

**UNIVERSIDAD DE
CIENCIAS Y ARTES DE
CHIAPAS**

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

TESIS

**OSTEOLOGÍA COMPARADA DEL
ESQUELETO CAUDAL Y COLUMNA
VERTEBRAL DEL GÉNERO *TLALOC*
(CYPRINODONTIFORMES:
PROFUNDULIDAE)**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA

MARITZA FABIOLA MAZA CRUZ

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

Diciembre, 2023



**UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y
ARTES DE CHIAPAS**

INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

TESIS

**OSTEOLOGÍA COMPARADA DEL ESQUELETO
CAUDAL Y COLUMNA VERTEBRAL DEL GÉNERO
TLALOC (CYPRINODONTIFORMES:
PROFUNDULIDAE)**

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

PRESENTA

MARITZA FABIOLA MAZA CRUZ

DIRECTORA

SARA ELIZABETH DOMÍNGUEZ CISNEROS
MUSEO DE ZOOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

CODIRECTOR

ERNESTO VELÁZQUEZ VELÁZQUEZ
MUSEO DE ZOOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

ASESOR

ESTEBAN PINEDA DIEZ DE BONILLA
MUSEO DE ZOOLOGÍA, UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

Diciembre, 2023





UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS
SECRETARÍA ACADÉMICA
DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas a 23 de noviembre de 2023

Oficio No. SA/DIP/995/2023

Asunto: Autorización de Impresión de Tesis

Maritza Fabiola Maza Cruz
CVU: 1334588
Candidata al Grado de Maestra en Ciencias Biológicas
Instituto de Ciencias Biológicas
UNICACH
Presente

Con fundamento en la **opinión favorable** emitida por escrito por la Comisión Revisora que analizó el trabajo terminal presentado por usted, denominado **Osteología comparada del esqueleto caudal y columna vertebral del género Tlaloc (Cyprinodontiformes: Profundulidae)** cuya Directora de tesis es la M. en C. Sara Elizabeth Domínguez Cisneros (CVU: 340869) y como Co-director el Dr. Ernesto Velázquez Velázquez (CVU: 93056) quien avala el cumplimiento de los criterios metodológicos y de contenido; esta Dirección a mi cargo **autoriza** la impresión del documento en cita, para la defensa oral del mismo, en el examen que habrá de sustentar para obtener el **Grado de Maestra en Ciencias Biológicas**.

Es imprescindible observar las características normativas que debe guardar el documento impreso, así como realizar la entrega en esta Dirección de un ejemplar empastado.

Atentamente
"Por la Cultura de mi Raza"

Dra. Carolina Orantes García
Directora



DIRECCIÓN DE
INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

C.c.p. Dra. Alma Gabriela Verdugo Valdez, Directora del Instituto de Ciencias Biológicas, UNICACH. Para su conocimiento.
Dr. Eduardo E. Espinoza Medinilla, Coordinador del Posgrado, Instituto de Ciencias Biológicas, UNICACH. Para su conocimiento.
Archivo/minutario.

RJAG/COG/igp/gtr

2023 AÑO DE FRANCISCO VILLA
EL REVOLUCIONARIO DEL PUEBLO

Dirección de
Investigación
y Posgrado

Dirección de Investigación y Posgrado
Libramiento Norte Poniente No. 1150
Colonia Lajas Maciel C.P. 29039
Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México
Tel:(961)6170440 EXT.4360
investigacionyposgrado@unicach.mx

DEDICATORIAS

Principalmente a mi Madre **Graciela Cruz López**

Cada logro de mi vida te lo debo a ti mamá, gracias por siempre estar a mi lado, por ser mi cómplice y por siempre cuidar de mis bebés durante mi ausencia, sin ti mis metas serían imposibles de alcanzar.

Y especialmente a mis dos amores, a mis hijas.

Regina Samantha y Hanna Victoria

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Ernesto Velázquez y a la Dra. Sara Elizabeth Domínguez

Gracias a ambos por que a través de la admiración que les guardo, me han transmitido y adentrado en el mundo de los peces, y ahora la inquietud de saber más por los huesos, gracias por su confianza, por su mucha paciencia y sobre todo por el gran apoyo para concluir este proyecto de vida, gracias por cada minuto de su dedicación. Sin su ayuda no hubiera logrado este trabajo.

Agradezco también al Dr. Esteban Pineda por aceptar ser mi asesor de tesis, por brindarme su amistad y compartirme algo de su gran conocimiento y pasión a la Biología, y a mi comité sinodal al Dr. Gustavo Rivera Velázquez y Dr. Miguel A. Peralta por las observaciones a este trabajo y por siempre brindarme su apoyo.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN.....	1
INTRODUCCIÓN.....	2
ANTEDECENTES.....	6
OBJETIVO GENERAL.....	11
OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	11
MATERIAL Y METODOS.....	12
RESULTADOS.....	14
DISCUSIÓN.....	27
CONCLUSIONES.....	31
LITERATURA CITADA.....	33

ÍNDICE DE FIGURAS

Fig. 1. Distribución de las especies del género <i>Tlaloc</i> (Profundulidae); sur de México y Centroamérica.....	4
Fig. 2. Esquema del complejo caudal de <i>Tlaloc</i>	14
Fig. 3. Complejo caudal de las especies del género <i>Tlaloc</i> : <i>T. Portillorum</i>	15
Fig. 4. Placa hipural del complejo caudal en <i>T. labialis</i> (A), de forma triangular, y en <i>T. hildebrandi</i> (B), en forma de abanico; la flecha señala la ranura que divide la placa hipural.....	16
Fig. 5. Complejo caudal de las especies del género <i>Tlaloc</i> : A) <i>T. portillorum</i> , (B) <i>T. hildebrandi</i>	17
Fig. 6. Complejo caudal de las especies del género <i>Tlaloc</i> : (A) <i>T. candalarius</i> , (B) <i>T. labialis</i>	18
Fig. 7. Ubicación y diferenciación de los radios caudales principales y procurrentes en <i>T. hildebrandi</i>	20
Fig. 8. Columna vertebral de las especies del género <i>Tlaloc</i> . Se muestran vértebras abdominales y vértebras caudales de <i>T. hildebrandi</i>	22
Fig. 9. Vertebra abdominal (vc6) de <i>T. labialis</i>	23
Fig. 10. Columna vertebral de las especies del género <i>Tlaloc</i>	23
Fig. 11. Columna vertebral (región caudal) y elementos asociados de <i>T. labialis</i>	24

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Resumen de la técnica de diafanización y tinción. Tomado y modificado de Romero-Oliva y González-Rodríguez (2019).....	13
Tabla 2. Número de radios principales y procurrentes en el género <i>Tlaloc</i> . Entre paréntesis se registran los valores modales.....	21
Tabla 3.- Número de vertebras en las especies del género <i>Tlaloc</i> . V. abdominales: número de vértebras abdominales; V. caudales: número de vértebras caudales.....	25

RESUMEN

El esqueleto caudal, junto con el cráneo, y los elementos de la columna vertebral, son una de las fuentes de caracteres importantes, utilizados en estudios filogenéticos en teleósteos. Sin embargo, los estudios basados sobre el análisis de caracteres osteológicos son escasos en peces de la Familia Profundulidae, la cual está integrada por dos géneros *Profundulus* y *Tlaloc*, este último endémico de Chiapas y Centroamérica, con solamente cuatro especies nominales. El objetivo de este estudio es proveer de una descripción detallada del complejo caudal y el número de vértebras que integran la columna vertebral en las especies del género *Tlaloc* y evaluar la utilidad de estos caracteres para el diagnóstico y delimitación de las especies. Un total de 23 especímenes adultos de las cuatro especies (*Tlaloc hildebrandi*, *T. labialis*, *T. candalarius* y *T. portillorum*) fueron analizados. El material diafanizado procede de la colección de peces de la UNICACH. La columna vertebral se divide en región abdominal con 15-17 vértebras y región caudal compuesta por 17-21 vértebras incluida la vértebra preural 1 (PU1). La estructura general del complejo caudal de las especies del género *Tlaloc*, está compuesta por cuatro vértebras preurales (PU), fusionada a cada PU se encuentra un arco neural y un arco hemal, con una espina neural y hemal largas; un centro compuesto (CC), que se forma por la primera vértebra preural (PU1) y los hipurales superiores e inferiores fusionados que conforman la placa hipural (PH); un hueso parhipural (PA) alargado y plano, que puede estar en contacto o no al CC; un epural (EP) de menor tamaño y más delgado que la espina neural 2; que puede estar en contacto o no al CC. Existen variaciones interespecíficas en el número de elementos vertebrales y del complejo caudal entre las especies del género. Se discute la importancia taxonómica de estos caracteres en la discriminación de las especies analizadas.

Palabras clave: Diafanización, Esqueleto Óseo, Morfología, Peces de Centroamérica, Profundulidae.

INTRODUCCIÓN

El conocimiento actual sobre la filogenia de los peces de aletas con radios (Actinopterygii) se basa principalmente en datos morfológicos (sistema esquelético y morfología externa), o en secuencias de ADN (Hertwig, 2007). Dentro de los Teleostei, el taxón Atherinomorpha establecido por Rosen (1964) y posteriormente apoyado por numerosos autores (Parenti y Grier, 2004; Hertwig, 2007), representa un clado monofilético bien fundamentado. Los Atherinomorpha se dividen tradicionalmente en tres grupos principales: Atheriniformes, Beloniformes y Cyprinodontiformes, con este último considerado como un grupo hermano por la mayoría de los autores (Rosen 1964; Rosen & Parenti 1981; Blanco *et al.* 1984; Parenti, 1993; Wiley *et al.* 2000).

Los Cyprinodontiformes, comúnmente conocidos como Killifishes o cachorritos, son un grupo muy diverso de peces de agua dulce y salobre con 1200 especies descritas, que presentan una distribución pantropical y en las zonas templadas de Europa y Norteamérica (Parenti, 1981, Piller *et al.*, 2022).

Tradicionalmente este orden había sido clasificado en cinco familias: Cyprinodontidae, peces ovíparos, con una distribución mundial y cuatro familias de peces vivíparos del nuevo mundo: Poeciliidae, Anablepidae, Jenynsiidae y Goodeidae; sin embargo, Parenti (1981), con base en el uso de métodos de sistemática filogenética y biogeografía vicariante (utilizando principalmente caracteres osteológicos), propuso una clasificación más comprensiva del orden reconociendo la existencia de nueve familias dentro de los Cyprinodontídeos. Piller *et al.* (2022), señalan que a pesar de los estudio sobre la sistemática del orden Cyprinodontiformes (que ha sido estudiado de manera intensiva en las últimas décadas), las relaciones de las familias que integran el orden siguen siendo inconsistentes.

Actualmente los Cyprinodontiformes son un grupo diverso y bien conocido de peces que se distribuyen a nivel mundial en hábitats templados, de agua dulce y estuarinos; que se incluyen en dieciséis familias: Anablepidae, Aphaniidae, Aplocheilidae, Cubanichthyidae, Cyprinodontidae, Fluviphylacidae, Fundulidae, Goodeidae, Nothobranchiidae, Orestiidae, Pantanodontidae, Poeciliidae, Procatopodidae, Profundulidae, Rivulidae, y Valenciidae (Piller *et al.*, 2022).

La familia Profundulidae Hoedeman & Bronner, 1951 (Van der laan *et al.*, 2014; Nelson, 2016) es un linaje con una distribución geográfica muy limitada que se extiende desde el sur de México a Centroamérica y es uno de los elementos distintivos de la fauna endémica de esta región (Miller, 1955; Parenti, 1981, Morcillo *et al.*, 2016). La familia es también una de las menos diversas dentro del orden, con solamente trece especies descritas, en comparación con las 353 especies nominales en Poeciliidae (Nelson, 2016, Domínguez-Cisneros *et al.*, 2023).

