

UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y
ARTES DE CHIAPAS

INSTITUTO DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS

T E S I S

Anatomía comparada del esplanocráneo del
complejo *Tlaloc labialis*-*T. candalarius*
(Cyprinodontiformes: Profundulidae)

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

LICENCIADO EN BIOLOGÍA
PRESETA

ALEJANDRO PADILLA SÁNCHEZ

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas

octubre de 2025





UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y
ARTES DE CHIAPAS
INSTITUTO DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

TESIS

Anatomía comparada del esplanocráneo
del complejo *Tlaloc labialis-T.candalarius*
(Cyprinodontiformes: Profundulidae)

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
LICENCIADO EN BIOLOGÍA

PRESENTA
ALEJANDRO PADILLA SÁNCHEZ

DIRECTOR
DRA. SARA ELIZABETH DOMÍNGUEZ CISNEROS
Instituto de Ciencias Biológicas UNICACH

ASESOR
DR. ERNESTO VELÁZQUEZ VELÁZQUEZ
Instituto de Ciencias Biológicas UNICACH



UNIVERSIDAD DE CIENCIAS Y ARTES DE CHIAPAS
SECRETARÍA GENERAL

DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES
DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN ESCOLAR
AUTORIZACIÓN DE IMPRESIÓN

Lugar: Tuxtla Gutiérrez, Chiapas
Fecha: 13 de octubre de 2025

C. **Alejandro Padilla Sánchez**

Pasante del Programa Educativo de: **Licenciatura en Biología**

Realizado el análisis y revisión correspondiente a su trabajo recepcional denominado:

Anatomía comparada del esplanocráneo del complejo *Tlaloc labialis-T.*

***candalaria* (Cyprinodontiformes: Profundulidae)**

En la modalidad de: **Tesis Profesional**

Nos permitimos hacer de su conocimiento que esta Comisión Revisora considera que dicho documento reúne los requisitos y méritos necesarios para que proceda a la impresión correspondiente, y de esta manera se encuentre en condiciones de proceder con el trámite que le permita sustentar su Examen Profesional.

ATENTAMENTE

Revisores

Dr. Gustavo Rivera Velázquez

Dr. Miguel Angel Peralta Meixueiro

Dra. Sara Elizabeth Domínguez Cisneros

Firmas:

Dedicatoria

A mis abuelos, quienes fueron los pilares fundamentales de mi vida, impulsándome a seguir mis sueños y enseñándome a no rendirme, sin importar las circunstancias. Ellos fueron el motor que me dio la fuerza necesaria para enfrentar los momentos más difíciles, iluminando mi camino con su sabiduría, su amor incondicional y su ejemplo de vida.

De mis abuelos aprendí que la vida no es siempre sencilla; nos enfrenta con desafíos inesperados y nos golpea con pruebas para las que muchas veces no estamos preparados. Sin embargo, ellos me enseñaron que, incluso en las situaciones más complicadas y dolorosas, hay lecciones que debemos tomar con humildad. Me inculcaron la importancia de aprender de los errores y no cometerlos nuevamente, de escuchar y valorar los consejos que la experiencia de otros nos brinda, y de entender que esos consejos, por simples que parezcan, tienen el poder de transformar por completo el rumbo de nuestra vida. Ellos me mostraron que el trabajo duro, el esfuerzo constante y la dedicación siempre traen su recompensa, y que la verdadera riqueza no está en los bienes materiales, sino en el conocimiento, que es la herramienta más valiosa que podemos adquirir.

Mis abuelas, por su parte, me enseñaron a valorar el amor hacia lo que hacemos como una de las cualidades más preciosas que tenemos como seres humanos. De ellas aprendí que, sin importar si los días son buenos o malos, debemos recibir cada día con una sonrisa y una actitud positiva, y nunca perder de vista nuestros sueños y anhelos. Me mostraron la importancia de mirar siempre hacia el futuro con esperanza y determinación, en lugar de detenernos a lamentar lo que quedó en el pasado. También me inculcaron un profundo amor y respeto por la naturaleza, recordándome que, al protegerla y cuidarla, no solo garantizamos nuestra supervivencia, sino también nuestra paz interior. Ellas me enseñaron a vivir en armonía con Dios, a comprender que somos parte de un todo más grande y que amar nuestro planeta es también amarnos a nosotros mismos y a Dios.

Mis abuelos y abuelas no solo fueron maestros de vida, sino también mi mayor fuente de inspiración. A través de sus historias, sus consejos y su ejemplo, me mostraron el camino hacia la resiliencia, la gratitud y el compromiso con lo que verdaderamente importa. Gracias a ellos, aprendí que la vida, con todos sus altibajos, es un regalo que debemos valorar y que siempre hay motivos para seguir adelante con fe, esperanza y valentía.

Dedicado con amor a Luz de María Zúñiga Hernández, Lidia López Marroquín, Pedro Sánchez Gomes, Ezequiel Padilla Zárate y Francisco Zúñiga Sánchez.

Agradecimientos

Agradezco profundamente a mis padres, **Raúl Padilla Zúñiga** y **Lilia Sánchez López**, por todo el amor, apoyo y comprensión que me han brindado a lo largo de mi vida. Cada consejo, cada palabra de aliento y cada gesto de cariño han sido faros que han iluminado mi camino, especialmente en los momentos de duda o dificultad. Su presencia constante, su sacrificio y su fe inquebrantable en mí me han dado la fuerza para seguir adelante y convertirme en la persona que soy hoy. Sé que el camino que recorrieron no fue sencillo. Enfrentaron desafíos enormes y asumieron responsabilidades siendo muy jóvenes, pero jamás se rindieron. Su valentía, esfuerzo y determinación para construir un hogar lleno de amor y estabilidad son un ejemplo que siempre llevaré conmigo. Han sido mis guías, mis maestros y mis mayores admiradores, incluso cuando yo mismo dudaba de mis capacidades. Gracias por enseñarme con su ejemplo el valor del trabajo honesto, la perseverancia ante las adversidades y la importancia de mantener la unión familiar por encima de todo. Gracias también por celebrar mis logros, por acompañarme en mis fracasos y por recordarme siempre que cada meta alcanzada tiene más sentido cuando se comparte con quienes amamos. Todo lo que soy y todo lo que he logrado es, en gran medida, reflejo de su esfuerzo, de su dedicación y de ese amor incondicional que solo unos padres pueden ofrecer. Este logro también les pertenece a ustedes, porque sin su apoyo y sin su ejemplo, nada de esto habría sido posible.

Deseo expresar mi más sincero agradecimiento a la Dra. **Sara Elizabeth Domínguez Cisneros** y al Dr. **Ernesto Velázquez Velázquez** por todo el apoyo, la confianza y el valioso aprendizaje que me brindaron a lo largo de este trabajo. Su guía constante, paciencia y dedicación fueron fundamentales para el desarrollo de esta investigación, así como para mi crecimiento académico y personal. Agradezco profundamente el ejemplo que ambos representan como biólogos comprometidos, apasionados por la ciencia y por la vida. Su entusiasmo, entrega y amor por el conocimiento han sido una fuente constante de inspiración para mí, motivándome a esforzarme cada día más y a seguir con convicción el camino de la investigación científica. No podría haber encontrado mejores maestros y guías. Gracias por compartir no solo sus conocimientos, sino también su pasión, su ética profesional y su calidad humana. Su influencia ha dejado una huella imborrable en mi formación y en mi manera de entender la ciencia y la naturaleza.

Agradezco profundamente al Dr. **Manuel de Jesús Anzueto Calvo** y a la Mtra. **Maritza Fabiola Maza Cruz**, quienes fueron personas extraordinarias con las que tuve el privilegio de aprender, trabajar y compartir momentos verdaderamente inolvidables. Su dedicación, paciencia y pasión por la ciencia no solo enriquecieron mi formación académica, sino que también dejaron una huella imborrable en mi vida. Gracias a ellos comprendí lo que significa ser biólogo, no solo desde el conocimiento técnico, sino también desde el compromiso con la naturaleza, la investigación y el trabajo en equipo. Fueron los primeros en guiarme por este camino, inspirándome a seguir aprendiendo y a desempeñarme con entusiasmo, ética y amor por esta profesión que tanto me apasiona.

Agradezco de todo corazón a mi prima **Esmeralda Carolina González Sánchez**, por ser mucho más que una prima: por ser como una hermana mayor para mí. Desde que éramos pequeños has estado a mi lado, guiándome con tus consejos, cuidándome con cariño y enseñándome con tu ejemplo. Siempre has sido una parte muy importante en mi vida, alguien en quien puedo confiar sin dudar. Aunque reconozco que a veces no soy una persona fácil de tratar, tú siempre has sabido comprenderme y apoyarme con paciencia, con ese cariño tan sincero que te caracteriza. Has estado presente en mis buenos y malos momentos, dándome palabras de aliento, compartiendo risas, recuerdos y experiencias que hoy guardo con mucho aprecio en mi corazón. Gracias por acompañarme desde nuestra infancia hasta el día de hoy, por nunca soltar mi mano y por hacerme sentir siempre querido y comprendido. Eres, y siempre serás, una persona muy especial y querida para mí. Te quiero muchísimo, y me siento muy afortunado de tenerte en mi vida.

A mis amigos y colegas **Fanny Rincón Mendoza, Francisco Isaí Ortiz López y Axel Jhoshua Torres Ramírez**, quiero expresarles mi más sincero agradecimiento. Ustedes han sido una parte fundamental de mi vida y de mi trayectoria universitaria. Compartimos innumerables momentos que hoy guardo con mucho cariño. Recuerdo con claridad aquella primera salida a campo, cuando apenas nos conocíamos y éramos solo un grupo de personas extrañas, unidas por la curiosidad y el entusiasmo de comenzar una nueva etapa. Con el paso del tiempo, esa primera experiencia se transformó en el inicio de una amistad verdadera, forjada entre risas, aprendizajes y desafíos. Quién diría que aquel primer trabajo en equipo sería el lazo que nos uniría durante toda la carrera, convirtiéndonos no solo en compañeros, sino en amigos incondicionales. Hemos estado juntos en los buenos y malos momentos, tanto dentro como fuera del laboratorio, enfrentando cada reto con apoyo mutuo y una actitud siempre positiva. Gracias por cada consejo, por las horas compartidas entre prácticas, proyectos y desvelos; por ser ese apoyo constante que hizo de esta etapa algo inolvidable. Más allá de los títulos y los logros, me quedo con la amistad sincera que construimos, una que sé que perdurará más allá de la universidad.

Agradezco profundamente al deporte, porque me enseñó todo aquello que la vida no me explicó. Me mostró que la constancia y la disciplina valen tanto como el talento, y que este último no sirve de nada si no se acompaña de esfuerzo. Aprendí que los límites no los pone el cuerpo, sino la mente; que el miedo nunca desaparece, pero sí puede enfrentarse con valentía; y que las excusas solo son cadenas que frenan el crecimiento personal. El deporte me enseñó también que creer en uno mismo es el primer paso para lograr cualquier meta. Y, sobre todo, le agradezco por las amistades que me ha regalado en el camino (Anthony, Miller, Ignacio, Ernesto, Armando y etc.), con quienes he compartido momentos inolvidables y que siempre me han impulsado a ser una mejor versión de mí mismo.

ÍNDICE

INTRODUCCIÓN.....	1
I. MARCO TEÓRICO	3
2.1 Descripción Taxonómica.....	3
2.2 <i>Tlaloc labialis</i>	5
2.3 <i>T. candalarius</i>	5
2.4 Morfología	6
2.5 Esqueleto Visceral.....	6
2.6 Mandíbulas.....	6
2.7 Suspensión Mandibular	7
2.8 Serie Opercular	8
2.9 Aparato Hioideo	8
2.10 Dentición.....	9
2.11 Diafanización	10
II. ANTECEDENTES	11
III. OBJETIVOS.....	14
4.1 General.....	14
4.2 Particulares	14
IV. MÉTODO	15
VII. RESULTADOS.....	18
6.1 Esqueleto visceral	18
6.2 Mandíbulas.....	20
6.3 Suspensión mandibular.....	23
6.4 Serie opercular	25
6.5 Aparato hioideo.....	27
6.6 Aparato branquial	28
6.9 Maxilar <i>T. labialis</i>	36
6.15 Maxilar <i>T. candalarius</i>	45

VIII. DISCUSIÓN.....	54
IX. CONCLUSIONES.....	57
X. REFERENCIAS DOCUMENTALES	58

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Taxonomía de <i>T. labialis</i>	3
Cuadro 2. Taxonomía de <i>T. candalarius</i>	4
Cuadro 3. Resumen de las medidas morfométricas del hueso urohial de <i>Tlaloc labialis</i> y <i>T. candalarius</i>	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ejemplar de <i>Tlaloc labialis</i> (Domínguez-Cisneros <i>etal.</i> , 2023).....	4
Figura 2. Ejemplar de <i>Tlaloc candalarius</i> (Domínguez-Cisneros <i>etal.</i> , 2023).....	5
Figura 3. Localidades geográficas de los ejemplares estudiados: <i>T. labialis</i> y <i>T. candalarius</i>	15
Figura 4. Elementos del esplanocráneo visceral de A) <i>Tlaloc labialis</i> y B) <i>T. candalarius</i> . Vista lateral izquierda.....	18
Figura 5: Mandíbula de A) <i>Tlaloclabialis</i> y E) <i>T. candalarius</i> en vista lateral izquierda. Premaxilar B), maxilar C) y dentario D) de <i>T. labialis</i> y Premaxilar F), maxilar G) y dentario H) de <i>T. candalarius</i>	22
Figura 6. Serie hiopalatina y hueso preopercular de A) <i>Tlaloc labialis</i> y B) <i>T. candalarius</i> en vista lateral izquierda	24
Figura 7. Serie opercular de A) <i>T. labialis</i> y B) <i>T. candalarius</i> en vista lateral izquierda	26
Figura 8. Aparato hiodeo en vista lateral izquierda de <i>T. labialis</i> (A) y <i>T. candalarius</i> (B). Urohial en vista lateral izquierda de <i>T. labialis</i> (C) y de <i>T. candalarius</i> (D). Las flechas pequeñas, indican el cuello ancho y estrecho del hueso urohial.....	28
Figura 9. Aparato branquial de <i>T. candalarius</i> . A) Vista dorsal y B) vista ventral	32
Figura 10. Aparato branquial de <i>T. labialis</i> . A) Vista dorsal y B) vista ventral.....	33
Figura 11. Ceratobranquiales y epibraquiales del uno al cuatro A) <i>T. labialis</i> , B) <i>T. candalarius</i>	34
Figura 12. Premaxilar de <i>T. labialis</i> A) Ixtapa, B) Copainalá, C) Cintalapa, D) Copainalá. Proceso alveolaranterior (AALV) y proceso alveolarposterior (PALV)	35

Figura 13. maxilar de <i>T. labialis</i> A) Ixtapa, B) Copainala, C) Cintalapa, D) Copainalá	37
Figura 14. Dentario de <i>T. labialis</i> A) Ixtapa, B) Copainalá, C) Cintalapa, D) Copainalá	39
Figura 15. <i>T. labialis</i> . Interoperculo, A) Ixtapa, B) Copainalá, C) Cintalapa D) Copainalá	41
Figura 16. <i>T. labialis</i> . Urohial. A) Ixtapa, B) Copainalá, C) Cintalapa, D) Copainalá	43
Figura 17. <i>T. candalarius</i> premaxilar A) Tzimol, B) Candelaria, C) Comitán, (AALV) proceso alveolar anteriory (PALV) proceso alveolar posterior	44
Figura 18. <i>T. candalarius</i> . Maxilar A) Tzimol, B) Candelaria, C) Comitán	46
Figura 19. <i>T. candalarius</i> dentario A) Tzimol, B) Candelaria, C) Comitán	47
Figura 20. <i>T. candalarius</i> interoperculo A) Tzimol, B) Candelaria, C) Comitán	49
Figura 21. Variaciones intraespecíficas del Urohial de <i>T. candalarius</i> A) Tzimol, B) La Candelaria C) Comitán	50
Figura 22. Morfología y terminología del hueso Urohial. Localización del hueso urohoial en el aparato branquial (A); Terminología del urohial (B); Medidas morfométricas del hueso urohial (C)	51

RESUMEN

La familia Profundulidae (Miller *et al.*, 2005; Nelson, 2006) constituye uno de los linajes menos diversos dentro del orden Cyprinodontiformes, un grupo de peces ampliamente distribuido en ecosistemas dulceacuícolas de América Central. Dentro de esta familia, se reconocen dos géneros: *Profundulus* y *Tlaloc* (Mocillo *et al.*, 2016). Específicamente, el género *Tlaloc* comprende cuatro especies descritas hasta la fecha: *Tlaloc labialis* (Günther, 1866), *T. candalarius* (Hubbs, 1924), *T. hildebrandi* (Miller, 1950) y *T. portillorum* (Matamoros y Schaefer, 2010). No obstante, recientes estudios han cuestionado la validez taxonómica de algunas de estas especies, destacando la complejidad de las relaciones filogenéticas y evolutivas dentro del género. Particularmente, investigaciones como la de Mocillo *et al.* (2016) señalaron una baja distancia genética y molecular entre *T. labialis* y *T. candalarius*, sugiriendo que ambas especies podrían representar un único taxón, lo cual abriría la posibilidad de su sinonimización. Este hallazgo pone en evidencia la necesidad de reevaluar los criterios taxonómicos empleados y explorar herramientas complementarias para la delimitación específica. En este contexto, los caracteres morfológicos, y en particular la anatomía del esplanocráneo, emergen como una fuente valiosa de información que puede esclarecer estas interrogantes. El presente estudio tiene como objetivo principal analizar de manera detallada las características anatómicas del esplanocráneo en el complejo *T. labialis*–*T. candalarius*, con el propósito de determinar si estas estructuras pueden ser empleadas como criterios diagnósticos para su delimitación específica. Para ello, se realizó una descripción minuciosa de la morfología del esplanocráneo, evaluando las variaciones intra e interespecíficas en ambas especies. Los resultados obtenidos indican que ciertos caracteres morfológicos son determinantes para diferenciar entre *T. labialis* y *T. candalarius*. Entre las estructuras más relevantes identificadas destacan la forma y disposición de la premaxilar, el hueso maxilar, el dentario, y varios elementos asociados al aparato branquial. Sin embargo, la morfología del hueso urohial emergió como el rasgo más distintivo, constituyéndose en un carácter informativo para establecer diferencias taxonómicas entre ambas especies.

Estos hallazgos no solo refuerzan la importancia de la evidencia morfológica para resolver problemas taxonómicos dentro del género *Tlaloc*, sino que también contribuyen a una comprensión más profunda de los procesos evolutivos y adaptativos que han moldeado la diversidad en este grupo de peces. El estudio subraya la necesidad de integrar enfoques moleculares, morfológicos y ecológicos en futuros trabajos para consolidar la delimitación de especies y esclarecer las relaciones evolutivas dentro de la familia Profundulidae.

Palabras claves: Profundulidae, *Tlaloc*, *T. labialis*, *T. candalarius*, osteología, urohial

ABSTRACT

The family Profundulidae (Milleret al., 2005; Nelson, 2006) constitutes one of the least diverse lineages within the order Cyprinodontiformes, a group of fish widely distributed in freshwater ecosystems of Central America. Within this family, two main genera are recognized: *Profundulus* and *Tlaloc* (Mocillo et al., 2016). Specifically, the genus *Tlaloc* comprises four species described to date: *Tlaloc labialis* (Günther, 1866), *T. candalarius* (Hubbs, 1924), *T. hildebrandi* (Miller, 1950), and *T. portillorum* (Matamoros and Schaefer, 2010). However, recent studies have questioned the taxonomic validity of some of these species, highlighting the complexity of phylogenetic and evolutionary relationships within the genus. Particularly, research such as that by Mocillo *et al.*, (2016) indicated a low genetic and molecular distance between *T. labialis* and *T. candalarius*, suggesting that both species could represent a single taxon, which would open the possibility of synonymizing them. This finding highlights the need to reevaluate the taxonomic criteria used and explore complementary tools for specific delimitation. In this context, morphological characters, and particularly the anatomy of the splanchnocranium, emerge as a valuable source of information that can clarify these questions. The main objective of this study is to analyze in detail the anatomical characteristics of the splanchnocranium in the *T. labialis*–*T. candalarius* complex, with the aim of determining whether these structures can be used as diagnostic criteria for its specific delimitation. To this end, a thorough description of splanchnocranium morphology was carried out, evaluating intra- and interspecific variations in both species. The results obtained indicate that certain morphological characters are crucial for differentiating between *T. labialis* and *T. candalarius*. Among the most relevant structures identified are the shape and arrangement of the premaxilla, the maxillary bone, the dentary, and several elements associated with the branchial apparatus. However, the morphology of the urohyal bone emerged as the most distinctive feature, constituting a critical characteristic for establishing taxonomic differences between the two species.

These findings not only reinforce the importance of morphological evidence for resolving taxonomic problems within the genus *Tlaloc*, but also contribute to a deeper understanding of the evolutionary and adaptive processes that have shaped diversity in this group of fishes. The study underscores the need to integrate molecular, morphological, and ecological approaches in future work to consolidate species delimitation and clarify evolutionary relationships within the family Profundulidae.

Keywords: Profundulidae, *Tlaloc*, *T. labialis*, *T. candalarius*, osteology, urohyal

I. INTRODUCCIÓN

La familia Profundulidae (Miller *et al.*, 2005; Nelson, 2006) es un linaje que cuenta con una distribución geográfica muy limitada que se extiende desde el sur de México hasta Centroamérica y es parte de la fauna endémica de la región (Miller, 1999; Parenti 1981; Morcillo *et al.*, 2016). La familia Profundulidae es una de las menos diversas dentro del orden Cyprinodontiformes, contando con solamente 16 especies descritas (Nelson, 2016; Domínguez-Cisneros *et al.*, 2023, 2025). Estudios recientes sugirieron que la familia Profundulidae está comprendida por dos géneros (*Profundulus* y *Tlaloc*) (Mocillo *et al.*, 2016).

