 40.17% de la variación total de la cabeza y representa la variación generada por las dietas y por la categoría de tamaño. El RW2 representa el 13.47% y es la variación generada netamente por las dietas. La RW3 representa el 10.84% de la variación y es significativa en dieta, sexo y categoría de tamaño. En esta RW existe una interacción entre la población y la categoría de tamaño.

Se realizó una prueba *post-hoc* para identificar las diferencias pareadas en la morfología de la cabeza entre dieta *Daphnia sp.*, dieta *Hyallolella sp.* y el grupo control, las cuales se muestran en la Tabla 6. En esta tabla también se muestra la diferencia entre cada par de medias. Se puede observar que las medias con mayor diferencia están para la RW1 y son ExH Daph vs ExH Hylla, ExH Hylla vs SnE Daph, ExH Hylla vs SEC, ExHC vs ExH Hylla. Es importante mencionar que las diferencias entre medias para la cabeza son mayores con respecto a las del cuerpo (Tabla 5).

En la Figura 7 se observa el gráfico de medias de la forma de la cabeza para las dietas experimentales y el grupo control para cada población, éstas están distribuidas a lo largo del RW1 (40.17%) y RW2 (13.57%) junto con su respectivo morfotipo. Se observan tres morfotipos que describen las diferencias entre dietas distribuidas entre RW1 y RW2. Esos son: 1) Los morfotipos distribuidos en el cuadrante superior derecho del plano coordenado (extremos positivos del RW2 y RW1) corresponden a ambas poblaciones de la dieta experimental de *Daphnia*; presentan cabeza robusta deprimida dorsoventralmente, hocico corto, ojos posicionados más dorsalmente; 2) Los morfotipos distribuidos en el cuadrante inferior derecho (extremo negativo del RW2, positivo del RW1) corresponden a ambas poblaciones del grupo control y presentan cabeza comprimida dorsoventralmente, más robusta en el área de la cámara opercular, hocico corto (el más corto en comparación con ambas dietas experimentales, los ojos ocupan la mayor proporción de la cabeza y tienen posición dorsal, la inserción del hueso urohial más cercana al ojo, en general la parte trófica se ve más elevada con respecto a los otros morfotipos, así como las inserciones de la aleta pectoral más cerca del opérculo 3) Los morfotipos distribuidos en el eje negativo de RW1 corresponden a ambas poblaciones de la dieta experimental de *Hyallolella* y presentan cabeza comprimida anteroposteriormente, hocico más alargado que en los otros morfotipos, ojos distribuidos centralmente y ocupan menos proporción de la cabeza en comparación con los grupos control. SnE Hylla es más compacta en la parte trófica en comparación con ExH Hylla.

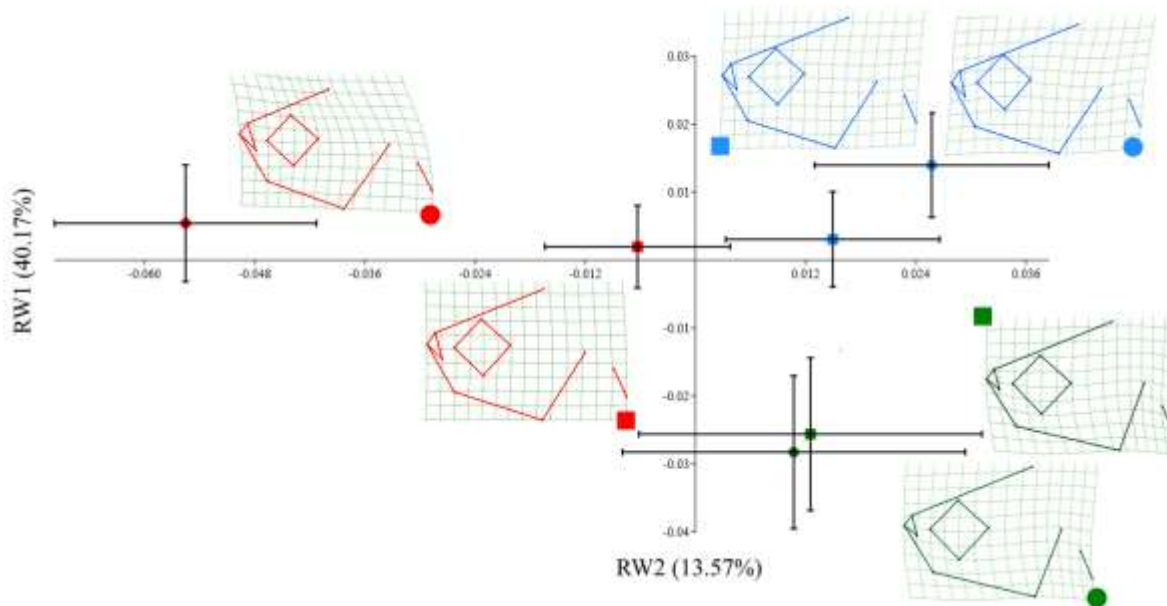


Figura 7. Gráfico de medias \pm E.E. de los RW1 y RW2 de la forma de la cabeza para cada dieta experimental y grupo control; *Hyalella* (rojo), *Daphnia* (azul) y el grupo control (verde) y cada población; Ex-Hacienda (circulo) y San Elías (cuadrado) de *Girardinichthys multiradiatus*. El porcentaje entre paréntesis indica el porcentaje de variación explicado por cada RW. Se muestran los gráficos de deformación TPS correspondiente a la media para cada categoría de Dieta-Población, cada *landmark* están conectados por líneas para facilitar la visualización de la forma general.