Hasta hace poco, la familia Profundulidae estaba compuesta por un solo género, *Profundulus*, con dos subgéneros (*Profundulus* y *Tlaloc*) (Miller, 1955, Miller *et al.*, 2005). Recientemente, los dos subgéneros fueron erigidos a nivel de géneros, basados en las relaciones filogenéticas de la familia y utilizando datos moleculares (Morcillo *et al.*, 2016) y Morfológicos (Domínguez-Cisneros *et al.*, 2023).

El género *Tlaloc* Álvarez y Carranza, (1951), comprende solamente cuatro especies; las cuales exhiben una distribución muy restringida (Fig.1). *Tlaloc hildebrandi* (Miller, 1950), endémica de Chiapas, México (Velázquez-Velázquez y Schmitter-Soto, 2004), *Tlaloc labialis* (Günther 1866), restringida al sur de México (Chiapas) y Guatemala (Miller *et al.*, 2005), *Tlaloc candalarius* (Hubbs 1924), una especie cuasi-endémica, que solo se localiza en la frontera de México y Guatemala (Miller *et al.*, 2005) y *Tlaloc portillorum* (Matamoros y Schaefer, 2010), endémica de Honduras en Centro América.

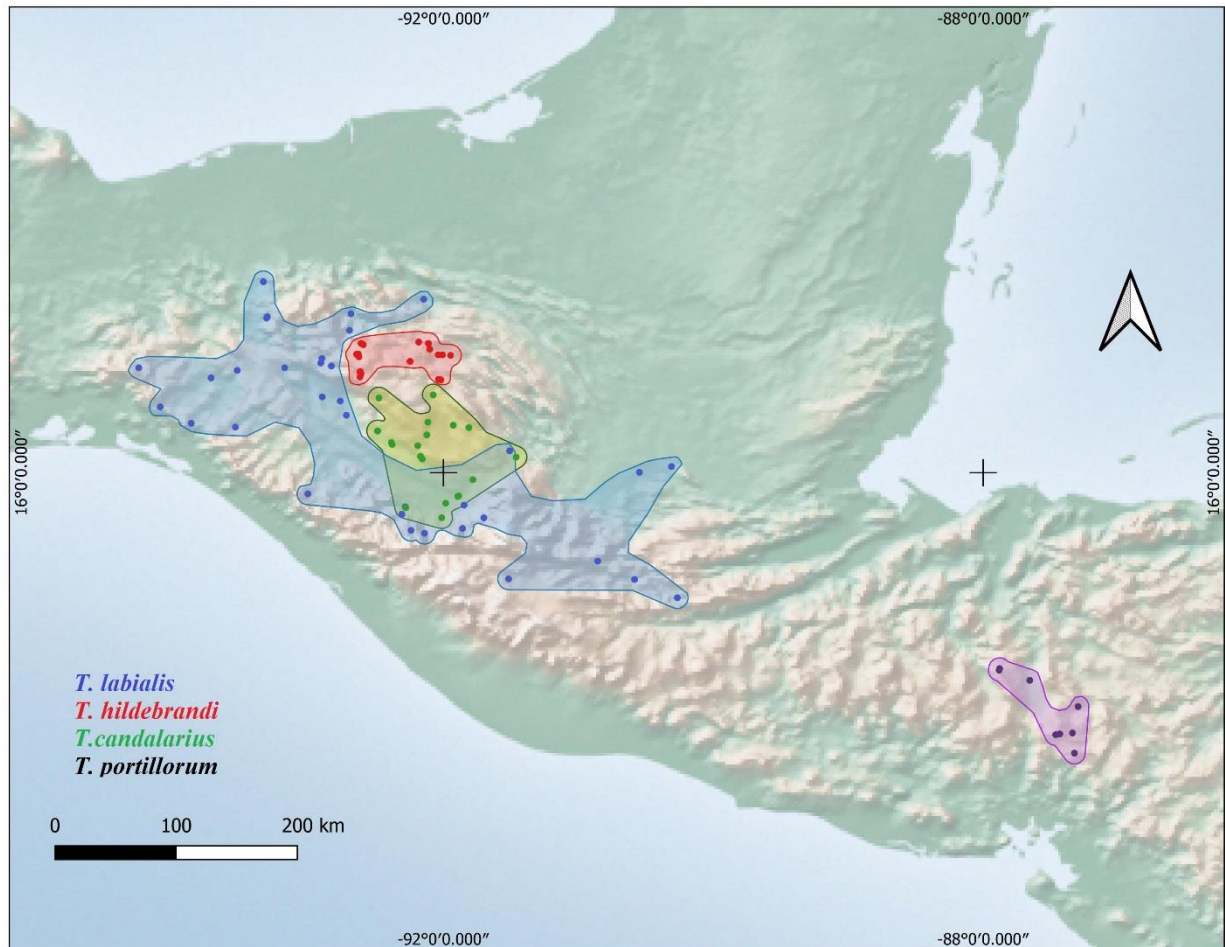


Fig. 1. Distribución de las especies del género *Tlaloc* (Profundulidae); sur de México y Centroamérica (Elaboró: Esteban Pineda Diez de Bonilla).

La osteología ha sido una fuente importante de caracteres morfológicos para proponer hipótesis de relaciones filogenéticas entre los profundúlidos y sus familias hermanas, dentro del orden de los Cyprinodontiformes (Parenti, 1981; Costa, 1998, 2004, Guedoti, 2005) y entre los géneros y algunas especies de la familia Profundulidae (Uyeno y Miller, 1962; González-Díaz *et al.*, 2014). La sistemática de Profundulidae es aún incompleta, con los géneros y sus especies pobremente definidos y muy poco se conoce acerca de su osteología (Morcillo *et al.*, 2016);

marcando una clara necesidad de mejorar las bases de datos sobre estudios morfológicos-osteológicos para este grupo de peces.

El esqueleto caudal, junto con el cráneo, son una de las fuentes de caracteres más importantes, utilizados en estudios filogenéticos en teleósteos (Arratia, 2008, 2009). Particularmente el esqueleto caudal ha sido fuente de estudio en diferentes grupos de peces, lo que ha demostrado su valor taxonómico para el diagnóstico y separación de familias, géneros y hasta especies (Costa, 2012; Gracian-Negrete *et al.*, 2012; Jawad y Jig, 2017; Rubio-Rodríguez *et al.*, 2016). Por lo tanto, es importante explorar herramientas que puedan utilizarse como posibles fuentes de información y criterios para la identificación taxonómica de especies de este género, como lo es la osteología y la morfología comparativa. El objetivo de este estudio es proveer de una descripción detallada del complejo caudal y de la columna vertebral de las especies del género *Tlaloc* y evaluar la utilidad de estos caracteres osteológicos en el diagnóstico y delimitación de las especies del género.

ANTECEDENTES

Durante las últimas décadas, la familia Profundulidae ha sido sujeta de varios estudios y cambios taxonómicos, donde las hipótesis alternativas propuestas por la morfología (Miller, 1955; González-Díaz *et al.*, 2005) y los datos moleculares (Doadrio *et al.*, 1999, Morcillo *et al.*, 2016), en algunos casos, han producido resultados contrastantes.

Los estudios sobre taxonomía y sistemática de los profundúlidos han sido abordados sobre las relaciones de la familia dentro del orden Cyprinodontiformes. La familia Profundulidae fue erigida por Hoedeman and Bronner en 1951, la cual incluía un solo género nominal (*Profundulus* Hubbs, 1924), sin embargo, no fue reconocida como tal, debido a la carencia de una diagnosis (Miller, 1955, Miller 2005, Nelson, 1994). En la revisión de Parenti (1981) del orden Cyprinodontiformes, se reconoce la validez de la familia Profundulidae e incluye la diagnosis, con base en caracteres osteológicos.

Las relaciones filogenéticas de los profundúlidos fueron analizadas por Parenti (1981), quien sugirió a Profundulidae como el grupo basal del suborden Cyprinodontoidei (integrado por siete familias). Costa (1998), en su hipótesis filogenética de los Cyprinodontiformes, sugiere a Fundulidae como grupo hermano del clado Goodeidae-Profundulidae. Parker (1997), utilizando una combinación de datos morfológicos y moleculares también recuperó a Profundulidae como grupo hermano de Goodeidae. Estos cambios en las relaciones de Profundulidae con Goodeidae y Fundulidae fueron recuperados en la clasificación de los Cyprinodontiformes de Parenti (2005); en la cual se reconoce a Fundulidae como grupo hermano del clado Profundulidae-Goodeide. Ghedotti y Matthew (2013); en su estudio de las relaciones filogenéticas y clasificación de Fundulidae (utilizando una matriz de datos moleculares, morfológicos, de coloración y cariotipos), concluyeron que Fundulidae es un grupo monofilético y es el grupo hermano para el clado compuesto por Cyprinodontidae, Profundulidae-Goodeidae dentro de los

Cyprinodontiformes. Recientemente Braganca *et al.* (2018) (utilizando un gen mitocondrial y cinco nucleares) y Amorim y Costa (2018) (quienes utilizaron siete genes nucleares), mediante el uso de datos moleculares y filogenia multigen, recuperan al clado Profundulidae-Goodeide como grupo hermano de Fundulidae y a Cyprinodontidae como el taxón más basal de los cuatro; además proponen a Pantanodontidae como el grupo hermano (basal) del suborden Cyprinodontoidei.

Por otro lado los estudios sobre la biología, ecología e historias de vida de las especies de la familia Profundulidae son escasos para la mayoría de las especies. Miller (2005) menciona algunos aspectos muy generales de la biología (contenidos estomacales) y tallas máximas de algunas especies de profundúlidos; en términos generales se trata de peces invertívoros, que incluyen en su dieta una variedad de invertebrados (odonatos, larvas de coleópteros, pequeños moluscos, entre otros). Velázquez-Velázquez y Schimetter-Soto (2004), documentaron algunos aspectos relacionados con el tamaño de las poblaciones y caracterización el hábitat de *Tlaloc hildebrandi*, estimando una población mínima de 8,000 mil individuos, en la cuenca del río Fogótico (Valle de Jovel), en San Cristóbal de las Casas, Chiapas; Velázquez-Velázquez *et al.* (2009) describieron aspectos relacionados con la alimentación, reproducción y crecimiento (relación peso-talla) del popoyote de San Cristóbal; concluyeron que se trata de una especie invertívora, con una dieta especializada, basada principalmente en larvas de insectos quironómidos (Chironomidae); su reproducción se inicia en el mes de febrero y por lo menos se extiende hasta el mes de junio, presentando una alta actividad reproductiva entre los meses de marzo, abril y mayo. Su talla máxima reportada es de 11.79 cm de longitud patrón y un peso máximo de 42.45 gr.; con un crecimiento de tipo isométrico ($b=2.991$). Recientemente Anzueto-Calvo *et al.* (2022) describen aspectos relacionados con los parámetros somáticos y relación longitud-peso en *Tlaloc hildebrandi*; Velázquez- Velázquez *et al.* (2022), describen el

dimorfismo sexual de la familia, con base en la presencia de órganos de contacto espículas. Soria-Barreto *et al.* (2023), estimaron la población actual de *T. hildebrandi* en la cuenca del río Fogótico.

