

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



INDUCCIÓN A LA REPRODUCCIÓN, AL MORFOTIPO ALIMENTICIO Y
RIESGO POTENCIAL DE HIBRIDACIÓN DE *HERICHTHYS MINCKLEYI*
(KORNFIELD Y TAYLOR, 1983) CON *H. CYANOGUTTATUS*
(BAIRD Y GIRARD, 1854)

POR

THANIA CRUZ GUAJARDO

COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRÍA EN
CONSERVACIÓN FAUNA SILVESTRE Y SUSTENTABILIDAD

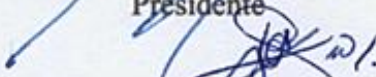
2025

INDUCCIÓN A LA REPRODUCCIÓN, AL MORFOTIPO ALIMENTICIO Y RIESGO
POTENCIAL DE HIBRIDACIÓN DE *HERICHTHYS MINCKLEYI* (KORNFIELD Y
TAYLOR, 1983) CON *H. CYANOGUTTATUS* (BAIRD Y GIRARD, 1854)

Comité de Tesis



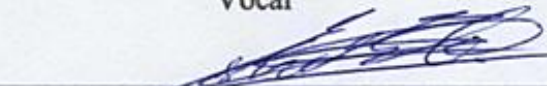
Dr. Roberto Eduardo Mendoza Alfaro
Presidente



Dra. Flor Guadalupe Sánchez Alejandro
Secretario



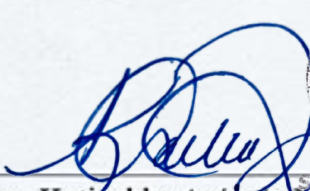
Dra. Susana Favela Lara
Vocal



Dr. Erick Cristóbal Oñate González
Vocal



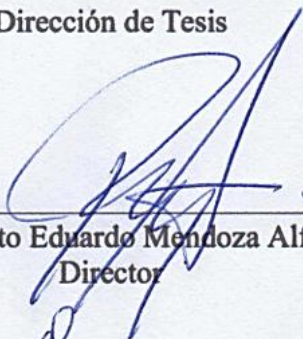
Dr. Jesús Angel de León González
Vocal



Dra. Katiushka Arévalo
Subdirección de Posgrado
Subdirectora de Posgrado

INDUCCIÓN A LA REPRODUCCIÓN, AL MORFOTIPO ALIMENTICIO Y RIESGO
POTENCIAL DE HIBRIDACIÓN DE *HERICHTHYS MINCKLEYI* (KORNFIELD Y
TAYLOR, 1983) CON *H. CYANOGUTTATUS* (BAIRD Y GIRARD, 1854)

Dirección de Tesis



Dr. Roberto Eduardo Mendoza Alfaro
Director



Dr. Sergio Alberto Luna Peña
Director externo

DERECHOS RESERVADOS©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta Tesis está protegido, el uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material contenido que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde se obtuvo mencionando al autor o autores.

Financiamiento

Este trabajo fue financiado parcialmente por Beca propia de Posgrado de la Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI), y por el Proyecto de SECIHTI con número CFB2023-2024-3754.

AGRADECIMIENTOS

La presente tesis no hubiera sido posible sin la contribución de mi comité de tesis, del Grupo Ecofisiología, del Departamento de Ecología, de Posgrado, del Laboratorio de Histología y entre otros.

Por tal motivo quiero agradecer a todo mi comité de tesis, especialmente a mi director de tesis, el Dr. Roberto Eduardo Mendoza Alfaro, quien me aceptó, apoyó y orientó en todo el proceso. No dejando de lado a mi director externo, el Dr. Sergio Alberto Luna Peña, quien me apoyó y orientó en los análisis estadísticos; a la Dra. Susana Favela Lara, que nos apoyó en todo el proceso de la Maestría; al Dr. Erick Cristóbal Oñate González, por todas las aportaciones que me ayudaron a realizar la presente tesis; y las diferentes contribuciones del resto de mi comité: la Dra. Flor Guadalupe Sánchez Alejandro y el Dr. Jesús Ángel de León González. Gracias a todos por formar parte de mi formación profesional.

También quiero agregar un espacio para agradecerle a la Dra. Dvorak Montiel Condado, al Dr. Antonio Guzmán Velasco por apoyarme en la donación de ejemplares de *H. cyanoguttatus*; al Dr. José Gerardo Ham Dueñas por permitirme hacer estancia en el Laboratorio de Histología, así como a todos sus becarios y tesistas. A todos los docentes que fueron parte mi formación académica, gracias.

A todos los tesistas del Grupo Ecofisiología, especialmente al Biol. Efraín Asaf Armijo Martínez, Adan Eugenio Charles Guerra, Abraham Guadalupe García Torres y Manuel de Jesús Coronado Leal. Entre otros: Leonardo Samuel Esquivel Martínez, Luis Felipe Villalobos Chapa, Daniela Patricia Martínez Cavazos y entre otros. Gracias a todos por apoyarme en el mantenimiento del laboratorio húmedo.

Así mismo, también quiero agradecer a todos mis compañeros de generación: Biol. Efraín Asaf Armijo Martínez, Ing. Omar Alejandro Arredondo Uribe, Biol. Adrián González Martínez, Biol. Jorge Luis Martínez Ávila, Biol. Pedro Adrián Ibarra Elizondo, Biol. Nora Guadalupe Niño Olguín, LBG. Claudia Cecilia Vargas Torres y Biol. Héctor Alejandro Vargas Ramírez. Gracias a todos por el apoyo y calidez de su amistad.

Por último, pero no menos importante quiero agradecer a toda mi familia por apoyarme

en todo mi proceso de mi vida, especialmente este momento en que estoy por concluir la maestría, gracias. A mi pareja, Biol. Efraín Asaf Armijo Martínez por compartir mis sueños, acompañándome en todo mi proceso académico, y todo lo que nos falta por recorrer, gracias.

DEDICATORIAS

“Sueño con una inexplicable flora que lucha
contra el tiempo y la sequía y sale victoriosa.

Sueño con una increíble fauna
detenida en el tiempo y la historia
Sueño con algo que debió de morir
hace tiempo... y aquí en el valle ... aún lo veo vivo.

¿Cómo seguir soñando si
mis ojos siguen abiertos, mis sentidos
siguen vivos, y el Valle sigue aquí
virgen y protegido, esperando que
sigan estudiando el tesoro que él les alberga.
Yo comencé el camino, y dejo a Uds. el andar.

Sé que pronto descansar para siempre
y deseo que sea ahí ... dentro del Valle
el Valle fue mi sueño ...
respeta mi sueño ...
cuida mi sueño ...
Ama mi sueño.
... Y sueña conmigo”

Dr. Wendell Lee Minckley

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS.....	10
ÍNDICE DE FIGURAS.....	13
LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS.....	15
RESUMEN.....	17
ABSTRACT.....	18
1 INTRODUCCIÓN	1
2 ANTECEDENTES.....	3
2.1 Descripción de la especie	3
2.2 Cuatrociénegas	6
2.3 Hábitat de la mojarra de Cuatrociénegas	6
2.4 Biología de la especie.....	7
2.5 Morfotipos.....	8
2.6 Control endocrino de la reproducción en peces	9
2.7 Inducción a la reproducción.....	11
2.8 Potencial de hibridación con otras especies de cíclidos	16
2.9 Desarrollo embrionario	19
2.10 Especies exóticas invasoras.....	19
2.11 Medidas de conservación.....	20
3 JUSTIFICACIÓN.....	21
4 HIPÓTESIS.....	22
5 OBJETIVO DEL TRABAJO	23
5.1 General.....	23
5.2 Particulares.....	23
6 MATERIAL Y MÉTODOS	24
6.1 Obtención de los ejemplares.....	24
6.2 Desoves espontáneos	24
6.3 Inducción del morfotipo alimenticio.....	25
6.3 Inducción a la reproducción <i>ex situ</i>	32
6.4 Riesgo potencial de hibridación	36
7 RESULTADOS	39

7.1	Inducción del morfotipo alimenticio	39
7.2	Inducción a la reproducción <i>ex situ</i>	49
7.3	Riesgo potencial de hibridación	55
8	DISCUSIÓN	60
8.1	Inducción del morfotipo alimenticio	60
8.2	Inducción a la reproducción <i>ex situ</i>	63
8.3	Riesgo potencial de hibridación	66
9	CONCLUSIONES	67
9.1	Inducción del morfotipo alimenticio	67
9.2	Inducción a la reproducción <i>ex situ</i>	67
9.3	Riesgo potencial de hibridación	67
10	PERSPECTIVAS	69
10.1	Inducción del morfotipo alimenticio	69
10.2	Inducción a la reproducción <i>ex situ</i>	69
10.3	Riesgo potencial de hibridación	70
11	BIBLIOGRAFÍA.....	71
	<i>ANEXO 1 (Inducción al morfotipo alimenticio)</i>	80
	<i>ANEXO 2 (Inducción a la REPRODUCCIÓN ex situ)</i>	88
	<i>ANEXO 3 (RIESGO POTENCIAL HIBRIDACIÓN)</i>	90