El género *Tlaloc* Álvarez y Carranza, (1951) está compuesto por cuatro especies (Morcillo *et al.*, 2016; Lozano-Vilano y De La Maza-Benignos, 2016): *Tlaloc labialis* (Günther, 1866), *T. candalarius* (Hubbs, 1924), *T. hildebrandi* (Miller, 1950) y *T. portillorum* (Matamoros y Schaefer, 2010). *Tlaloc* se diagnostica por la siguiente combinación de caracteres: El mesetmoides es prominente y de forma ovalada, se extiende más allá de los márgenes posteriores del vómer, abarca la extensión medial posterior y toca los etmoides laterales. La porción anterior del paraesfenoides hace contacto con el mesetmoides y se extiende más allá del centro del mesetmoides. La fosa autopterótica está reducida. El margen dorsal del interopérculo, con una larga extensión, sobrepasa el borde del hueso. El margen ventral del lagrimal es recto (Domínguez-Cisneros *et al.*, 2023).

Las especies de género *Tlaloc* habitan los arroyos y ríos de montañas entre los 1500 y los 2100 msnm; los hábitats se caracterizan por corrientes moderadas, con profundidades de hasta 1.7 m., en los que está presente vegetación acuática dominada por los géneros *Chara*, *Potamogeton* y *Chlorophytas* (algas verdes) (Miller *et al.*, 2005).

Particularmente *T. labialis* y *T. candalarius* se distribuyen en Chiapas, México y Guatemala, en tributarios de la cuenca del Grijalva-Usumacinta (Domínguez-Cisneros *et al.*, 2023).

Tlaloc candalarius conocido como el escamudo de Comitán. Es una especie cuasiendémica de Chiapas cuya distribución se restringe a la cuenca del río Gran de Comitán en Chiapas, México y en algunos arroyos de la Candelaria en la frontera con Guatemala (Miller, 1955, 2005), considerado casi amenazado por la UICN (Snoeks *et al.*, 2009), debido principalmente a la degradación y decrecimiento de la calidad de su hábitat. Por su parte *Tlaloc labialis* conocido como el escamudo bocón, es una especie de amplia distribución en el sur de México y Centroamérica, particularmente en Chiapas y Guatemala.

El propósito de este estudio es encontrar las evidencias morfológicas en la estructura esquelética del esplanocráneo que puedan resolver los problemas taxonómicos del complejo *T. labialis-T. candalarius*. Además, puede contribuir a una comprensión mas profunda de los procesos evolutivos de este grupo de peces.

II. MARCO TEÓRICO

2.1 Descripción Taxonómica

La familia Profundulidae fue erigida por Hoedeman and Bronner en 1951, la cual incluía un solo género nominal (*Profundulus* Hubbs, 1924), que se dividía en dos grupos o subgéneros (Miller, 1951, 2005): a) el grupo Punctatus o subgénero *Profundulus* y b) el grupo Labialis o subgénero *Tlaloc*. Morcillo *et al.*, (2016) y Domínguez-Cisneros *et al.*, (2023), con base en evidencia molecular y morfológica elevaron los dos subgéneros a géneros. Particularmente el género *Tlaloc*, está integrada por cuatro especies, dos de ellas *T. labialis* (Cuadro 1; Figura. 1) y *T. candalarius* (Cuadro 2; Figura. 2) son objeto del presente estudio:

Cuadro 1. Taxonomía de *T. labialis*.

Reino	Animalia
Subreino	Eumetazoa
Superfilo	Deuterostomia
Filo	Chordata
Subfilo	Vertebrata
Infrafilo	Gnathostomata
Superclase	Osteichthyes
Clase	Actinopterygii
Orden	Cyprinodontiformes
Suborden	Cyprinodontoidei
Familia	Profundulidae
Género	<i>Tlaloc</i>
Especie	<i>labialis</i>

Cuadro 2. Taxonomía de *T.candalarius*

Reino	Animalia
Subreino	Eumetazoa
Superfilo	Deuterostomia
Filo	Chordata
Subfilo	Vertebrata
Infrafilo	Gnathostomata
Superclase	Osteichthyes
Clase	Actinopterygii
Orden	Cyprinodontiformes
Suborden	Cyprinodontoidei
Familia	Profundulidae
Género	<i>Tlaloc</i>
Especie	<i>candalarius</i>



Figura 1. Ejemplar de *Tlaloc labialis* (Domínguez-Cisneros *etal.*, 2023)



Figura 2. Ejemplar de *Tlaloc candalarius* (Domínguez-Cisneros et al., 2023)

22 *Tlaloc labialis*

La descripción original de esta especie se basó en especímenes del río Negro Chixoy (originalmente listado sólo en Guatemala), el río San Jerónimo e "Yzabal" "lago Yzabal", Guatemala (Günther, 1866: 320; Regan, 1906-8: 78). Debido a la vaguedad de la localidad río Chixoy y la ausencia de *Profundulus* en Izabal o en el lago Izabal, la localidad tipo se restringe al río San Jerónimo en San Jerónimo (Miller, 1955).

Se registran los siguientes recuentos para el lectotipo: dorsal 13 (dos primeros radios no ramificados), anal 14 (dos primeros radios no ramificados), pectorales 19-19, pélvicas 5-6, caudal 21; escamas en la serie lateral 37, escamas predorsales 29 (24 + 5), escamas alrededor del pedúnculo caudal 20, 6 escamas entre la línea media del dorso y la fila de la serie lateral (no contables completamente alrededor del cuerpo); vértebras 37 Miller (1955).

23 *T. candalarius*

Tlaloc candalarius en apariencia general es similar a *T. labialis* Günther, única especie hasta ahora conocida en la cuenca del Atlántico, habiendo sido registrada del lago Yzabal y de la cuenca del río Chixoy, afluente del mismo.

24 Morfología

La Morfología (del griego morfo forma, logos tratado), estudia la relación e interpretación de las formas y estructuras observadas (Zárate-Hernández *et al.*, 2007). Un carácter morfológico es cualquier característica visible cuantitativa o cualitativa que puede ser registrada y comparada por diversos autores. Ejemplos de ellos son: los caracteres merísticos, morfométricos, de coloración y los osteológicos (Lagler *et al.*, 1984). En los huesos, el branquiocráneo o esqueleto visceral, incluye la región mandibular (comprendida por el arco y los huesos dérmicos adjuntos, la región hial (el arco hioideo y la serie opercular) y los arcos branquiales con sus placas dérmicas adjuntas Gregory (1959).

25 Esqueleto Visceral

Formado por distintos elementos: Mandíbulas, suspensión mandibular, serie opercular, aparato hioideo y aparato branquial (Domínguez *et al.*, 2023). El esplanocráneo o el esqueleto visceral de los peces cumple una función esencial en la protección y soporte de los órganos internos, principalmente los relacionados con la alimentación y la respiración Lagler *et al.* (1990).

26 Mandíbulas

El arco mandibular incluye a los huesos de la mandíbula superior: premaxilar y maxilar, y de la mandíbula inferior: dentario, anguloarticular y retroarticular. El premaxilar presenta el proceso ascendente amplio y el borde bucal dentado. Es largo lateralmente y su extremo anterior proyecta un proceso ascendente amplio y de borde romo, que hace contacto con la región antero-ventral del neurocráneo. La porción posterior presenta una amplia escotadura, donde coincide el cartílago coronoides, que aparentemente limita el desplazamiento del premaxilar hacia atrás. El maxilar, es alargado, recto, delgado y laminar, presenta en la porción anterior dos procesos en los cuales se ubica parte del borde superior del premaxilar. En la cara externa cerca del proceso externo se marca un área cóncava que articula con el extremo anterior del palatino. A lo largo de la misma cara se marca la inserción del ligamento maxilo-mandibular (Domínguez-Cisneros *et al.*, 2023).

En la mandíbula inferior se distinguen los huesos: anguloarticular, retroarticular,

fusionados al dentario. En la cara interna del anguloarticular, se distingue el esplenial y un proceso tubular que es el cartílago de Meckel (Fosameckeliana) (Domínguez-Cisneros *et al.*, 2023).

El dentario es un hueso grande de la mandíbula inferior, en la superficie externa se marca el canal de la línea lateral. El borde anterior tiene forma de repisa, con un conjunto de dientes. Presenta un proceso coronoides recto y oblicuo en el borde posterior, el cual posee en la superficie un grueso cartílago coronoides que abarca al hueso anguloarticular. El anguloarticular tiene un proceso anterior triangular amplio que se incrusta en el dentario. Hacia arriba forma un proceso coronoides que se une al proceso correspondiente del dentario, donde se localiza el cartílago coronoides. En su ángulo postero-inferior se encuentra la fosea articular, que recibe al cóndilo del cuadrado (Domínguez-Cisneros *et al.*, 2023).

El esplenial es un hueso laminar, notablemente pequeño y de forma trapezoidal. Está adosado firmemente a la cara interna del anguloarticular. El retroarticular es relativamente pequeño de forma triangular, se encuentra en la parte ventral y posterior del anguloarticular; en él se inserta el ligamento del interopercular (Domínguez-Cisneros *et al.*, 2023).

2.7 Suspensión Mandibular

Está formado por los huesos palatinos, endopterigoides, hiomandibular, simpléctico y cuadrado. El palatino es plano, recto y con el extremo anterior adosado al maxilar. Posteriormente hace contacto mediante cartílago con el cuadrado, y medialmente con parte del endopterigoides (Domínguez-Cisneros *et al.*, 2023).

El endopterigoides es laminar, tiene su borde interno cóncavo y forma un proceso anterior que cubre la superficie interna del palatino. Se adosa internamente al cuadrado y posteriormente al simpléctico. El hiomandibulares un hueso grande de forma rectangular. Se articula mediante el cóndilo anterior con el esfenótico, mediante el cóndilo superior con el pterótico y mediante el posterior con el hueso opercular. Su borde anterior es ondulado y el inferior o tallo es recto y se une por una membrana laminar al simpléctico (Domínguez-Cisneros *et al.*, 2023).

Lateralmente forma un reborde vertical, que coincide con la parte superior del

prepercular (Domínguez-Cisneros *et al.*, 2023).

El simpléctico es amplio y laminar, de posición oblicua, con su porción media maciza fusionada lateralmente al preopérculo. Su extremo inferior agudo se coloca entre el endopterigoides y el cuadrado (Domínguez-Cisneros *et al.*, 2023).

El cuadrado es relativamente grande e irregular, con una porción anterior trunca orientada hacia adelante y arriba que se une al palatino. Posteriormente con un proceso delgado, que se une firmemente al preopercular. Presenta un cóndilo que coincide con la fosa articular del ánguloarticular (Domínguez-Cisneros *et al.*, 2023).

28 Serie Opercular

Está formado por el opercular, subopercular, preopercular e interopercular. El opercular tiene forma triangular, con su borde superior convexo y un proceso anterosuperior trunco. El borde posteroinferiores recto. El subopercular es amplio con un proceso anterosuperior tubular y posteriormente agudo. El preopercular es anguloso tiene forma de búmeran, con un borde anterior convexo. Lateralmente tien e un canal de la línea lateral. Se relaciona estrechamente con el margen posterior de la suspensión mandibular. El interopercular es alargado, con su extremo anterior dorsal puntiagudo y macizo, del cual parte un ligamento que se une al retroarticular. En la cara interna presenta una fosa que se articula con el interhial (Domínguez-Cisneros *et al.*, 2023).

29 Aparato Hioideo

El aparato hioideo está formado por los huesos; glosohial, basihial, hipohial superior e inferior, ceratohial, epihial, interhial, seis radios branquiostegos y el urohial.

El glosohial es cartilaginoso y forma el extremo anterior del piso de la cavidad bucal, carece de dientes, es triangular y está aplanado dorsoventralmente. Se une posteriormente con el basihial que es alargado. Los hipohiales tienen forma cónica. El hipohial superior es pequeño y orientado hacia el plano sagital, se une al hipohial inferior y al ceratohial. El hipohial inferior es más grande y orientado hacia adelante, se une posteriormente al ceratohial (Domínguez Cisneros *et al.*, 2023).

El ceratohial es alargado, más angosto en la parte media donde sostiene dos

radios branquiostegos y amplio en su extremo posteroventral, donde sostiene a otros tres radios branquistegos. Posteriormente se une al epihial (Domínguez Cisneros *et al.*, 2023).

El epihial es de forma triangular, en la cara externa sostiene al último radio branquiostego (seis). En la parte dorsal de su extremo posterior se articula al interhial (Domínguez Cisneros *et al.*, 2023).

El interhial es cilíndrico, delgado y se articula mediante cartílago con el interopercular. Los branquiostegos son seis, de forma alargada (Domínguez-Cisneros *et al.*, 2023). Los dos primeros muy delgados y los cuatro restantes laminares y angulosos.

El urohial es alargado y laminar, con un proceso dorsal pequeño, orientado hacia atrás. El borde posterior es convexo y muy delgado (Domínguez-Cisneros *et al.*, 2023).

2.10 Dentición

La dentición en los profundúlidos se presenta con dientes en los arcos mandibular y branquial, carecen de dientes en el paladar (vómer y palatino) y la lengua (glosohial) (Domínguez *et al.*, 2023).

El arco mandibular (premaxilar y dentario) tiene dos grupos de dientes. Los externos en una sola serie y de mayor tamaño que los internos que se encuentran de tres a cuatro series dispuestos irregularmente. La forma de los dos grupos de dientes es similar, tubulares con los extremos distales puntiagudos y curvados hacia dentro (Domínguez *et al.*, 2023).

Los arcos branquiales tienen dientes en el cuarto ceratobranquial, faringeo inferior (quinto ceratobranquial) y faringobranquiales superiores uno, dos y tres. Los dientes son de forma tubular con los extremos distales puntiagudos. El cuarto ceratobranquial tiene de una a dos series de dientes irregulares, pequeños y delgados. Los dientes de los huesos faringeos superior e inferior presentan la misma forma; los últimos tienen series dispuestas irregularmente, los dientes del borde interno son ligeramente más grandes y disminuyen de tamaño hacia el borde externo. En el

faringobranquial superior uno, se restringen a su borde posterior; los dientes del faringobranquial dos, cubren la mayor parte de la superficie ventral del hueso y los del faringobranquial tres, cubren toda su extensión y son más pequeños (Domínguez *et al.*, 2023).

2.11 Diafanización

La diafanización es una técnica anatómica usada desde hace más de un siglo, con el objetivo de transparentar los tejidos para poder observar estructuras profundas teñidas previamente con algún tipo de colorante; fue una técnica muy utilizada hasta la década de 1980 y luego su empleo disminuyó, a pesar de que el desarrollo de su proceso implica baja toxicidad y bajo riesgo químico. El proceso de diafanización se desarrolla en varias etapas, las cuales pueden ser reversibles en cualquier momento (Taylor y Van Dyke, 1985). En cada etapa se usan soluciones con reactivos que varían en concentración y proporción. El cumplimiento del objetivo de cada etapa debe ser evidenciado mediante una estricta y minuciosa observación y registros en bitácora por parte del investigador, porque solo las características físicas del espécimen, más que los tiempos de trabajo, serán los indicadores para avanzar secuencialmente en las fases del proceso de diafanización (Rivera *et al.*, 2015).

Los reactivos utilizados durante el proceso corresponden a rojo de alizarina, hidróxido de potasio sólido, glicerina y opcionalmente el alcohol etílico. Es de aclarar que para el manejo y uso operativo de cada uno de los reactivos es necesario conocer previa y detalladamente la ficha de seguridad con el objeto de darle un uso óptimo al químico, evitar el riesgo por accidente químico y usar de manera efectiva el producto durante el proceso de diafanización (Rivera *et al.*, 2015)

El laboratorio o escenario donde se desarrollará el proceso de diafanización debe cumplir con las condiciones necesarias de infraestructura, estabilidad térmica, bioseguridad y demás normas relacionadas con la manipulación de componentes anatómicos con fines académicos e investigativos. Las etapas de la diafanización corresponden a fijación inicial, impregnación, corrosión, transparentación y conservación final del espécimen (Rivera *et al.*, 2015).

III. ANTECEDENTES

3.1 Familia *Profundulidae*

La taxonomía de los peces profundúlidos ha sido relativamente cambiante en los últimos dos siglos; desde la descripción original de las primeras especies, *Fundulus punctatus*, *F. labialis*, *F. guatemalensis* y *F. pachycephalus*, descritas por Günther (1866), varias especies estrechamente relacionadas de América Central, referidas a *Fundulus*, *Adinia* o *Zoogoneticus*, y que comprendían un grupo natural, que diferían de *Fundulus*, fueron colocados en un nuevo género, *Profundulus*, erigido por Hubbs (1924), pertenecientes a la familia Cyprinodontidae (orden Cyprinodontes). *Profundulus* fue diagnosticado sobre la base de caracteres merísticos y morfológicos por Hubbs (1924).

Miller (1955) realizó la revisión sistemática del género *Profundulus*, reconociendo un solo género (dos subgéneros: *Profundulus* y *Tlaloc*) y validando 5 especies. En su estudio Miller se basó en el análisis morfológico de miles de ejemplares reconociendo las especies de: *P. punctatus*, *P. guatemalensis*, *P. labialis*, *P. candalarius* y *P. hildebrandi*. El mismo autor observó diferencias morfológicas entre las especies, asignando a *P. punctatus* y *P. guatemalensis*, al subgénero *Profundulus* y a *P. labialis*, *P. candalarius* y *P. hildebrandi*, al subgénero *Tlaloc*.

Parenti (1981) con base en el uso de métodos de sistemática filogenética y biogeografía vicariante y utilizando principalmente caracteres osteológicos realizó la revisión sistemática del orden Cyprinodontiformes, concluyendo la existencia de 9 familias en la cual incluye la diagnosis de la familia Profundulidae, basándose en la revisión de las especies *P. punctatus*, *P. guatemalensis* y *T. labialis*.

Costa (1998), en su trabajo sobre la Filogenia y clasificación de los Cyprinodontiformes (utilizando 124 caracteres, principalmente osteológicos) 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 *branquiespinas* 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. Las especies revisadas fueron *T. candalarius*, *P. guatemalensis* y *T. labialis*.

González-Díaz *et al.* (2005) y González-Díaz (2008), realizaron una comparación morfométrica y osteológica de las especies de la familia *Profundulidae*, mencionan que el patrón morfológico de separación entre las especies analizadas, es la altura del cuerpo, menor longitud de hocico y menor ancho de la boca. Así como diferentes estructuras del cráneo que permiten diferenciar los dos subgéneros en seis especies estudiadas.

La familia *Profundulidae* ha sido sujeta a una variedad de estudios, en un reciente trabajo mediante análisis filogenéticos con base a genes mitocondrial es y nucleares, Morcillo *et al.* (2016), propusieron dos hipótesis de diversidad biológica entre los géneros y elevaron a nivel de género los dos subgéneros existentes (*Tlalo* y *Profundulus*). Recientemente, Domínguez-Cisneros *et al.* (2023), realizaron la diagnosis y descripción morfológica de los géneros *Tlalo* y *Profundulus*, así mismo propusieron una clave dicotómica para la separación de las especies.

3.2 Género *Tlalo*

Específicamente en el género *Tlalo* existen pocas investigaciones relacionadas con los aspectos morfológicos; sin embargo, existen algunos estudios entre los que destacan el trabajo de Arévalo (2018), quien estudió la morfología trófica y la dieta de *T. candalarius*, registró que la organización general del sistema digestivo corresponde al patrón morfológico general de los teleósteos y en particular de los Cyprinodontiformes. Además, reportó algunas diferencias osteológicas con *T. hilderbrandi*: en el premaxilar, dentario, retroarticular, subopercular, interhial, urohial basibranquial, dentición interna del arco mandibular y cuarto ceratobranquial.

Domínguez-Cisneros *et al.*, (2023) realizaron la redesccripción y diagnosis de

los géneros *Profundulus* y *Tlaloc*. Con base en el análisis de estructuras osteológicas principalmente, encontraron caracteres informativos del neurocráneo para generar la diagnosis y descripción de los dos géneros.

Domínguez-Cisneros *et al.*, (2023), realizaron la morfología trófica y hábitos de alimentacion de *Tlaloc hildebrandi* donde describieron las estructuras osteológicas del esplanocráneo y las relacionaron con la dieta.

De igual manera, Maza (2023), realizó un estudio sobre el complejo caudal y los elementos de la columna vertebral del género *Tlaloc* que incluye a todas las especies del género.

IV. OBJETIVOS

4.1 General

- Analizar la estructura esquelética esplanocráneo del complejo *Tlaloc labialis* - *T. candalarius* para la delimitación de especies.

4.2 Particulares

- Describir la osteología del esplanocráneo (aparatos: mandibular, hiostego, suspensión mandibular, branquial y opercular), de este complejo de especies.
- Determinar las variaciones intra e interespecíficas en las estructuras osteológicas del esplanocráneo de *Tlaloc labialis* y *T. candalarius*.

V. MÉTODO

En el presente estudio se analizaron 40 especímenes de la colección ictiológica del Museo de Zoología del Instituto de Ciencias Biológicas, de la UNICACH; que pertenecen a distintas localidades de recolecta: *Tlaloc labialis*: 03467-MZ-P y 03240-MZ-P, El vado tres Picos Copainalá, Chiapas (6 ejemplares); 01402-MZ-P, Río Negro, Pueblo Viejo, Cintalapa, Chiapas (3); 07686-MZ-P, Río Hondo, Ixtapa, Chiapas (4). *Tlaloc candalarius*: 07566-MZ-P, Arroyo el Cenote, La Candelaria Nenton, Guatemala (Localidad tipo) (10); 05709-MZ-P, Valle Los Sabinos, Río Grande, Comitán, Chiapas (10), 05715-MZ-P, Centro Ecoturístico Ojo de Agua Tzimol, Chiapas (7) (Figura 3).