La fauna helmintológica ha sido documentada en once de las 13 especies de la familia Profundulidae, la cual incluye 20 especies de Platelminos y Nemátodos: 11 especies de Trematodos (adultos y larvas), seis de Nemátodos (adultos y larvas), dos de Monogéneos y una especie de cestodo adulto (Pinacho-Pinacho *et al.*, 2015). Al menos seis especies de helmintos adultos son exclusivos de los profundúlidos, lo que pudiera deberse a un proceso de coevolución parásito-hospedero (García-Vásquez *et al.*, 2018). El cestodo adulto documentado, se trata de una especie invasora (*Bothriocephalus acheilognathi*), documentada en *Tlaloc candalarius*, *T. hildebrandi*, *T. portillorum* y *Profundulus guatemalensis* (Velázquez-Velázquez *et al.*, 2011, 2015; Salgado-Maldonado *et al.*, 2014, 2015; Pinacho-Pinacho, 2015).

Los estudios relacionados con la osteología en Cyprinodontiformes, son variados y con familias diferentes. Recientemente Thieme *et al.* (2021), estudiaron el esqueleto caudal de diferentes especies de Cyprinodontiformes, Beloniformes y Atheriniformes, mediante la tinción y transparentación de estructuras óseas; encontraron dos centros urales que se desarrollan y fusionan durante la ontogenia en los dos últimos órdenes, mientras que en Cyprinodontiformes solo se forma un centro ural. Davoodi y Gholami (2023) realizaron un análisis comparativo de la columna vertebral y esqueleto caudal en peces de la familia Aphaniidae, utilizando imágenes de radios X, encontrando variaciones interespecíficas en los caracteres, particularmente en el hueso epural. Costa (2012), describió y comparó el esqueleto caudal de 394 especies actuales y ocho de especies fósiles de Cyprinodontiformes; concluyendo que los Cyprinodontiformes se diagnostican inequívocamente por la presencia de un único hueso epural, en forma de cuchillo,

y por la presencia de radios caudales principales continuos en las placas de la parte superior e inferior del hipural. Costa (1998), reexaminó las relaciones filogenéticas de los Cyprinodontiformes, basado en el análisis de la morfología-osteología de 250 especies, sus resultados ratifican la monofilia de todas las familias analizadas como sugiere Parenti (1981).

Los estudios relacionados con la morfología, particularmente sobre la osteología en los profundúlidos, han resaltado la importancia de estos trabajos descriptivos que nos han permitido entender la taxonomía y sistemática del grupo. Hubbs (1924) propuso el género *Profundulus* (familia Cyprinodontidae), y fue diagnosticado sobre la base de caracteres merísticos y morfológicos (Hubbs, 1924; Miller, 1955); adicionalmente Uyeno y Miller (1962) describieron algunos caracteres osteológicos del género. Costa (1998), reconoce a Profundulidae como un grupo natural y describe los caracteres diagnósticos de la familia: Cartílago rostral y ligamentos bien desarrollados; de 13 a 23 branquispinas sobre la rama anterior del primer arco branquial, vómer en forma Y; un proceso estrecho sobre la porción anterior del etmoides lateral; y apertura anterior de las narinas situada en una estructura carnosa prominente. González-Díaz *et al.* (2014), realizaron la comparación osteológica de las especies de los dos subgéneros de *Profundulus* (*Tlaloc* y *Profundulus*), encontrando evidencia para suponer que ambos taxones podrían ser reubicados como géneros. Recientemente, Domínguez-Cisneros *et al.* (2023) diagnosticaron y redescubrieron los géneros *Profundulus* y *Tlaloc*, con base en caracteres osteológicos; los resultados más relevantes mostraron una notable diferenciación morfológica entre los géneros; el género *Tlaloc* se diagnostica con base en cinco caracteres morfológicos únicos, entre ellos, el mesetmoides prominente y de forma oval, sus bordes exceden el margen posterior del vómer; la porción anterior del parasfenoides está en contacto con el mesetmoides y sobrepasa la parte media de este; la fosa autopterótica es reducida. *Profundulus* fue diagnosticado con base en seis caracteres morfológicos únicos, entre

ellos el mesetmoides pequeño, en forma de media luna, y no excede los márgenes del vómer; la porción anterior del parasfenoides, justo en contacto con el mesetmoides y no va más allá de la parte medial de este último hueso; la fosa autopterótica grande.

OBJETIVOS

General

Describir el esqueleto caudal y la columna vertebral en los peces del género *Tlaloc*, y la utilidad de estos caracteres osteológicos, para el diagnóstico y delimitación de las especies del género.

Específicos

Describir el complejo caudal (Centro compuesto, epural, parhipural, placa hipural, espinas asociadas, radios principales y procurrentes) en los peces del género *Tlaloc*.

Determinar los elementos de la columna vertebral (vértebras abdominales y caudales) en las especies del género *Tlaloc*.

Evaluar las variaciones interespecíficas en las estructuras osteológicas del complejo caudal y columna vertebral, en los peces del género *Tlaloc*.

MATERIAL Y MÉTODOS

Un total de 23 especímenes adultos de *Tlaloc hildebrandi* (n=4), *T. labialis* (n=7) *T. candalarius* (n=5) y *T. portillorum* (n=7) fueron analizados. El material procede de la colección de peces, del Museo de Zoología de la Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas (MZ-UNICACH). *Tlaloc hildebrandi*. MZ-UNICACH 4330, 3; MZ-UNICACH 5711, 2. *Tlaloc portillorum*: MZ-UNICACH 7220, 4; MZ-UNICACH 7222, 2. *Tlaloc labialis*: MZ-UNICACH 3440, 2; MZ-UNICACH 6740, 2; MZ-UNICACH 7233, 2. *Tlaloc candalarius*: MZ-UNICACH 6813, 4; MZ-UNICACH 7575, 2.

Los especímenes fueron procesados mediante la técnica de aclaramiento (diafanización) y tinción diferencial de tejidos óseos y cartílago descritas por Taylor y Van Dyke (1985).

La diafanización es una técnica histológica que permite transparentar los tejidos blandos de un organismo (Prieto *et al.*, 2020), con la finalidad de exponer tejidos duros (hueso y cartílago). Para lograrlo, se emplea una sucesión de sustancias corrosivas, principalmente hidróxido de potasio (KOH) posteriormente, se añade rojo de alizarina para teñir de manera específica el tejido óseo por medio de quelación (Kiernan, 1990) y azul de alcian para la tinción cartilaginosa (Rivera *et al.*, 2015) (Tabla 1).

Tabla 1. Resumen de la técnica de diafanización y tinción. Tomado y modificado de Taylor y Van Dyke 1985.

Fase	Objetivo	Reactivos
1. Fijación y conservación	Preservar los especímenes	Formaldehido (10%) Alcohol (96%)
2. Tinción	Tinción de cartílagos	Azul de alcian
3. Despigmantación	Blanqueamiento/decoloración	Hidróxido de potasio (KOH) y peróxido de hidrogeno
4. Transparentación	Aclarado	Tripsina
5. Tinción	Tinción de huesos	Alizarina
6. Solución de postratamiento	Mejora la apariencia	Solución clarificadora de KOH y glicerina

Los recuentos de vértebras comprenden la región abdominal y caudal, esta última incluye la primera vértebra unida al complejo caudal. La disección e identificación de los elementos caudales fue basado sobre la nomenclatura de los huesos propuesto por Gosline (1961) y Schultze y Arratia (2013, Parenti (1981), y Costa (1998) (Figura 2). El conteo y diferenciación de los radios caudales es con base en Schultze y Arratia (2013), los cuales se distinguen en radios principales (segmentados y ramificados, más el primer radio sin ramificar situado en el margen de cada lóbulo) y radios procurrentes (el resto de los radios segmentados y no ramificados) (Figura 2); así como los elementos del esqueleto caudal.

Las fotografías de las estructuras caudales fueron tomadas con una cámara conectada al microscopio estereoscópico.

RESULTADOS

La estructura general del complejo caudal de las especies del género *Tlaloc* (Fig. 2), está compuesta por: cuatro vértebras preurales (PU₂, PU₃, PU₄ y PU₅), fusionada a cada PU se encuentra un arco neural y un arco hemal, con su respectiva espina neural (EN) y hemal largas (EH); un centro compuesto (CC), que se forma por la primera vértebra preural (PU₁) y los elementos de la placa hipural fusionada (PH); un hueso parhipural (PA) alargado y plano, que puede estar en contacto o no al CC; un epural (EP) de menor tamaño y más delgado que la espina neural 2; que puede estar en contacto o no con el estegural del CC; y los radios caudales principales (RP) y procurrentes (RPr).

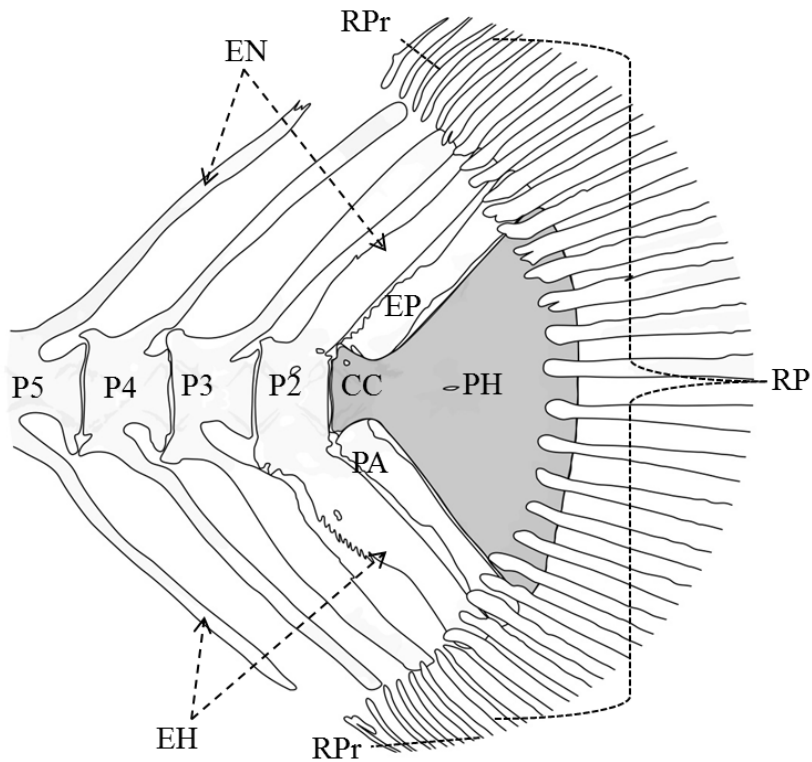


Fig. 2. Esquema del complejo caudal de *Tlaloc*: Vértebras preurales (P 2-5); espinas hemales (EH); Espinas neurales (EN); Centro Compuesto (CC); Epural (EP); Parhipural (PA); Placa hipural (PH); radios caudales principales (RP) y procurrentes (RPr).

Vertebra preural 1 y estructuras asociadas

La primera vértebra preural (PU_1) y los elementos posteriores del esqueleto caudal forman un centro compuesto y compacto (CC), en el cual los límites del *centrum ural*, no son evidentes (Fig. 3). Adjunto al CC, hay un pequeño *estegural* (s) rudimentario con límites poco visibles, sobre la porción basal del margen dorsal de la placa hipural (Fig. 3); generalmente hay un proceso corto en forma de espina (pe), sobre la porción lateral del *estegural* (Fig. 3).