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Fases del desarrollo embrionario en cíclidos.	19
Tabla 2. Código de las medidas de la dentición faríngea.	29
Tabla 3. Código de las medidas morfométricas de la forma del cuerpo.	30
Tabla 4. Tratamientos para la inducción a la reproducción <i>ex situ</i> en <i>Herichthys minckleyi</i>	32
Tabla 5. Dosis de Ovaprim utilizados en los segundos tratamientos.	36
Tabla 6. Comparaciones post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$) entre tratamientos para variables morfométricas estandarizadas por la longitud estándar (LS).	39
Tabla 7. Comparación multivariada de tratamientos mediante PERMANOVA: análisis por pares de las proporciones morfométricas de la dentición faríngea.	42
Tabla 8. Comparación multivariada de tratamientos mediante PERMANOVA: análisis por pares de las proporciones morfométricas del cuerpo.	43
Tabla 9. Comparaciones post hoc de medias marginales estimadas (EMMeans) entre tratamientos, ajustadas por LS y con corrección de Tukey.	44
Tabla 10. Registro de muertes por inanición parcial y total.	47
Tabla 11. Muertes registradas en el tratamiento con caracoles.	48
Tabla 12. Muertes registradas en el tratamiento de Pellets.	48
Tabla 13. Resultados de la prueba de Bartlett para probar la homogeneidad de varianzas entre los tratamientos.	51
Tabla 14. Resultados del primer éxito reproductivo en los diferentes acuarios.	51
Tabla 15. Resultados del segundo éxito reproductivo en los diferentes acuarios.	52
Tabla 16. Comportamientos registrados en los tratamientos.	57
Tabla 17. Comparación del peso entre los diferentes tratamientos mediante la prueba post hoc (Tukey).	58
Tabla 18. Comparación de la longitud total (LT) entre los diferentes tratamientos mediante la prueba post hoc (Tukey).	58
Tabla 19. Comparación de la longitud estándar (LS) entre los diferentes tratamientos mediante la prueba post hoc (Tukey).	58
Tabla 20. Variables en proporción con la LS.	80

Tabla 21. Comparaciones post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$) entre tratamientos para la longitud intestinal (LI) estandarizada por la longitud estándar (LS).....	80
Tabla 22. Comparaciones post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$) entre tratamientos para el ancho máximo en las ramas laterales (P1) estandarizada por la longitud estándar (LS).....	81
Tabla 23. Comparaciones post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$) entre tratamientos para el ancho máximo del área dental (P2) estandarizada por la longitud estándar (LS).	81
Tabla 24. Comparaciones post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$) entre tratamientos para el número de dientes mediolateralmente a lo largo de la fila posterior (nDP) estandarizada por la longitud estándar (LS).....	81
Tabla 25. Comparaciones post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$) entre tratamientos para la distancia anteroposterior desde la parte posterior de la fila de dientes hasta la parte anterior del cuarto diente desde la parte posterior (D4) estandarizada por la longitud estándar (LS).	81
Tabla 26. Comparaciones post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$) entre tratamientos para el diámetro mediolateral del diente más grande (DG) estandarizada por la longitud estándar (LS). .	82
Tabla 27. Comparaciones post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$) entre tratamientos para el diámetro mediolateral del diente más grande (B1) estandarizada por la longitud estándar (LS). ..	82
Tabla 28. Comparaciones post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$) entre tratamientos para el diámetro mediolateral del diente más grande (B4) estandarizada por la longitud estándar (LS). ..	82
Tabla 29. Variables dependientes para el análisis ANCOVA.	83
Tabla 30. Resultados del ANCOVA para las variables dependientes con LS como covariable y Tratamiento como factor.	83
Tabla 31. Coeficientes del modelo ANCOVA para las variables dependientes con LS como covariable y Tratamiento como factor.	85
Tabla 32. Comparaciones post hoc de medias marginales estimadas (EMMeans) entre tratamientos para las medidas de la longitud del intestino, la dentición faríngea y la forma del cuerpo, ajustadas por la covariable (LS) y con corrección de Tukey	86
Tabla 33. Variables medidas durante el experimento	88
Tabla 34. Resultados de la prueba de Shapiro-Wilk para el supuesto de normalidad en cada una de las variables.	88
Tabla 35. Resultados de la prueba de Bartlett para probar la homogeneidad de varianzas entre los tratamientos.	88

Tabla 36. Medidas morfométricas de las parejas para los diferentes acuarios	89
Tabla 37. Diferencias en el peso, LT y LS entre las parejas para cada acuario.....	89
Tabla 38. Diferencias en los parámetros físicoquímicos	89
Tabla 39. Resultados de la prueba de Shapiro-Wilk en todas las variables.....	90
Tabla 40. Prueba de asimetría para las variables no paramétricas.....	90
Tabla 41. Resultados de la prueba de Bartlett para probar la homogeneidad de varianzas entre los tratamientos.	90
Tabla 42. Resultados de la prueba de Levene y Brown-Forsythe para la homogeneidad de varianzas entre los diferentes tratamientos.	91
Tabla 43. Resultados del ANOVA entre los tratamientos para las variables de peso, LT, LS, diferencia en LT y LS entre parejas.	91
Tabla 44. Resultados de Kruskal-Wallis para evaluar si los tratamientos provienen de la misma distribución o mediana.	91
Tabla 45. Medidas morfométricas de todos los tratamientos y repeticiones.	91
Tabla 46. Valores mínimos, máximos y mediana para los parámetros físicoquímicos del agua por tratamiento.....	92

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Mojarra de Cuatrociénegas.	3
Figura 2. Rango de distribución de la mojarra de Cuatrociénegas.	5
Figura 3. Cambios endocrinos y gonadales asociados al ciclo reproductivo de los peces.	10
Figura 4. Principales disfunciones reproductivas observadas en peces hembra cautivos.	12
Figura 5. Distribución de los cíclicos.....	17
Figura 6. Cronograma de la diversificación de la tribu Heroini.	18
Figura 7. Medidas de la dentición faríngea.	29
Figura 8. Medidas morfométricas de la forma del cuerpo.	30
Figura 9. Inyección vía intramuscular.....	33
Figura 10. Ejemplo de la papila genital de hembra y macho de <i>H. minckleyi</i>	35
Figura 11. Comparación de longitud intestinal (LI) entre tratamientos.....	40
Figura 12. Comparaciones con diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos para las medidas relativas de la dentición faríngea.	41
Figura 13. Comparaciones con diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos para las medidas relativas de la forma del cuerpo.....	41
Figura 14. Ordenación no métrica por escalamiento multidimensional (NMDS) para las medidas relativas de la dentición faríngea.	42
Figura 15. Ordenación no métrica por escalamiento multidimensional (NMDS) para las medidas relativas de la forma del cuerpo.....	43
Figura 16. Regresiones lineales por tratamiento (modelo ANCOVA sin interacción) para la longitud del intestino. Nota: para una mejor representación se utilizaron los datos sin transformar.	44
Figura 17. Regresiones lineales por tratamiento (modelo ANCOVA sin interacción) para las medidas de la dentición faríngea.	45
Figura 18. Regresiones lineales por tratamiento (modelo ANCOVA con y sin interacción) para las medidas de la forma del cuerpo.	46
Figura 19. Ejemplo de dientes faríngeos por tratamiento.	47
Figura 20. Hembra extremadamente herida del tratamiento con E2 y T.	49

Figura 21. Gónadas de hembra grávida (LS de 6.739 cm) con el tratamiento de E2, tras cinco días de haber muerto después de la inducción.....	50
Figura 22. Gónadas de hembra grávida (LS de 6.286 cm) del tratamiento con E2 y T tras haber muerto a los 9 días después de la inducción.	50
Figura 23. Gónadas de hembra grávida (LS de 6.629 cm) del Control 1, tras haber muerto a los 9 días después de la inducción.....	50
Figura 24. Gráfica de barras que muestra el primer éxito reproductivo en los diferentes acuarios.	52
Figura 25. Gráfica de barras que muestra el segundo éxito reproductivo en los diferentes acuarios	52
Figura 26. Huevos fertilizados del acuario 17.	53
Figura 27. Ejemplo del contacto boca a boca (“beso”) observado en muchos acuarios. .	54
Figura 28. Ejemplo de pareja con marcas en la boca después de realizar el “beso”.....	54
Figura 29. Hembra (el ejemplar más claro) y macho cuidando a sus alevines (Acuario 7).	55
Figura 30. Alevines del tratamiento mixto con una hembra <i>H. minckleyi</i> y un macho de <i>H. cyanoguttatus</i> (repetición 1).....	56
Figura 31. Comportamientos reproductivos registrados en el tratamiento 1 (repetición 3), una hembra de <i>H. minckleyi</i> con un macho de <i>H. cyanoguttatus</i>	57
Figura 32. Hembra de <i>H. cyanoguttatus</i> con sus alevines (tratamiento 4, repetición 2) .	57

LISTA DE SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS

B1	Profundidad del cuerpo (de la aleta pectoral a la pélvica)
B2	Anchura de los ojos
B3	Longitud de la mandíbula superior
B4	Longitud del hocico
B5	Longitud de la cabeza
B6	Profundidad de las mejillas
B7	Longitud postorbital
B8	Longitud de la mandíbula inferior
B9	Longitud predorsal
B10	Longitud prepélvica
DG	Diámetro mediolateral del diente más grande
D4	Distancia anteroposterior desde la parte posterior de la fila de dientes hasta la parte anterior del cuarto diente desde la parte posterior
E2	17 β -estradiol
FOM	Maduración final del oocito
FSH o GtH I	Hormona folículo estimulante
GnRH	Hormona liberadora de gonadotropina
GnRHa	Antagonista de la Hormona liberadora de gonadotropina
GtH	Hormona Gonadotropina
hCG	Gonadotropina coriónica humana
HHG	Hipotálamo hipófisis gonadal
LH o GtH II	Hormona luteinizante
LI	Longitud del intestino
LS	Longitud estándar
LT	Longitud total
MIS	Esteroides inductores de la maduración
MS-222	Tricaína metano sulfonato
nDA	Número de dientes anteroposteriormente a lo largo de la fusión

nDP	Número de dientes mediolateralmente a lo largo de la fila posterior
NMDS	Escalamiento multidimensional no métrico
P1	Ancho máximo en las ramas laterales
P2	Ancho máximo del área dental
P3	Longitud máxima en la sínfisis
P4	Longitud máxima del área dental en la sínfisis
VTG	Vitelogenina
11-KT	11-ketotestosterona

RESUMEN

La mojarra de Cuatrociénegas (*Herichthys minckleyi*) es una especie de cíclido endémica y en peligro de extinción, además es representativa de Cuatrociénegas debido a su polimorfismo trófico. Dicho polimorfismo se puede diferenciar mediante la dentición faríngea, existiendo por lo menos tres morfotipos: papiliforme, molariforme e intermedio. Mediante la administración de dietas de diferente dureza se logró inducir una variación en el morfotipo alimenticio, la cual se pudo constatar con la diferencia en la longitud del intestino, en cinco medidas de la dentición faríngea y en dos medidas de la forma del cuerpo. En donde en el tratamiento al que se le suministró alimento blando se pudo inducir el morfotipo papiliforme, y en los tratamientos con alimento de dureza moderada y extrema se logró inducir el morfotipo intermedio o indicios del morfotipo molariforme.