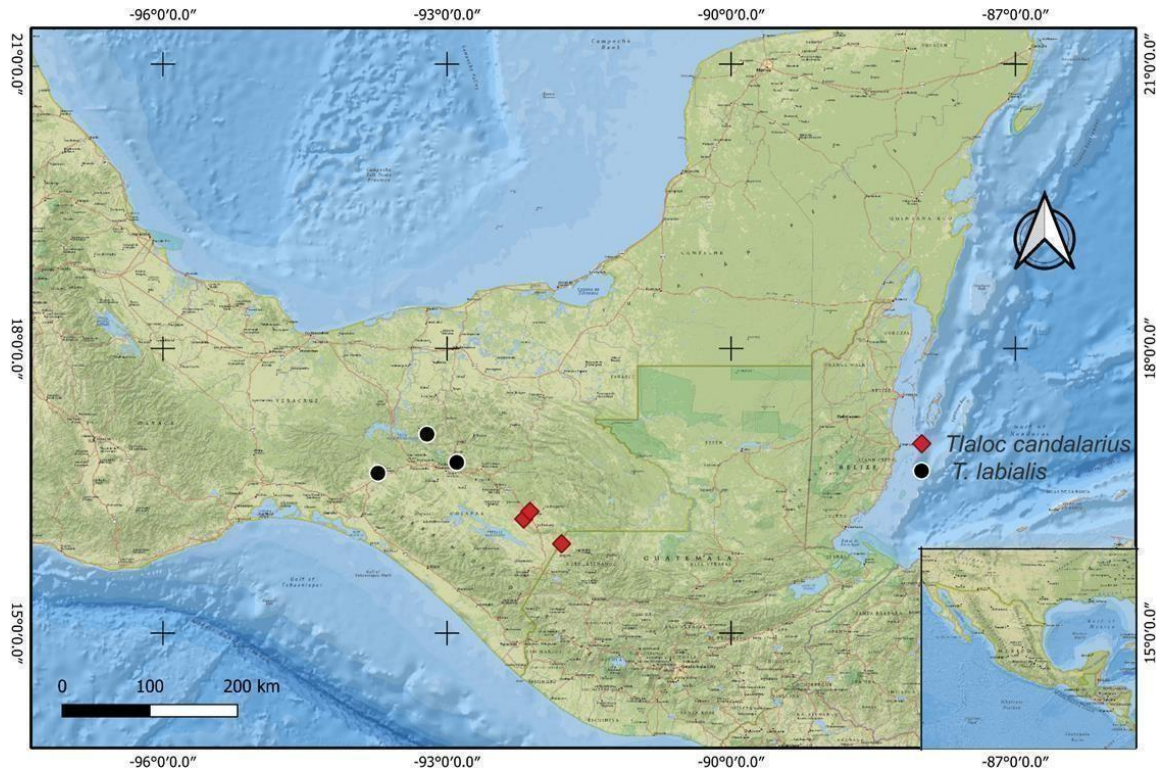


Figura 3. Localidades geográficas de los ejemplares estudiados: *T. labialis* y *T. candalarius*.

Los ejemplares seleccionados fueron pesados con una balanza marca scout y medidos con un vernier electrónico marca Stainless Hardened. Las medidas morfométricas obtenidas fueron: longitud patrón y longitud cefálica. Posteriormente fueron descamados totalmente y eviscerados bajo el microscopio estereoscopio marca ZEISS, la extracción de los ojos se llevó a cabo utilizando pinzas de disección, agarrando los músculos oculares y aplicando una ligera presión para liberar los ojos. La extracción de las escamas, se llevó a cabo con pinzas de punta fina evitando dañar la piel. Para la extracción de órganos del tracto digestivo y reproductor, se realizó una incisión ventral con tijeras de punta fina desde el orificio anal hasta la base de la cabeza evitando cortar entre las aletas pélvicas.

Después de ser eviscerados los ejemplares fueron sometidos a la técnica de diafanización y doble tinción de acuerdo con Taylor y Van Dyke (1985), que consistió en:

Tinción de cartílago: Los ejemplares se mantuvieron en una solución de 800 ml de etanol al 96%, 0.1 g de azul alcian y 200 ml de ácido glacial al 10%, en un tiempo de 24 a 48 hrs.

Fijación de colorante: Los ejemplares se pasaron a una solución saturada de borax de 24 a 48 hrs. Pasado el tiempo se lavaron con agua destilada 2 hrs. para quitar el exceso de ácido.

Decoloración o despigmentación: los ejemplares permanecieron aproximadamente 24 hrs., en 900 ml de una solución de KOH al 0.5% y 100 ml de H₂O₂ al 3% hasta que los especímenes se despigmenten completamente, colocados en luz directa.

Transparentación del músculo: Los ejemplares se colocaron en una solución de 700 ml de agua destilada, 300 ml de solución de Borax (solución saturada de borax) y 0.45 g de tripsina (la solución se agita suavemente para no formar burbujas), a una temperatura de entre 20 y 30°C por un tiempo de 48 a 72 hrs., hasta que estuvieron transparentados, con recambios después de 48 hrs.

Tinción de huesos: Los ejemplares se introdujeron en solución de alizarina aproximadamente 24 hrs. En 100 ml de KOH al 5% se añadieron pequeñas cantidades de rojo alizarina hasta alcanzar el color púrpura o la intensidad deseada. Después de éste proceso los ejemplares fueron lavados con agua destilada.

Conservación de ejemplares y análisis morfológico: Los ejemplares se conservaron, previamente etiquetados, en una solución de glicerina y cristales de timol para evitar el desarrollo de agente contaminantes.

Para el análisis morfológico se utilizó un microscopio estereoscopio marca Zeiss, modelo Stemi CV4 para la disección y observación de los organismos. La descripción y comparación de las estructuras esqueléticas se realizó de acuerdo con la terminología propuesta por Gregory (1959), Parenti (1981), Costa (1998) y Domínguez *et al.* (2023). Para las fotografías se utilizó una cámara digital Axiocam ERC 5 S, de 11 megapíxeles adaptada al microscopio estereoscópico.

Análisis de datos

Se tomaron cinco medidas morfométricas de cada hueso urohial, utilizando un micrómetro ocular (10 mm DIV 0,1 mm) conectado al estereoscopio y se presentan como porcentajes de la longitud del hueso urohial; esta estandarización se aplicó en un intento de limitar la influencia potencial de la variabilidad debido al crecimiento alométrico. Probamos estadísticamente las diferencias significativas de los datos morfométricos entre las dos especies, utilizando una prueba no-paramétrica la U de Mann-Whitney con un nivel de significancia $\alpha = 0.05$.

VI. RESULTADOS

Los resultados obtenidos son con base en un total de 40 ejemplares que corresponden a 13 de *T. labialis* y 27 de *T. candalarius*. En los siguientes apartados se describen de manera general y comparativa las estructuras que integran el esplanocráneo de ambas especies.

6.1 Esqueleto visceral.

El esqueleto visceral está formado por distintos elementos: mandíbulas, suspensión mandibular, serie opercular, aparato hioideo y aparato branquial (Figura 4).

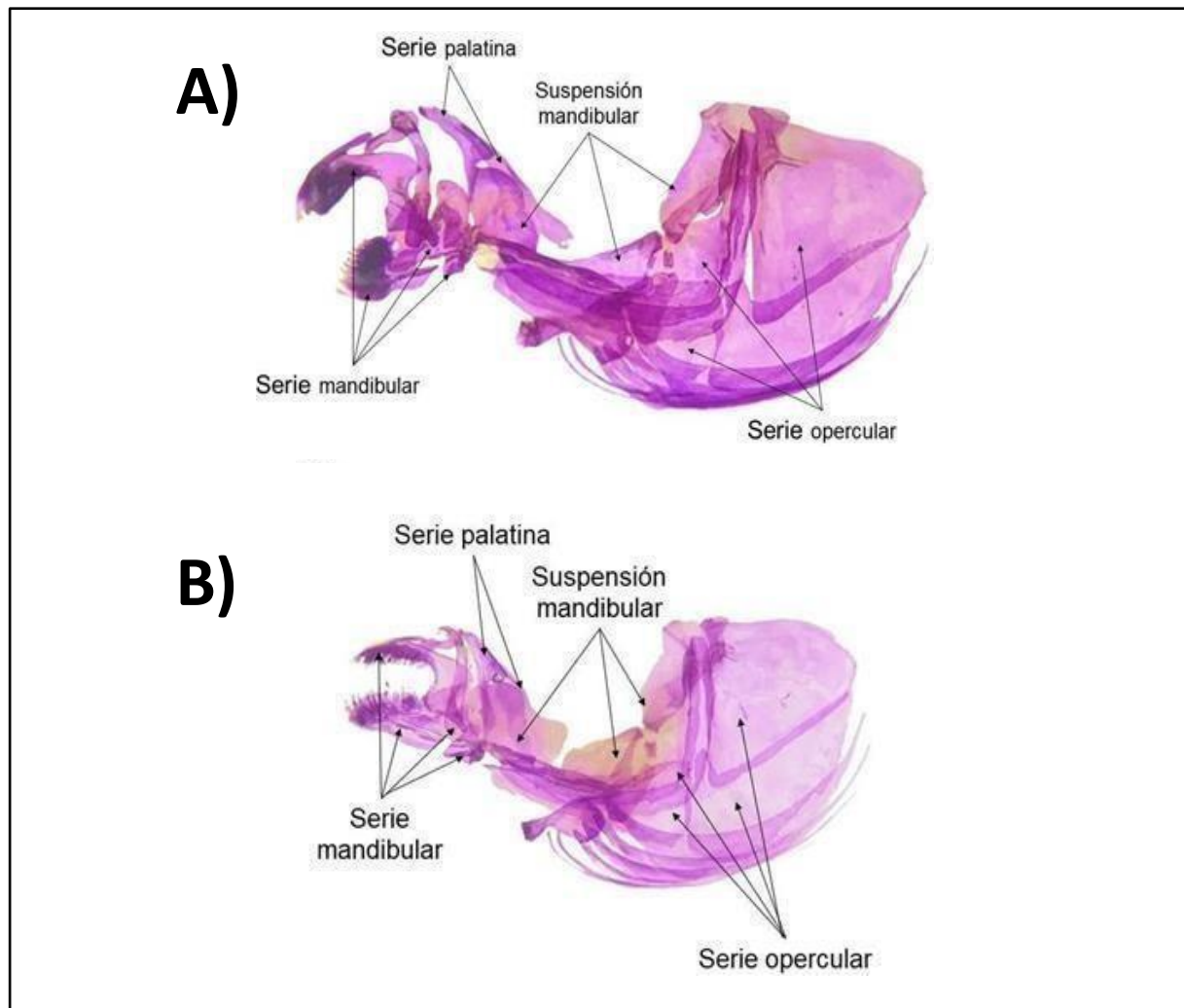


Figura 4. Elementos del esplanocráneo visceral de A) *Tlaloc labialis* y B) *T.candalarius*. Vista lateral izquierda.

62 Mandíbulas

El arco mandibular incluye a los huesos de la mandíbula superior: premaxila y maxilar, y de la mandíbula inferior: dentario, anguloarticular y retroarticular.

El premaxilar de *T. labialis* generalmente es amplio, con proceso ascendente que finaliza con un borde truncado o redondeado. El proceso alveolar anterior (AALV) es fuertemente cóncavo y termina con un proceso corto. El proceso alveolar posterior (PALV) es ligeramente cóncavo, se alarga y termina en punta. En *T. candalarius* el premaxilar es generalmente estrecho con proceso ascendente que termina con el borde truncado o redondeado. El proceso AALV es ligeramente cóncavo a recto y termina en un proceso corto. En ambas especies el proceso ascendente del premaxilar, hace contacto con la región antero-ventral del neurocráneo y posteriormente, el proceso descendente presenta una amplia escotadura, que puede limitar el desplazamiento del premaxilar hacia atrás. El borde bucal del premaxilar, presenta dientes cónicos dispuestos en dos a tres filas irregulares internas y externamente una fila de dientes cónicos de mayor tamaño que los internos (Figura 5).

El maxilar, en *T. labialis* es alargado, curvo y laminar; medianamente delgado en la parte superior (curvatura del hueso) y ancho hacia la parte inferior, presenta un proceso anteroventral articulario expandido y generalmente curvado que hace contacto con el borde superior del premaxilar y el palatino (Figura. 5 A). En *T. candalarius* el maxilar es alargado y más delgado en la curvatura del hueso, delgado en la parte superior, ancho y laminar en la parte inferior, el proceso hace contacto con el borde superior del premaxilar y el palatino (Figura 5 E).

En la mandíbula inferior se distinguen los huesos: dentario, anguloarticular y retroarticular. En la cara interior del anguloarticular, se distingue el hueso esplenial y el proceso tubular del cartílago de Meckel (fosa de Meckel).

El dentario es un hueso grande de la mandíbula inferior, en la superficie externa se marca el canal de la línea lateral, que es más corto en *T. labialis* y en *T. candalarius* es más alargado. El borde anterior del dentario en ambas especies tiene forma de

repisa, con una serie de dientes cónicos dispuestos en forma irregular. Los dientes externos en una sola fila y de mayor tamaño que los dientes internos que están dispuestos en dos a tres filas irregulares. Presenta un proceso coronoides recto y oblicuo en el borde posterior, en el cual posee una superficie gruesa cartilaginosa que lo une al hueso anguloarticular. El anguloarticular en ambas especies tiene un proceso medial de forma triangular que se incrusta en el dentario, este proceso es más ancho en *T. labialis* y estrecho en *T. candalarius*. El anguloarticular dorsalmente tiene un proceso coronoides que se une mediante tejido al proceso correspondiente del dentario. En *T. labialis* el proceso coronoides es alto y en *T. Candalarius* es más bajo. En el ángulo posterior-inferior del anguloarticular, se encuentra la foseta articular, que recibe al cóndilo del cuadrado.

El retroarticular es un hueso pequeño que se encuentra en la parte ventral y posterior del anguloarticular. En *T. labialis* el retroarticular tiene forma de medialuna y en *T. candalarius* tiene forma de rombo. En la parte posterior del hueso se inserta el ligamento del interopérculo, en ambas especies (Figura 5).

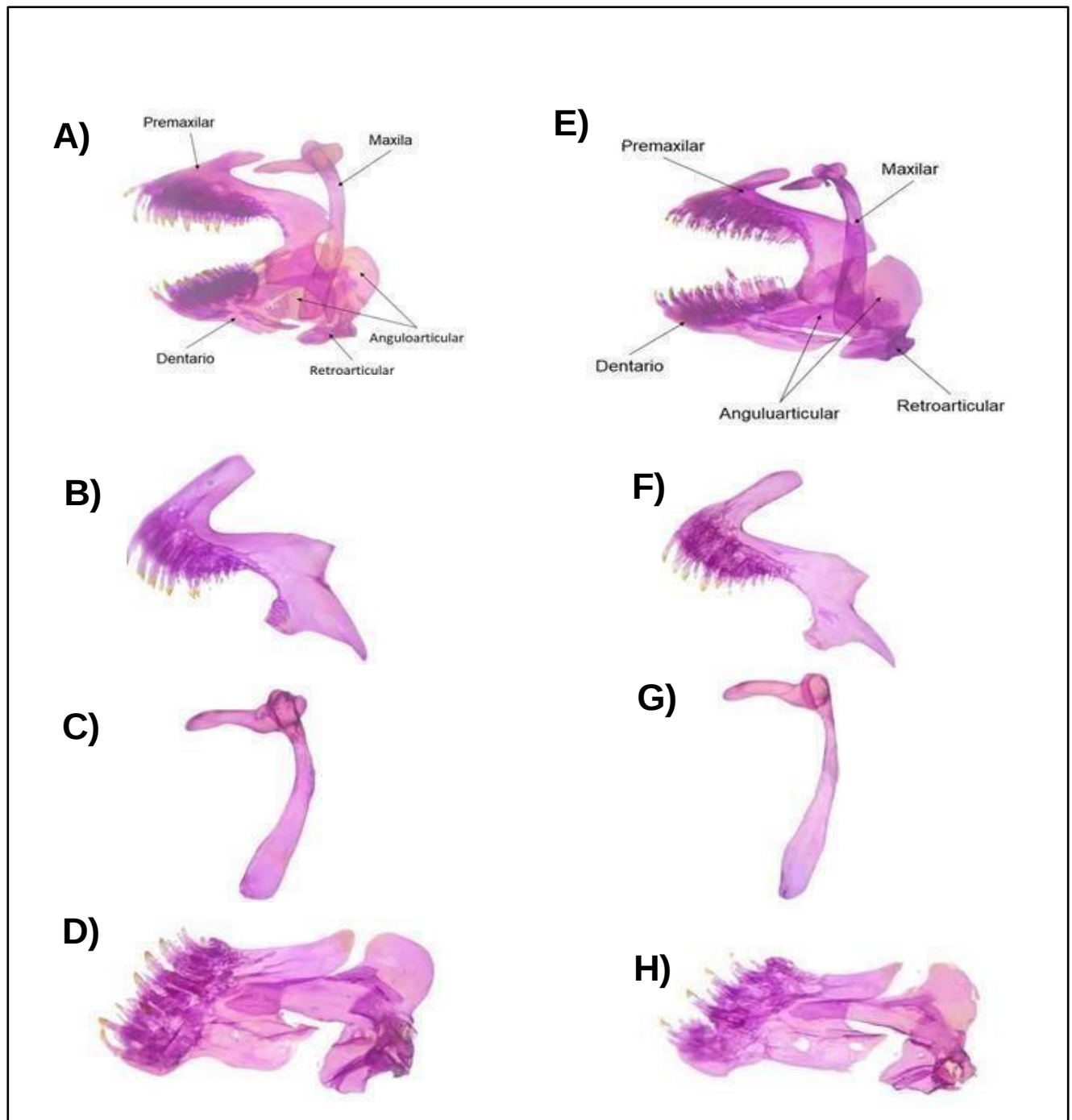


Figura 5: Mandíbula de A) *Tlaloc labialis* y E) *T. candalarius* en vista lateral izquierda. Premaxilar B), maxilar C) y dentario D) de *T. labialis* y Premaxilar F), maxilar G) y dentario H) de *T. candalarius*.

6.3 Suspensión mandibular

Está conformado por los huesos: palatino, endopterigoides, hiomandibular, simpléctico y cuadrado (Figura 6).

El palatino es plano, recto con una pequeña curvatura en la parte superior en ambas especies, con el extremo anterior unido al maxilar. Posteriormente hace contacto mediante cartílago con el cuadrado y medialmente con la parte del endopterigoides (Figura 6).

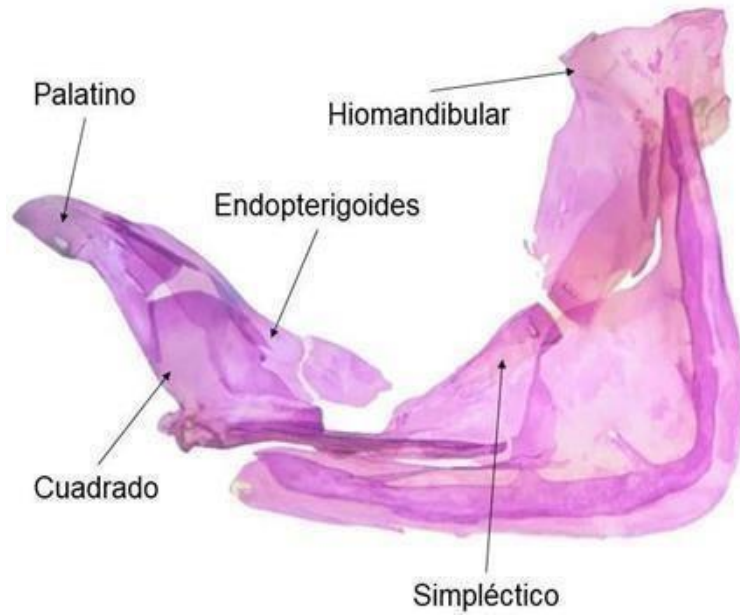
El endopterigoides es laminar en ambas especies. En *T. labialis* el borde interno es cóncavo y forma un proceso anterior que cubre la superficie interna del palatino, con respecto a *T. candalarius* el borde interno tiene forma de media luna con unos pequeños picos saliendo de ella y con el proceso anterior que cubre la suspensión interna del palatino. En ambas especies se une internamente al cuadrado y posteriormente se aproxima al simpléctico (Figura 6).

El hiomandibular en las dos especies de estudio, es un hueso grande de forma rectangular. Se articula mediante el cóndilo anterior con el esfenótico, mediante el cóndilo superior con el pterótico y mediante el cóndilo posterior con el hueso opercular. Su borde anterior es ondulado y el inferior tallo es recto y se une por una membrana laminar al simpléctico. Lateralmente forma un reborde vertical, que coincide con la parte superior del preopérculo (Figura 6).

El simpléctico es amplio y laminar, de posición oblicua, con su porción medial fusionada antero-lateralmente al preopérculo. Su extremo inferior agudo se coloca entre el cuadrado y el preopérculo tanto en *T. labialis* como en *T. candalarius* (Figura 6).

El cuadrado en ambas especies, es relativamente grande e irregular, con una porción anterior de forma redondeada y en la parte superior es la que se une al palatino. Postero-ventralmente con un proceso que se alarga y se une firmemente al preopérculo. Presenta un cóndilo que coincide con la fosa articular del hueso anguloarticular (Figura 6).