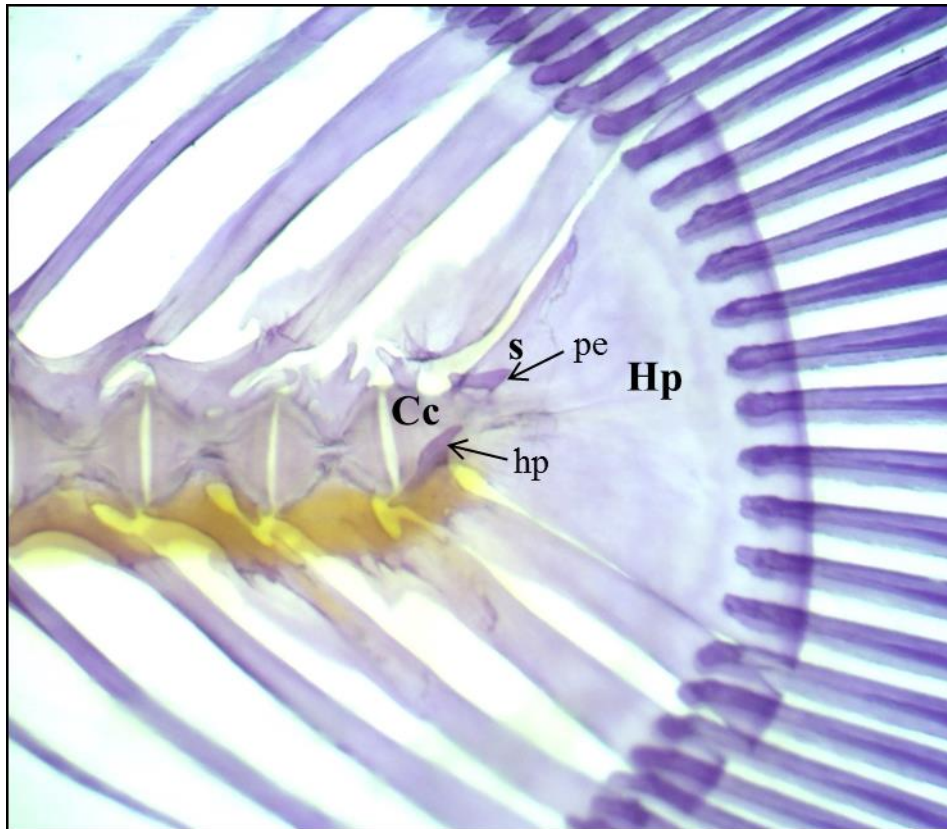


Figura 3. Complejo caudal de las especies del género *Tlaloc*: *T. portillorum*. Abreviaturas: Cc, centro compuesto; Hp, placa hipural; s, estegural; pe, proceso espinoso; hp, hypurapophysis.

Hipurales

El esqueleto caudal de las especies del género *Tlaloc*, muestra un alto grado de fusión entre los elementos del hipural. La parte proximal de los hipurales, están fusionados al CC, en el cual los límites entre los hipurales y el CC son imperceptibles. Los hipurales inferiores (1+2) y los superiores (3+4) están fusionados y forman una placa en forma de abanico en tres de las cuatro especies del género *Tlaloc* (*T. portillorum*, *T. hildebrandi*, *T. candalarius*) (Figs. 4 B; 5 A-B); mientras que en *T. labialis* la placa hipural es típicamente triangular (Figs. 4 A). La placa hipural superior e inferior, está parcialmente fusionada, presenta una ranura conspicua en la parte medial anterior (ocasionalmente en la parte posterior) de la placa hipural, que divide la parte superior e inferior (Figs. 4 A-B, 5 A-B, 6 A-B).

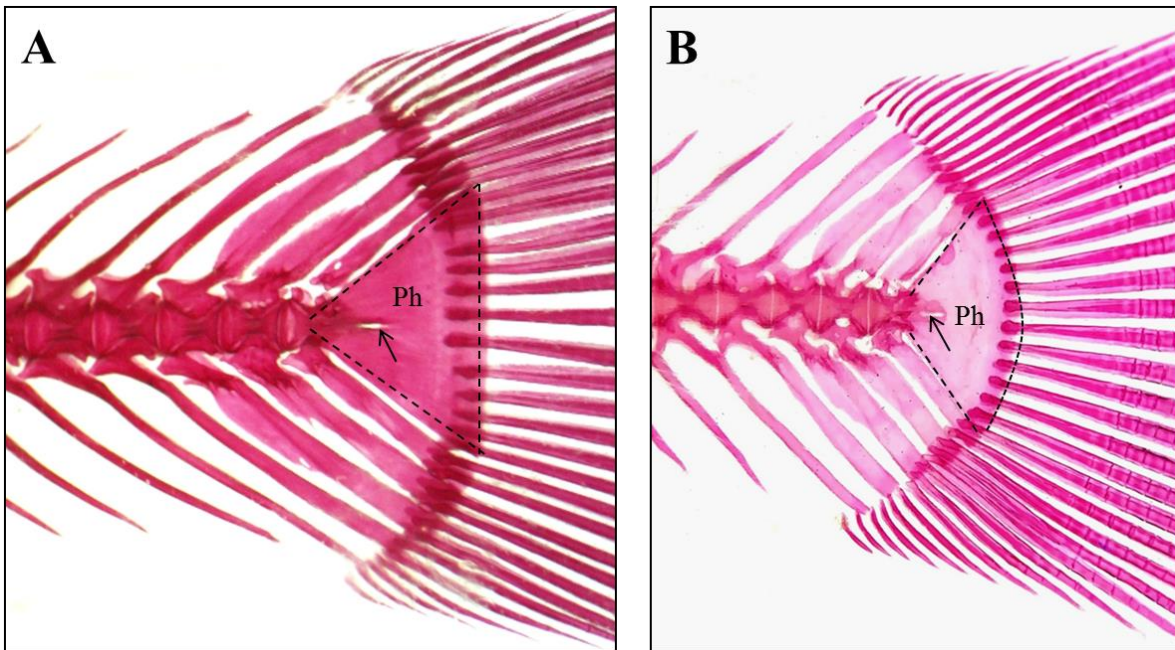


Figura 4. Placa hipural del complejo caudal en *T. labialis* (A), de forma triangular, y en *T. hildebrandi* (B), en forma de abanico; la flecha señala la ranura que divide la placa hipural.

Epural

Las especies del género *Tlaloc*, tienen un solo hueso *epural* alargado (Figs. 5 A-B, 6 A-B). El epural (EP) es un hueso en forma de cuchillo con un núcleo plano que se estrecha de manera abrupta en su porción ventral y una solapa (flap) delgada en la porción anteroventral, que puede estar cerca o en contacto con la espina neural del centro preural 2.

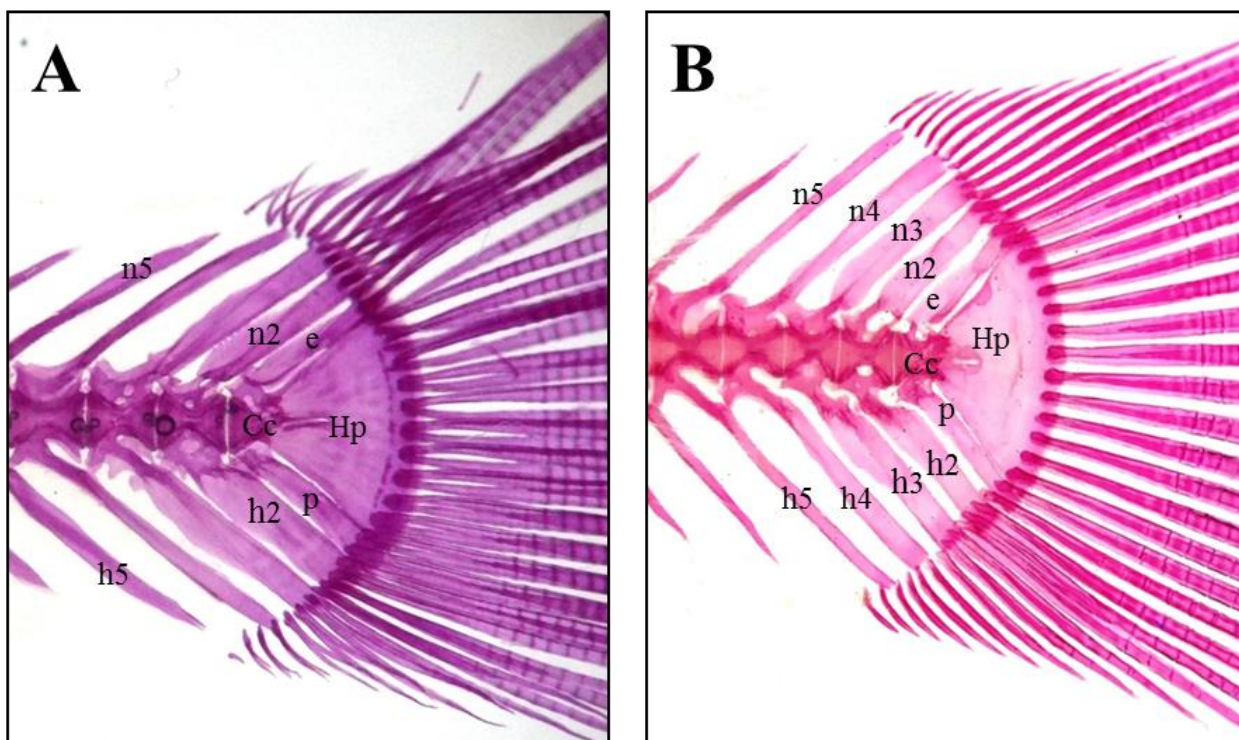


Figura 5. Complejo caudal de las especies del género *Tlaloc*: (A) *T. portillorum*, (B) *T. hildebrandi*. Abreviaturas: Cc, centro compuesto; e, epural; h2 – 5, espina hemal del centro preural 2-5; Hp, placa hipural; p, parhipural; n2 – 5, espina neural del centro preural 2 – 5.

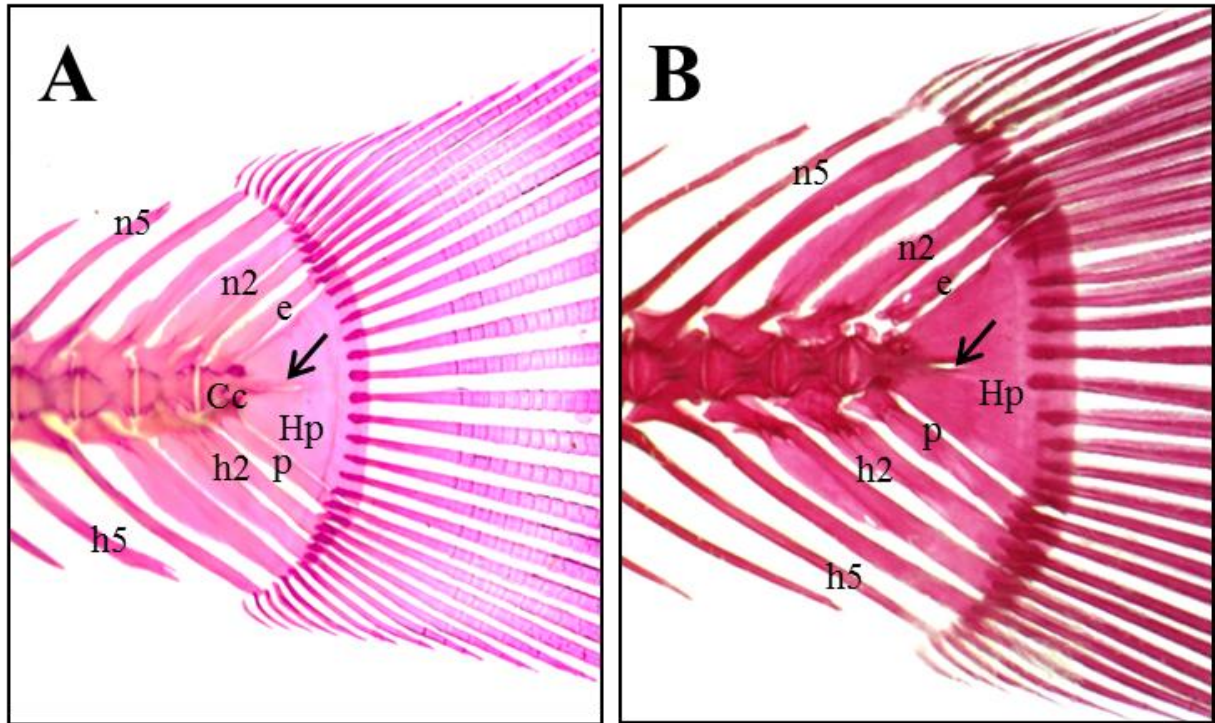


Figura 6. Complejo caudal de las especies del género *Tlaloc*: (A) *T. candalarius*, (B) *T. labialis*. La flecha señala la ranura que divide la placa hipural.