Siendo una especie en peligro de extinción y representativa de Cuatrociénegas, resalta la importancia como estrategia de conservación inducirla a la reproducción *ex situ*, de la cual muy poco se ha estudiado en cautiverio, dejando huecos vacíos de su biología reproductiva. A este respecto, se logró inducir múltiples desoves mediante la administración de Ovaprim a una dosis de 0.6 ml/kg, posicionándose como el método más eficaz. También, la genética de *H. minckleyi* se ve comprometida, ya que existe el riesgo potencial de hibridación con su especie hermana, *H. cyanoguttatus*, la cual en el Valle de Cuatrociénegas existe cierto solapamiento en cuanto a su distribución. En consecuencia, detectamos que el riesgo potencial de hibridación aumenta cuando el macho es *H. cyanoguttatus* y la hembra *H. minckleyi*, esto se evidenció mediante la obtención de alevines híbridos.

ABSTRACT

The Cuatrociénegas cichlid (*Herichthys minckleyi*) is an endemic and endangered species, and it is representative of the Cuatrociénegas valley due to its trophic polymorphism. This polymorphism can be distinguished by the pharyngeal dentition, with at least three morphotypes: papilliform, molariform, and intermediate. By administering diets of varying hardness, it was possible to induce variation in the feeding morphotype, which was confirmed through differences in intestinal length, five pharyngeal tooth measurements, and two body shape measurements. In the treatment where soft food was provided, the papilliform morphotype was induced, while in the treatments with moderately and extremely hard food, the intermediate morphotype or signs of the molariform morphotype were induced.

As an endangered species and a representative of Cuatrociénegas, it is important to highlight the relevance of inducing *ex situ* reproduction as a conservation strategy. However, very little has been studied about this species in captivity, leaving significant gaps in knowledge about its reproductive biology. In this regard, multiple spawning events were successfully induced by administering Ovaprim at a dose of 0.6 ml/kg, making it the most effective method. Furthermore, the genetics of *H. minckleyi* are at risk due to the potential for hybridization with its sister species, *H. cyanoguttatus*, with which there is some overlap in distribution in the Cuatrociénegas Valley. Consequently, we found that the potential risk of hybridization increases when the male is *H. cyanoguttatus* and the female is *H. minckleyi*, as evidenced by the production of hybrid fry.

1 INTRODUCCIÓN

El Valle de Cuatrociénegas es un ecosistema desértico único con niveles inusualmente altos de endemismos (Cohen et al. 2005), y se considera una de las áreas biológicas más importantes en el hemisferio occidental (Artigas-Azas 1994). Se caracteriza por un complejo sistema de manantiales (Oldfield et al. 2013) en medio de un paisaje desértico (Artigas-Azas 1994), en donde el recurso hídrico se ha ido extrayendo excesivamente a tal punto que la desecación de los cuerpos de agua es la principal amenaza que enfrenta la biodiversidad de este ecosistema (Hendrickson et al. 2019).

La mojarra de Cuatrociénegas, *Herichthys minckleyi* es una de las siete especies descritas en el género monofilético *Herichthys* (Oldfield et al. 2013), y es la única especie reconocida de cíclidos endémica de las cuencas de Cuatrociénegas (Trapani 2003). Esta especie se caracteriza por ser tróficamente polimórfica, por lo que actúa en varios niveles de la red trófica y desempeña un importante papel en el ecosistema (Cohen et al. 2005). Existen por lo menos tres morfotipos que se distinguen por la morfología de la mandíbula faríngea: papiliforme, molariforme e intermedio (Van-Valen 1988; Trapani 2003; Swanson et al. 2003). La variación en la morfología tiene un sustento genético y ambiental, en donde en este último puede ser inducido por la dureza del alimento (Trapani 2003). De tal manera que los peces del morfotipo papiliforme están más especializados al consumo de materia vegetal, mientras que el molariforme se especializa en el consumo de los caracoles de concha extremadamente dura (Oldfield et al. 2013), y el intermedio en el consumo de peces (Trapani 2003).

Actualmente, las poblaciones de *H. minckleyi* han ido en declive a causa de las acciones antropogénicas, y se encuentra catalogada en peligro de extinción (P) en la NOM-059-SEMARNAT-2010. Esto a causa de además de la desecación de los cuerpos de agua, destaca la introducción de especies exóticas invasoras, y dentro de estas el cíclido africano, *Hemichromis guttatus*, los cuales compiten, depredan y desplazan a *H. minckleyi* (Zepeda-Morales 2021; Cohen et al. 2005). Incluso la reserva genética de *H. minckleyi* se

ha visto comprometida por la hibridación con *H. cyanoguttatus* (Hendrickson et al. 2019; Bell et al. 2019).

Debido a las amenazas inminentes que sufren estas poblaciones, se revela necesario llevar a cabo métodos de inducción a la reproducción *ex situ* con el fin de preservar a la especie y con esto resguardar su pool genético, además de eventualmente reintroducirla a su hábitat natural. Para esto, es necesario llevar a cabo estudios que abarquen distintos aspectos biológicos de la especie, incluso con la ayuda de estudios en cautiverio.

2 ANTECEDENTES

2.1 Descripción de la especie

Nombre científico: *Herichthys minckleyi* (Kornfield y Taylor, 1983)

Nombre común: Mojarra de Cuatrociénegas

Taxonomía:

Reino	Filo	Clase	Orden	Familia
Animalia	Chordata	Actinopterygii	Perciformes	Cichlidae

Descripción: la mojarra de Cuatrociénegas alcanza una talla máxima de 17.5 cm de la longitud estándar (LS; Hendrickson 2006). Es una especie polimórfica en la que se distingue la presencia simpátrica de dos tipos (una de cuerpo alto y otra alargada), dentro de las cuales están representadas tres formas de dientes faríngeos (papiliformes, molariformes e intermedios; Trapani 2003). Presentan de tres a cinco manchas negras en los costados, por debajo de la aleta dorsal y a la altura de la línea lateral, así como otra en la base de la aleta caudal (Ceballos et al. 2016; Figura 1).



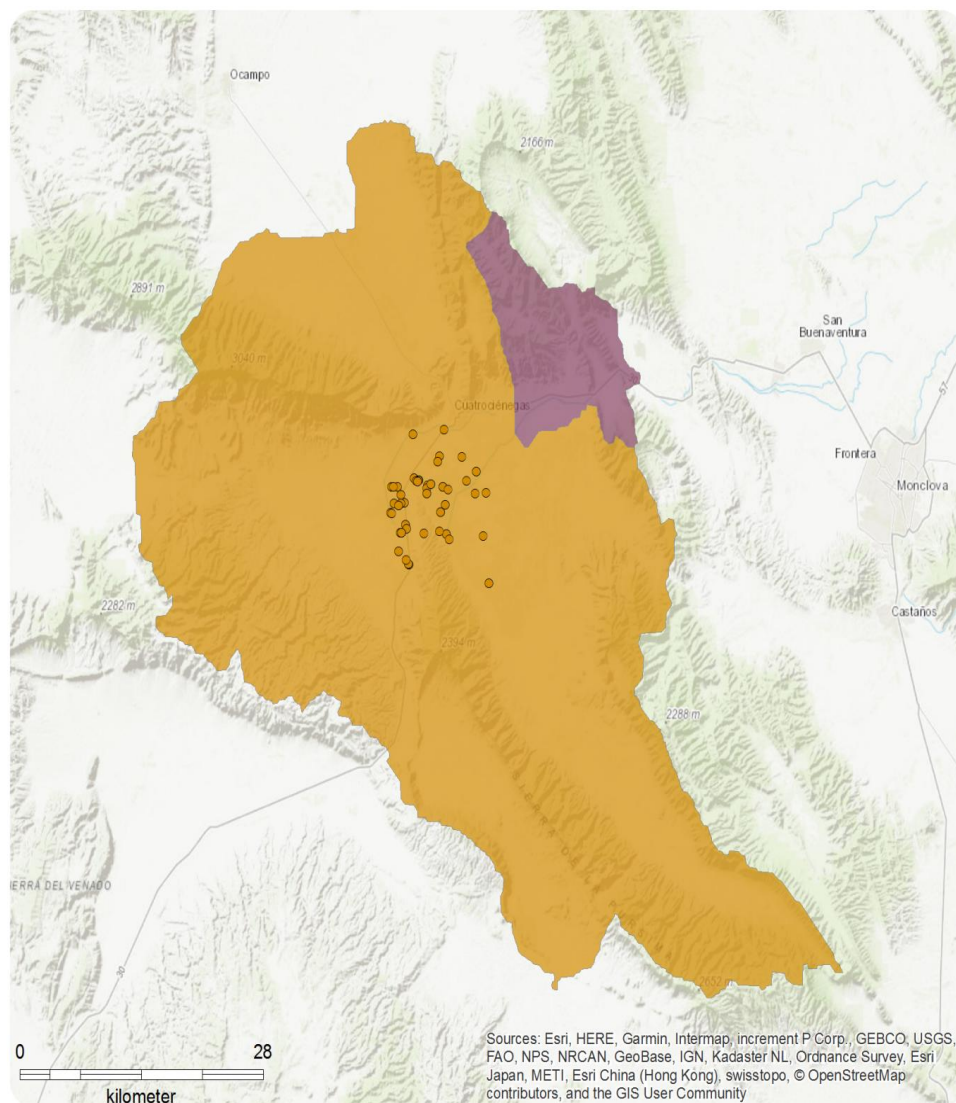
Figura 1. Mojarra de Cuatrociénegas.
Imagen tomada de Bruce Vandeweghe en AQUAINFO