A)



B)

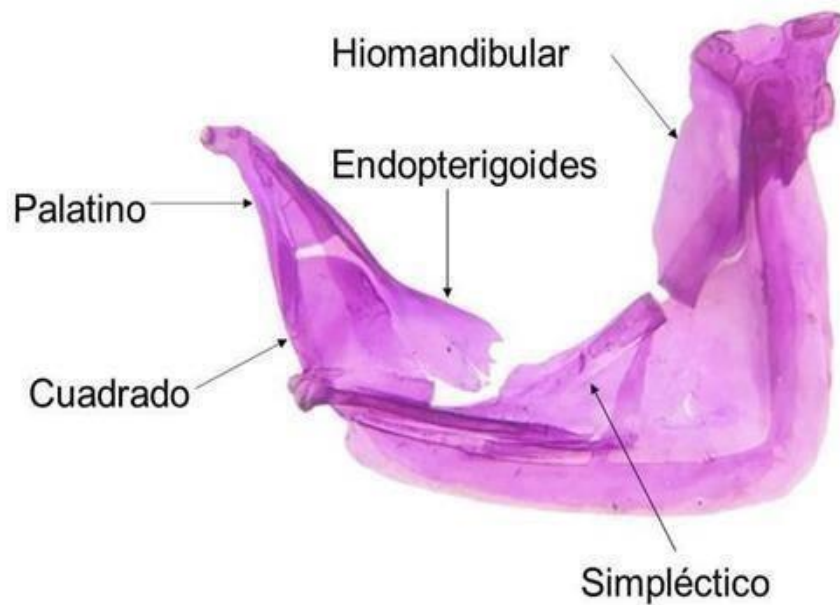


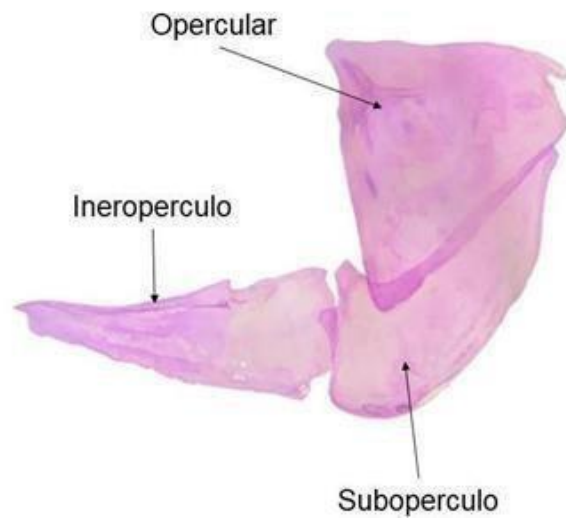
Figura 6. Serie hiopalatina y hueso preopercular de A) *Tlaloc labialis* y B) *T. candalarius* en vista lateral izquierda.

64 Serie opercular

Está formado por el opérculo, subopercular, preopercular e interopercular.

El opérculo en *T. labialis* tiene forma triangular, con un borde superior recto y un pequeño proceso antero-dorsal. En *T. candalarius* tiene una forma triangular, con un borde superior convexo y un proceso antero-dorsal. El borde postero-inferior es recto en ambas especies. En ambas especies, el subopérculo es amplio con un proceso antero-superior tubular y posteriormente agudo. El preopérculo es anguloso tiene forma de bumerán, con un borde anterior convexo. Lateralmente presenta el canal de la línea lateral. Se relaciona estrechamente con el margen posterior de la suspensión mandibular (Figura 7). El interopérculo es alargado, con su extremo antero-dorsal largo y puntiagudo, con un reborde en la parte inferior que no sobrepasa la punta antero-dorsal. Para ambos taxones el extremo puntiagudo es macizo, del cual parte un ligamento que se une al retroarticular. En la cara interna presenta una fosa que se articula con el interhial (Figura 7).

A)



B)

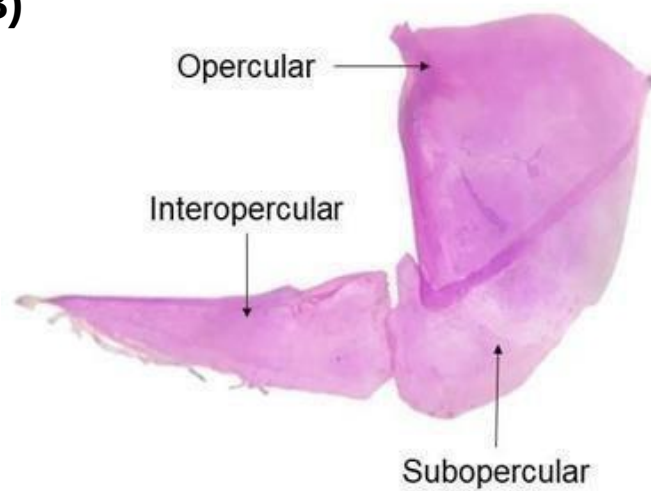


Figura 7. Serie opercular de A) *T. labialis* y B) *T. candalarius* en vista lateral izquierda.

6.5 Aparato hioideo

El aparato hioideo está compuesto por los huesos: glosohial, basihial, hipohial inferior, ceratobranquial, ephial, interhial, seis radios braquiostegos y el urohial.

En las dos especies, el glosohial, es cartilaginoso y forma el extremo anterior del piso de la cavidad bucal, carece de dientes y se une posteriormente al basihial que es de forma alargada y anteriormente se ensancha (Figura 8). El hipohial es pequeño y se une en la parte anterior al hueso ceratohial (Figura 8).

El ceratohial es alargado, en su parte media es angosto donde sostiene a los radios branquiostegos uno y dos, se amplía en su extremo posteroventral donde sostiene a los radios branquiostegos tres, cuatro y cinco. En *T. labialis* la región posteroventral tiene forma cuadrada y queda alejada del ephial mientras que en *T. candalarius* tiene una forma de (U) y está más unido al ephial.

El ephial tiene forma triangular tanto en *T. labialis* como *T. canlarius*, en la cara externa sostiene al radio branquioestego No. 6. En la parte dorsal de su extremo posterior se articula al interhial.

El interhial es pequeño con los bordes rectos u ovalados; dorsal y ventralmente presenta canales que le dan forma de reloj de arena; se articula mediante cartílago con el preopérculo en ambas especies.

En las dos especies, los radios branquiostegos son seis, de forma alargada. Los dos primeros radios son delgados y los cuatro radios restantes son laminares, anchos y angulares.

El urohial es alargado, laminar, comprimido lateralmente, generalmente tiene forma triangular en vista lateral y posteriormente es convexo. Presenta una extensión dorsal anteriormente que en *T. candalarius* forma un cuello muy estrecho a diferencia de *T. labialis* que el cuello es más ancho. En ambas especies el hueso urohial es más largo que su altura y esta morfología difirió entre las especies.

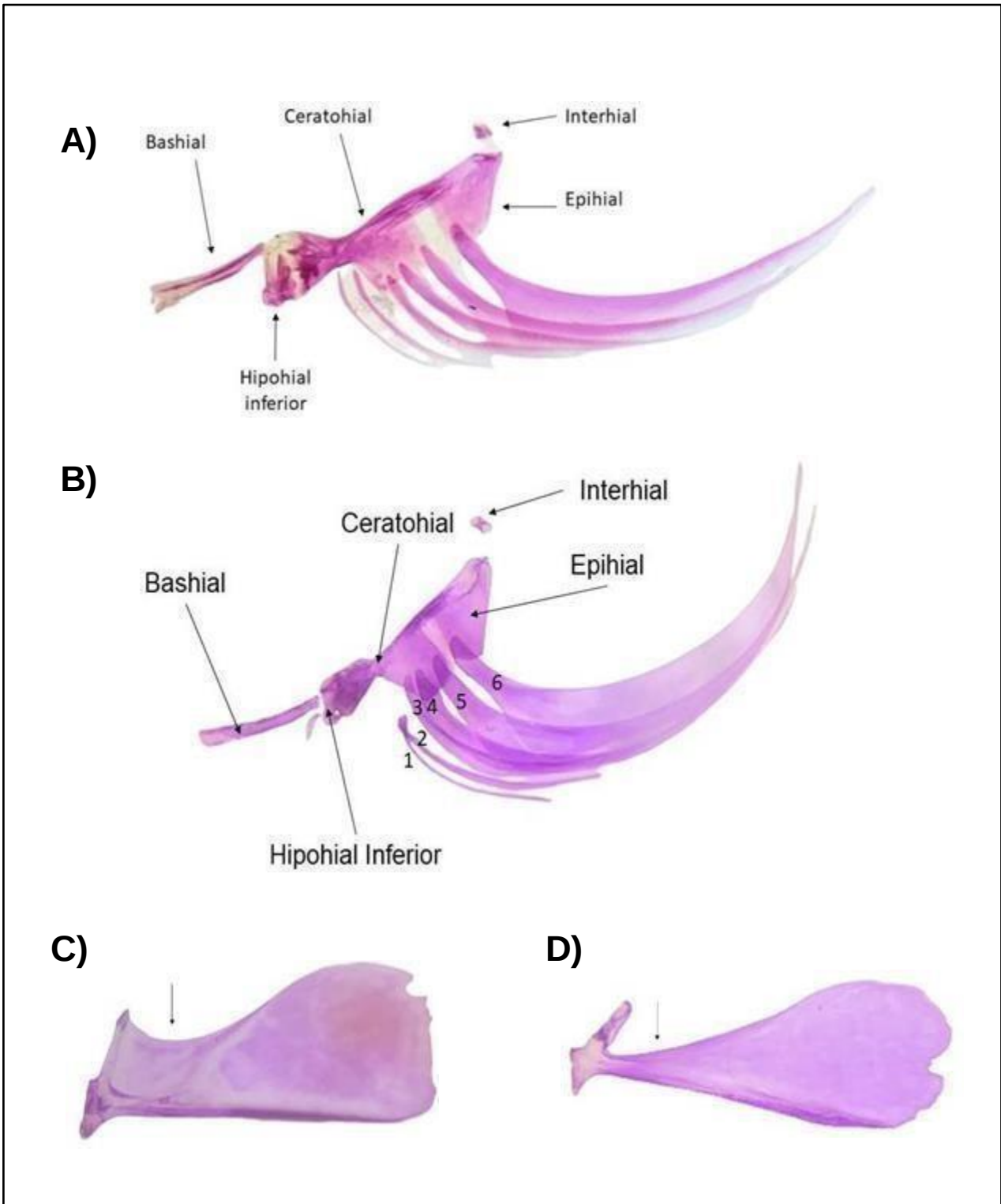


Figura 8. Aparato hiodeo en vista lateral izquierda de *T. labialis* (A) y *T. candalarius* (B). Urohial en vista lateral izquierda de *T. labialis* (C) y de *T. candalarius* (D). Las flechas pequeñas, indican el cuello ancho y estrecho del hueso urohial.

6.6 Aparato branquial

En *T. labialis* y *T. candalarius*, el aparato branquial está compuesto por dos basibranquiales, tres hipobranquiales, cinco ceratobranquiales, cuatro epibranquiales y tres faringobranquiales. Los surcos para las arterias braquiales se encuentran en la cara externa de los cinco ceratobranquiales. Los huesos ceratobranquiales cuatro y cinco, presentan dientes cónicos en la cara interna del hueso. Las branquiespinas están presentes en los cuatro ceratobranquiales (Figuras 9, 10 y 11).

En las dos especies de estudio los basibranquiales son delgados, el primero más corto que el segundo que es ligeramente más largo. Los tres hipobranquiales son cortos de forma irregular, el primero más grande que el segundo y éste más grande que el tercero.

Los ceratobranquiales del uno al cuatro son alargados y delgados; éste último (ceratobranquial cuatro) presenta pequeños dientes alargados cónicos en ambas especies. El ceratobranquial cinco o hueso faríngeo inferior en *T. candalarius* tiene una forma triangular con un proceso cuadrado anteriormente y otro proceso en forma de punta con una ligera curvatura en la parte posterior del hueso. En *T. labialis* este hueso cambia porque es menos anguloso y tiene una forma más alargada. Este hueso (ceratobranquial cinco o hueso faríngeo inferior) tiene fuertes dientes cónicos en la cara ventral en las dos especies (Figura 9 y 10).

Los tres epibranquiales tienen forma tubular y son cortos; el primero recto sin proceso dorsal. El segundo con un proceso dorsal corto y el tercero con un proceso dorsal largo. El cuarto epibranquial tiene forma de L invertida, con la diferencia que en *T. labialis* el hueso se alarga en la parte inferior y en *T. candalarius* el hueso es más corto en esa región (Figura 11).

Los faringobranquiales (faringobranquial superior) del uno al tres son laminados y ensamblados. El primer hueso del faringobranquial superior en *T. labialis* en la parte antero dorsal es más amplia en comparación de *T. candalarius* que es reducida. El segundo hueso faringobranquial en *T. labialis* es ovalado y amplio en los extremos anterior y posterior a comparación de *T. candalarius* que también es ovalado, pero más reducido en los extremos anterior y posterior. El tercer hueso faringobranquial, en *T. labialis* es de forma rectangular diferencia de *T. candalarius*

que mantienen una forma más cuadrada (Figuras 9 y 10). Las braquiespinas se presentan en dos series (superior e inferior) en los huesos ceratobranquiales uno, dos, tres y cuatro, aunque este último no presente la serie interna, solo la externa. Las braquiespinas no llevan dientes. En la serie externa del primer ceratobranquial son largas y laminares, en el resto de los ceratobranquiales son cónicas y pequeñas (Figura 10 y 11). En promedio el número de branquiespinas de la serie externa del primer ceratobranquial es de 15.

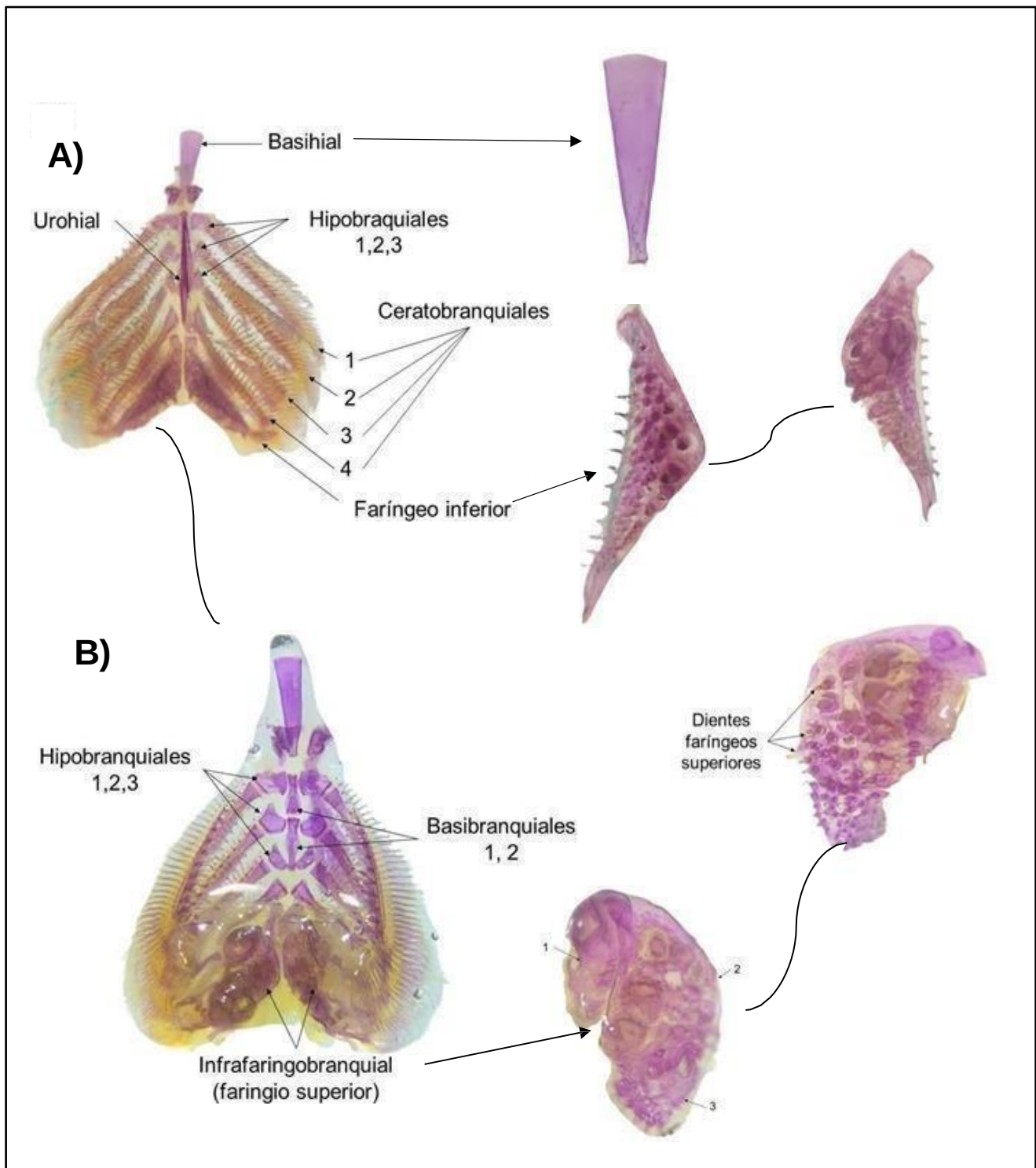


Figura 9. Aparato branquial de *T. candalarius*. A) Vista dorsal y B) vista ventral.

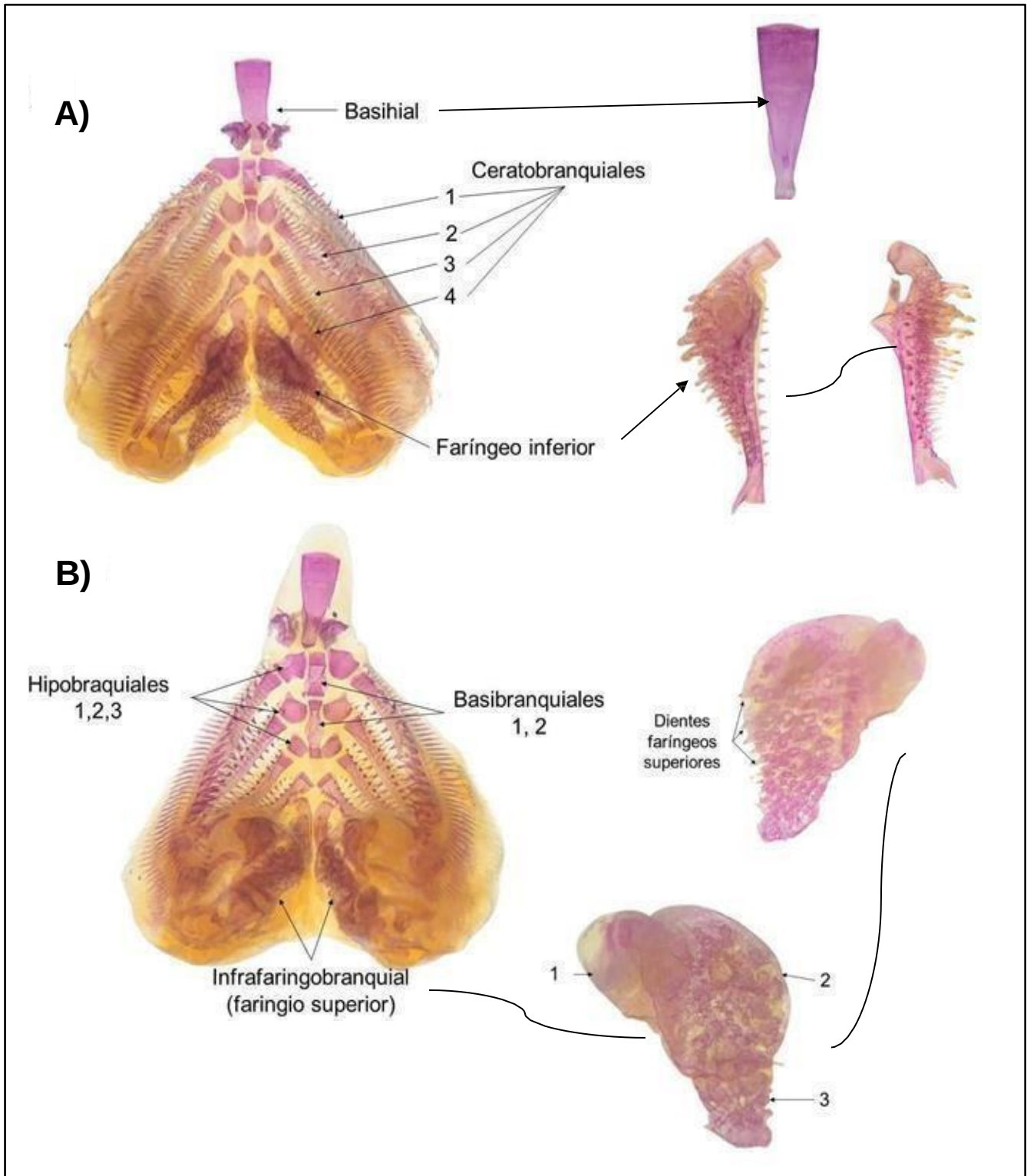


Figura 10. Aparato branquial de *T. labialis*. A) Vista dorsal y B) vista ventral.