Discusión

El objetivo del presente estudio fue determinar si existe una respuesta plástica en la morfología de *Girardinichthys multiradiatus* en una sola generación, debido a la influencia de dos dietas diferentes. Los resultados obtenidos aquí demuestran que peces de la especie *Girardinichthys multiradiatus* presenta un marcado cambio morfológico significativo después de haber sido expuestos a diferentes dietas en condiciones experimentales controladas. Los cambios de la forma de la cabeza de los individuos bajo experimentación se originaron en mayor medida por el efecto de la dieta (Tabla 2), estos cambios permiten identificarlos como morfotipos incluso opuestos en su morfología como se observa en la Figura 4. Keast y Webb (1966) encontraron que a menudo es fácil inferir la ecología de la alimentación y los hábitos locomotores de un pez basados simplemente en la forma general del cuerpo del pez (en Rice & Hale, 2010). La distribución de peces en diferentes hábitats requiere del

desarrollo de morfologías y estrategias para obtener el alimento que les permita afrontar situaciones complejas como los cambios de flujo de agua, disponibilidad de presas, etc. Estas diversas formas en una misma población facilitarían el uso de los recursos alimenticios debido a la optimización de la locomoción para la captura de presas (Videler, 1993; Rice & Hale, 2010). En este caso la para obtención de organismos zooplanctonicos como *Daphnia pulicaria* se presentó una morfología diferente a los organismos cazadores de crustaceos más grandes y rápidos como *Hyalloella* sp.

Los peces que requieren de maniobras complejas durante el forrajeo suelen poseer un cuerpo más corto y delgado, con aletas pectorales colocadas anteriormente en el centro del cuerpo y aletas pélvicas debajo de los pectorales. Esta forma corporal puede ayudar a maniobrar en condiciones inestables, pero aumenta significativamente la resistencia al arrastre (y por lo tanto la energía necesaria) durante la natación constante (Webb, 1984 en Rice & Hale, 2010; Andrasso, 1997;)

Aunque es un factor importante para los peces en una amplia variedad de hábitats, el efecto de la forma general del cuerpo se hace pronunciado para los peces que se alimentan en entornos hidrodinámicamente o físicamente complejos, donde la forma determina en última instancia el éxito de la alimentación. Esto concuerda con el presente trabajo, donde los individuos alimentados con la dieta de *Hyalloella*, organismos con comportamiento bentónico, se ven forzados a presentar un nado rápido y ágil para cazar con eficiencia y presentan una morfología correspondiente a la reportada en la literatura (Robinsons & Parsons, 2002; Rice & Hale, 2010; De Meyer et al., 2016).

En contraste, el comportamiento de depredación de peces cazando organismos plantónicos limneticos como *Daphnia* suele iniciar con la aproximación lenta hacia la presa continuada por un impulso repentino hacia delante y la captura inmediata de la presa. El éxito de alimentación de este tipo de peces suele aumentar con el desarrollo incrementando la velocidad de natación y haciendo menos probable que provoque una respuesta de escape al aproximarse a la presa (Langerhans & Reznick, 2010; Jackson & Lenz, 2016).

La alta maniobrabilidad a una baja velocidad de nado también se puede lograr con un cuerpo corto comprimido (aplanado lateralmente) que facilita el giro y nado rápido, como se encuentra en muchos peces que viven en ambientes geoméricamente complejos como arrecifes de coral o camas de vegetación. Un cuerpo corto y comprimido significa masa muscular reducida e hidrodinamicamente (cuerpo fusiforme que minimiza el arrastre mientras que maximiza el volumen), los peces con esta morfología logran maniobrabilidad, pero sacrifican arranques rápidos y nado constante (Jackson & Lenz, 2016). Estas características morfológicas y de hábitat corresponden a lo observado en los organismos sometidos a la dieta *Daphnia*, donde, además de explicar la morfología generada por la dieta, estos presentaron semejanzas con el grupo control de la población SnE el cual en comparación con ExH presenta un ambiente espacialmente más complejo (causado por la vegetación), explicando así, la tendencia hacia una determinada morfología causada parcialmente por el hábitat de la poblaciones y la dieta por un morfotipo más robusto y comprimido.

Los peces con un pedúnculo caudal delgado suelen presentar facilidad de nado en la zona litoral del cuerpo de agua y en la depredación de presas bentónicas sedentarias, ya que permite una mayor precisión en la maniobrabilidad de nado. En contraste, una forma corporal con un pedúnculo caudal robusto es beneficiosa en la caza de presas planctónicas, lo cual explicaría las diferencias en los morfotipos de los grupo control, ya que los individuos de en el hábitat más heterogéneo (ExH) presentan cuerpos más delgados y alargados. Estos morfotipos se podrían relacionar con su tipo de hábitat, donde *Girardinichthys multiradiatus* ocupa la parte litoral del bordo ocultándose entre la vegetación (Domenici, 2003). Los individuos del bordo SnE se distribuyen en las zonas litoral y limnética, lo que explicaría la semejanza del grupo con los individuos bajo la influencia de la dieta limnetica de *Daphnia* (presentando cuerpos robustos) y lo cual refuerza la preferencia de los *G. multiradiatus* del bordo SnE a consumir *Daphnia* como dieta predilecta (Domenici et al., 2008; González-Fernández, 2015). Se ha registrado que los peces que consumen el zooplancton limnético presentan ojos más grandes, y una forma corporal robusta, un pedúnculo caudal que es más ancho en altura,

pero más estrecho transversalmente hacia la parte anterior del cuerpo (Robinsons & Parsons, 2002; De Meyer et al., 2016)

Las descripciones relacionadas con un tipo de dieta concuerdan con las observadas en el presente estudio y presentan semejanzas a las encontradas en investigaciones similares utilizando como organismo de estudio. Los morfotipos bénticos en contraste con los limnéticos, suelen alcanzar un mayor tamaño corporal y tener menos y más cortas branquiespinas, una forma corporal más robusta y una boca más ancha y donde el ancho de la cabeza es el carácter morfológico que exhibe un mayor cambio significativo inducido por la dieta (Mcphee et al., 2012). Las diferencias entre los individuos limneticos y bentónicos de *Gasterosteus spp.* son inversas a lo encontrado en *G. multiradiatus*. Estas diferencias parecen darse por las diferencias en la geografía de hábitats, donde ser más robusto parece ser más efectivo para *Gasterosteus* y así sobrepasar los obstáculos en la vegetación y para *G. multiradiatus* ser más delgado facilitando su nado entre la vegetación (Larson, 1976; McPhail, 1993; Day & McPhail, 1996; Meyer, 2002; Mcphee et al., 2012).