Características diagnósticas: 16 espinas y 10 a 11 radios dorsales, cinco espinas y ocho a nueve radios anales y 14 radios pectorales; de 11 a 12 branquiespinas y 29 vértebras. El pedúnculo caudal es relativamente delgado, con una longitud igual o en general mayor que la altura mínima (Ceballos et al. 2016).

Especies similares: En el Valle de Cuatrociénegas, *Herichthys cyanoguttatus* y *H. minckleyi* son especies que coexisten y son morfológicamente similares, pero se diferencian por varias características. En *H. minckleyi*, los dientes orales son cónicos, mientras que en *H. cyanoguttatus* son bicúspides. Además, *H. cyanoguttatus* presenta una mayor frecuencia de dientes faríngeos molariformes, mientras que en *H. minckleyi*, solo el morfo molariforme tiene estos dientes (Cohen et al. 2005) y es menos común que el morfo papiliforme (Swanson et al. 2003). Otra diferencia notable es el patrón de coloración reproductiva: las hembras de *H. minckleyi* muestran un cuerpo blanco con manchas negras, mientras que los machos son negros o muy oscuros. En *H. cyanoguttatus*, ambos sexos presentan un cuerpo con una parte anterior blanca y una posterior oscura (Hendrickson 2006).

Estado de conservación: en peligro de extinción (P) establecido en la NOM-059-SEMARNAT-2010 y en la American Fisheries Society (Ceballos et al. 2016), y en Peligro (EN) en la Lista roja de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (IUCN; Hendrickson et al. 2019).

Rango de Distribución: especie restringida a las cuencas endorreicas del Bolsón de Cuatrociénegas, Coahuila, México (Hendrickson et al. 2019; Ceballos et al. 2016; Contreras-Balderas y Ramírez-Flores 2000; Oldfield et al. 2013; Bell et al. 2019; Figura 2).

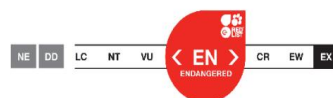


Range

- Extant (resident)
- Extant (resident)
- Possibly Extant (resident)

Compiled by:

IUCN (International Union for Conservation of Nature)



The boundaries and names shown and the designations used on this map do not imply any official endorsement, acceptance or opinion by IUCN.



Figura 2. Rango de distribución de la mojarra de Cuatrociénegas.
Tomado de Hendrickson et al. (2019).

2.2 Cuatrociénegas

En el centro de Coahuila, México está el valle de Cuatrociénegas, el cual abarca una extensión de 700 km² y se encuentra a unos 740 m sobre el nivel del mar (Cohen et al. 2005). Cuatrociénegas se caracteriza por un complejo sistema de manantiales cuya superficie oscila entre unos pocos metros cuadrados a varias hectáreas, los cuales alimentan como mínimo a varios centenares de pozas geotermales (Oldfield et al. 2013; Cohen et al. 2005).

La temperatura del agua varía mucho de unas pozas a otras, y los manantiales cálidos y fríos surgen a menudo a pocos metros de distancia unos de otros, formando arroyos, ríos y pantanos (Cohen et al. 2005). Los manantiales de Cuatrociénegas se encuentran en medio de un paisaje desértico rodeado de crestas rocosas desnudas, plantas vasculares desérticas y cactus cortos (Artigas-Azas 1994). La precipitación pluvial anual en la zona no supera los 300 mm, además la lluvia es absorbida rápidamente por el suelo calcáreo poroso del valle. Tiene un pH alcalino, el cual oscila entre 7.6 y 7.8 con lecturas generales de dureza de alrededor de 55 grados alemanes (equivalente a 17.8 mg de CaCO₃ por litro de agua; Artigas-Azas 1994).

Debido a las características tan únicas, a su alto nivel de endemismo y a las amenazas inminentes, se decretó en el Diario Oficial de la Federación el 7 de noviembre de 1994 como área natural protegida en la categoría de Área de Protección de Flora y Fauna (APFF). La Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad (CONABIO) lo incluye entre los sitios prioritarios para la conservación y es considerado el humedal más importante dentro del Desierto Chihuahuense y uno de los más importantes en México (Cohen et al. 2005).

2.3 Hábitat de la mojarra de Cuatrociénegas

H. minckleyi se encuentra en un entorno muy específico (Figura 2), en sistemas lóticos, lagunas o manantiales, con diversas dimensiones (Ceballos et al. 2016), aguas cálidas (con temperaturas muy estables) y cristalinas con hasta una visibilidad generalmente superior a los veinte metros (Artigas-Azas 1994). Se han reportado temperaturas muy estables con

un rango de 33.5 °C a 34 °C en la Laguna del Mojarral, donde las variaciones máximas se encuentran a nivel de la superficie con 5 °C (Arnold 1972).

2.4 Biología de la especie

Dimorfismo sexual: en general, los machos de *H. minckleyi* son de color verde grisáceo y son más oscuros que las hembras (Ceballos et al. 2016). Además, cuando se encuentran sexualmente maduros y en épocas reproductivas son de color negro o muy oscuros (Hendrickson 2006). Mientras que las hembras son blancas cuando se encuentran cuidando el nido (Hendrickson 2006), lo cual las hace difíciles de localizar por depredadores aéreos, ya que se confunden con el sustrato donde habitan (Ceballos et al. 2016).

Fecundidad: en cautiverio se reportan desoves de 50 y 100 huevecillos en hembras de una talla mínima de 6 cm de longitud estándar (LS; la cual abarca desde la punta de la boca hasta al inicio de la aleta caudal), mientras que para hembras de una LS de 15 cm se reportan desoves de entre 1,200 y 1,800 huevecillos (Hendrickson 2006).

Reclutamiento: de acuerdo con Hendrickson (2006), la madurez sexual en las hembras empieza cuando alcanzan una talla de alrededor de los 6 cm de la LS.

Reproducción: *H. minckleyi* es una especie ovípara, dioica (Hendrickson 2006) y poligínica (Kornfield et al. 1982; Oldfield et al. 2014). Las hembras desovan en el sustrato (Ceballos et al. 2016), normalmente en depresiones en el fondo, en pequeñas cuevas o cualquier otra área que les den cobertura y protección (Hendrickson 2006). Ambos progenitores protegen su territorio alrededor del nido antes y después del desove, aunque normalmente el macho abandona a la hembra poco después (Hendrickson 2006). Además, algunos machos vigilan dos lugares de cría simultáneamente (Kornfield et al. 1982). La hembra cuida a los alevines durante varias semanas hasta que alcanzan un estado de desarrollo suficiente para que puedan escapar de la mayoría de los depredadores (Hendrickson 2006).

Debido a que las condiciones ambientales se mantienen constantes, no existe una temporalidad reproductiva bien definida, de tal forma que se pueden observar parejas con crías durante todo el año, las cuales defienden territorios cerca de la orilla, en la zona profunda, sobre la arena, cerca de la vegetación e inclusive en pequeñas cuevas (Ceballos et al. 2016).

2.5 Morfotipos

H. minckleyi es tróficamente polimórfico, por lo que puede actuar en varios niveles de la red trófica, desempeñando un importante papel en el ecosistema. El polimorfismo es complejo e implica múltiples caracteres, resultando difícil distinguirlos sin un examen minucioso de los dientes faríngeos o por medio de disección (Cohen et al. 2005). Existen varias discrepancias sobre cuantas variaciones morfológicas existen, sin embargo, todos los autores concuerdan en que los principales morfotipos son el molariforme y el papiliforme. No obstante, algunos autores (Taylor y Minckley 1966; Minckley 1969; Sage y Selander 1975; Kornfiel y Taylor 1983; Stephens y Hendrickson 2001) han reconocido tres morfotipos diferentes en *H. minckleyi*: el molariforme, papiliforme y uno intermedio (Swanson et al. 2003; Trapani 2003).

Por otra parte, otros autores (Taylor y Minckley 1966; LaBounty 1974; Kornfield y Taylor 1983) distinguieron la existencia de un complejo específico compuesto por cuatro morfotipos, los cuales presentan combinaciones de denticiones faríngeas papiliformes o molariformes y cuerpos profundos o esbeltos (Trapani 2003). Diferenciándose por su dentición faríngea, fisonomía externa y longitud del intestino, lo que se ve reflejado con diferencias en la dieta (Ceballos et al. 2016).