Parhipural

El parhipural (PA) en las especies del género *Tlaloc* es un hueso subrectangular, en el cual la porción distal es truncada, termina en un borde cartilaginoso, que soporta algunos radios caudales (Figs. 5 A-B, 6 A-B). La porción proximal del parhipural presenta una estructura conocida como hypurapophysis, que puede ser pequeña o estar muy desarrollada en forma de una espina (Fig. 3). El parhipural puede hacer contacto o no con el CC.

Vértebra preural (2–5) y cartílagos asociados

En el género *Tlaloc*, hay cinco vértebras pleurales que participan en el esqueleto caudal (PU 1-5). Estas vértebras se distinguen del resto de las vértebras de la columna vertebral, porque los

extremos de las espinas neural y hemal, son más largas que el resto de las espinas subsecuentes y pueden o no estar conectadas a los radios caudales (Figs. 5 A-B, 6 A-B). Las espinas neural y hemal del centro preural 2 son más anchas que las espinas del centro preural 3 y éstas a la vez son más anchas que las espinas del centro preural 4 (Figs. 5 A-B, 6 A-B). La espina hemal (EH2) del centro preural 2 es ancha y de forma rectangular en *T. portillorum* (Fig. 5 A); mientras que en el resto de las especies, es delgada, y puede estar o no dividida (Fig. 5 B, 6 A-B). La espina neural (EN2) del centro preural 2 (n2) en *T. portillorum* es en forma de cuchillo con aserraciones en su borde anterior (Fig. 5 A); mientras que en el resto de las especies, no se presentan aserraciones (Figs. 5 B, 6 A-B).

Existen cartílagos radiales grandes entre ambas espinas neurales y hemales de los centros preurales PU 4-5 (Fig. 7); por lo general, hay una serie de pequeños cartílagos accesorios adyacentes a los cartílagos radiales.

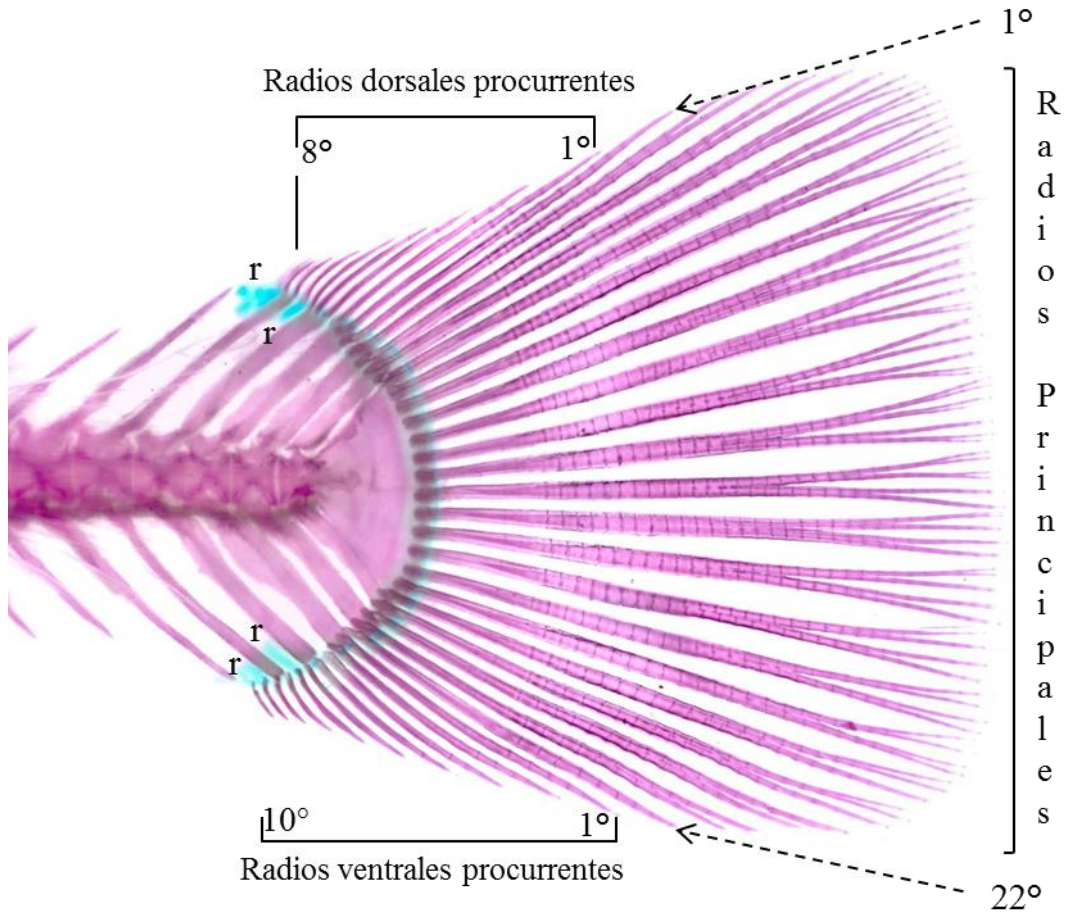


Figura 7. Ubicación y diferenciación de los radios caudales principales y procurrentes en *T. hildebrandi*. Abreviaturas: r, cartílagos radiales.

Radios caudales

La aleta caudal está constituida por un solo lóbulo, derivado de la fusión la placa hipural (Figs. 5 A-B, 6 A-B). Los elementos de la aleta caudal se resumen en la Tabla 2. Los radios principales varían de 18-20 en *T. candalarius* (modalmente 20) a 21-22 en *T. hildebrandi* (modalmente 22) (Tabla 2). Los radios procurrentes (dorsales y ventrales) van de 7 a 9 en tres especies (*T. portillorum*, *T. labialis* y *T. candalarius*); mientras que en *T. hildebrandi* van de 8 a 10. El total de radios caudales fueron más numerosos en *T. hildebrandi* (38-41) que en el resto de las especies (Tabla 2).

Tabla 2. Número de radios principales y procurrentes en el género *Tlaloc*. Entre paréntesis se registran los valores modales.

	N	Radios principales	Radios procurrentes		Radios totales
			Dorsal	Ventral	
<i>T. hildebrandi</i>	4	21-22 (22)	8-10 (9)	8-10 (10)	38-41 (41)
<i>T. portillorum</i>	7	19-22	7-9 (7)	7-9 (8)	33-39 (37)
<i>T. labialis</i>	7	21(21)	7-9 (7)	7-9 (7)	35-37 (35)
<i>T. candalarius</i>	5	18-20 (20)	7-9 (7)	7-9	34-38 (35)

Los radios principales (RP) dorsales se adhieren a los extremos distales de la PH, epural y espina del PU2; ventralmente los RP se adhieren a los extremos distales de la PH, paripural y espina hemal del PU2. Los radios procurrentes (RPr) superiores están en contactos con las espinas de los PU 3, 4 y 5; mientras que los RPr inferiores están en contacto las espinas hemales del PU 3, 4 y 5 (Fig. 7).

Columna vertebral

La columna vertebral, en las especies del género *Tlaloc* está formada por una serie de vértebras abdominales y vértebras caudales (incluyendo las del complejo caudal) (Fig. 8).

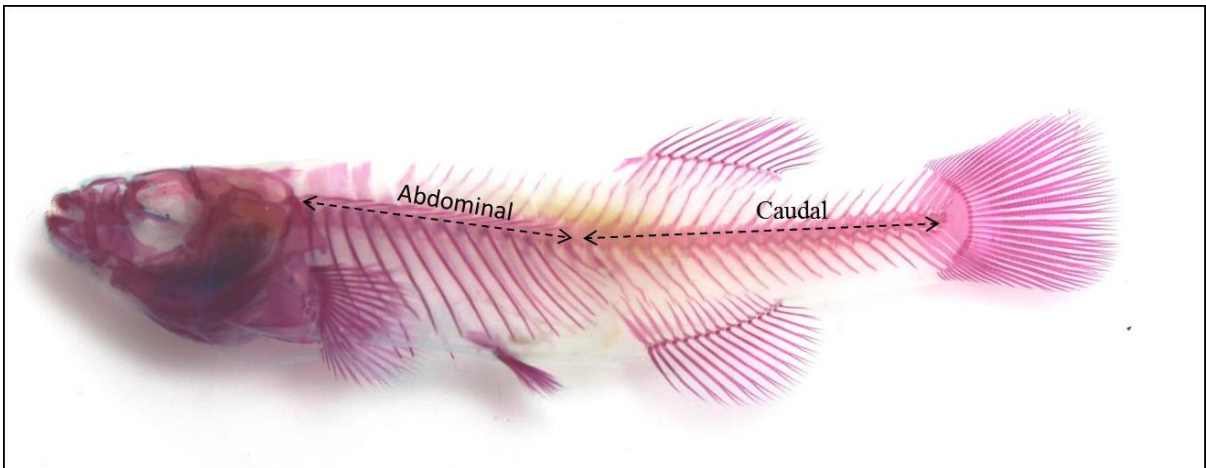


Figura 8. Columna vertebral de las especies del género *Tlaloc*. Se muestran vértebras abdominales y vértebras caudales de *T. hildebrandi*.

Cada vértebra abdominal se compone por su parte dorsal de un arco y espina neural (Fig. 9), mientras que por la parte ventral llevan costillas y huesos epipleurales (Fig. 10); la primera vértebra carece de costilla y solo lleva el hueso epipleural; los centros abdominales 2-5 (ns2-5), soportan arcos neurales expandidos; mientras que el resto de los centros abdominales llevan arcos neurales en forma de espina (Fig. 10).

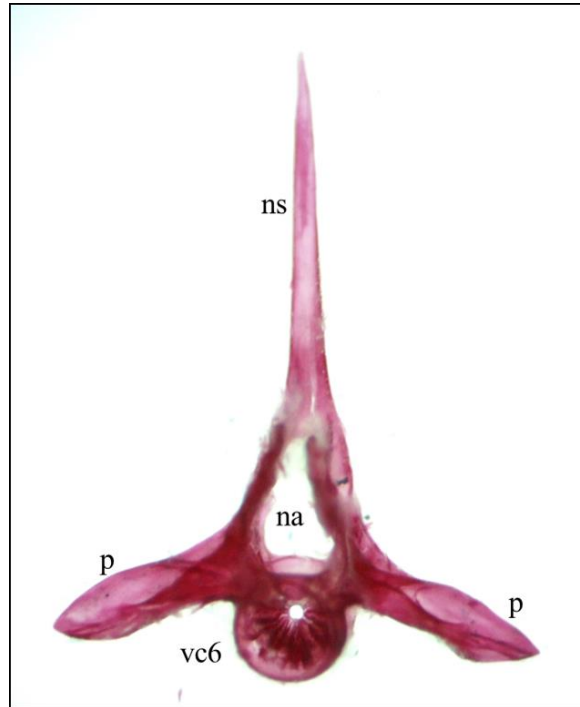


Fig. 9. Vertebra abdominal (vc6) de *T. labialis*. **p**, parapophysis, **na**, arco neural; **ns**, espina neural; vc6, centrum vertebral 6.