Los morfotipos generados por presas limneticas y bentónicas a menudo difieren en el tamaño de los ojos en relación con el tamaño del cuerpo, lo cual también es probable que esté relacionado con su ecología trófica, aunque la dirección de la divergencia es menos predecible (Mcphee et al., 2012). A diferencia de lo encontrado en *Gasterosuteus* se encontró que *Girardinichthys multiradiatus* es una especie que responde a la variación de dieta de manera rápida y causando variaciones evidentes en la cabeza y el cuerpo. Esta rápida respuesta a la variación ambiental podría explicar el como la especie ha podido sobrevivir a los efectos negativos de la cuenca Alta del Lerma, y ser la única especie de la Familia Goodeidae que se ha mantenido con poblaciones relativamente altas (Stearns, 1992), al menos en comparación con otras especies nativas extintas o al borde de la extinción que coexistían en los mismos cuerpos de agua (Méndez et al., 2002).

De las poblaciones sometidas a experimentación, la de ExH fue la que presentó una respuesta plástica más elevada (Stearns, 1992) (distribuyéndose en los extremos de los

RW) por las dietas, particularmente en el cuerpo de los individuos bajo el efecto de la dieta de *Hyalella*. Esta respuesta probablemente esté relacionada con la baja densidad de *Hyalella* observada en el bordo ExH, lo que indicaría que la respuesta de variación ante un factor se intensifica con la ausencia parcial de dicho factor en el ambiente constante de los individuos (observación personal).

Además de la variación encontrada en este estudio, se ha registrado variación en otros aspectos morfológicos de *Girardinichthys multiradiatus*, como lo son: variación entre sexos de diferentes poblaciones y entre poblaciones y variación en la morfología tamaño y número de las branquias (Rodríguez-Vargas, 2011; Velázquez, 2014; González, 2015; Méndez, 2016). Esto sugiere que los factores que inducen una respuesta plástica son variados y la respuesta plástica no está limitada a la generada por la dieta.

Los cambios en la morfología usualmente se relacionan con el aumento del desempeño de los organismos afectando el éxito de la búsqueda de alimento (maximizan u optimizan el acceso a las presas). Estas diferencias podrían después evolucionar como una consecuencia de los cambios fortuitas en divergencia evolutiva en la forma corporal, como se le ha atribuido a las diferencias de robustez entre especies hermanas si maximizan la adecuación (Day & McPhail, 1996; West-Eberhard, 2005).

Las diferencias en plasticidad se presentan como una respuesta no adaptativa, correlacionada a la selección de cada rasgo y que podrían propiciar eventualmente la especiación de *G. multiradiatus*. También existe la posibilidad de que estas poblaciones aisladas presenten evolución sisifeana, descrita en los pinzones de tierra del género *Geospiza spp.*, en donde Mckay & Zink (2015) argumentan que en poblaciones que están en un constante ciclo de diferenciación morfológica causado por alteraciones en el ambiente puede ser más eficiente responder a los cambios ambientales evitando la divergencia por selección natural, deriva genética o selección sexual y donde nunca se alcanzara las características de nueva especie.

Es importante considerar que muchas especies tienen cambios morfológicos ontogenéticos que son el resultado de cambios temporales en la disponibilidad de

presas y que la morfología de los individuos se va ajustando de acuerdo a lo que forrajea o al tipo de competidores que tiene. Por ejemplo, en el caso de *Perca fluviatilis* se ha registrado que la especie tiene tres nichos funcionales a lo largo de su ontogenia postnatal, cuando son alevines inician consumiendo zooplancton pelágico, después cambian a bentos y finalmente en la adultez consumen peces (Hjelm et al., 2000). En el presente estudio la morfología ontogenética estuvo bajo el efecto de un solo factor constante, lo que puede implicar que el cambio morfológico sea más marcado.

Conclusiones

- Las dietas experimentales de *Hyaella* y *Daphnia* generaron cambios significativos en la forma del cuerpo y cabeza de *G. multiradiatus* de dos poblaciones de la Cuenca Alta de Lerma.
- La comparación del grupo control y las dietas experimentales mostro que existen diferencias significativas y que cada una de las poblaciones del grupo control se asemejan a alguna de las dietas experimentales mostrando la intensidad de respuesta por cada población, donde los individuos de la población ExH, que es un hábitat heterogéneo exhibiera la mayor respuesta a las dietas.
- Cada uno de los morfotipos resultantes corresponden a cambios generalmente atribuidos a un tipo de presa (limneticos y bénticos) y una locomoción específica (causada por la presa y el ambiente), los cuales presentan las características necesarias para maximizar la eficacia de la captura de presas y así aumentar el eventualmente la adecuación de la especie.
- La elevada respuesta plástica que presenta la especie puede ser la estrategia que ha permitido a la especie sobrevivir a los cambios ambientales que afectan la cuenca del Alto Lerma.