El morfotipo de mayor distribución y abundancia es el papiliforme o detritívoro, el cual se caracteriza por presentar un cuerpo alto (Ceballos et al. 2016) y numerosos dientes faríngeos papiliformes, los que son finos y cónicos (Bell et al. 2019). Estos dientes se encuentran incrustados en mandíbulas faríngeas menos robustas que los del morfo molariforme, con una musculatura asociada reducida (Cohen et al. 2005; Swanson et al. 2003; Trapani 2003). Dado que se alimenta principalmente de detritus, hojas, tallos, flores

(Ceballos et al. 2016; Oldfield et al. 2013), algas e invertebrados de cuerpo blando (Swanson et al. 2003; Trapani 2003), tienen un intestino relativamente más largo que el morfo molariforme (Cohen et al. 2005; Ceballos et al. 2016).

El morfotipo molariforme o moluscívoro presenta dientes faríngeos robustos y planos, parecidos a molares (Bell et al. 2019), y mandíbulas con una musculatura asociada hipertrofiada (Cohen et al. 2005; Swanson et al. 2003; Trapani 2003). Además de detritus, algas e invertebrados de cuerpo blando, su alimentación está asociada a una proporción mucho mayor de caracoles en su dieta que los papiliformes (Swanson et al. 2003; Bell et al. 2019), por lo que presentan un intestino más corto (Ceballos et al. 2016). Debido a que a menudo se piensa que los cíclidos con dientes faríngeos molariformes son especialistas en triturar caracoles endémicos de la región con una concha extremadamente dura (Trapani 2003; Oldfield et al. 2013), suelen ser menos frecuentes en la población que aquellos del morfo papiliforme (Swanson et al. 2003).

El morfotipo menos abundante con frecuencias inferiores al 5% de la población total es el intermedio. Este morfotipo, como ya se mencionó, se caracteriza por presenciar morfología faríngea intermedia, que puede ser del tipo molariforme o papiliforme. Aunque los morfotipos de dientes faríngeos son indistinguibles según la forma general del cuerpo, en el morfo intermedio se ha distinguido que presentan cabezas alargadas y cuerpos fusiformes (Cohen et al. 2005). Aunque según Ceballos et al. (2016) el morfo intermedio presenta el cuerpo más delgado, dientes papiliformes e intestino corto.

2.6 Control endocrino de la reproducción en peces

De manera similar a otros vertebrados (Valdebenito 2008), el proceso reproductivo en los peces inicia en el cerebro, que integra la información externa y responde activando el sistema de la hormona liberadora de gonadotropinas (GnRH) misma que es producida en el hipotálamo (Mañanós et al. 2008). Este decapeptido (Valdebenito 2008) estimula la síntesis y liberación de gonadotropinas (GtH) por la parte anterior de la hipófisis (Mañanós et al. 2008).

La regulación de la reproducción llevada a cabo por esta glándula se realiza mediante dos hormonas gonadotropinas: la hormona folículo estimulante (FSH o GtH I), que regula la vitelogénesis en hembras y la espermatogénesis en machos; y la hormona luteinizante (LH o GtH II), responsable de conducir la maduración final del oocito en las hembras (Valdebenito 2008). Ambas hormonas actúan sobre la gónada (ovario o testículos) para promover la síntesis de esteroides sexuales, los cuales son los efectores finales del desarrollo gonadal. Los esteroides sexuales también cumplen funciones adicionales en tejidos no gonadales, principalmente ejerciendo acciones de retroalimentación sobre el cerebro/hipófisis y, en hembras, estimulando la síntesis de vitelogenina (VTG) en el hígado (Mylonas et al. 2010; Mañanós et al. 2008; Figura 3).

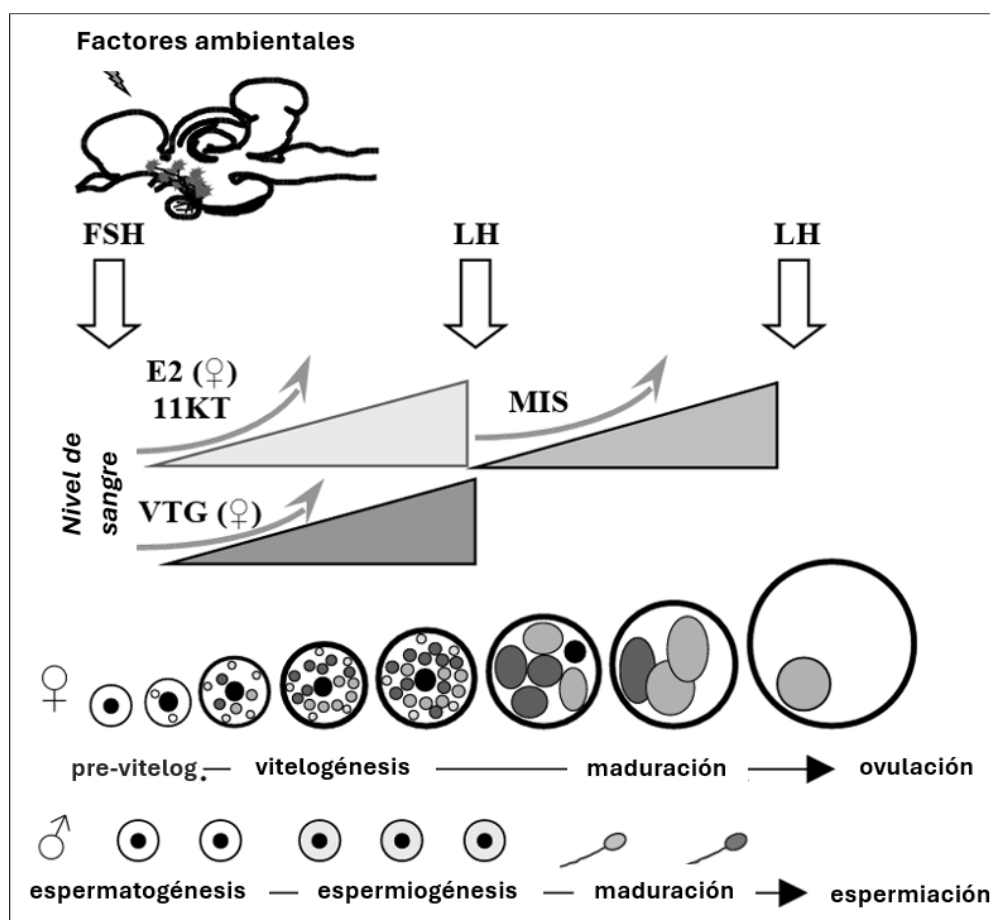


Figura 3. Cambios endocrinos y gonadales asociados al ciclo reproductivo de los peces. La mitad superior del diagrama muestra las secreciones hormonales hipofisarias y las concentraciones hormonales plasmáticas; la mitad inferior muestra las fases correlativas del desarrollo de ovocitos y espermatozoides. Modificado de Mañanós et al. 2008.

Hembras

Durante la fase de vitelogénesis en las hembras, la FSH y la LH promueven la producción de testosterona en las células de la teca, que luego es convertida en 17β -estradiol (E2) en las células de la granulosa del folículo ovárico. El aumento de E2 en el plasma estimula la producción de VTG en el hígado, que es absorbida por el oocito a través de macropinocitosis, un proceso regulado por la FSH. Al final de la vitelogénesis, un aumento en los niveles de LH eleva los niveles de esteroides inductores de la maduración (MIS), que actúan en la membrana del oocito para desencadenar su maduración final (FOM; Valdebenito 2008).

Machos

En los machos, las gonadotropinas juegan un papel clave en la regulación de la espermatogénesis al estimular la producción de andrógenos, como la 11-ketotestosterona (11-KT), que es sintetizada por las células de Leydig. La testosterona actúa como precursor de la 11-KT, cuyos niveles aumentan durante la espermatogénesis y disminuyen antes o durante la espermación. La 11-KT estimula las células de Sertoli, esenciales para activar la espermatogénesis. Al inicio de la temporada reproductiva, el aumento de LH favorece la esteroidogénesis y la producción del MIS, que aumenta el volumen de semen y mejora la movilidad espermática al elevar el pH del plasma seminal (Valdebenito 2008).

2.7 Inducción a la reproducción

En condiciones de cautiverio, muchas especies de peces experimentan disfunciones reproductivas significativas (Valdebenito 2008). Estas disfunciones suelen originarse por deficiencias en los estímulos ambientales que no logran desencadenar las cascadas hormonales necesarias para la maduración de los gametos (DiMaggio 2014). En términos generales, en las hembras, el desarrollo gonadal se inicia de manera normal, pero no se logra la maduración final del oocito, la ovulación y/o la puesta (DiMaggio 2014; Valdebenito 2008; Mylonas et al. 2010; Figura 4).