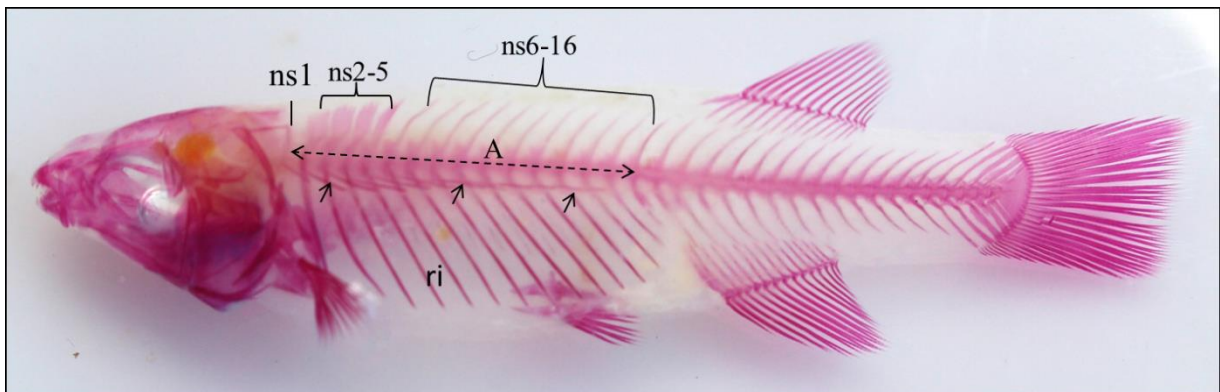


Fig. 10. Columna vertebral de las especies del género *Tlaloc*; se ilustran las vértebras abdominales (A) de *T.candalarius*. **ns**, espina neural (1-16); **ri**, costillas; las flechas señalan los huesos epipleurales.

Las vértebras caudales están formada por un centro preural, las cuales presentan una postzigapophysis dorsal y ventral (Fig. 11) con arcos y espinas neurales dorsalmente y, por arcos y espinas hemales ventralmente,

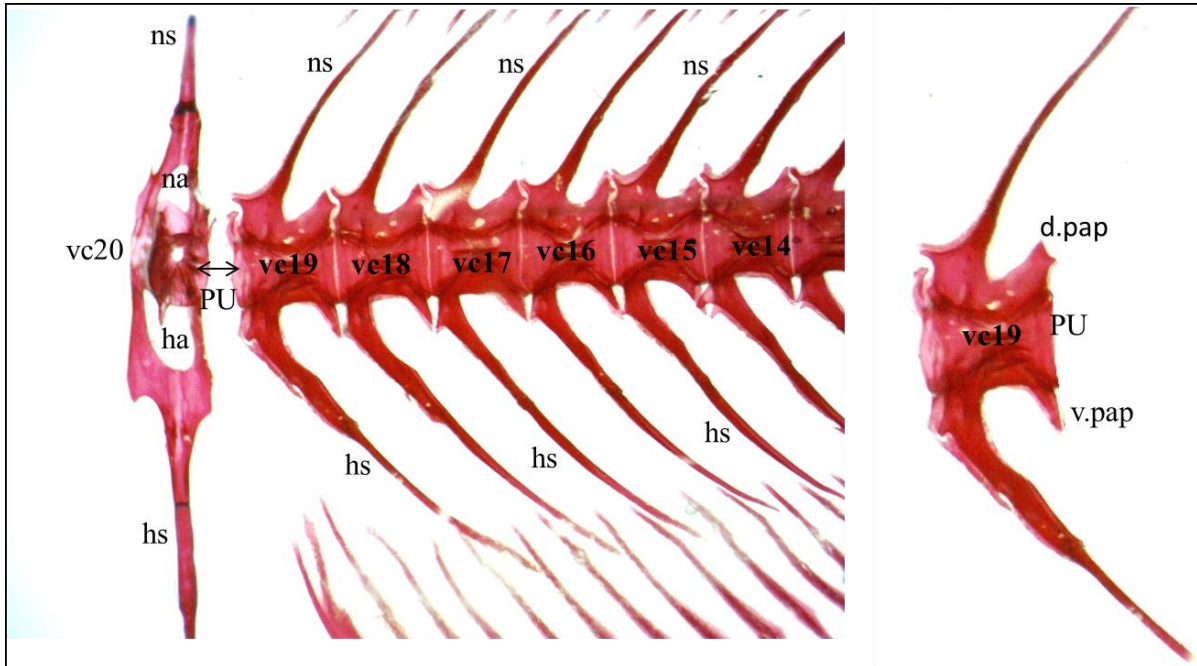


Fig. 11. Columna vertebral (región caudal) y elementos asociados de *T. labialis*. **d.pap**, postzigapophysis dorsal; **ha**, arco hemal; **hs**, espina hemal; **na**, arco neural; **ns**, espina neural; PU, centro preural; **v.pap**, postzigapophysis ventral; **vc20**, 19, 18, 17, 16, 15, 14 centro vertebral.

El número total de vértebras en las cuatro especies estudiadas del género *Tlaloc* vario de 33 a 38, de las cuales 15-17 fueron vértebras abdominales y 17-21 vértebras caudales (Tabla 3). El número total de vértebras en el esqueleto axial varía entre las especies analizadas, *T. portillorum* presentó el menor número de vértebras totales (33-34); mientras que *T. labialis* presentó el mayor número de vertebras totales (37-38). El conteo de las vértebras caudales mostro que los especímenes de *T. portillorum* y *T. candalarius* mostraron los valores más bajos de vertebras caudales (17-18 y 18-19, respectivamente); mientras que en *T. hildebrandi* y *T. labialis* las vértebras caudales fueron más numerosas (20-21).

Tabla 3.- Número de vertebras en las especies del género *Tlaloc*. V. abdominales: número de vértebras abdominales; V. caudales: número de vértebras caudales.

Especies	N	V. abdominales			V. caudales					Vertebras totales						
		15	16	17	17	18	19	20	21	33	34	35	36	37	38	39
<i>T. portillorum</i>	7	3	4		3	4				6	1					
<i>T. hildebrandi</i>	4	2	2					4					2	2		
<i>T. labialis</i>	7			7				5	2					5	2	
<i>T. candaliarius</i>	5		3	2		2	3				1	3	1			

Clave dicotómica para separar las especies del género *Tlaloc*, basado en caracteres osteológicos.

- 1a.** 17-19 vértebras caudales.....2
- 1b.** 20-21 vértebras caudales.....3
- 2a.** La espina neural del centro preural 2 (EN2) es en forma de cuchillo con aserraciones en su borde anterior; espina hemal (EH) del centro preural 2 es ancha y de forma rectangular.....
.....*T. portillorum*
- 2b.** La espina neural del centro preural 2 (EN2) es en forma de cuchillo sin aserraciones en su borde anterior; espina hemal (EH2) del centro preural 2 delgada y no de forma rectangular.
..... *T. candalarius*
- 3a.** 35-37 radios totales de la aleta caudal; placa hipural del complejo caudal de forma triangular.....*T. labialis*
- 3b.** 38-41 radios totales de la aleta caudal; placa hipural del complejo caudal en forma de abanico.....*T. hildebrandi*

DISCUSIÓN

La osteología del complejo cauda y los elementos de la columna vertebral de las cuatro especies del género *Tlaloc*, se describen y comparan por primera vez. El esqueleto caudal, es una estructura compleja, que juega un papel sumamente importante en un pez, como es la natación y los movimientos o excursiones que realizan varios grupos de teleósteos hacia la tierra (Minicozzi *et al.*, 2020). Así mismo, las estructuras óseas del complejo caudal son muy relevantes para el diagnóstico de ciertos taxones.

Los cyprinodontiformes se diagnostican inequívocamente por la presencia de un hueso epural único en forma de cuchilla y por los radios principales continuos en las placas hipurales superior e inferior de la aleta caudal (Costa, 2012). Las cuatro especies del género *Tlaloc* analizadas en el presente estudio, presentaron estas estructuras bien delimitadas, el hueso epural alargado y en forma de cuchillo y la presencia de numerosos radios principales arreglados de manera continua en la placa hipural fusionada y en forma de abanico. Parenti (1981), consideró en la diagnosis y descripción del género *Profundulus* (Profundulidae) que la placa hipural está ligeramente dividida en la parte media.

La placa hipural superior e inferior en el género *Tlaloc*, está parcialmente fusionada y presenta una ranura conspicua en la parte medial anterior (ocasionalmente en la parte posterior) de la placa hipural, que divide la parte superior e inferior de la placa. En *Tlaloc* se presenta un centro compuesto y compacto, formado por la primera vértebra preural y los extremos anteriores de la placa hipural, en el cual los límites del centro ural, no son evidentes; esta descripción, coincide con la descrita por Costa (2012), quien señala que los extremos distales de los hipurales están anquilosados a la primera vértebra preural, formando un centro caudal compacto.

En términos generales, la comparación del esqueleto caudal en las cuatro especies del género *Tlaloc*, reveló un patrón muy similar en la morfología del esqueleto caudal; sin embargo, se

detectaron algunos caracteres que pueden ser de utilidad para la discriminación de las especies del género; la *placa hipural* de forma triangular es un carácter que solamente se presentó en *T. labialis*, mientras que en el resto de las especies (*T. candalarius*, *T. portillorum* y *T. hildebrandi*), la placa hipural es en forma de abanico.

Gosline (1963) caracterizó el esqueleto caudal de los Cyprinodontiformes por la presencia de una placa hipural en forma de abanico (platelike ventilador hipural), formado por la fusión de la vértebra terminal e hipurales (Gosline, 1961). Costa (2012), describió y comparó el complejo caudal en Cyprinodontiformes y señaló la que las placas superiores e inferiores, de la familia Profundulidae están parcialmente fusionadas (parte anterior sin fusionar, parte posterior fusionada); este carácter se observó en las cuatro especies del género *Tlaloc*.

Una condición única que ocurre en todos los Cyprinodontiformes es la presencia de una espina neural ancha del centro preural 2, la cual es más ancha que las espinas neurales anteriores (EN 3-5) (Costa, 2012). La espina neural de la vértebra preural 2 (PU2), en las cuatro especies del género *Tlaloc*, es de forma típica como lo describe Costa (2012); sin embargo, esta estructura puede ser utilizada como un carácter informativo, ya que en *T. portillorum* la espina neural (EN2) es en forma de cuchillo con presencia de aserraciones en su borde anterior, mientras que en el resto de las especies no se presentan estas aserraciones.

El recuento de los radios de la aleta caudal es un carácter ampliamente utilizado en la descripción e identificación de teleósteos (McDowall, 2010). Arratia (2008), distingue los radios de la aleta caudal en radios principales y radios procurrentes; los radios principales son todos los radios segmentados y ramificados más un radio no ramificado, pero segmentado, situado en cada lóbulo de la aleta (Hubbs & Lagler, 1947) y que están asociados con elementos del endoesqueleto (por ejemplo, hipurales, espinas neurales y hemales de los centros preurales 1 y 2); mientras que los radios procurrentes los define como radios cortos, mucho más cortos

que los principales, que forman la serie anterior de la lepidotricia de la aleta y que se asocian con elementos del endoesqueleto (por ejemplo, pterygiophores, espinas neurales y hemales, epurales), los radios más anteriores generalmente no segmentados, pero los posteriores están segmentados.