Perspectivas para futura investigación en *G. multiradiatus*

Si se relaciona específicamente la morfología del pez con el tipo de dieta se ha encontrado que los peces que consumen el zooplancton limnético suelen tienen más y

más largas branquiespinas (*gill rakers*), y menos y más cortas branquiespinas. (Robinsons & Parsons, 2002; De Meyer et al., 2016)

El presente estudio se centró solo en la forma de los individuos, sin embargo, los efectos plásticos causados por dietas reportados en la literatura incluyen también cambios en las aletas y branquias. Futuras investigaciones se tendrán que realizar para la descripción de la variación de los cambios internos y de las aletas bajo el efecto de diferentes dietas. Para complementar la investigación realizada se podría realizar un análisis morfométrico de las aletas y de la morfología interna de *Girardinichthys multiradiatus*. Así mismo, es importante extender la experimentación intergeneracionalmente para determinar la heredabilidad de la morfología se mantiene en generaciones F2 y F3 y después someterlas a la dieta original en el bordo, e identificar si una F3 expresa fenotipo similar a nuestros progenitores iniciales.

Referencias

- Adams, D. C., Rohlf, F. J., & Slice, D. E. (2004). Geometric morphometrics: ten years of progress following the 'revolution'. *Italian Journal of Zoology*, 71(1), 5-16.
- Anda, J., Quinones-Cisneros, S. E., French, R. H., & Guzman, M. (1998). Hydrologic balance of lake Chapala (Mexico). *JAWRA Journal of the American Water Resources Association*, 34(6), 1319-1331.
- Andersson, J., Johansson, F., & Söderlund, T. (2006). Interactions between predator-and diet-induced phenotypic changes in body shape of crucian carp. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 273(1585), 431-437.
- Andraso, G. M. (1997). A comparison of startle response in two morphs of the brook stickleback (*Culaea inconstans*): further evidence for a trade-off between defensive morphology and swimming ability. *Evolutionary Ecology*, 11(1), 83-90.
- Antón, D., & Delgado, D. C. (2000). Un ejemplo de contaminación de aguas superficiales: el curso alto del río Lerma, México. En *Sequía en un mundo de agua*. Piriguazú.
- Berrigan, D., & Scheiner, S. M. (2004). Modeling the evolution of phenotypic plasticity. En T. J. DeWitt, & S. M. Scheiner (Eds.). *Phenotypic plasticity: functional and conceptual approaches*. Oxford University Press, 83-85.
- Blake, R. W. (1983). *Fish locomotion*. Cambridge University Press, Cambridge, 41,71.
- Bookstein, F. L. (1997). *Morphometric tools for landmark data: geometry and biology*. Cambridge University Press.
- Brönmark, C., & Hansson, L. A. (2005). *The biology of lakes and ponds*. Oxford University Press.
- Cedeño Valdiviezo, A., & Torres Lima, P. (2013). Vulnerabilidad en la cuenca alta del río Lerma. In *V Seminario Internacional de Investigación en Urbanismo, Barcelona-Buenos Aires*, junio 2013 (pp. 1161-1167). Departament d'Urbanisme i Ordenació del Territori. Universitat Politècnica de Catalunya.
- CONABIO. (2012). Lerma - Chapala Basin Case. Study. Mexico a fruitful sustainable water management experience. Preparado para el IV Informe Mundial de las Naciones Unidas sobre el Desarrollo de los Recursos Hídricos: "Managing water under uncertainty and risk"
- Covich, A. P., J. H. Thorp & D. C. Rogers. 2010. Introduction to the subphylum Crustacea, In: Thorp, J. H. & A. P. Covich (Eds.) *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*, 3rd edition. Academic Press, 705-715
- Day, T., & McPhail, J. D. (1996). The effect of behavioural and morphological plasticity on foraging efficiency in the threespine stickleback (*Gasterosteus sp.*). *Oecologia*, 108(2), 380-388.
- De La Vega Salazar, M. Y., & Macias Garcia, C. (2005). Principal factors in the decline of the Mexican endemic viviparous fishes (Goodeinae: Goodeidae). In *Viviparous Fishes, Proceedings of I and II International Symposia*. *New Life Publications, Florida, USA* (pp. 506-513).

- De la Vega-Salazar, M. (2006). Estado de conservación de los peces de la familia Goodeidae (Cyprinodontiformes) en la Mesa Central de México. *Revista de Biología Tropical*, 54(1), 163-177.
- De Meyer, J., Christiaens, J., & Adriaens, D. (2016). Diet-induced phenotypic plasticity in European eel (*Anguilla anguilla*). *Journal of Experimental Biology*, 219(3), 354-363.
- Dodson, S. L., Cáceres, C. E., & Rogers, D. C. (2010). Cladocera and Other Branchiopoda. En J. H. Thorp, & Covich A. P. (Eds.) *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates*, 3rd edition. Academic Press, 776-778, 786-788.
- Dodson, S. L., Ryan, S., Tollrian, R., & Lampert, W. (1997). Individual swimming behavior of *Daphnia*: effects of food, light and container size in four clones. *Journal of Plankton Research*, 19(10), 1537-1552.
- Domenici, P. (2003). Habitat, body design and the swimming performance of fish. En V.L. Bels, J.P. Gasc, & A. Casinos (eds.), *Vertebrate biomechanics and evolution*, Oxford: BIOS Scientific Publishers, 1, 137-160.
- Domenici, P., Turesson, H., Brodersen, J., & Brönmark, C. (2008). Predator-induced morphology enhances escape locomotion in crucian carp. *Proceedings of the Royal Society of London B: Biological Sciences*, 275(1631), 195-201.
- Eduardo CM. (10 de agosto de 2016). Siembran 80 mil alevines en el bordo de San Elías. *Hoy Estado de México*. Recuperado de <http://www.hoyestado.com/2016/08/siembran-80-mil-alevines-en-el-bordo-de-san-elias/>
- Emlen, D. J. (1997). Alternative reproductive tactics and male-dimorphism in the horned beetle *Onthophagus acuminatus* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 41(5), 335-341.
- Escolero, O., Kralisch, S., Martínez, S. E., & Perevochtchikova, M. (2016). Diagnóstico y análisis de los factores que influyen en la vulnerabilidad de las fuentes de abastecimiento de agua potable a la Ciudad de México, México. *Boletín de la Sociedad Geológica Mexicana*, 68(3), 409-427.
- Fordyce, J. A. (2006). The evolutionary consequences of ecological interactions mediated through phenotypic plasticity. *Journal of Experimental Biology*, 209(12), 2377-2383.
- Fusco, G. (2001). How many processes are responsible for phenotypic evolution? *Evolution & Development*, 3(4), 279-286.
- Fusco, G., & Minelli, A. (2010). Phenotypic plasticity in development and evolution: facts and concepts. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 365: 547 – 556.
- Futuyma, D. J. (2013). *Evolution*, 3rd ed. Sunderland, MA, 247-298, 250, 491.
- Garduño-Paz, M. V., & Adams, C. E. (2010). Discrete prey availability promotes foraging segregation and early divergence in Arctic charr, *Salvelinus alpinus*. *Hydrobiologia*, 650(1), 15-26.