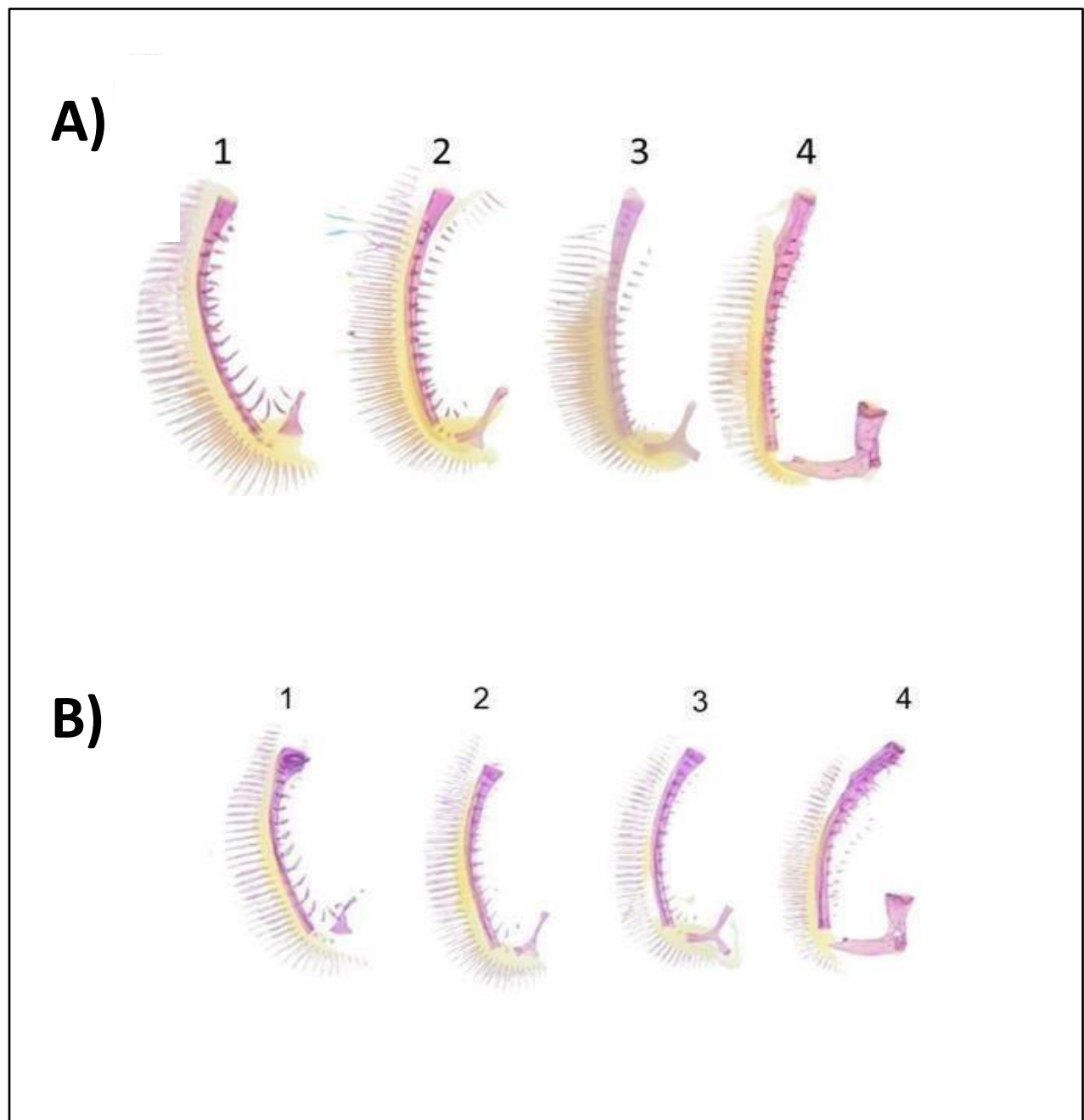


Figura 11. Ceratobranquiales yepibraquiales del uno al cuatro A) *T. labialis*, B) *T. candalarius*.

6.7 Variación intrapoblacional de *T. labialis*.

La variación intrapoblacional de *T. labialis* se encontró en los huesos: Premaxilar, Maxilar, Dentario, Interopérculo y Urohial.

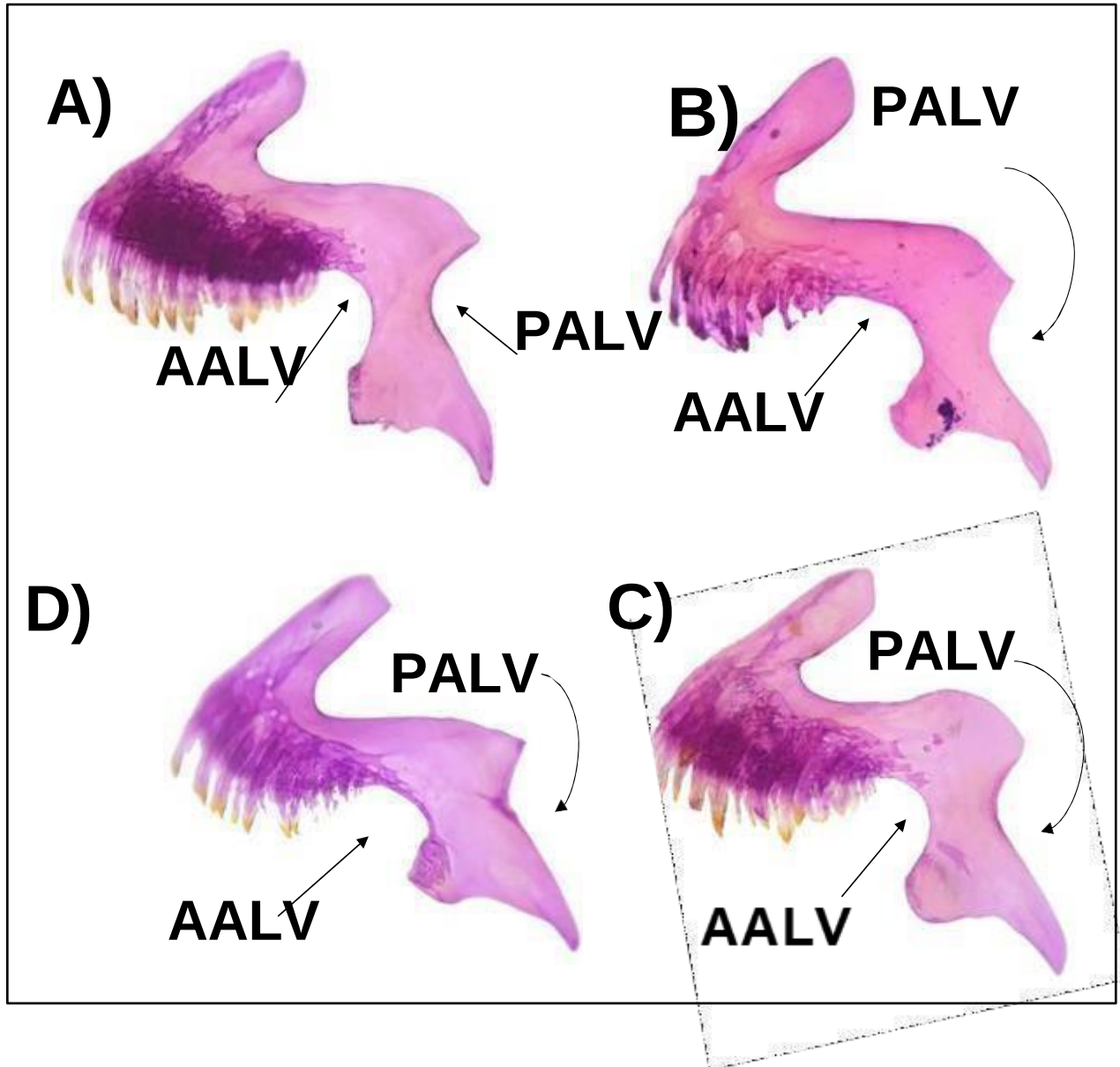


Figura 12. Proceso alveolar anterior(AALV) y proceso alveolar posterior (PALV).

6.8 Premaxilarde *T. labialis*.

El premaxilar muestra variación en el borde del proceso ascendente que es de forma roma o que no termina en punta, pero puede ser redondeado (población de Ixtapa) o truncado (Poblaciones de: Copainalá y Cintalapa) (Figura 12). También el proceso descendente del premaxilar es variable; en la población de Cintalapa se encontró que la curvatura del proceso alveolar anterior (AALV) y la escotadura del proceso alveolar posterior (PALV) no son tan pronunciados como sí ocurre en las poblaciones de Ixtapa y Copainalá (Figura 12). Particularmente la curvatura del proceso AALV es variable en los ejemplares de la misma población de Copainalá (Figura 12, B y C).

6.9 Maxilar *T. labialis*

El maxilar presenta una larga curvatura que se acentúa cerca de su posición articularia y un proceso anteroventral largamente expandido y generalmente curvado. Tiene un hueso laminar que varía en su extensión en forma truncada o roma. En la población de Copainalá el proceso anteroventral es largo, grueso o delgado; ventralmente puede ser recto o ligeramente curvado. En la parte medial del maxilar la curvatura es amplia; y el borde posterior del hueso varía en su forma (Figura 13. A y B). El proceso anteroventral de la población de Ixtapa tiende a ser más grueso y curvado. En la parte medial del maxilar la curvatura se acentúa más y el borde es truncado y ancho. En la población de Cintalapa el proceso anteroventral es grueso con una curvatura ventral más larga y terminando en punta roma y gruesa. En la parte medial del hueso, la curvatura es ligeramente más larga a diferencia de las demás poblaciones; hacia el borde posterior, el hueso es menos ancho (Figura 13).

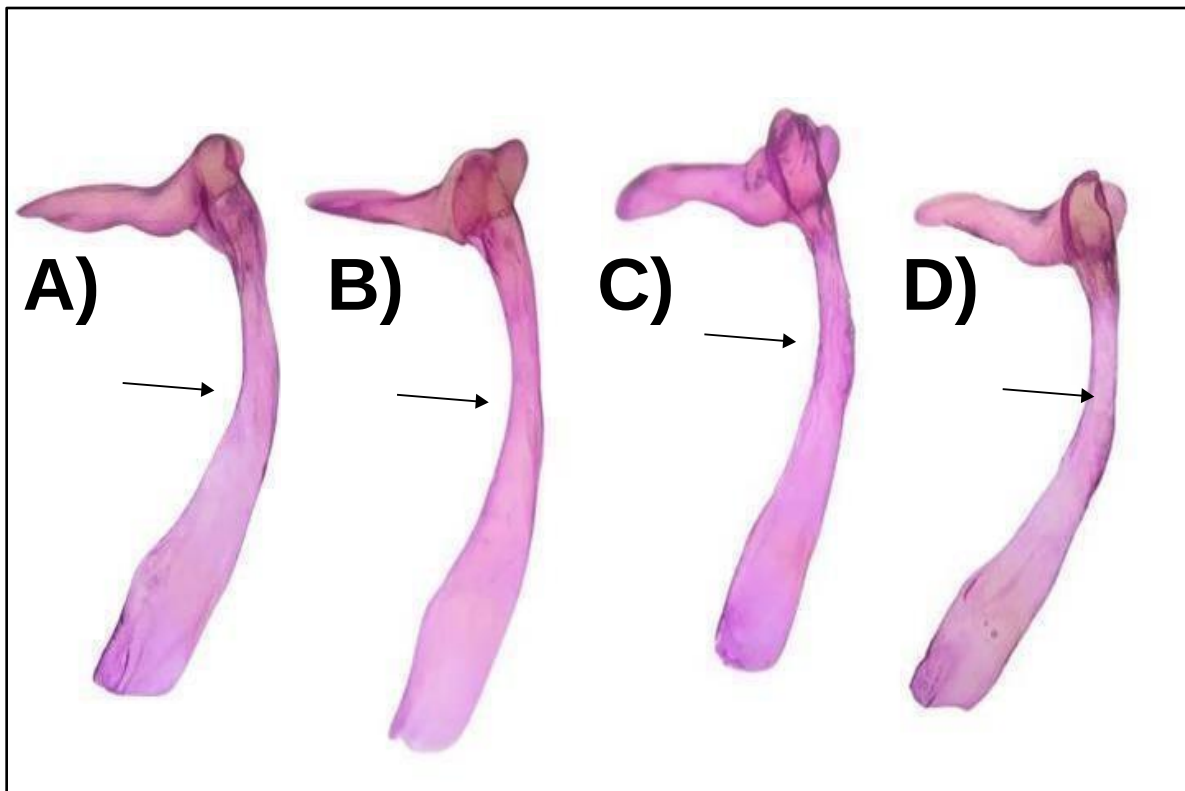


Figura 13. maxilar de *T. labialis* A) Ixtapa, B) Copainala, C) Cintalapa, D) Copainalá.

6.10 Dentario y anguloarticular de *T. labialis*

Las variaciones encontradas son en: Dentario y anguloarticular.

En el dentario, el proceso posteroventral es amplio verticalmente en las poblaciones de Ixtapa y Cintalapa; y se encuentra reducido en la población de Copainalá (Figura 14).

En el Anguloarticular, los procesos dorsal y medial se expanden verticalmente en las poblaciones de Cintalapa y Copainalá; esta expansión es reducida en la población de Ixtapa (Figura 14).

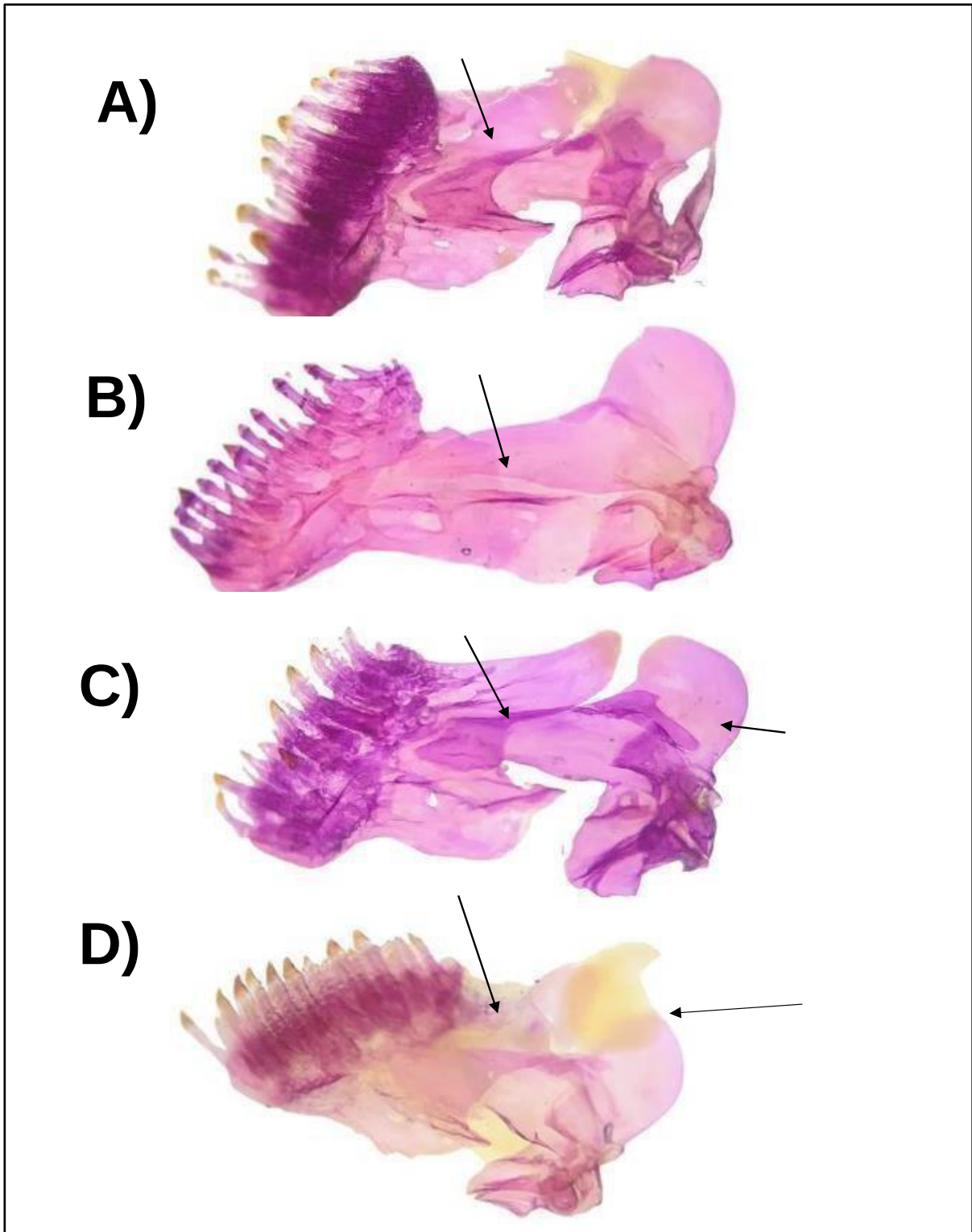


Figura 14. Dentario de *T. labialis* A) Ixtapa, B) Copainalá, C) Cintalapa, D) Copainalá.

6.11 Interopérculo *T. labialis*

Las variaciones en el interopérculo son en el tamaño de la espina anterodorsal y en la forma posterior y ancho del hueso. En la población de Ixtapa la espina es delgada y ligeramente expuesta al rebasar el borde del hueso; posteriormente tiene un borde recto poco amplio. La población de Copainalá con una espina corta que rebasa el borde del hueso; posteriormente tiene el borde redondeado y puede ser muy amplio. La población de Cintalapa tiene la espina más larga que sobresale del borde anterior del hueso. Presenta un borde posterior recto y el hueso es menos ancho (Figura 15).

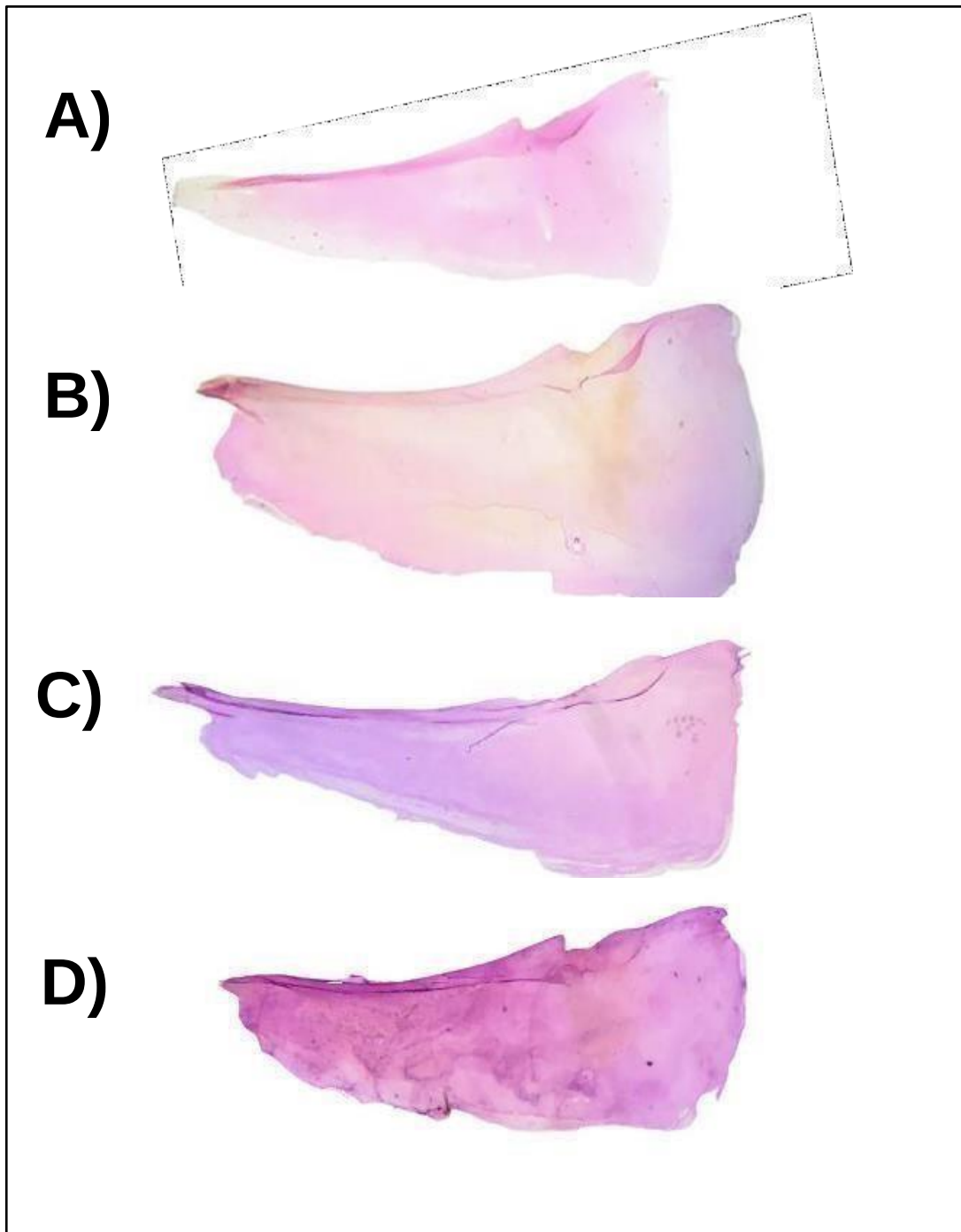


Figura 15. *T. labialis*. Interopérculo A) Ixtapa, B) Copainalá, C) Cintalapa
D) Copainalá.