En las especies del género *Tlaloc*, el conteo de los radios (totales, principales y procurrentes) nos permitió discriminar a *T. hildebrandi*, del resto de las especies, por la presencia de un mayor número de radios caudales totales (moda 41, rango 38-41), contra *T. labialis* (moda 35, rango 35-37) y *T. candalarius* (moda 35, rango 34-38); mientras que *T. portillorum* presentó la mayor variación de estos elementos caudales (moda 37, rango 33-39). Los radios principales nos permiten separar a *T. labialis* de *T. candalarius* por la presencia de un mayor número de elementos (21 vs 20, respectivamente).

La columna vertebral, ha sido considerada como una fuente de información para interpretar la sistemática y relaciones filogenéticas de los peces actinoptergios (Arratia y Schultze, 1992; Purrafee *et al.*, 2020); así mismo, el cambio en el número vertebras es uno de los patrones más comunes de divergencia la forma del cuerpo en los peces, la cual está asociada con el papel de la columna vertebral en la flexión del cuerpo durante la natación (Brainerd y Patek, 1998; Nowroozi y Brainerd, 2012).

Existen variaciones en el número de vértebras registradas en las especies del género *Tlaloc*, en el presente estudio; lo anterior nos permite separar a *T. portillorum*, el cual presenta un menor de vértebras totales (33-34), contra *T. hildebrandi* y *T. labialis* que presentaron un mayor número de estos elementos (35-38); *T. labialis* y *T. candalarius*, pueden separarse por la presencia de un mayor número de vertebras caudales (20-21) y totales (37-38) en *T. labilis* contra un menor número de estos elementos vertebrales en *T. candalarius*.

Los resultados son consistentes con los estudios moleculares de los peces profundúlidos (Morcillo *et al.*, 2016; Calixto-Rojas *et al.*, 2021; Domínguez-Cisneros, 2023); sin embargo, se ha cuestionado la validez taxonómica de *T. candalarius* con relación a *T. labialis*, su especie hermana; debido a la poca variación genética encontrada entre este complejo de especies (Calixto-Rojas *et al.*, 2021; Domínguez-Cisneros, 2023); por lo que se ha sugerido sinonimizarlas.

Basado en los resultados del presente estudio, se sugiere mantener la validez de *T. candalarius*, ya que los elementos de la columna vertebral, como es el número de vertebrae caudales y totales permiten discriminar a ambas especies; así mismo las características del complejo caudal, como son un mayor número de radios principales caudales contra un menor número de estos elementos, permiten separar a ambas especies; la placa hipural en forma triangular es un carácter que solamente se presentó en *T. labialis*; mientras que en *T. candalarius* es la forma típica de abanico.

Basado en las observaciones realizadas en el presente estudio sobre los elementos de la columna vertebral y el complejo caudal en las especies del género *Tlaloc*, se encontraron algunos caracteres del esqueleto caudal y la columna vertebral, tales como el número de vertebrae caudales y totales, el número de radios principales de la aleta caudal, la forma de la placa hipural y la presencia aserraciones en la espina neural del centro preural 2, que pueden ser utilizados como caracteres disponibles para la identificación de los profundúlidos a nivel de especies y géneros.

CONCLUSIONES

Los resultados del presente estudio representan la primera caracterización sobre la osteología del esqueleto caudal y columna vertebral de los peces del género *Tlaloc*; estos datos son fundamentales para avanzar en la comprensión sobre la morfología de estas especies y servirán de línea base para comprender la taxonomía y sistemática de este complejo de especies de la familia Profundulidae; del cual se derivan las principales conclusiones:

La columna vertebral de las especies del género *Tlaloc* se divide en región abdominal con 15-17 vértebras y región caudal compuesta por 17-21 vértebras incluido el urostilo. Existen variaciones en el número de vértebras registradas en las especies del género *Tlaloc*, lo cual permite separar a *T. portillorum* (con un menor de vértebras totales: 33-34), de *T. hildebrandi* y *T. labialis* que presentaron un mayor número de estos elementos (35-38); *T. labialis* y *T. candalarius*, pueden separarse por la presencia de un mayor número de vertebras caudales (20-21) y totales (37-38) en *T. labialis* contra un menor número de estos elementos vertebrales en *T. candalarius*.

La estructura general del complejo caudal de las especies del género *Tlaloc*, está compuesta por cuatro vértebras preurales (PU), fusionada a cada PU se encuentra un arco neural y un arco hemal, con una espina neural y hemal largas; un centro compuesto (CC), que se forma por la primera vértebra preural (PU1) y los elementos de la placa hipural fusionada (PH); un hueso parahipural alargado y plano, que puede estar en contacto o no al CC; un epural de menor tamaño y más delgado que la espina neural 2; que puede estar en contacto o no con el estegural del CC.

Existen variaciones interespecíficas en el número de elementos vertebrales y del complejo caudal entre las especies del género, tales como el número de vertebrales caudales y totales, el número de radios principales de la aleta caudal, la forma de la placa hipural y la presencia de aserraciones en la espina neural del centro preural 2, que pueden ser utilizados como caracteres disponibles para la identificación de los profundúlidos a nivel de especies y géneros.

LITERATURA CITADA

- Anzueto-Calvo, M.J, Velázquez-Velázquez, E., Ruiz-Campos, G., Cruz Maza, B.G, & Domínguez-Cisneros, SE (2022). Evaluación de índices somáticos en el killis endémico y en peligro de extinción Tláloc hildebrandi (Cyprinodontiformes: profundulidae). *Biodiversidad Neotropical*, 8 (1), 267-270.
- Amorim, PF y Costa, WJ (2018). La filogenia multigénica respalda la diversificación de peces de cuatro ojos y portadores de vida unilaterales (Cyprinodontiformes: Anablepidae) relacionados con importantes eventos geológicos de América del Sur. *PloS One*, 13 (6), e0199201.
- Arratia G. (2008). Actinopterygian postcranial skeleton with special reference to the diversity of fin ray elements, and the problem of identifying homologies. In: Arratia G, Schultze H-P, Wilson MVH, editors. *Mesozoic Fishes 4, Homology and Phylogeny*. Verlag Dr. Friedrich Pfeil, München, Germany; 2008. p.49–101.
- Arratia, G. (2009). Identifying patterns of diversity of the actinopterygian fulcra. *Acta Zoologica*, 90, 220-235.
- Arratia, G., & Schultze, H. P. (1992). Reevaluation of the caudal skeleton of certain actinopterygian fishes: III. Salmonidae. Homologization of caudal skeletal structures. *Journal of Morphology*, 214(2), 187-249.
<https://doi.org/10.1002/jmor.1052140209>
- Soria-Barreto, M., González-Díaz, A. A., Rodiles-Hernández, R., & Ornelas-García, C. P. (2023). Estimating the population size and habitat quality of the Endangered fish Tláloc hildebrandi in Mexico. *Endangered Species Research*, 50, 17-30.
DOI: <https://doi.org/10.3354/esr01216>

- Braganza, P.H., Amorim, P.F. y Costa, W.J (2018). Pantanodontidae (Teleostei, Cyprinodontiformes), the sister group to all other cyprinodontoid killifishes as inferred by molecular data. *Zoosystemática y Evolución*, 94 (1), 137-145. DOI 10.3897/zse.94.22173
- Brainerd, E.L. y Patek, SN (1998). Morfología de la columna vertebral, curvatura inicial en C y evolución de las defensas mecánicas en peces tetraodontiformes. *Copeia* , 971-984.
- Costa, W. J. E. M. (1998). Phylogeny and classification of Rivulidae revisited: origin and evolution of annualism and miniaturization in rivulid fishes (Cyprinodontiformes: Aplocheiloidei). *Journal of Comparative Biology*, 3(1), 33-92.
- Calixto - Rojas, M., Lira - Noriega, A., Rubio - Godoy, M., Pérez - Ponce de León, G., & Pinacho - Pinacho, CD (2021). Relaciones filogenéticas y conservadurismo de nicho ecológico en killis (Profundulidae) en Mesoamérica. *Revista de biología de peces*, 99 (2), 396-410
- Costa, W. J. E. M. (2004). Relationships and redescription of *Fundulus brasiliensis* (Cyprinodontiformes: Rivulidae), with description of a new genus and notes on the classification of the Aplocheiloidei. *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 15(2), 105-120.
- Costa, WJ, Amorim, PF y Mattos, JL (2012). Delimitación de especies en killis anuales de la Caatinga brasileña, el complejo *Hypsolebias flavicaudatus* (Cyprinodontiformes: Rivulidae): implicaciones para la taxonomía y la conservación. *Sistemática y Biodiversidad*, 10 (1), 71-91.
- Gracian-Negrete, J. M., González-Acosta, A. F., González-Isáis, M., Ortiz-Galindo, J. L., Moral-Flores, D., & Fernando, L. (2012). Osteología comparada del esqueleto caudal de *Achirus lineatus* y *Achirus mazatlanus* (Pleuronectiformes: Achiridae). *International Journal of Morphology*, 30(2), 705-708

- Dingerkus, G. & Uhler, L. D. 1977. Enzyme clearing of Alcian blue stained whole small vertebrates, for demonstration of cartilage. *Stain Techn.*, 5(4):229-32, 1977.
- Domínguez-Cisneros SE, Domínguez-Domínguez O, Velázquez-Velázquez E, Pérez Rodríguez R. Redescription and diagnoses of the genera *Profundulus* and *Tlaloc* (Cyprinodontiformes: Profundulidae), Mesoamerican endemic fishes. *Neotrop Ichthyol.* 2023; 21(1):e220089. DOI: <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2022-0089>
- Doadrio I, Carmona JA, Martínez E, De Sostoa A. Genetic variation and taxonomic analysis of the subgenus *Profundulus*. *J Fish Biol.* 1999; 55(4):751–66. <https://doi.org/10.1111/j.1095-8649.1999.tb00715.x>
- García-Vásquez, A., Pinacho-Pinacho, C. D., Martínez-Ramírez, E., & Rubio-Godoy, M. (2018). Two new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 from *Profundulus* *oaxacae* (Pisces: Profundulidae) from Oaxaca, Mexico, studied by morphology and molecular analyses. *Parasitology international*, 67(4), 517-527.
- González-Díaz, A. Á., Díaz-Pardo, E., Soria-Barreto, M., & Martínez-Ramírez, E. (2014). Diferencias osteológicas entre los subgéneros *Profundulus* y *Tlaloc* (Teleostei: Profundulidae). *Revista Internacional de Morfología*, 32 (3), 1074-1078.
- Gosline (1961), Gosline, Washington (1961). Algunas características osteológicas de los peces teleósteos inferiores modernos. Colecciones varias del Smithsonian.
- Gosline (1963) Gosline, Washington (1963). Notas sobre la osteología y la posición sistemática de *Hypoptychus dybowski* Steindachner y otros peces perciformes alargados.
- Ghedotti, M. J., Fielitz, C., & Leonard, D. J. (2005). Using independent research projects to foster learning in the comparative vertebrate anatomy laboratory. *Bioscene: Journal of College Biology Teaching*, 30(4), 3-8.