Garland, T., & Kelly, S. A. (2006). *Phenotypic plasticity and experimental evolution*. *Journal of Experimental Biology*, 209(12), 344-361.

Gavrilets, S., & Scheiner, S. M. (1993). The genetics of phenotypic plasticity. V. Evolution of reaction norm shape. *Journal of Evolutionary Biology*, 6(1), 31-48.

González F. P., (2015). *Comportamiento de forrajeo y morfología de Girardinichthys multiradiatus en bordos de la Cuenca Alta del Rio Lerma*. (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de México, México.

Google Maps. (2017). *Facultad de Ciencias U.A.E.M.* Extraído de <https://www.google.com.mx/maps/place/Facultad+de+Ciencias+U.A.E.M./@19.4092172,-99.691298,690m/data=!3m2!1e3!4b1!4m5!3m4!1s0x85d2763abd72ca81:0x6eaf64a39fbb45a6!8m2!3d19.4092122!4d-99.6891093>

Google Trends. (2017). Resultado de búsqueda de *Phenotypic plasticity*. Extraído de <https://trends.google.com/trends/explore?date=all&q=Phenotypic%20plasticity99.691298,690m/data=!3m2!1e3!4b1!4m5!3m4!1s0x85d2763abd72ca81:0x6eaf64a39fbb45a6!8m2!3d19.4092122!4d-99.6891093>

Helmer, R. & Hespanhol, I. (1997). *Water Pollution Control: A Guide to the Use of Water Quality Management Principles*. E & FN Spon, London, UK (on behalf of United Nations Environment Programme, Water Supply & Sanitation Collaborative Council and the World Health Organization).

Harold, J. B. (2002). *Microbiological applications: a laboratory manual in general microbiology*.

Hjelm, J., Persson, L., & Christensen, B. (2000). Growth, morphological variation and ontogenetic niche shifts in perch (*Perca fluviatilis*) in relation to resource availability. *Oecologia*, 122(2), 190-199.

Hulseay, C. D., Marks, J., Hendrickson, D. A., Williamson, C. A., Cohen, A. E., & Stephens, M. J. (2006). Feeding specialization in *Herichthys minckleyi*: a trophically polymorphic fish. *Journal of Fish Biology*, 68(5), 1399-1410.

Ibañez, A. L., Cowx, I. G., & O'higgins, P. (2007). Geometric morphometric analysis of fish scales for identifying genera, species, and local populations within the Mugilidae. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 64(8), 1091-1100.

Ingersoll, C. G., Ankley, G. T., Burton, G. A., Dwyer, F. J., Hoke, R. A., Norberg-King, T. J., & Winger, P. V. (1994). *Methods for measuring the toxicity and bioaccumulation of sediment-associated contaminants with freshwater invertebrates* (No. EPA/600/R-94-024). US Environmental Protection Agency.

IUCN, "IUCN Red List of Threatened Species". Versión 2016.1. www.iucnredlist.org

Jackson, J. M., & Lenz, P. H. (2016). Predator-prey interactions in the plankton: larval fish feeding on evasive copepods. *Scientific Reports*, 6.

Keast, A., & Webb, D. (1966). Mouth and body form relative to feeding ecology in the fish fauna of a small lake, Lake Opinicon, Ontario. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 23(12), 1845-1874.