6.12 Urohial *T. labialis*

Las variaciones en el urohial son: anteriormente en el tamaño de la espina, en la extensión del hueso laminar y posteriormente en la forma del hueso. En la población de Ixtapa la espina es delgada y larga, la extensión del hueso laminar alcanza un poco más de la mitad de la espina. Posteriormente es de forma redondeada. En la población de Copainalá la espina puede ser larga o corta con una larga extensión laminar que cubre casi el total de la espina. Posteriormente el borde puede ser recto o redondeado. En la población de Cintalapa la espina es corta y gruesa con la extensión laminar hasta la mitad de la espina. Posteriormente el borde es redondeado (Figura 16)

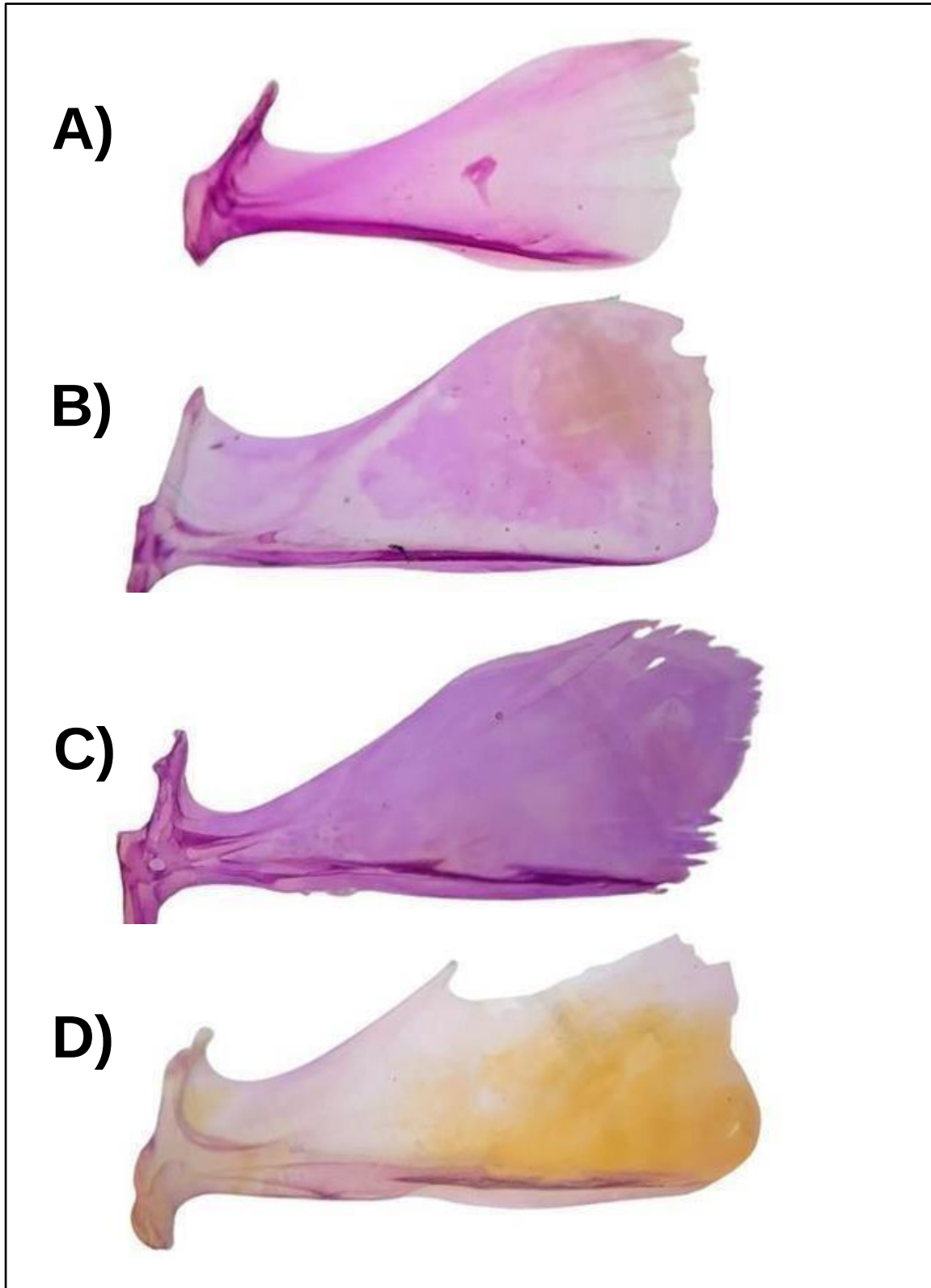


Figura 16. *T. labialis*. Urohial. A) Ixtapa, B) Copainalá, C) Cintalapa, D) Copainalá.

6.13 Variación intrapoblacionales de *T. candalarius*

Variaciones intrapoblacionales de *T. candalarius*: Premaxilar, Maxila, Dentario, Interoperculo, Urohial.

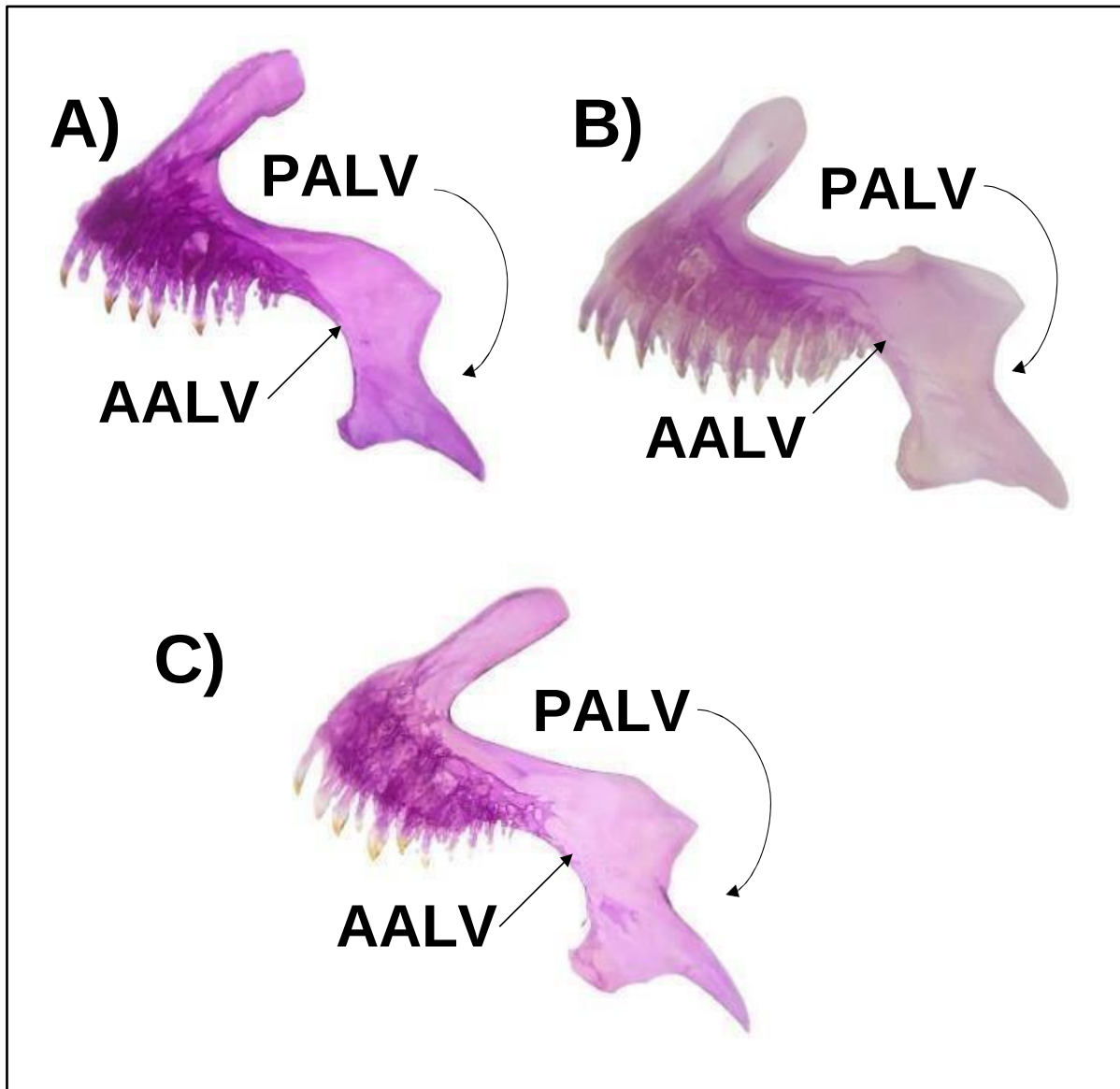


Figura 17. *T. candalarius* premaxilar A) Tzimol, B) Candelaria, C) Comitán, (AALV) proceso alveolar anterior y (PALV) proceso alveolar posterior.

6.14 Premaxilarde *T. candalarius*

Las variaciones en el premaxilar se encontraron en el proceso alveolar anterior (AALV) y proceso alveolar posterior (PALV), en las poblaciones de Tzimol y Comitán, los bordes del proceso alveolar anterior y posterior son largos y cóncavos, el hueso se adelgaza ligeramente en su parte media. En la población de la Candelaria el proceso alveolar anterior es corto y recto, el proceso alveolar posterior es cóncavo, quedando la parte media del hueso más amplia. La parte inferior del premaxilar se alarga formando una espina que es ligeramente más larga y puntiaguda en la población de Comitán (Figura 17).

6.15 Maxilar *T. candalarius*

Las variaciones encontradas en el maxilar se presentaron en la parte anteroventral del proceso que se encuentra en la posición articular del hueso. Las poblaciones de Tzimol y La Candelaria presentan el proceso recto y más largo en la primera que en la segunda. En la población de Comitán el proceso se curva y es más corto. En la parte medial del maxilar, que es un hueso laminar, las poblaciones de Tzimol y Candelaria presentan el hueso más curvado que la población de Comitán que es ligeramente más recto (Figura 18).

6.16 Dentario y anguloarticularde *T. candalarius*

Las variaciones encontradas en el dentario son en el proceso posterodorsal, el cual es menos amplio verticalmente en la población de Tzimol y más amplio en las poblaciones de la Candelaria y Comitán. El anguloarticular tiene ligeramente más extendido verticalmente el proceso dorsal y medial en la población de la Candelaria que en las poblaciones de Tzimol y Comitán (Figura 19).

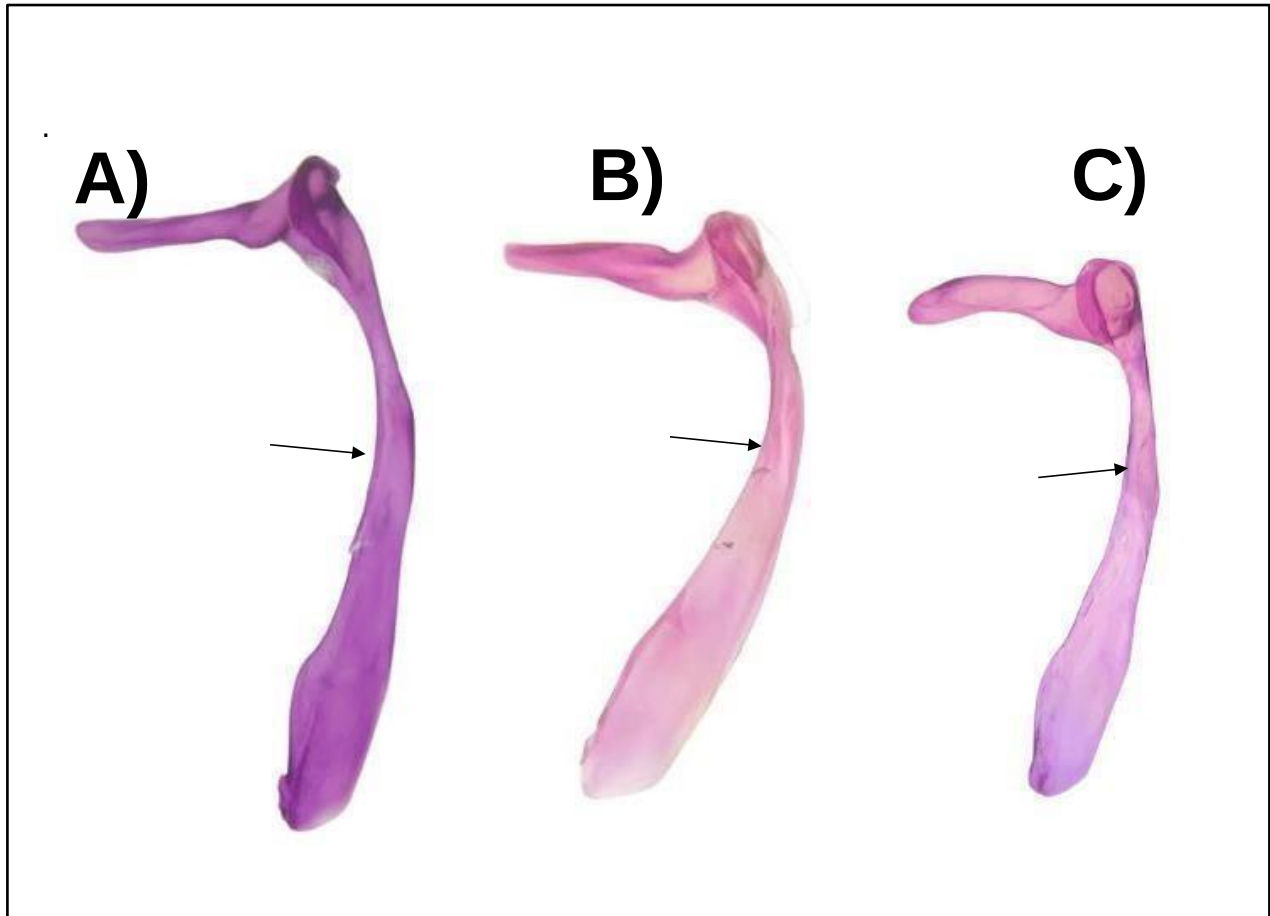


Figura 18. *T. candalarius*. Maxilar A) Tzimol, B) Candelaria, C) Comitán

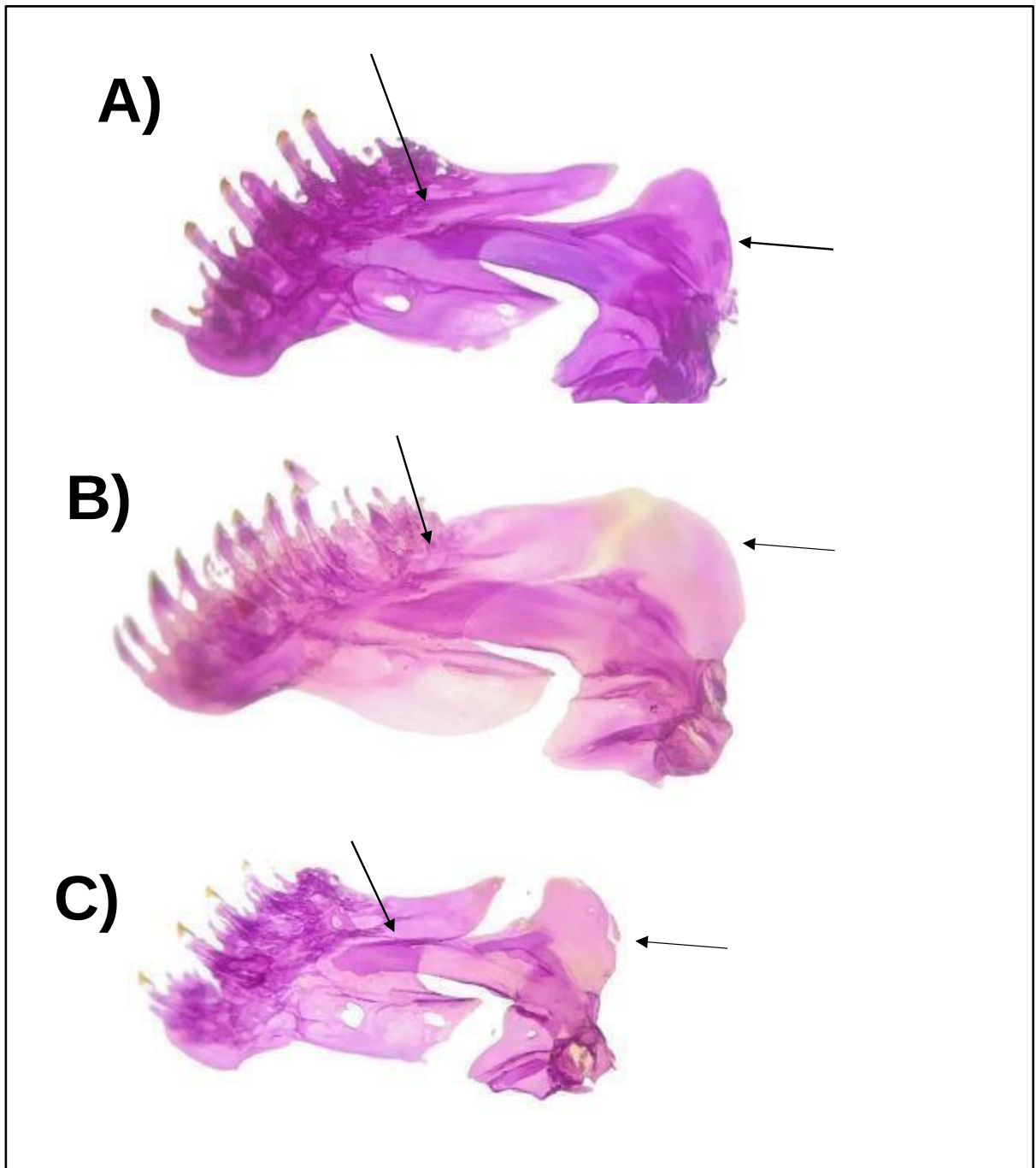


Figura 19. *T. candalarius dentario* A) Tzimol, B) Candelaria, C) Comitán.

6.17 Interopérculo *T. candalarius*

Las variaciones en el interopérculo se dan en la parte posterior del hueso; en las poblaciones de Tzimol y la Candelaria, es ligeramente recto, mientras que, en la población de Comitán es curvo. También varía el tamaño de la espina anterior del hueso, la población de Comitán presentó una espina más larga que las poblaciones de Tzimol y la Candelaria (Figura 20).

6.18 Urohial *T. candalarius*

Las variaciones en el urohial se dan en el tamaño y forma de la espina en la parte anterior y en la extensión vertical del hueso laminar posteriormente. En la población Tzimol la espina es corta y de forma redondeada. En la población de la Candelaria, la espina es larga y de forma rectangular. La población de Comitán tiene una espina larga y delgada, que se expande dorsal y ventralmente.

Posteriormente la extensión del hueso laminar es amplia verticalmente en las poblaciones de Tzimol y Comitán y reducida en la población de la Candelaria (Figura 21).

6.19 Análisis comparativo del hueso Urohial entre *T. labialis* y *T. candalarius*

El urohial es alargado, laminar, comprimido lateralmente, generalmente tiene forma triangular en vista lateral y posteriormente es convexo. Presenta una extensión dorsal anteriormente que en *T. candalarius* forma un cuello muy estrecho a diferencia de *T. labialis* que el cuello es más ancho (Figura 22). En ambas especies el hueso urohial es más largo que su altura y esta morfología difirió entre las especies (Figura 22 B y C).

A)



B)



C)



Figura 20. *T. candalarius* interoperculo A) Tzimol, B) Candelaria, C) Comitán.

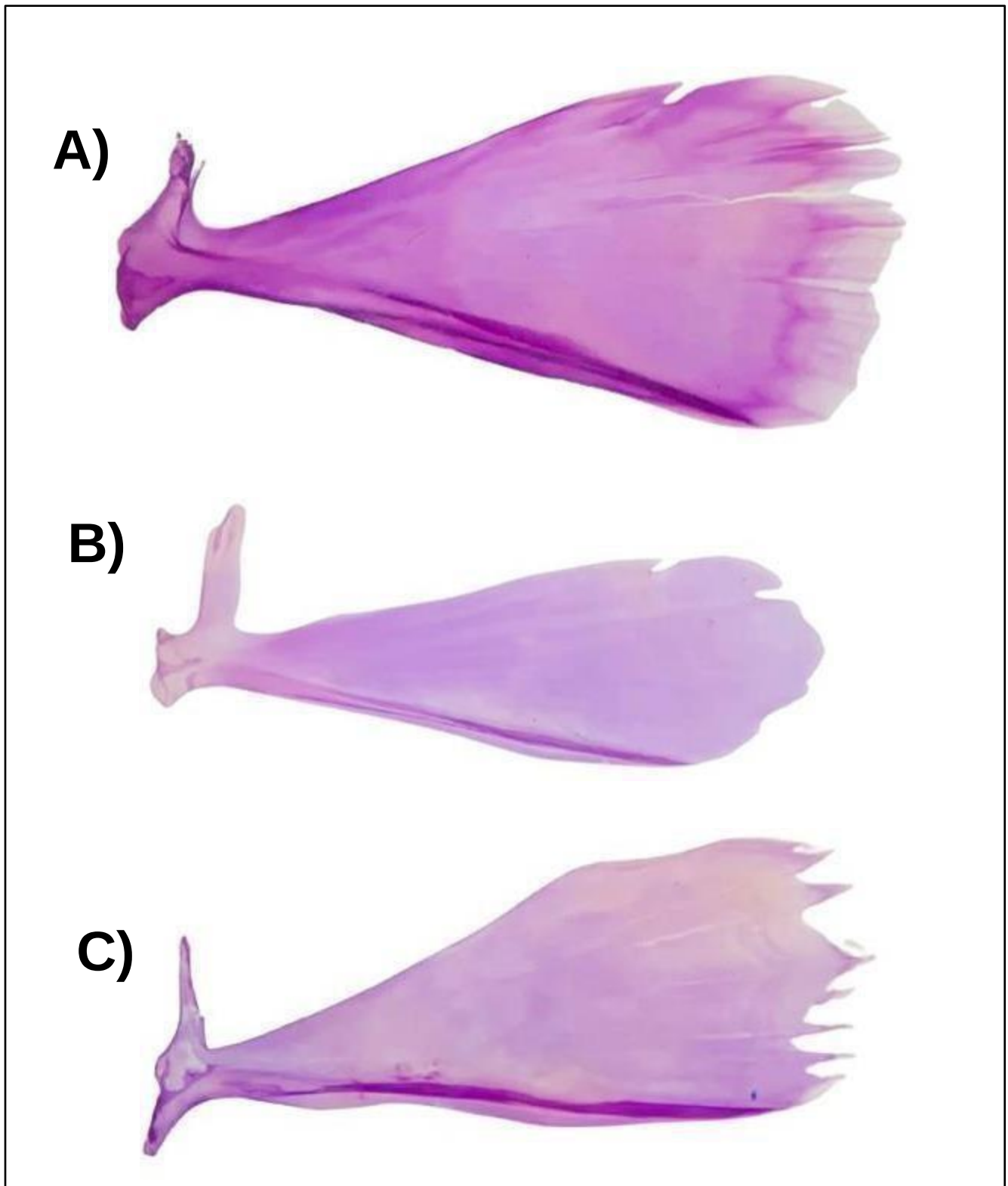


Figura 21. Variaciones intraespecíficas del Urohial de *T. candalarius* A) Tzimol, B) La Candelaria, C) Comitán.