- Ghedotti, M. J., & Davis, M. P. (2013). Phylogeny, classification, and evolution of salinity tolerance of the North American topminnows and killifishes, family Fundulidae (Teleostei: Cyprinodontiformes). *Fieldiana Life and Earth Sciences*, 2013(7), 1-65.
- Hertwig, S. T. 2008. Phylogeny of the Cyprinodontiformes (Teleostei, Atherinomorpha): the contribution of cranial soft tissue characters. *Zoologica Scripta*, 37 (2). <https://doi.org/10.1111/j.1463-6409.2007.00314.x>
- Hubbs, C. L. (1924). *Studies of the fishes of the order Cyprinodontes* (No. 13). The University.
- Hubbs & Lagler, 1947 Hubbs, C.L. and K.F. Lagler, 1947. *Fishes of the Great Lakes Region*. Cranbrook Inst. Sci. Bull. 26:186 p.
- Jawad, L. A., & Jig, L. (2017). Comparative osteology of the axial skeleton of the genus *Pampus* (Family: Stromateidae, Perciformes). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 97(2), 277-287.
- Kiernan, J. A. (1990). *Histological and histochemical methods. Theory and practice*. Second edition. Pergamon Press: Oxford. 433 pp.
- Miller RR (1950) *Profundulus hildebrandi*, a new cyprinodontid fish from Chiapas, Mexico. *Copeia* 1950:21–30
- McDowall, R. M. (2010). *New Zealand freshwater fishes: an historical and ecological biogeography* (Vol. 32). Springer Science & Business Media.
- Miller, R., 1955. A Systematic Review of the Middle American fishes of the genus *Profundulus*. *Miscellaneous Publications Museum of Zoology, University of Michigan*, 92. <https://doi.org/10.1007/s10641-008-9425-8>.
- Miller RR, Minckley WL, Norris SM. (2005) *Freshwater fishes of Mexico*. The University of Chicago Press, Chicago, 490 pp.

- Minicozzi, M., Kimball, D., Finden, A., Friedman, S., & Gibb, A. C. (2020). Are extreme anatomical modifications required for fish to move effectively on land? Comparative anatomy of the posterior axial skeleton in the Cyprinodontiformes. *The Anatomical Record*, 303(1), 53-64.
- Morcillo, F., C. P. Ornelas-García, L. Alcaraz, W. A. Matamoros, and I. Doadrio. 2016. Phylogenetic relationships and evolutionary history of the Mesoamerican endemic freshwater fish family Profundulidae (Cyprinodontiformes : Actinopterygii). *Molecular phylogenetics and evolution* 94:242–251.
- Nelson, J. S., 1994, *Fishes of the World*, 3a. edición, John Wiley & Sons, New York. 600 pp.
- Nowroozi, B. N., Harper, C. J., De Kegel, B., Adriaens, D., & Brainerd, E. L. (2012). Regional variation in morphology of vertebral centra and intervertebral joints in striped bass, *Morone saxatilis*. *Journal of Morphology*, 273(4), 441-452.
<https://doi.org/10.1002/jmor.11034>
- Nelson, J.S., Grande, T.C. and Wilson, M.V.H. (2016) *Fishes of the World*. 5th Edition, John Wiley and Sons, Hoboken. <https://doi.org/10.1002/9781119174844>
- Pinacho-Pinacho, C. D., García-Varela, M., Hernandez-Orts, J. S., Mendoza-Palmero, C. A., Sereno-Uribe, A. L., Martinez-Ramirez, E. & de León, G. P. P. (2015). Checklist of the helminth parasites of the genus *Profundulus* Hubbs, 1924 (Cyprinodontiformes, Profundulidae), an endemic family of freshwater fishes in Middle-America. *Zookeys*, (523), 1. 10.3897/zookeys.523.6088
- Parenti, L. R. 1981. A phylogenetic and biogeographic analysis of cyprinodontiform fishes (Teleostei, Atherinomorpha). *Bulletin of the American Museum of Natural History*, vol. 168, pt. 4. 335-557.

- Parenti, L. R. (2005). The phylogeny of atherinomorphs: Evolution of a novel fish reproductive system. In *Viviparous Fishes: Proceedings of the I and II International Symposia on Livebearing Fishes*. New Life Publications, FL.
- Parenti, L. R. 1981. Relationships of Atherinomorph Fishes (Teleostei). *Bulletin of Marine Science*. 52(1): 170-196. 1993.
- Parisa Davoodi*1 and Zeinab Gholami2..2023. Osteology of Vertebral Column and Caudal Skeleton of Iranian Aphaniiid Species (Teleostei: Cyprinodontiformes, Aphaniiidae). *J Genet Resour* 2023;9(1): 25-40
- Parenti, L. R. and Grier, H. J. 1981. Evolution and Phylogeny of Gonad Morphology in
Parker, A. L. E. X. (1997). Combining molecular and morphological data in fish systematics: examples from the Cyprinodontiformes. *Molecular systematics of fishes*. TD Kocher and CA Stepien (eds.). Academic Press, New York, 163-183
- Piller KR, Parker E, Lemmon AR, Lemmond EM. 2022. Investigating the utility of Anchored Hybrid Enrichment data to investigate the relationships among the Killifishes (Actinopterygii: Cyprinodontiformes), a globally distributed group of fishes. *Mol Phylogenet Evol*. 2022; 173:107482. <https://doi.org/10.1016/j.ympcv.2022.107482>
- Prieto, F., Prieto, J., & Romero-Oliva O. J. (2020). La técnica de diafanización y tinción optimizada, como herramienta para estudios ecotoxicológicos en Actinopterigios. 4to Congreso Nacional de Investigación Interdisciplinaria. Bogotá: México: Ecoediciones. 71-76.
- Purrafee Dizaj, L., Esmaeili, H. R., Jawad, L., Ebrahimi, M., Gholamhosseini, A., & Valinasab, T. (2020). Taxonomic significance of vertebral column and caudal skeleton of clupeid fishes (Teleostei: Clupeiformes) of Iran. *Acta Zoologica*, 103(2), 206-219.

- Rivera Cardona, A., García, A., y Alonso Moreno Gómez, F. 2015. Técnica de diafanización con alizarina para el estudio del desarrollo óseo. *Revista Colombiana Salud Libre* 10 (2):109-115. DOI: <https://doi.org/10.18041/1900-7841/rcslibre.2015v10n2.1430>
- Romero-Oliva, O. J., & González-Rodríguez, K. A. (2019). Optimización de la técnica diafanización y tinción de Piovesana (2014), aplicada para el pez *Gymnocorymbus ternetzi*. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, 7(13), 41-46. DOI: <https://doi.org/10.29057/icbi.v7i13.3424>
- Romero-Oliva, O. J., & González-Rodríguez, K. A. (2019). Optimización de la técnica diafanización y tinción de Piovesana (2014), aplicada para el pez *Gymnocorymbus ternetzi*. *Pädi Boletín Científico de Ciencias Básicas e Ingenierías del ICBI*, 7(13), 41-46. DOI: <https://doi.org/10.29057/icbi.v7i13.3424>
- Rosen, D. E. and L. R. Parenti. 1981. Relationships of *Oryzias*, and the groups of atherinomorph fishes. *Amer. Mus. Novit.* 2719:1–25.
- Rosen, D. E. 1964. The relationships and taxonomic position of the halfbeaks, killifishes, silversides and their relatives. *Bull. Amer. Mus. Nat. Hist.* 127: 217-268.
- Rodríguez, U. R., Acosta, A. F. G., & Villalobos, H. (2016). Comparative anatomy of the caudal skeleton of lantern fishes of the genus *Triphoturus* Fraser-Brunner, 1949 (Teleostei: Myctophidae). *Revista de biología marina y oceanografía*, 51(3), 713-718.
- Salgado-Maldonado, G., & Rubio-Godoy, M. (2014). Helminths parasites of freshwater fish introduced. *Especies acuáticas invasoras en México*, 269-285.
- Schultze H-P, Arratia G. 2013. The caudal skeleton of basal teleosts, its conventions, and some of its major evolutionary novelties in a temporal dimension. In: Arratia G, Schultze H-P, Wilson MVH, editors. *Mesozoic Fishes 5—Global Diversity and Evolution*. München: Verlag Dr. Friedrich Pfeil; 2013. pp. 187– 246.

- Schultze, H. P. and G. Arratia. 2013. The caudal skeleton of basal teleosts, its conventions, and some of its major evolutionary novelties in a temporal dimension. En: *Mesozoic Fishes 5 – Global Diversity and Evolution*, G. Arratia, H.-P. Schultze & M. V. H. Wilson (eds.): pp. 187-246, 24 figs., 4 tabs. © 2013 by Verlag Dr. Friedrich Pfeil, München, Germany – ISBN 978-3-89937-159-8.
- Taylor y Van Dike, 1985. Taylor, W.R. & G. C. Van Dyke. 1985. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. *Cybium*, 9: 107–109.
- Taylor, W.R. 1967. An Enzyme Method of Clearing and Staining Small Vertebrates. *Proceedings of the United States National Museum*. 122 (3596): 1-17. Thieme et al. *Frontiers in Zoology* (2021) 18:20
- Tyler, 1980. Tyler J. 1980. Osteology, phylogeny and higher classification of the fishes of the order Plectognathi (Tetraodontiformes). NOAA Technical Report NMFS Circular 434: 1-422.
- Tyler, 1980. Tyler J. 1980. Osteology, phylogeny and higher classification of the fishes of the order Plectognathi (Tetraodontiformes). NOAA Technical Report NMFS Circular 434: 1-422.
- Van Der Laan, R., Eschmeyer, W. & R. Fricke. 2014. Family-group names of Recent fishes. *Zootaxa* 3882 (2): 001–230.
- Velázquez-Velázquez y Schimmetter-Soto (2004), Velázquez - Velázquez, E., & Schmitter - Soto, J. J. (2004). Conservation status of the San Christóbal pupfish *Profundulus hildebrandi* Miller (Teleostei: Profundulidae) in the face of urban growth in Chiapas, Mexico. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems*, 14(2), 201-209.

- Velázquez-Velázquez, E., Domínguez-Cisneros, S. E., Anzueto-Calvo, M. D. J., & Maza-Cruz, M. F. (2022). Occurrence of contact organs and sexual dimorphism in fishes of the family Profundulidae (Actinopterygii: Cyprinodontiformes). *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 52(4), 261-265.
- Gómez-González, A. E., Velázquez-Velázquez, E., Rodiles-Hernández, R., González-Díaz, A. A., González-Acosta, A. F., & Castro-Aguirre, J. L. (2012). Lista sistemática de la ictiofauna en la Reserva de la Biosfera La Encrucijada, Chiapas, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 83(3), 674-686.
- Velázquez-Velázquez, E., González-Solís, D., & Salgado-Maldonado, G. (2011). *Bothriocephalus acheilognathi* (Cestoda) in the endangered fish *Profundulus hildebrandi* (Cyprinodontiformes), Mexico. *Revista de Biología Tropical*, 59(3), 1099-1104.
- Velázquez-Velázquez, E., Schmitter-Soto, J., & Domínguez-Cisneros, S. (2009). Threatened fishes of the world: *Profundulus hildebrandi* Miller, 1950 (Profundulidae). *Environmental Biology of Fishes*, 84, 345-346. <https://doi.org/10.1007/s10641-008-9425-8>
- Uyeno, T. y Miller, RR (1962). Relaciones de *Empetrichthys erdisi*, un pez ciprinodóntido del Plioceno de California, con comentarios sobre Fundulinae y Cyprinodontinae. *Copeia*, 520-532.
- VELÁZQUEZ-VELÁZQUEZ, Ernesto; SCHMITTER-SOTO, Juan J. Estado de conservación del cachorrito de San Cristóbal *Profundulus hildebrandi* Miller (Teleostei: Profundulidae) ante el crecimiento urbano en Chiapas, México. *Conservación acuática: ecosistemas marinos y de agua dulce*, 2004, vol. 14, núm. 2, pág. 201-209.
- Wiley, E. O., Johnson, G. D. & Dimmick, W. W. 2000. The interrelationships of acanthomorph fishes: a total evidence approach using morphological and molecular data. *Biochemical Systematics and Ecology*, 28, 319–35