- Kornfield, I., & Taylor, J. N. (1983). A new species of polymorphic fish, *Cichlasoma minckleyi*, from Cuatro Ciénegas, Mexico (Teleostei: Cichlidae). *Proc. Biol. Soc. Wash*, 96(2), 253-269.
- Langerhans, R. B., & Reznick, D. N. (2010). Ecology and evolution of swimming performance in fishes: predicting evolution with biomechanics. En Domenici, P., & Kapoor, B. G. (Eds.). *Fish locomotion: an eco-ethological perspective*. Science Publishers.
- Larson, G. L. (1976). Social behavior and feeding ability of two phenotypes of *Gasterosteus aculeatus* in relation to their spatial and trophic segregation in a temperate lake. *Canadian Journal of Zoology*, 54(2), 107-121.
- Lincoln, R. J., Boxshall, G. A., & Clark, P. F. (2009). *Diccionario de ecología, evolución y taxonomía*. Fondo de Cultura Económica, 478.
- López-Hernández, M., Ramos-Espinosa, M. G., Guzmán-Arroyo, M., & Payán-Zelaya, F. (2012). Quantity and Quality of Water in the River Lerma-Lake Chapala Watershed, Mexico. *Journal of Environmental Science and Engineering. A*, 1(11A), 1231.
- Macías-García, C. M. (1994). Social behavior and operational sex ratios in the viviparous fish *Girardinichthys multiradiatus*. *Copeia*, 919-925.
- Macías-García, C., & Saborío, E. (2004). Sperm competition in a viviparous fish. *Environmental Biology of Fishes*, 70(3), 211-217.
- Maynard-Smith, J., Burian, R., Kauffman, S., Alberch, P., Campbell, J., Goodwin, B., Lande, R., Raup, D., Wolpert, L. (1985). Developmental Constraints and Evolution: A Perspective from the Mountain Lake Conference on Development and Evolution. *The Quarterly Review of Biology*, 60(3), 265-287.
- Mazer, S. J., & Damuth, J. (2001). Nature and causes of variation. En C.W. Charles, D.A Roff, & F.B. Baker (Eds). *Evolutionary Ecology: Concepts and Case Studies*. Oxford and New York: Oxford University Press, 12-15.
- McKay, B. D., & Zink, R. M. (2015). Sisyphian evolution in Darwin's finches. *Biological Reviews*, 90(3), 689-698.
- McPhail, J. D. (1993). Ecology and evolution of sympatric sticklebacks (*Gasterosteus*): origin of the species pairs. *Canadian Journal of Zoology*, 71(3), 515-523.
- Mcphee, M. V., Noakes, D. L., & Allendorf, F. W. (2012). Developmental rate: A unifying mechanism for sympatric divergence in postglacial fishes?. *Current Zoology*, 58(1), 21-34.
- Méndez, P. M. (2016). *Morfología branquial de Girardinichthys multiradiatus y Goodea atripinnis en dos cuerpos de agua*. (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de México, México.
- Mendoza-Mejía, J. B., & Orozco-Hernández, M. E. (2014). Análisis de la vulnerabilidad biofísica a los riesgos por inundación en la zona metropolitana de Toluca, México. *Luna Azul*, (38), 86-104.
- Meyer, A. (2002). The stuff new species are made of?. *Nature Genetics (News and Views)*, 30(2), 127-128.

- Munirasu, S., Uthayakumar, V., Arunkumar, P., & Ramasubramanian, V. (2016). The effect of different feeds such as *Chlorella vulgaris*, *Azolla pinnata* and yeast on the population growth of *Daphnia magna* commonly found in freshwater systems. *New International Journal of Fisheries and Aquatic Studies*, 4(6), 05-10.
- Navarrete-Salgado, N. A., Rojas-Bustamante, M. L., Contreras-Rivero, G., & Elías-Fernández, G. (2007). Alimentación de *Girardinichthys multiradiatus* (Pisces: Goodeidae) en el embalse La Goleta, Estado de México. *Ciencia Ergo Sum*, 14(1), 63-68.
- Nijhout, H. F., & Davidowitz, G. (2003). Developmental perspectives on phenotypic variation, canalization, and fluctuating asymmetry. *Developmental instability: causes and consequences*, 3-13.
- Park, P. J., Aguirre, W. E., Spikes, D. A., & Miyazaki, J. M. (2013). Landmark-Based Geometric Morphometrics: What Fish Shapes Can Tell Us about Fish Evolution. *Proceedings of the Association for Biology Laboratory Education*, 34, 361-371.
- Pigliucci, M. (2001). *Phenotypic Plasticity: Beyond Nature and Nurture*. Baltimore (MD): John Hopkins University Press.
- Pigliucci, M. (2005). Evolution of phenotypic plasticity: where are we going now?. *Trends in Ecology & Evolution*, 20(9), 481-486.
- Requieron, E. A., Torres, M. A. J., & Demayo, C. G. (2012). Applications of relative warp analysis in describing of scale shape morphology between sexes of the snakehead fish *Channa striata*. *International Journal of Biological, Ecological and Environmental Sciences*, 1(6), 2277-4394
- Rice, A. N., & Hale, M. E. (2010). Roles of locomotion in feeding. En Domenici, P., & Kapoor, B. G. (Eds.). *Fish locomotion: an eco-ethological perspective*. Science Publishers.
- Robinson, B. W., & Parsons, K. J. (2002). Changing times, spaces, and faces: tests and implications of adaptive morphological plasticity in the fishes of northern postglacial lakes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 59(11), 1819-1833.
- Rodríguez-Vargas, G. (2011). *Variación morfológica inter e intra poblacional de Girardinichthys multiradiatus (Meek 1904) en algunas localidades de las cuencas Del Alto Lerma y Balsas*. (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de México, México.
- Rohlf, F. J. (1993). Relative warp analysis and an example of its application to mosquito. *Contributions to Morphometrics*, 8, 131-60.
- Rohlf, F.J. (2004). *tpsDig, digitize landmarks and outlines*, version 2.0. Department of Ecology and Evolution, State University of New York at Stony Brook.
- SAGARPA, (2015). Boletín Pesquero y Acuícola. Mazatlán, México. Extraído de <http://www.gob.mx/conapesca/prensa/boletin-pesquero-y-acuicola-octubre-2015>.
- Schlichting, C. D., & Smith, H. (2002). Phenotypic plasticity: linking molecular mechanisms with evolutionary outcomes. *Evolutionary Ecology*, 16(3), 189-211.
- SEDUR, (2013). Plan municipal de desarrollo urbano de Toluca. Extraído de: http://seduv.edomexico.gob.mx/planes_municipales/Toluca/D21.pdfURBANO.