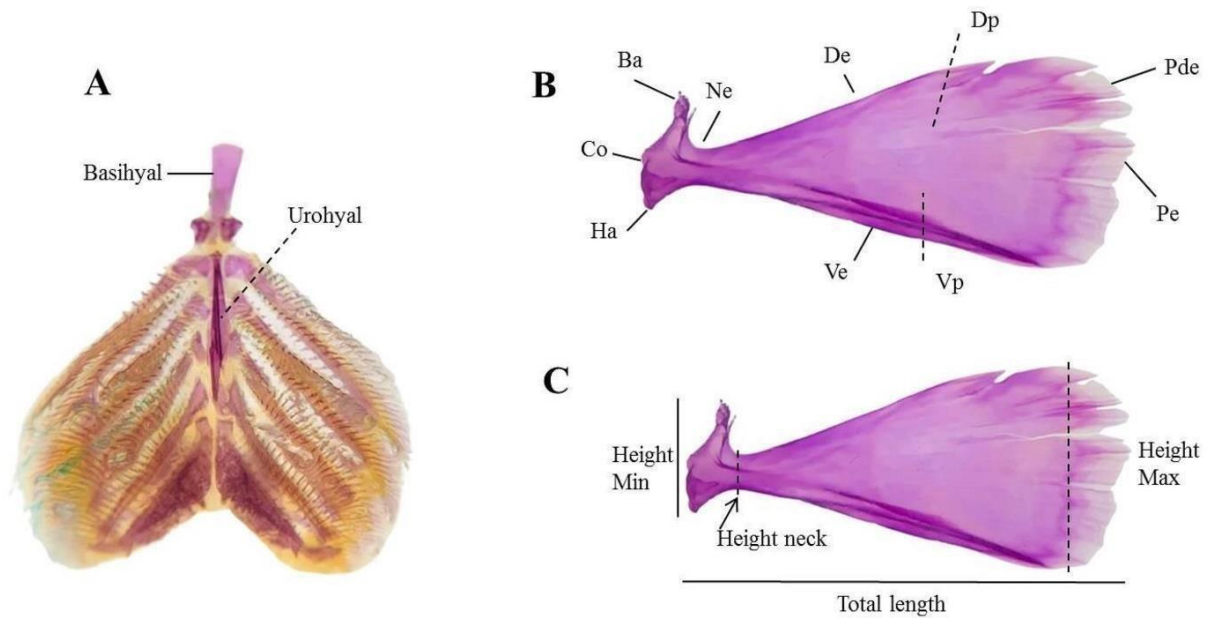


Figure 22. Morfología y terminología del hueso Urohial. Localización del hueso urohoial en el aparato branquial (A); Terminología del urohial (B); Medidas morfométricas del hueso urohial (C); Abreviaturas: Ha, hypohyal attachment; Height Min and Height Max, minimum and maximum height of the urohyal, respectively; Ba, basibranchial attachment; Co, condyle; Ne, neck; Ve, ventral extension; De, dorsal extension; Dp, dorsal plate; Pde, posterodorsal edge; Pe, posterior edge; Ve, ventral edge; Vp, ventral plate.

Las medidas morfométricas tomadas del hueso urohial en los especímenes de ambas especies son presentados en la Tabla 1. El cuello del urohial de *T. candalarius* (Fig. 22 B–C) midió entre el 6.66%–11.11% de la longitud total del hueso urohial ($\bar{x}$ = 8.75%), el cual fue más estrecho que en *T. labialis* (rango 13.15%–25%, $\bar{x}$ = 19.04%) (Fig. 16, Tabla 3). Los análisis mostraron que estas diferencias fueron estadísticamente significativas (Mann Whitney U: $Z = 3.360$, $P < 0.001$).

Cuadro 3. Resumen de las medidas morfométricas del hueso urohial de *Tlaloc labialis* y *T. candalarius*.

Caracter	<i>Tlaloc labialis</i>		<i>Tlaloc candalarius</i>	
	Rango	Media	Rango	Media
Longitud patrón (SL) [mm]	52.12–84.18	61.33	40.87–71.56	54.62
Longitud total del Urohyal UTL [mm]	3.0–5.5	4.1	3.0–4.5	3.8
Altura del cuello [%UTL]	13.15–25	19.04	6.66–11.11	8.75
Altura mínima [%UTL]	30.0–43.33	37.08	21.87–35.55	27.70
Altura máxima [%UTL]	34.0–50.0	43.78	34.21–62.22	41.69

VII. DISCUSIÓN

Los trabajos osteológicos han sido útiles para entender la relación entre la morfología y el ambiente con el único propósito de entender cómo funcionan los organismos en un contexto evolutivo y ecológico (Strauss y Bond, 1990; Wainwright y Reilly, 1994).

A partir de la revisión osteológica de las dos especies del género *Tlaloc* estudiadas (*T. labialis* y *T. candalarius*) se encontraron varios caracteres osteológicos del esqueleto visceral, que pueden ser usados para delimitar ambas especies. En términos generales la descripción del hueso premaxilar, coincide con la descrita por Costa (1998) y González-Díaz *et al.* (2014) para el género *Tlaloc*, quienes la describen como una estructura de una sola pieza, que es ligeramente alargada y la base del proceso es más delgada, prácticamente conserva el mismo ancho en toda su longitud. Arévalos (2018) menciona que el premaxilar de *T. candalarius* presenta un proceso ascendente amplio y el borde bucal dentado. Es un hueso largo lateralmente y su extremo anterior presenta un proceso ascendente amplio de borde romo, que hace contacto con la región anteroventral del neurocráneo; el proceso descendente presenta una amplia escotadura. En ambas especies analizadas en este estudio se presenta como lo describe Arévalo (2018).

El maxilar fue descrito por Costa (1998), como una estructura que presenta variaciones en su forma entre las distintas familias de Cyprinodontiformes. Arévalos (2018), describió el dentario de *T. candalarius* como un hueso grande de la mandíbula inferior en cuya superficie externa se marca el canal de la línea lateral; el borde anterior tiene forma de triangular, con un conjunto de dientes cónicos; lo cual coincide con la observada en el presente estudio; sin embargo, en *T. labialis* la porción más distal del proceso maxilar ventral es curva, y su punta está truncada, mientras que en *T. candalarius* la porción distal del proceso del maxilar es curva, pero su punta tiene un borde romo.

González-Díaz (2014), describieron los huesos articular y cuadrado en las especies del *Profundulus* y *Tlaloc*; encontrando diferencias cualitativas en ambas estructuras entre los dos géneros. Domínguez-Cisneros *et al.*, (2023) señala que el cuadrado de *T. hildebrandi* es relativamente grande e irregular; con una porción anterior trunca orientada hacia adelante y que se une al palatino. Esta estructura

difiere por que anteriormente es de forma redondeada en las dos especies evaluadas en este estudio.

El urohial es un hueso impar de origen dérmico, localizado en el centro de la mandíbula inferior de los teleósteos y que constituye un elemento fundamental para el mecanismo de apertura bucal de los peces (Kusaka, 1974). Por su particular morfología y características, esta estructura ha sido considerada de utilidad para el estudio de diversos aspectos de la biología de los peces (González-Acosta *et al.*, 2014). En *Tlaloc* como en otros teleósteos, el urohial, se forma por la osificación de un tendón impar del músculo *sternohyoideus* (Domínguez-Cisneros *et al.*, 2023). En ambas especies analizadas en este estudio se encontró que el urohial es más largo que alto, y su morfología difiere entre ambas especies. El cuello del urohial en *T. candalius* es relativamente más estrecho que en *T. labialis*; además la extensión dorsal del urohial hace contacto con la porción basal de la atadura del basibranquial en *T. candalarius*; mientras que en *T. labialis* la extensión dorsal del urohial alcanza la porción superior de la atadura del basibranquial. Esta estructura es el carácter más notable que permite diferenciar a ambas especies; por lo que se sugiere utilizarla como un carácter de importancia taxonómica en la discriminación de ambas especies y con uso potencial para la taxonomía y sistemática de los profundúlidos.

Los resultados encontrados en el presente estudio son consistentes con los estudios morfológicos de los peces profundúlidos (Domínguez-Cisneros, 2023; González-Díaz *et al.*, 2014); 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); por lo que se ha sugerido sinonimizarlas.

Basado en los resultados del presente estudio, se sugiere mantener la validez de *T. candalarius*, dado que los caracteres observados particularmente en la morfología del hueso urohial, permiten discriminar a ambas especies. Recientemente Domínguez-Cisneros *et al.* (2023) obtuvo resultados similares utilizando caracteres de la columna vertebral, que permitieron discriminar a *T. labialis* de *T. candalarius* por el conteo en el número de vértebras; así como por 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 triangulares un carácter que solamente se presentó en *T. labialis*; mientras que en *T. candalarius* es la forma típica de abanico. Morcillo *et al.* (2016) sugiere que *T. candalarius*, es producto de un evento de especiación reciente, por eso la poca divergencia genética entre este complejo de especies.

La importancia taxonómica que se le ha otorgado a las características óseas y su interpretación evolutiva tienen consecuencias significativas en la construcción de hipótesis filogenéticas (González- Díaz. 2014). Particularmente las estructuras relacionadas con el aparato branquial en los peces analizados, presentan evidencias sustantivas para los estudios de taxonomía, por lo que es importante incorporar esta información para evaluar las relaciones de parentesco entre los miembros de la familia Profundulidae. Así como, su clasificación dentro de los Cyprinodontiformes, en particular sus vínculos con la familia Goodeidae, su grupo hermano (Domínguez-Cisneros, 2023).

VIII. CONCLUSIONES

Los estudios osteológicos proporcionan una herramienta valiosa para la comprensión de la relación entre la morfología, el ambiente y la evolución de los organismos. La organización general del aparato branquial de las especies analizadas *Tlaloc labialis* y *T. candarius* corresponde al patrón morfológico general de los teleósteos y en particular de los Cyprinodontiformes.

Los resultados del presente estudio representan los primeros estudios en la caracterización de la osteología del esqueleto branquial en *T. labilis* y *T. candarius*; 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; del cual se derivan las principales conclusiones:

Existen variaciones intra e interespecíficas en los elementos asociados al aparato branquial entre las especies analizadas, tales como la forma de la premaxila y el hueso maxilar, el dentario, anguloarticular, retroarticular, opérculo, aparato hiodeo, faringeo inferior, 4 epibranquial, faringobraquiales superiores y varias estructuras asociadas; sin embargo, la morfología del hueso urohial, se presenta como la estructura ósea más importante que puede ser utilizada como caracteres disponibles para la diferenciación del complejo *T. labilis*-*T. candarius* y que además tiene potencial de uso para la identificación de los profundúlidos a nivel de especies y géneros.

IX. REFRENCIAS DOCUMENTALES

- Arevalos- Hernadez, G. morfología de *Tlaloc candalarius* (Hubbs, 1924). 2018. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas.
- Costa, W. 2012. Phylogeny and of the Cyprinodontiformes (Euteleostei: Atherinorpha Arappraisal). Phylogeny and classification of neotropical fishes part 6.
- Domínguez-Cisneros, S. E., Domínguez, O., Velázquez, E., & Pérez, R. 2023. Redescription and diagnoses of the genera *Profundulus* and *Tlaloc* (Cyprinodontiformes: Profundulidae), Mesoamerican endemic fishes. Neotropical Ichthyology, 11(2), e20220089. [DOI: 10.1590/1982-0224-2022-0089].
- Domínguez-Cisneros, S. E., Kobelkowsky, A., & Velázquez, E. 2023. Trophic morphology and diet of the endangered fish. Revista de Biología Tropical, 71(1), 54253. [DOI: 10.15517/rev.biol.trop..v71i1.54253].
- González-Díaz, A. A. 2008. Estudio morfométrico y osteológico del género *Profundulus* (Cyprinodontiformes: Profundulidae). Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Autónoma de Querétaro. México. 103 p.
- González-Díaz, A. A.; E. Díaz-Pardo, Miriam Soria-Barreto y Rocío Rodiles Hernández., 2005. Morphometric Analysis of the Fish Included in the Labialis Group, Genus *Profundulus* (Cyprinodontiformes: Profundulidae), in Chiapas, México Revista Mexicana de Biodiversidad, vol. 76: 55- 61.
- Hubbs, C. L. 1924. Studies of the fishes of the order Cyprinodontes. University of Michigan Museum of Zoology, Miscellaneous Publications, (13).
- Lagler, K. F., Bardach, J. E., & Miller, R. R. (1990). *Ichthyology: The study of fishes* (2nd ed.). John Wiley & Sons.
- Maza-Cruz. F. 2023. Osteología comparada del esqueleto caudal y columna vertebral del género *Tlaloc* (Cyprinodontiformes: *Profundulidae*). Tesis de Maestría. Facultad de ciencias biológicas, universidad de ciencias y artes de Chiapas.

- Morcillo, F., Ornelas-García, CP, Alcaraz, L., Matamoros, WA, & Doadrio, I. 2016. Relaciones filogenéticas e historia evolutiva de la familia de peces de agua dulce endémicos de Mesoamérica Profundulidae (Cyprinodontiformes: Actinopterygii). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 94, 242-251.
- Miller RR, Minckley WL, Norris SM. 2005. *Freshwater fishes of Mexico*. The University of Chicago Press, Chicago, 490 pp
- Miller. R. R. 1955. A systematic review of the Middle American fishes of the genus *Profundulus*. *Miscellaneous Publications Museum of Zoology, University of Michigan* 92:1- 64
- Nelson, J. S. 2006. *Peces del Mundo*. Cuarta edición. J. Wiley. Nueva York. Estados Unidos de América
- Parenti, L.R. 1981. Un análisis filogenético y biogeográfico de los Peces Cyprinodontiformes (Teleostei, Atherinomorpha). *B. Am. Mus. Nat. Hist.*, 168, 335-557.
- Snoeks, J.; Laleye, P.; Contreras-MacBeath, T. (Coordinadores). 2009. *Profundulus candalarius*. The IUCN Red list of threatened species: <http://www.iucnredlist.org/details/169379/0> (Consulta: 21-agosto-2015).
- Rivera Cardona, G. A., García, A., & Moreno Gómez, F. A. 2015. Técnica de diafanización con alizarina para el estudio del desarrollo óseo. *Revista Colombiana de Salud Libre*, 10(2), 109-115.
- Snoeks, J.; Laleye, P.; Contreras-MacBeath, T. (Coordinadores) 2009. *Profundulus candalarius*. The IUCN Red list of threatened species: <http://www.iucnredlist.org/details/169379/0> (Consulta: 21-agosto-2015).
- Taylor, WR, Van Dyke, GC. 1985. Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. *Cybio* 9, 107-119.

Anexo I

Comparative morphology of the urohyal bone between two species of the genus *Tlaloc* (Actinopterygii, Cyprinodontiformes, Profundulidae)

Alejandro PADILLA-SÁNCHEZ¹, Sara E. DOMÍNGUEZ-CISNEROS¹,
Ernesto VELÁZQUEZ-VELÁZQUEZ¹, Abraham KOBELKOWSKY²

¹ Colección Ictiológica, Museo de Zoología, Instituto de Ciencias Biológicas, Universidad de Ciencias y Artes de Chiapas, Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, Mexico

² Laboratorio de Peces, Departamento de Biología, Universidad Autónoma Metropolitana, Unidad Iztapalapa, México City, Mexico

<https://zoobank.org/092F2B08-7882-4374-9F2C-C93323E1188F>

Corresponding author: Ernesto Velázquez-Velázquez (ernesto.velazquez@unicach.mx)

Academic editor: Justin Bagley ♦ **Received** 27 February 2025 ♦ **Accepted** 21 May 2025 ♦ **Published** 1 July 2025

Citation: Padilla-Sánchez A, Domínguez-Cisneros SE, Velázquez-Velázquez E, Kobelkowsky A (2025) Comparative morphology of the urohyal bone between two species of the genus *Tlaloc* (Actinopterygii, Cyprinodontiformes, Profundulidae). *Acta Ichthyologica et Piscatoria* 55: 133–137. <https://doi.org/10.3897/aiep.55.151622>

Abstract

The genus *Tlaloc* contains four valid species and forms part of the family Profundulidae, a group of small freshwater fishes endemic to the Mesoamerican region. The objective of this study was to provide a detailed description of the urohyal bone of two species of *Tlaloc*—*Tlaloc labialis* (Günther, 1866) and *T. candalarius* (Hubbs, 1924)—and to evaluate the usefulness of this osteological structure in delimiting these taxa. The urohyal bone is a single bony structure located in the ventral part of the head in both species and is the result of ossification of an unpaired tendon of the sternohyoideus muscle. Data from cleared and double-stained museum specimens of the focal taxa were analyzed, including morphometric measurements of each urohyal bone taken using an ocular micrometer connected to a stereomicroscope. We found the most notable difference between the two species was the height of the urohyal neck, which was significantly narrower in *T. candalarius* (6.66%–11.11% of total urohyal length) than in *T. labialis* (13.15%–25%) based on the non-parametric Mann–Whitney *U* test. Our results show that measuring the urohyal bone offers a reliable and attractive alternative for taxonomic determination of *Tlaloc labialis* vs. *T. candalarius* due to the operational simplicity and speed of such measures. Our work also highlights the utility of more detailed osteological analyses in taxonomic and systematic studies of profundulids.

Keywords

Endemic species, freshwater fishes, osteology, profundulids, taxonomy

Introduction

The family Profundulidae has a limited geographical distribution extending from southern Mexico into Central America (Miller 1955; Morcillo et al. 2016), making it one of the few freshwater fish families endemic to Mesoamerica. Profundulids are small-bodied fish (maximum standard length of ~120 mm) and often the only fish species in the upper parts of the river basins where they are found (Calixto-Rojas

et al. 2021). Recently, Morcillo et al. (2016) and Domínguez-Cisneros et al. (2023a) resurrected the genus *Tlaloc* Álvarez et Carranza, 1951 within Profundulidae, as molecular and morphologic evidence supported the monophyly of the group. Currently, *Tlaloc* comprises only four valid species, which are geographically restricted to the upper part of the Grijalva–Usumancinta basin in Mexico and Guatemala and the Ulúa River in Honduras (Miller et al. 2005; Morcillo et al. 2016; Domínguez-Cisneros et al. 2023a).

Osteology has been an important source of morphological characters to propose hypotheses of phylogenetic relationships between the profundulids and their sister families within the order Cyprinodontiformes (see Parenti 1981; Costa 1998; Ghedotti et al. 2005), as well as between genera and between species within Profundulidae (Uyeno and Miller 1962; González-Díaz et al. 2014; Domínguez-Cisneros et al. 2023a). However, our knowledge of the systematics of Profundulidae remains incomplete: genera and species are poorly defined, and little is known about their osteology (Morcillo et al. 2016). Clearly, there is a need to improve information available on the morphological and osteological characteristics of this group of fishes (Domínguez-Cisneros et al. 2023a).

The urohyal bone has long been considered a synapomorphy of teleost fishes (De Pinna 1996). Further studies indicated that morphological features of the urohyal bone have taxonomic significance and can be used to discriminate fish families, genera, and even species (Arratia and Schultze 1990; Chollet-Villalpando et al. 2014; Teimori et al. 2018; Jiménez-Reyes et al. 2020). Among osteological elements of the teleostean fishes, the urohyal bone has proved to be of exceptional significance in fish systematics (Yazdani and Prakash 1990), for example, in discriminating among species of the cyprinodontiform genus *Aphanius* Nardo, 1827 (see Teimori et al. 2018). Therefore, it is hypothesized that the urohyal bone contains sufficient information to reveal taxonomic and even phylogenetic relationships among the fishes.

The taxonomic validity of *T. candalarius* in relation to *T. labialis*, its hypothesized sister species, has been questioned due to the low genetic variation observed within this species complex (Calixto-Rojas et al. 2021), in addition to external morphological similarity between both species (González-Díaz et al. 2014); therefore, it has been suggested to synonymize them. In light of this, the objective of this study is to provide a detailed description of the urohyal bone of two species from the genus *Tlaloc*—*Tlaloc labialis* (Günther, 1866) and *Tlaloc candalarius* (Hubbs, 1924)—and to evaluate the usefulness of this osteological structure in the taxonomic delimitation of these species.

Materials and methods

Specimens deposited in the Fish Collection of the Zoology Museum of the University of Sciences and Arts of Chiapas were analyzed (collection code: 1138, MZ-UNICACH; Sabaj 2020). All specimens were previously fixed in a 10% formalin solution and preserved in 70% ethanol for long-term storage. Material examined in this study included two species from the Grijalva-Usumacinta basin in Chiapas, Mexico, and along the Mexico-Guatemala border.