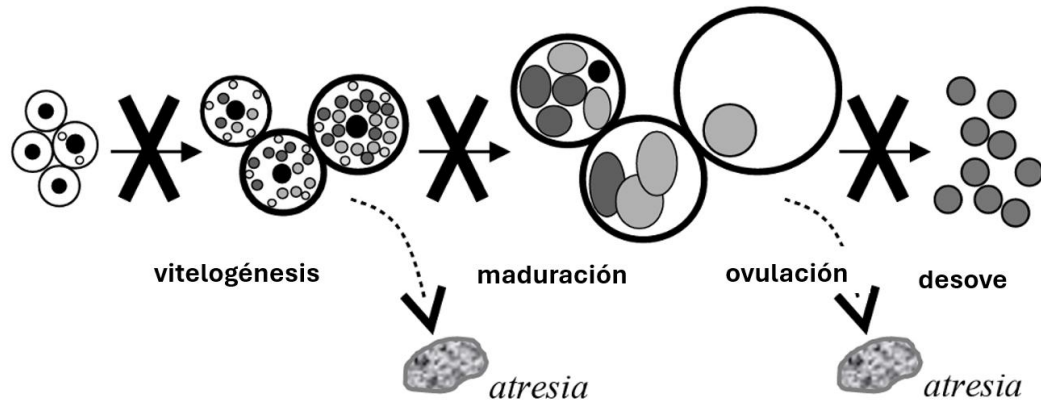


Figura 4. Principales disfunciones reproductivas observadas en peces hembra cautivos.
Modificado de Mañanós et al. 2008.

Por otro lado, en los machos, a pesar de su mayor resistencia a las condiciones del cautiverio y al estrés asociado, suelen producir un volumen de semen reducido o de baja calidad (Valdebenito 2008). Como respuesta a estos desafíos, las terapias hormonales se emplean comúnmente para abordar problemas como la disminución en la producción de esperma durante la época de desove y el fracaso de la FOM en los peces cautivos (Mylonas et al. 2010).

El estrés asociado al cautiverio en peces puede tener efectos adversos en diversos aspectos, incluyendo el sistema inmune, el crecimiento y la reproducción. Este estrés puede alterar múltiples niveles del sistema endocrino, afectar el desarrollo de gametos y su calidad, así como influir en la supervivencia y desarrollo de huevos y larvas (Valdebenito 2008). A pesar de que ajustar algunos factores ambientales para replicar las condiciones naturales de desove, como el fotoperíodo, temperatura, salinidad, vegetación del sustrato y volumen del tanque, puede mejorar la calidad de las puestas, no garantiza el éxito reproductivo en cautiverio (Mylonas et al. 2010; DiMaggio 2014). En algunos casos, especialmente en ciertas especies, los tratamientos hormonales se presentan como la única alternativa viable para asegurar los procesos reproductivos adecuados en peces mantenidos en cautiverio (Valdebenito 2008; Mylonas et al. 2010).

2.7.1 Técnicas hormonales

El empleo de hormonas para el control de la reproducción en peces se ha focalizado en la inducción de la FOM, la ovulación, la espermiación y la puesta (Mylonas et al. 2010; DiMaggio 2013; DiMaggio 2014). Aunque este enfoque se aplica especialmente a peces que no son capaces de completar su ciclo reproductivo en agua dulce (Valdebenito 2008).

Gonadotropina coriónica humana (hCG)

Dentro de diferentes alternativas hormonales la hCG ha sido empleada en la inducción del desove en algunas especies de peces cultivadas, y su éxito generalmente se atribuye a la similitud estructural con las gonadotropinas y a una actividad similar a la LH. La eficacia de una dosis única se debe probablemente a la prolongada permanencia de la hormona en circulación. Las concentraciones utilizadas suelen estar en el rango de 100 y 4,000 UI por kg de peso del pez. Se ha observado una mejora significativa en los resultados cuando se combina con la inyección de extractos de hipófisis. Una ventaja de la hCG es que actúa directamente sobre la gónada sin necesidad de la activación de la glándula hipófisis, lo que conlleva una acción más rápida, induciendo la maduración final del oocito, la espermiación y la puesta. Sin embargo, es importante tener en cuenta que la hCG puede generar reacciones inmunológicas en el pez que es estimulado, lo que puede reducir o eliminar el efecto de la hormona en inyecciones subsiguientes (Valdebenito, 2008).

En un estudio realizado por DiMaggio (2013) en *Lagodon rhomboides*, se utilizaron dosis de 500, 1,000, 2,000 y 4,000 UI/kg de hCG, administradas en la musculatura dorsal de las hembras para inducir la FOM, la ovulación y el desove. Los machos recibieron la mitad de la dosis para asegurar la espermiación. Los resultados más destacados se obtuvieron con dosis de 4,000 UI/kg de hCG, provocando la mayor frecuencia de desove en las hembras. En el cíclido *Oreochromis niloticus* el uso de hCG a dosis bajas (0.5 y 1.5 UI/g) resultó en un 100% de hembras desovadas en la reproducción artificial (Azevedo et al. 2021).

Hormonas liberadoras de gonadotropinas (GnRH y LH-RH) y sus análogos sintéticos (Gn-RHa y LH-RHa)

Las GnRH son pequeñas moléculas que no generan respuestas inmunes en los peces que son estimulados, lo que permite su uso repetido. Estas hormonas son producidas en el hipotálamo, controlando la secreción de otras hormonas hipofisiarias importantes en la homeostasis del pez, como la prolactina, somatotropina y tirotropina. Las GnRH desempeñan un papel crucial al “reparar” las alteraciones endocrinas causadas por el cautiverio, llevando a los peces a su completa maduración sexual. La similitud estructural de estas hormonas en diversos peces permite su aplicación con alta efectividad en un gran número de especies. Las concentraciones utilizadas generalmente oscilan entre 1 y 100 µg de GnRHa/kg de pez (Valdebenito 2008).

En algunos peces, la dopamina inhibe la liberación de gonadotropinas (GtH) en la hipófisis y reduce la efectividad de la GnRH. Para contrarrestar este efecto, se utilizan antagonistas de dopamina (como domperidona, pimozida, reserpina o metoclopramida) en combinación con análogos sintéticos de GnRH (GnRHa) para inducir la maduración reproductiva. Esta combinación ha demostrado ser eficaz, especialmente en ciprínidos y otras especies de agua dulce (Valdebenito, 2008).

Se han utilizado dosis de 0.25, 0.50, 1.00 y 2.00 ml/kg de Ovaprim® (sGnRHa [GnRHa del salmón] + domperidona) en el pigfish *Orthopristis chrysoptera* (DiMaggio 2014) y en el pinfish *Lagodon rhomboides* (DiMaggio 2013). Estas dosis se administraron en la musculatura dorsal de las hembras para inducir la FOM, la ovulación y el desove, mientras que los machos recibieron la mitad de la dosis para asegurar la espermiación. Los tratamientos con dosis bajas (0.25 y 0.50 ml/kg) de Ovaprim mostraron un rendimiento mejorado en el desove para ambas especies. Sin embargo, la preferencia por la dosis 0.50 ml/kg se respalda mediante la superioridad en las características de los ovocitos y larvarias en el caso del pigfish. También, en el cíclido *Oreochromis niloticus*, se obtuvo el 85.19% de fertilización de los huevos mediante la administración de Ovaprim a una dosis de 0.6 ml/kg para hembras y machos, mientras que en el tratamiento control no se obtuvo el desove (Fabanzo y Abdullah, 2021).

Administración oral de las hormonas

El uso de inyecciones hormonales múltiples puede presentar inconvenientes, ya que algunas especies pueden verse afectadas por el estrés asociado a la manipulación repetida, llegando incluso a experimentar regresión gonadal o, en algunos casos extremos, la muerte de los reproductores (Patino 1997). Para abordar este problema y reducir la manipulación de los reproductores, se ha explorado el potencial de la administración oral de hormonas en peces (Valdebenito 2008). Se ha observado que la administración dietética de análogos de la GnRH ha tenido éxito en la inducción del desove en especies como la trucha manchada, *Cynoscion nebulosus* (Thomas y Boyd 1989). Además, la administración oral de análogos de la GnRH parece ser eficaz en especies como la carpa común (*Cyprinus carpio*), la trucha arcoíris (*Oncorhynchus mykiss*) y el bagre africano (*Clarias gariepinus*) (Breton et al. 1995). Sin embargo, se requiere de una biopsia ovárica para la selección inicial adecuada de las hembras a reproducir (Patino 1997).

2.7.2 Patrones de desarrollo ovocitario en los peces teleósteos

Para determinar qué tipo de terapia hormonal administrar, es crucial conocer el patrón de desarrollo ovocitario presente en la especie de interés. En peces teleósteos, existen tres patrones:

- 1) **sincrónico**, donde todos los oocitos se desarrollan simultáneamente, lo que se asocia con especies semélparas que desovan una sola vez en su vida y mueren;
- 2) **sincrónico de grupo**, donde los oocitos se desarrollan en dos grupos distintos, uno de ellos sirviendo como reserva para el siguiente ciclo reproductivo, patrón que es característico de especies con una temporada de desove corta; y
- 3) **asincrónico**, con más de dos millones de oocitos en distintas fases de desarrollo, asociado con especies que desovan múltiples veces en una temporada de desove prolongada (Rizzo y Bazzoli 2020).

Este último patrón concuerda con las características reproductivas de la especie de interés, *H. minckleyi*. Por lo que se ha determinado que los sistemas de administración de GnRH pueden ser más eficaces para conseguir la máxima fecundidad en especies asíncronas con una larga estación reproductiva (Mylonas et al. 2010).

2.8 Potencial de hibridación con otras especies de cíclidos

Los cíclidos han exhibido una capacidad notable para diversificarse en periodos de tiempo muy cortos. A este respecto, se ha propuesto que la hibridación es un medio para lograr una rápida diversificación en esta clase, por lo que se ha postulado un origen híbrido para varias especies de cíclidos. La hibridación tiene el potencial de generar nuevos fenotipos en este grupo, lo cual puede contribuir significativamente a su diversificación y éxito (Albertson y Kocher 2005).