- Shafiei, M., Moczek, A. P., & Nijhout, H. F. (2001). Food availability controls the onset of metamorphosis in the dung beetle *Onthophagus taurus* (Coleoptera: Scarabaeidae). *Physiological Entomology*, 26(2), 173-180.
- Smith, D. G. (2001). *Pennak's freshwater invertebrates of the United States: Porifera to Crustacea*. John Wiley & Sons, New York.
- Stearns, S. C. (1992). *The evolution of life histories* (Vol. 249). Oxford: Oxford University Press.
- Stern, D. L. (2000). Perspective: evolutionary developmental biology and the problem of variation. *Evolution*, 54(4), 1079-1091.
- Toro Ibacache, M. V., Manriquez Soto, G., & Suazo Galdames, I. (2010). Morfometría geométrica y el estudio de las formas biológicas: de la morfología descriptiva a la morfología cuantitativa. *International Journal of Morphology*, 28(4), 977-990.
- Trujillo-Jiménez, P., & Espinosa de los Monteros Viveros, E. (2006). La ecología alimentaria del pez endémico *Girardinichthys multiradiatus* (Cyprinodontiformes: Goodeidae), en el Parque Nacional Lagunas de Zempoala, México. *Revista de Biología Tropical*, 54(4), 1247-1255.
- Utteri, M., Sandulli, R., Spezie, G., & Zambianchi, E. (2014). From small to large scale: a review of the swimming behaviour of *Daphnia*. *Daphnia: Biology and Mathematics Perspectives*. Nova Science Publishers, Inc.: New York, 309-322.
- Velázquez, M. A., (2014). *Características de Historia de Vida del Pez Amarillo (Girardinichthys multiradiatus: Goodeidae) en Tres Poblaciones de la Microcuenca Toluca-Ixtlahuaca, México*. (Tesis de licenciatura). Universidad Autónoma del Estado de México, México.
- Videler, J. J. (1993). *Fish swimming* (Vol. 10). Springer Science & Business Media.
- Wagner, A. (2011). *The origins of evolutionary innovations: a theory of transformative change in living systems*. OUP Oxford.
- Webb, P. W. (1984). Body form, locomotion and foraging in aquatic vertebrates. *American Zoologist*, 24(1), 107-120.
- West-Eberhard, M. J. (2003). *Developmental plasticity and evolution*. Oxford University Press, 141-142.
- West-Eberhard, M.J. (2005). Developmental plasticity and the origin of species differences. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102, 6543-6549.
- Whitman, D. W., & Agrawal, A. A. (2009). What is phenotypic plasticity and why is it important. *Phenotypic plasticity of Insects*, 1-63

Tablas

<i>RW</i>	%	<i>Fuente de variación</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Media cuadrática</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
RW1	33.50	Población	0.00159032	1	0.00159032	2.53	0.1163
		Dieta	0.0186909	1	0.0186909	29.78	0.0000
		Población x Dieta	0.00486509	1	0.00486509	7.75	0.0070
RW2	19.58	Población	0.00209334	1	0.00209334	3.99	0.0499
		Dieta	0.00207447	1	0.00207447	3.96	0.0509
		Población x Dieta	0.000264322	1	0.000264322	0.50	0.4803
RW3	13.45	Población	0.00516632	1	0.00516632	18.29	0.0001
		Dieta	0.000497697	1	0.000497697	1.76	0.1891
		Población x Dieta	0.00246637	1	0.00246637	8.73	0.0044

Tabla 1. Modelo lineal generalizado de las *relative warps* que explican el mayor porcentaje de variación en la morfología del cuerpo de *Girardinichthys multiradiatus*, comparando las dietas experimentales (*Daphnia* y *Hyaella*), las poblaciones (San Elías y Ex-Hacienda) y la interacción entre ambas.

<i>RW</i>	%	<i>Fuente de variación</i>	<i>Suma de Cuadrados</i>	<i>Gl</i>	<i>Media cuadrática</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
RW1	44.85	Población	0.0026834	1	0.0026834	1.07	0.3051
		Dieta	0.0346071	1	0.0346071	13.78	0.0004
		Población x Dieta	0.0148658	1	0.0148658	5.92	0.0177
RW2	13.57	Población	0.0026834	1	0.0026834	1.07	0.1114
		Dieta	0.0346071	1	0.0346071	13.78	0.8481
		Población x Dieta	0.0148658	1	0.0148658	5.92	0.2980
RW3	9.80	Población	0.0026834	1	0.0026834	1.07	0.6459
		Dieta	0.0346071	1	0.0346071	13.78	0.4999
		Población x Dieta	0.0148658	1	0.0148658	5.92	0.2601

Tabla 2. Modelo lineal generalizado de las *relative warps* que explican el mayor porcentaje de variación en la morfología de la cabeza de *Girardinichthys multiradiatus*, comparando las dietas experimentales (*Daphnia* y *Hyaella*), las poblaciones (San Elías y Ex-Hacienda) y la interacción entre ambas.

<i>RW</i>	%	<i>Fuente de variación</i>	<i>Gl</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
RW1	32.04	Dieta	2	30.59	0.0000
		Población	1	0.11	0.7416
		Sexo	1	37.76	0.0000
		Tamaño	3	6.54	0.0007
		Dieta x Población	2	17.90	0.0000
		Dieta x Sexo	2	0.36	0.6970
		Población x Sexo	1	0.67	0.4152
		Dieta x Tamaño	6	1.59	0.1653
		Población x Tamaño	3	1.15	0.3350
		RW2	18.44	Dieta	2
Población	1			3.79	0.0561
Sexo	1			1.20	0.2776
Tamaño	3			10.83	0.0000
Dieta x Población	2			2.06	0.1357
Dieta x Sexo	2			0.11	0.8983
Población x Sexo	1			1.04	0.3122
Dieta x Tamaño	6			1.25	0.2945
Población x Tamaño	3			1.44	0.2386
RW3	13.47			Dieta	2
		Población	1	49.69	0.0000
		Sexo	1	25.53	0.0000
		Tamaño	3	16.77	0.0000
		Dieta x Población	2	1.85	0.1662
		Dieta x Sexo	2	1.14	0.3281
		Población x Sexo	1	0.00	0.9707
		Dieta x Tamaño	6	1.16	0.3412
		Población x Tamaño	3	0.72	0.5431

Tabla 3. Modelo lineal generalizado de las *relative warps* que explican el mayor porcentaje de variación en la morfología del cuerpo de *Girardinichthys multiradiatus*, comparando las dietas experimentales (*Daphnia* y *Hyalella*) junto con el grupo control (Bordo), las poblaciones (San Elías y Ex-Hacienda), el sexo, tamaño (estadio ontogénico) y la interacción entre estas.