Adult specimens were chosen for analysis without separating the sexes due to the low number of individuals available overall and for each sex. Fish standard length (SL; measured with calipers to the nearest 0.01 mm) ranged from 52.12 to 84.18 mm in *T. labialis* and 40.87 to 71.56 mm in *T. candalarius* (Table 1). The urohyal bone

was observed from specimens of each species that had been cleared and double-stained using alizarin to stain bone and counter-stained with alcian blue to identify cartilage according to the technique described by Taylor and Van Dyke (1985). A digital image of each urohyal bone was taken from the left side using a digital camera (Velab brand VE-LX1800) connected to a Zeiss stereomicroscope (model Stemi DV4). Morphometric measurements of each urohyal bone were taken using an ocular micrometer (10 mm DIV 0.1 mm) connected to the same stereomicroscope and are presented as percentages of the total length of the urohyal; this standardization was applied in an attempt to limit the potential influence of variability due to allometric growth. We tested for statistically significant differences in morphometric data between the species using a non-parametric Mann–Whitney *U* test. Statistical tests were considered significant at the $\alpha = 0.05$ level.

Table 1. Summary of morphometric measurements of *Tlaloc labialis* and *T. candalarius* specimens and their urohyal bones.

Character	<i>Tlaloc labialis</i>		<i>Tlaloc candalarius</i>	
	Range	Mean	Range	Mean
Standard length (SL) [mm]	52.12–84.18	61.33	40.87–71.56	54.62
Urohyal total length UTL [mm]	3.0–5.5	4.1	3.0–4.5	3.8
Neck height [%UTL]	13.15–25	19.04	6.66–11.11	8.75
Minimum height [%UTL]	30.0–43.33	37.08	21.87–35.55	27.70
Maximum height [%UTL]	34.0–50.0	43.78	34.21–62.22	41.69

Measurement results are presented based on examining $N = 8$ individuals per species.

Material examined. *Tlaloc labialis*: MZ-UNICACH 3467, 2; MZ-UNICACH 3240, 2; MZ-UNICACH 1402, 2; MZ-UNICACH 7686, 2. *Tlaloc candalarius*: MZ-UNICACH 5715, 3; MZ-UNICACH 5709, 2. MZ-UNICACH 7566, 3. All specimens were cleared and double-stained.

Results

In species of the genus *Tlaloc*, as in other teleosts, the urohyal bone is a single bony structure located in the ventral part of the head (Fig. 1A, modified after Domínguez-Cisneros et al. 2023a) in both species and is formed by the ossification of an unpaired tendon of the *sternohyoideus* muscle {e.g., the urohyal bone of *Tlaloc hildebrandi* (Miller, 1950) is shown in Fig. 1B, modified after Domínguez-Cisneros et al. 2023b}. The *Tlaloc* urohyal is enlarged, laterally compressed, triangular in lateral view, and the posterior portion is convex in the focal taxa (Figs. 2B–C, 3A–F). In both species, we found that the urohyal bone was longer than its height, and its morphology differed between the species (Fig. 3). Generally, the urohyal bones in these species consisted of a basibranchial attachment (Ba), hypohyal

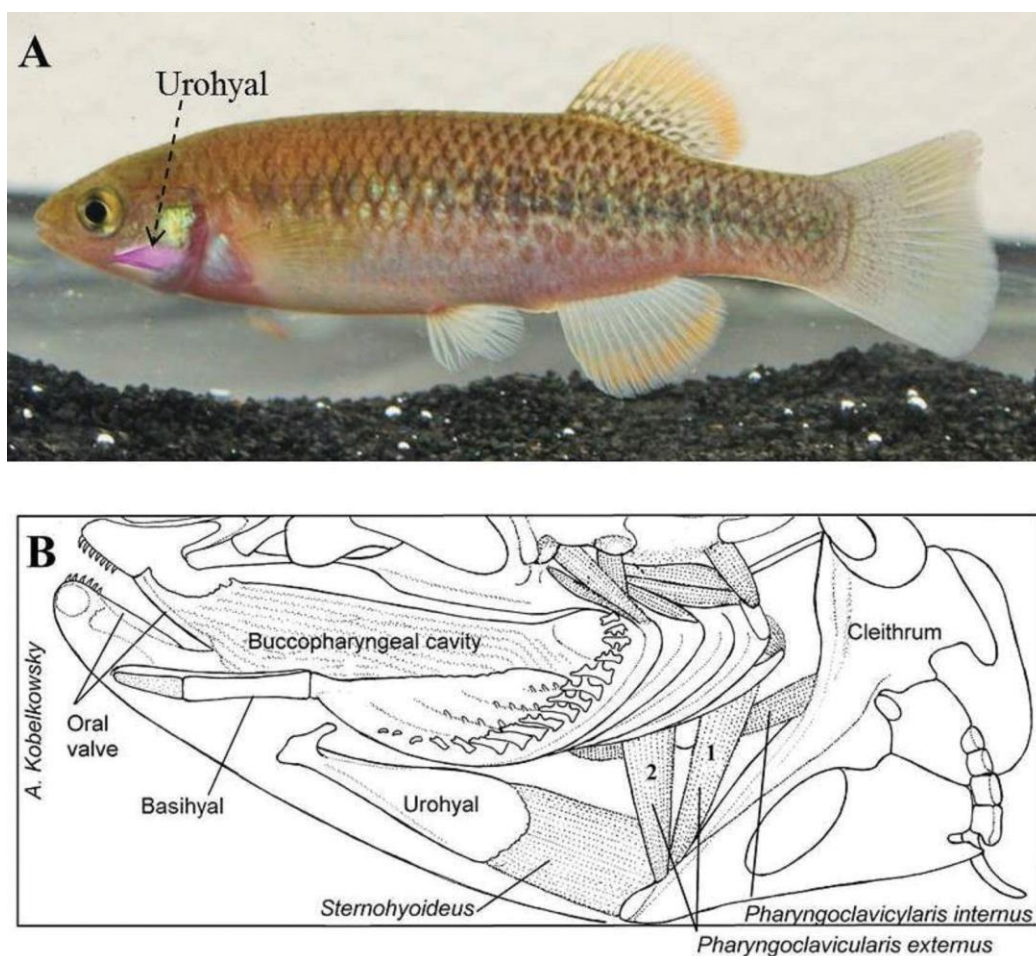


Figure 1. Position of the urohyal bone in the oral cavity of *Tlaloc candalarius* (A) (modification of figure 6A of Domínguez-Cisneros et al. 2023a) and relative position of the urohyal in *T. hildebrandi* (B) (modification of figure 4B of Domínguez-Cisneros et al. 2023b).

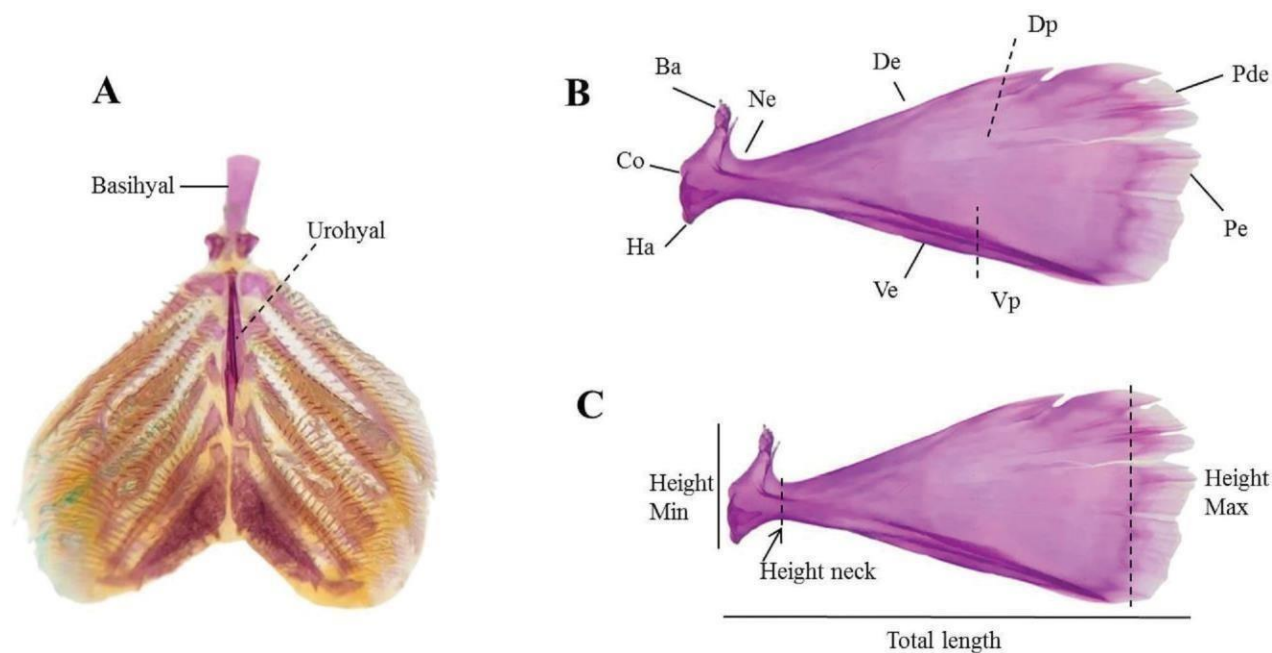


Figure 2. Urohyal bone morphology and terminology. Location of the urohyal bone in the branchial apparatus (A); terminology of the urohyal bone (B); and morphometric measurements made on specimen urohyal bones in this study (C; example: *Tlaloc candalarius*). Abbreviations: Ha, hypohyal attachment; Height Min and Height Max, minimum and maximum height of the urohyal, respectively; Ba, basibranchial attachment; Co, condyle; Ne, neck; Ve, ventral extension; De, dorsal extension; Dp, dorsal plate; Pde, posterodorsal edge; Pe, posterior edge; Vp, ventral plate.

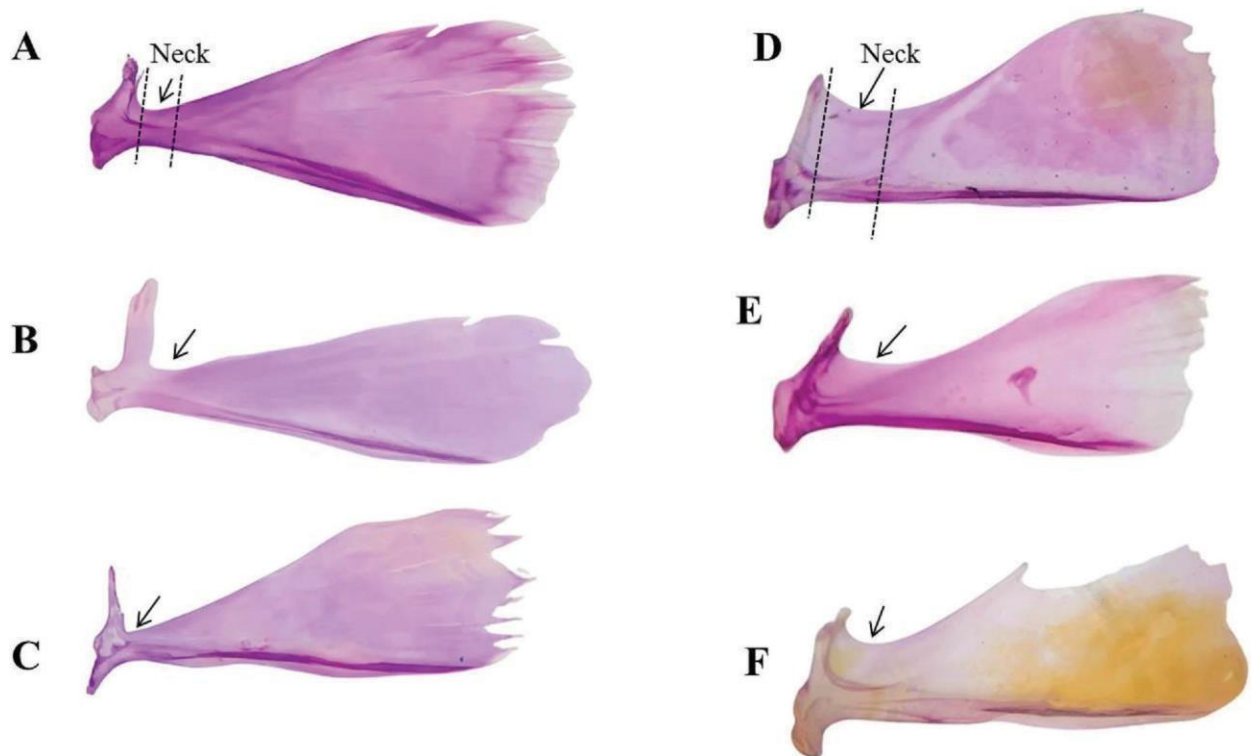


Figure 3. Lateral view of the urohyal of *Tlaloc* species from the Grijalva-Usumacinta basin. Images are presented for *Tlaloc candalarius* (A–C) and *T. labialis* (D–F), and arrows were added to indicate the urohyal neck.

attachment (Ha) and condyle (Co) attached to the anterior margin (Fig. 2B); these structures show considerable intra- and inter-specific variation concerning their shapes (Fig. 3A–F). We also found that the urohyals had four distinguishable edges—dorsal (De), ventral (Ve), posterior (Pe), and posterodorsal (Pde) edges. In addition, there were two plates, with the dorsal plate (DP) usually wide and the ventral plate (VP) often narrow (Fig. 2B).

Morphometric data we collected from specimen urohyal bones (Fig. 2C) are presented in Table 1. The neck of the urohyal bone of *T. candalarius* (Fig. 3A–C) measured 6.66%–11.11% of the urohyal total length ($\bar{x} = 8.75\%$), which was narrower than that of *T. labialis* (Fig. 3D–F; range 13.15%–25%, $\bar{x} = 19.04\%$). Our analyses showed that this difference was statistically significant (Mann–Whitney U : $Z = 3.360$, $P < 0.001$). In addition, we found that the most notable qualitative difference was that the dorsal extension of the urohyal made contact with the basal portion of the basibranchial attachment in *T. candalarius* (Fig. 2A–C), while in *T. labialis* the dorsal extension of the urohyal reached the upper end of the basibranchial attachment (Fig. 3D–F).

Discussion

In this study, we described and compared, for the first time, the morphology of the urohyal bone of two species in the profundulid genus *Tlaloc*. Costa (1998) previously

described the urohyal bone in cyprinodontiform fishes and found that, although very variable in shape, it was clearly deeper, was a single bony structure located in the ventral part of the head and formed as ossification of a n unpaired tendon of the *sternohyoideus* muscle. More recently, Domínguez-Cisneros et al. (2023b), described the urohyal bone of *Tlaloc hildebrandi* as enlarged, laterally compressed, and triangular in lateral view, with the posterior portion convex. Thus, the urohyal bone of the focal species analyzed in the current study was generally similar to the descriptions of Costa (1998) and Domínguez-Cisneros et al. (2023b). However, we detected two characters that we found to be useful for discriminating *T. labialis* vs. *T. candalarius*. The first was the width of the neck of the urohyal bone, which is narrower in *T. candalarius* than *T. labialis*. The interspecific morphometric difference in this character was substantial and highly significant, showing no overlap between the species. Secondly, there was a notable difference in the shape of the bone, although additional analyses using geometric morphometric (Zelditch et al. 2012) would likely be necessary to better quantify such differences.

We conclude that the urohyal bone appears to provide a reliable set of characters for differentiating between these closely related species, and that this technique (Clearing and double-staining) is advantageous in its operational simplicity and speed (in contrast to X-ray radiography or high resolution 2D X-ray images; that they are highly specialized and very expensive to acquire). Our findings demonstrate the potential application of urohyal characters

in taxonomic and systematic studies of profundulids; however, further research on this matter is required, particularly using a larger number of samples and localities.

Evidence gathered in this study suggest that *T. candalarius* should be maintained as a distinct taxon since the observed characters of the urohyal bone allow discriminating it from its presumed sister taxon. Recently, Domínguez-Cisneros et al. (2025) came to the same conclusion using caudal complex characters and the number of vertebrae to discriminate *T. labialis* from *T. candalarius*. Thus, the morphological analysis for this species complex provides further evidence that *T. candalarius* is a valid taxon. Morcillo et al. (2016)

suggested that *T. candalarius* could effectively be the product of a very recent speciation event, and additional studies are needed to help elucidate the degree of ecological divergence between these two taxa.

Acknowledgments

We thank Manuel Anzueto and Fabiola Maza for their technical assistance in the field and laboratory. The authors thank Justin Bagley and anonymous reviewers for their helpful comments and suggestions, which improved this manuscript.

References

- Arratia G, Schultze HP (1990) The urohyal: Development and homology within osteichthyans. *Journal of Morphology* 203(3): 247–282. <https://doi.org/10.1002/jmor.1052030302>
- Calixto-Rojas M, Lira-Noriega A, Rubio-Godoy M, Pérez-Ponce de León G, Pinacho-Pinacho CD (2021) Phylogenetic relationships and ecological niche conservatism in killifish (Profundulidae) in Mesoamerica. *Journal of Fish Biology* 99(2): 396–410. <https://doi.org/10.1111/jfb.14727>
- Chollet-Villalpando JG, De La Cruz-Agüero J, García-Rodríguez FJ (2014) Comparison of urohyal bone morphology among gerreid fish (Perciformes: Gerreidae). *Italian Journal of Zoology* 81(2): 246–255. <https://doi.org/10.1080/11250003.2014.912681>
- Costa W (1998) Phylogeny and classification of Rivulidae revisited: origin and evolution of annualism and miniaturization in rivulid fishes (Cyprinodontiformes: Aplocheiloidae). *Journal of Comparative Biology* 3(1): 33–92.
- De Pinna MCC (1996) Teleostean monophyly. In: Stiassny M, Parenti L, Johnson GD (Eds) *Interrelationships of fishes*. Academic Press, San Diego, CA, USA, Pp. 147–162. <https://doi.org/10.1016/B978-012670950-6/50008-4>
- Domínguez-Cisneros SE, Domínguez-Domínguez O, Velázquez-Velázquez E, Pérez-Rodríguez R (2023a) Redescription and diagnoses of the genera *Profundulus* and *Tlaloc* (Cyprinodontiformes: Profundulidae), Mesoamerican endemic fishes. *Neotropical Ichthyology* 21(1): e220089. <https://doi.org/10.1590/1982-0224-2022-0089>
- Domínguez-Cisneros SE, Kobelkowsky A, Velázquez-Velázquez E (2023b) Trophic morphology and diet of the endangered fish *Tlaloc hildebrandi* (Cyprinodontiformes: Profundulidae). *Revista de Biología Tropical* 73(1): e54253. <https://doi.org/10.15517/rev.biol.trop.v73i1.54253>
- Domínguez-Cisneros SE, Maza-Cruz MF, Velázquez-Velázquez E (2025) Comparative osteology of the caudal skeleton and vertebral column of the freshwater fish *Tlaloc* (Cyprinodontiformes: Profundulidae). *Revista de Biología Tropical* 73(1): e59855. <https://doi.org/10.15517/rev.biol.trop.v73i1.59855>
- Ghedotti MJ, Fielitz C, Leonard DJ (2005) Using independent research projects to foster learning in the comparative vertebrate anatomy laboratory. *Bioscene: Journal of College Biology Teaching* 30(4): 3–8.
- González-Díaz A, Díaz-Pardo E, Soria-Barreto M, Martínez-Ramírez E (2014) Diferencias osteológicas entre los subgéneros *Profundulus* y *Tlaloc* (Teleostei: Profundulidae). *International Journal of Morphology* 32(3): 1074–1078. <https://doi.org/10.4067/S0717-95022014000300053>
- Jiménez-Reyes S, Pacheco-Almánzar E, Ibáñez AL (2020) La utilidad de la forma del hueso urohial en la discriminación de especies congéneres y poblaciones locales de Písces: Mugilidae. *Hidrobiológica* 30(3): 259–267. <https://doi.org/10.24275/uam/izt/dcb/s/hidro/2020v30n3/Jimenez>
- Miller RR (1955) A systematic review of the Middle American fishes of the genus *Profundulus*. *Miscellaneous Publications (University of Michigan. Museum of Zoology)* 89(92).
- Miller RR, Minckley WL, Norris SM (2005) *Freshwater fishes of Mexico*. University of Chicago Press, Chicago, IL, USA, 490 pp.
- Morcillo F, Ornelas-García P, Alcaraz L, Matamoros W, Doadrio I (2016) Phylogenetic relationships and evolutionary history of the Mesoamerican endemic freshwater fish family Profundulidae (Cyprinodontiformes: Actinopterygii). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 94: 242–251. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.09.002>
- Parenti LR (1981) A phylogenetic and biogeographic analysis of Cyprinodontiform fishes (Teleostei, Atherinomorpha). *Bulletin of the American Museum of Natural History* 168(4): 335–557.
- Sabaj MH (2020) Codes for natural history collections in ichthyology and herpetology. *Copeia* 108(3): 593–669. <https://doi.org/10.1643/ASIHCONDONS2020>
- Taylor WR, Van Dyke GC (1985) Revised procedures for staining and clearing small fishes and other vertebrates for bone and cartilage study. *Cybio* 9(2): 107–119.
- Teimori A, Motamedi M, Iranmanesh A (2018) Comparative morphology of urohyal bone in brackish water species of the genus *Aphanius* Nardo, 1827 in the Persian Gulf and southeastern Mediterranean Sea basins (Teleostei: Aphaniidae). *Mediterranean Marine Science* 19(2): 356–365. <https://doi.org/10.12681/mms.15929>
- Uyeno T, Miller RR (1962) Relationships of *Empetrichthys erdisi*, a Pliocene cyprinodontid fish from California, with remarks on the Fundulinae and Cyprinodontinae. *Copeia* 3: 520–532. <https://doi.org/10.2307/1441173>
- Yazdani G, Prakash O (1990) The importance of urohyal in fish systematics. *Records of the Zoological Survey of India* 87(4): 277–292. <https://doi.org/10.26515/rzsi/v87/i4/1990/161382>
- Zelditch ML, Swiderski DL, Sheets HD (2012) *Geometric morphometrics for biologists: A primer*. Academic Press, New York and London, 437 pp.