Dentro de este contexto, Hulsey et al. (2016) sugieren que podría haber una hibridación potencial entre *H. minckleyi* y *H. cyanoguttatus*, ya que ambas especies están estrechamente relacionadas (Hulsey et al. 2010) y su área de distribución se superpone. En este sentido, Magalhaes et al. (2015) encontró evidencia de introgresión mitocondrial entre *H. minckleyi* y *H. cyanoguttatus* (Bell et al. 2019). También estudios moleculares comprueban la hibridación entre *H. minckleyi* y *H. cyanoguttatus* (Hendrickson 2006), por lo que la reserva genética de *H. minckleyi* se vería altamente comprometida por la hibridación con *H. cyanoguttatus* (Hendrickson et al. 2019).

La distribución de los cíclidos colinda con muchas zonas templadas del África subsahariana, el sur de la India, el Levante y las regiones neotropicales de América del Sur y Central (Figura 5A). Los dos cíclidos del Neotrópico con las áreas de distribución más septentrionales son *Herichthys minckleyi* y *H. cyanoguttatus*. En el noreste de México, el área de mayor distribución donde se encuentra *H. cyanoguttatus* se encuentra con el Valle de Cuatrociénegas, donde *H. minckleyi* es endémico (Figura 5B). En Cuatrociénegas hay aproximadamente 200 manantiales donde habitan cíclidos (Hulsey et al. 2016; Figura 5C).

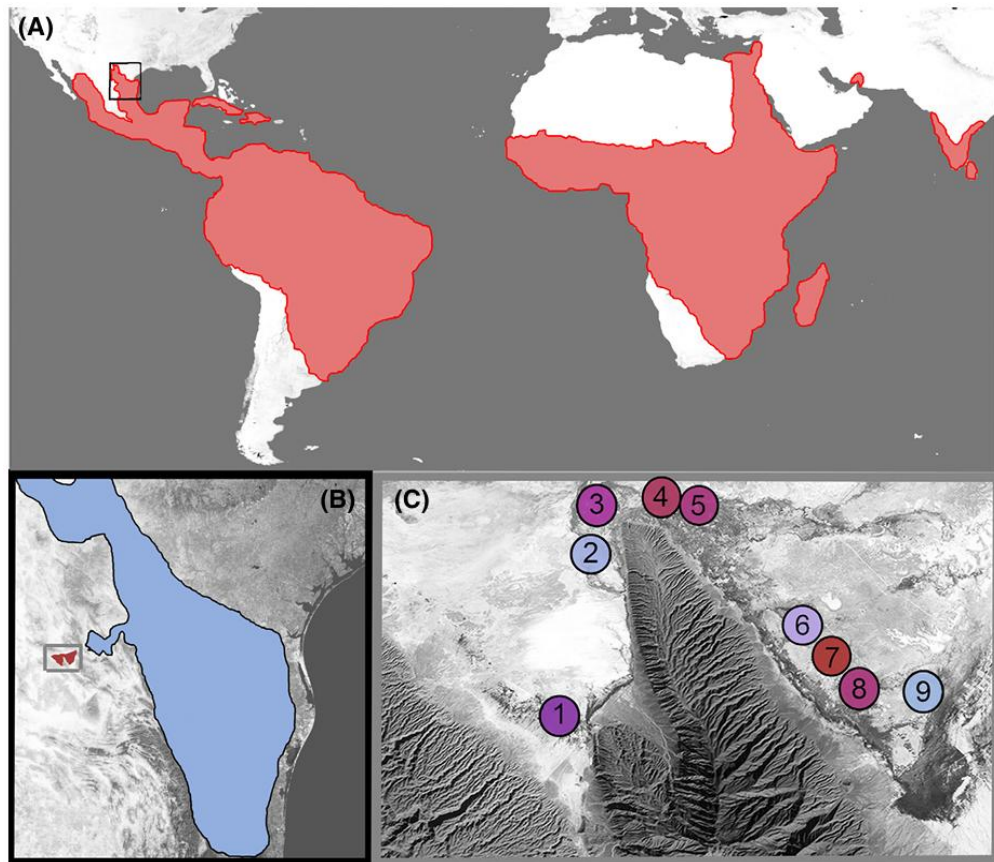


Figura 5. Distribución de los cíclidos.

Donde en (A) se muestra la distribución de los cíclidos (en rojo); (B) área de mayor distribución de *H. cyanoguttatus* en el Noreste de México (en celeste), la cual está cerca del Valle de Cuatrociénegas (en rojo); (C) algunos manantiales donde se distribuyen los cíclidos, donde los manantiales en azul claro son más fríos y los de tonos rojos más calientes. Estas localizaciones, empezando por el lóbulo occidental de la cuenca y moviéndose alrededor de la Sierra de San Marcos: 1) Churince, 2) Juan Santos, 3) Tierra Blanca, 4) Mojarral Oeste, 5) Mojarral Este, 6) Escobedo, 7) Los Remojos, 8) Tío Cándido y 9) Los Gatos. Tomado de Hulsey et al. (2016).

A pesar de que *H. cyanoguttatus* es nativa de los afluentes del río Grande (a 10 km de Cuatrociénegas), es probable que en los últimos 150 años haya invadido la cuenca de Cuatrociénegas a través de canales artificiales. Aunque estas dos especies de cíclidos han sido alopátricas durante aproximadamente 2 millones de años, pueden producir híbridos fértiles en condiciones de laboratorio (Hulsey et al. 2016).

2.8.1 Filogenia de la tribu Heroini

El clado hermano de *Herichthys minckleyi* incluye a *H. cyanoguttatus*, *H. deppi*, *H. carpintis* y *H. tamasopoensis*, el cual divergió en los últimos 3 millones de años (Figura 6; Hulsey et al. 2010).

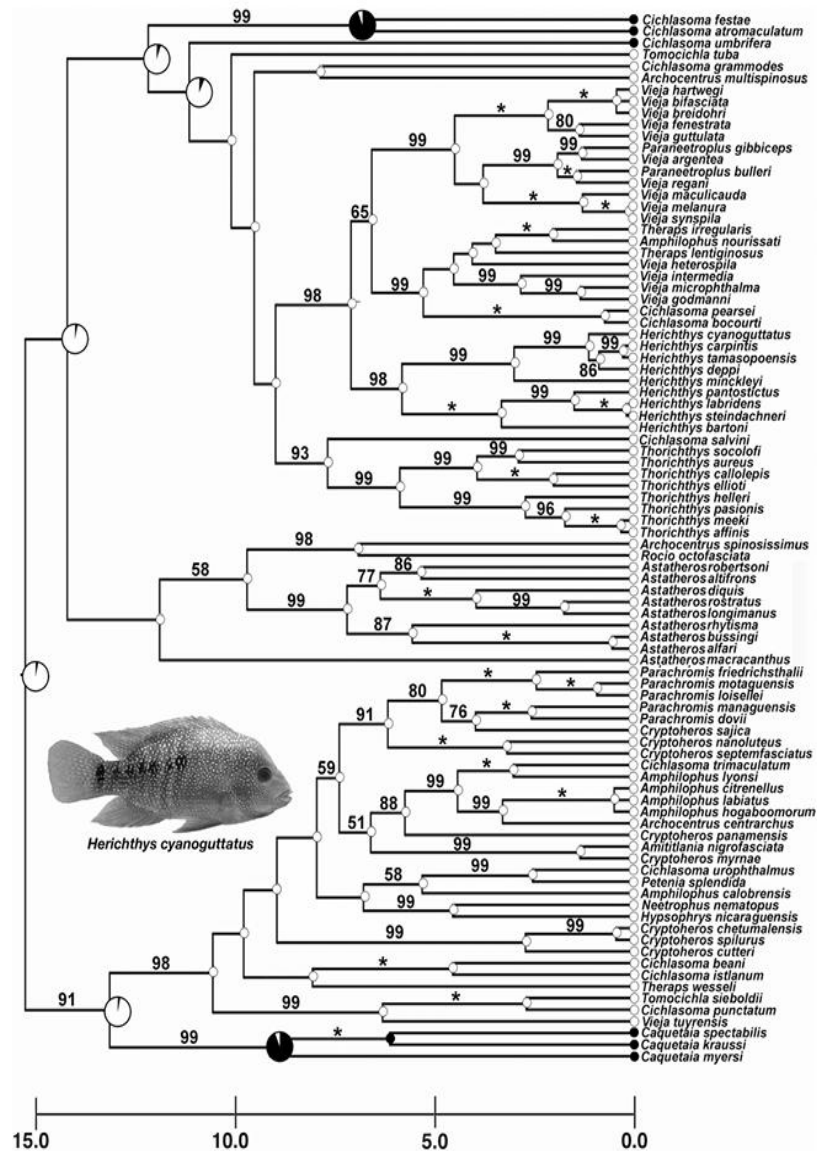


Figura 6. Cronograma de la diversificación de la tribu Heroini.
Tomado de Hulsey et al. 2010.

2.8.2 Sistemas de apareamiento

Herichthys minckleyi es una especie en la que los machos son polígamos y mantienen grandes territorios, mientras que *H. cyanoguttatus* es una especie monógama (Oldfield et al. 2013) en la que los machos defienden pequeños territorios temporales de anidación (Oldfield et al. 2014). Un rasgo común de las especies monógamas es que sexualmente son monocromáticas, lo cual se cumple para *H. cyanoguttatus*. Mientras que *H. minckleyi* es sexualmente dicromática, lo que es un indicio de selección sexual. Las parejas de *H. cyanoguttatus* cuidan a sus crías durante 4-6 semanas antes de abandonarlas y pueden permanecer juntas durante múltiples ciclos reproductivos. Mientras que los machos de *H.*

minckleyi rara vez cuidan de sus parejas y crías y, cuando están presentes, realizan menos cuidados parentales que los machos de *H. cyanoguttatus* (Oldfield et al. 2013).