<i>RW</i>	%	Fuente de variación	<i>Gl</i>	<i>F</i>	<i>P</i>
RW1	40.17	Dieta	2	8.51	0.0006
		Población	1	2.51	0.1180
		Sexo	1	1.52	0.2230
		Tamaño	3	8.78	0.0001
		Dieta x Población	2	2.02	0.1418
		Dieta x Sexo	2	0.64	0.5308
		Población x Sexo	1	0.04	0.8339
		Dieta x Tamaño	6	1.33	0.2572
		Población x Tamaño	3	0.41	0.7439
		RW2	13.57	Dieta	2
Población	1			0.67	0.4161
Sexo	1			0.53	0.4692
Tamaño	3			0.42	0.7362
Dieta x Población	2			0.42	0.6572
Dieta x Sexo	2			0.70	0.4998
Población x Sexo	1			1.35	0.2506
Dieta x Tamaño	6			1.21	0.3143
Población x Tamaño	3			1.48	0.2301
RW3	10.84			Dieta	2
		Población	1	2.31	0.1337
		Sexo	1	1.60	0.2114
		Tamaño	3	10.00	0.0000
		Dieta x Población	2	4.40	0.0164
		Dieta x Sexo	2	0.08	0.9270
		Población x Sexo	1	1.15	0.2872
		Dieta x Tamaño	6	2.17	0.0584
		Población x Tamaño	3	3.50	0.0207

Tabla 4. Modelo lineal generalizado de las *relative warps* que explican el mayor porcentaje de variación en la morfología de la cabeza de *Girardinichthys multiradiatus*, comparando las dietas experimentales (*Daphnia* y *Hyaella*) junto con el grupo control (Bordo), las poblaciones (San Elías y Ex-Hacienda), el sexo, tamaño (estadio ontogénico) y la interacción entre éstas.

<i>RW</i>	%	<i>Contraste</i>	<i>Diferencia</i>	<i>Limites +/-</i>
RW1	32.04	ExH C - ExH Daph	0.0494448	0.0223607
		ExH C - SnE C	0.0296863	0.0261117
		ExH C - SnE Daph	0.028607	0.0217597
		ExH Daph - ExH Hylla	-0.0525125	0.0189197
		ExH Daph - SnE Daph	-0.0208378	0.0170783
		ExH Daph - SnE Hylla	-0.0409006	0.0160787
		ExH Hylla - SnE C	0.032754	0.023233
		ExH Hylla - SnE Daph	0.0316747	0.0182055
		SnE C - SnE Hylla	-0.0211421	0.0209843
		SnE Daph - SnE Hylla	-0.0200628	0.0152318
		RW2	18.44	ExH Daph - SnE C
ExH Daph - SnE Hylla	0.0180156			0.0146857
RW3	13.47	ExH C - ExH Hylla	-0.0187891	0.014287
		ExH C - SnE C	-0.0299246	0.0160573
		ExH C - SnE Daph	-0.0218955	0.013381
		ExH C - SnE Hylla	-0.0206503	0.0129042
		ExH Daph - ExH Hylla	-0.0276656	0.0116346
		ExH Daph - SnE C	-0.038801	0.0137506
		ExH Daph - SnE Daph	-0.030772	0.0105022
		ExH Daph - SnE Hylla	-0.0295267	0.0098875

Tabla 5. Modelo lineal generalizado con *post-hoc* de las *relative warps* que explican el mayor porcentaje de variación en la morfología del cuerpo de *Girardinichthys multiradiatus*. Se comparan las dietas experimentales (código asignado; “Daph” = *Daphnia*, “Hylla” = *Hyaella*) y a el grupo control (código asignado; “C”) con las poblaciones (código asignado; “SnE” = San Elías, “ExH” = Ex-Hacienda), indicando solo aquellos valores que muestran una diferencia significativa.

<i>RW</i>	%	<i>Contraste</i>	<i>Diferencia</i>	<i>Limites +/-</i>
RW1	40.17	ExH C - ExH Hylla	0.0662348	0.0468004
		ExH Daph - ExH Hylla	0.081266	0.0381117
		ExH Hylla - SnE C	-0.0680619	0.0468004
		ExH Hylla - SnE Daph	-0.0704783	0.036673
		ExH Hylla - SnE Hylla	-0.0492254	0.034791
RW2	13.57	ExH C - ExH Daph	-0.0422401	0.0270997
		ExH C - ExH Hylla	-0.0336959	0.0281569
		ExH C - SnE Daph	-0.0313256	0.0263714
		ExH C - SnE Hylla	-0.030241	0.0254316
		ExH Daph - SnE C	0.0395886	0.0270997
		ExH Hylla - SnE C	0.0310445	0.0281569
		SnE C - SnE Daph	-0.0286742	0.0263714
		SnE C - SnE Hylla	-0.0275896	0.0254316
RW3	10.84	ExH C - SnE Daph	0.0266009	0.0240906
		ExH Daph - SnE Daph	0.0208429	0.0189077
		SnE C - SnE Daph	0.032913	0.0240906
		SnE C - SnE Hylla	0.0234242	0.0232321

Tabla 6. Modelo lineal generalizado con *post-hoc* de las *relative warps* que explican el mayor porcentaje de variación en la morfología de la cabeza de *Girardinichthys multiradiatus*. Se comparan las dietas experimentales (código asignado; “Daph” = *Daphnia*, “Hylla” = *Hyaella*) y al grupo control (código asignado; “C”) con las poblaciones (código asignado; “SnE” = San Elías, “ExH” = Ex-Hacienda). Todos los valores reportados muestran una diferencia significativa ($P < 0.05$).