2.9 Desarrollo embrionario

El desarrollo embrionario es un proceso complejo en el que la diferenciación celular y la proliferación ocurren simultáneamente, pero a diferentes velocidades. Consta de siete etapas (Sancho-Martinez 2018): 1) Periodo cigótico; 2) Periodo de clivaje; 3) Período de blástula; 4) Periodo de gástrula; 5) Periodo de segmentación; 6) Periodo de farínula; y 7) Periodo de eclosión (Tabla 1).

Tabla 1. Fases del desarrollo embrionario en cíclidos.

Periodo	Estadio	dpf	hpf	Características
Cigótico	1	1	0-1.5	1 célula
Clivaje	2	1	1.5-2	2 células
	3	1	2	4 células
	4	1	3	8 células
	5	1	4	16 células
Blástula	6	1	4-12	Blástula temprana
	7	1	12-17	Blástula media
	8	1	17-22	Blástula tardía
Gástrula	9	2	22-26	Gástrula, epibolia al 30-50%
Segmentación	10	2	26-30	Néurula, epibolia al 50-90%
	11	2-3	30-40	Cierre del tapón vitelino y somitogénesis
	12	3	40-44	Copas ópticas y cola socavada
	13	3	44-48	Diferenciación cerebral
Farínula	14	3-4	48-60	Latidos del corazón
	15	4	60-72	Comienzo de la circulación sanguínea
	16	4-5	72-90	Alargamiento de la cabeza
Eclosión	17	5-6	90-110	Extensión de la mandíbula
	18	6	110-120	Formación de las branquias

Donde dpf = días posteriores a la fertilización; hpf = horas posteriores a la fertilización. Modificado de Fujimura y Okada (2007).

2.10 Especies exóticas invasoras

Dentro de las especies de peces exóticas invasoras que han sido introducidas en el valle de Cuatrociénegas resalta el cíclido africano, *Hemichromis guttatus*, el cual compite y depreda a los individuos juveniles de *H. minckleyi* (Hendrickson et al. 2019). También

está la gambusia, *Gambusia affinis*, especie muy agresiva y voraz, la cual fue introducida intencionalmente como control biológico de mosquitos (Ceballos et al. 2016). Dentro de las especies de macroinvertebrados exóticas invasoras que han sido introducidas en el Valle de Cuatrociénegas destacan la almeja asiática (*Corbicula fluminea*) y el caracol invasor *Melanooides tuberculata* (Dugan 2014).

Desde la aparición de *H. guttatus* en la Poza Churince, la proporción de *H. minckleyi* papiliforme ha disminuido, ya que *H. guttatus* tiene una dentición faríngea papiliforme, lo cual ocasiona una superposición en la dieta para este morfotipo. Este aumento en la proporción de *H. minckleyi* molariforme podría potencialmente iniciar una cascada trófica, ya que las poblaciones de caracoles endémicos podrían verse afectadas, lo que a su vez podría afectar a los estromatolitos sobre los que pastan los caracoles (Dugan 2014).

Además, *H. guttatus* está interactuando agresivamente con *H. minckleyi* expulsándola de las zonas cubiertas en oposición a su preferencia. Este cambio de comportamiento en Cuatrociénegas podría verse directamente afectado en las poblaciones de caracoles hidrobíidos, los cuales se encuentran sobre la vegetación, en los sedimentos o en el travertino. Esto podría ocasionar el decline de las poblaciones de caracoles en las áreas abiertas y un aumento en áreas con vegetación, potencialmente llevando a efectos indirectos en otras especies de macroinvertebrados. También se ha reportado que la presencia de *H. guttatus* ocasiona un aumento del caracol invasor *M. tuberculata* (Dugan 2014).

2.11 Medidas de conservación

H. minckleyi se encuentra dentro del área protegida Cuatrociénegas, pero no se conocen acciones de conservación dedicadas para la especie (Hendrickson et al. 2019).

3 JUSTIFICACIÓN

H. minckleyi (Kornfield y Taylor, 1983) es una especie que se encuentra catalogada en peligro de extinción en la NOM-059-SEMARNAT-2010 y en la American Fisheries Society, y en Peligro (EN) en la Lista roja de la IUCN. Es una especie de cíclido endémica y representativa de las cuencas de Cuatrociénegas, que presenta un patrón evolutivo excepcional por ser tróficamente polimórfica, por lo que desempeña un importante papel en varios niveles de la red trófica del ecosistema. Actualmente, sus poblaciones han ido en declive por la desecación de los cuerpos de agua, y por la introducción de especies exóticas invasoras, sin contar que su reserva genética se ve comprometida por la hibridación potencial con *H. cyanoguttatus*. Lo cual resalta la importancia de establecer métodos de inducción a la reproducción *ex situ* con la finalidad de tener un resguardo de su pool genético, y poder contar con ejemplares para su posterior reintroducción a su hábitat natural. Esto por supuesto implica el conocimiento de diferentes aspectos de su biología reproductiva, de la cual muy poco se ha documentado en cautiverio. Además, resulta crucial analizar el riesgo potencial de hibridación con su especie hermana, *H. cyanoguttatus*, la cual podría considerarse como especie exótica en el Valle de Cuatrociénegas, de acuerdo con los registros previos. Adicionalmente, es interesante determinar la factibilidad de inducir un morfotipo determinado por medio de distintos tipos de alimentación. Esto podría ser de utilidad al momento de la reintroducción de *H. minckleyi*, ya que se podrían reintroducir a ejemplares de un determinado morfotipo de acuerdo con las necesidades del ecosistema.

4 HIPÓTESIS

Los métodos de inducción hormonales y la alimentación asegurarían el éxito para alcanzar la madurez sexual en machos y hembras en comparación con los procesos de maduración naturales.

El desarrollo de diferentes morfotipos en *H. minckleyi* puede inducirse alimentando a los individuos con dietas de diferente dureza.

Existe un riesgo potencial de hibridación en *H. minckleyi* con su especie hermana, *H. cyanoguttatus*.

5 OBJETIVO DEL TRABAJO

5.1 General

Como una aproximación a la conservación de *H. minckleyi* y con miras a restaurar sus poblaciones es relevante el establecimiento de métodos de inducción a la reproducción *ex situ*, caracterizar e inducir su morfotipo y evaluar el riesgo potencial de hibridación con su especie hermana, *H. cyanoguttatus*.

5.2 Particulares

- ✓ Caracterizar el morfotipo de acuerdo con la dentición faríngea y otras variantes morfológicas.
- ✓ Inducir la variación en la morfología faríngea mediante la administración de alimentos de diferente dureza.
- ✓ Desarrollar métodos de inducción a la reproducción *ex situ* y comparar su efectividad con los métodos naturales.
- ✓ Analizar el riesgo potencial de hibridación de *H. minckleyi* con su especie hermana, *H. cyanoguttatus*.

6 MATERIAL Y MÉTODOS

6.1 Obtención de los ejemplares

Los ejemplares de *Herichthys minckleyi* (dos machos y dos hembras) fueron capturados años anteriores por miembros del Grupo Ecofisiología de la Facultad de Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Nuevo León, con el permiso de colecta (OFICIO NÚM. SGPA/DGVS/05398/15) otorgado por la SEMARNAT, el 20 de marzo de 2015 en un canal aledaño a la Poza San José del Anteojo (26°58'10.62" N; 102°7'14.91" O) dentro del Área de Protección de Flora y Fauna Cuatrociénegas, Coahuila.

Después de aproximadamente 9 años de llevar el mantenimiento adecuado gracias a la labor en conjunto de los miembros del Grupo Ecofisiología, se retomó el proyecto. En el cual el pie de cría de la presente tesis se basa en la descendencia de aquellos organismos colectados con anterioridad. Para la presente tesis, la primera generación filial (F1) contó con cuatro ejemplares: dos juveniles, un macho y una hembra maduros. Estos ejemplares se encontraban en un tanque de 4,580 L de agua (2.7 m de diámetro con una profundidad de 80 cm), con un ambiente enriquecido con suficientes refugios y rafia plástica. Así mismo, la calidad del agua se mantuvo durante todos estos años mediante un sistema de filtración y oxigenación. La alimentación de los organismos fue variada, ofreciéndoles principalmente alimento formulado en forma de hojuelas, pequeños trozos de hígado de res, y alimento vivo como Artemia, larvas de mosquito y quironómidos (Mendoza-Alfaro et al. 2017).

6.2 Desoves espontáneos

Después de haber alimentado a diario con una dieta variada, basada principalmente en alimento formulado para peces, y alimento vivo como Artemia, caracoles, larvas de zancudos y quironómidos; de esta pareja madura se obtuvieron tres desoves espontáneos. En el primero, el 7 de agosto del 2023, se observaron aproximadamente de 83 a 100 alevines con una gran movilidad, por lo que muy probablemente estos llevaban cinco días

de haber eclosionado. El segundo ocurrió el 13 de septiembre de 2023, observando en la superficie del acuario aproximadamente de 153 a 200 alevines con muy poca movilidad (posiblemente recién habían eclosionado). El tercer desove ocurrió el 13 de mayo de 2024, observando aproximadamente de 150 a 200 alevines con la hembra. Antes de esta fecha, el 30 de abril del mismo año se observó a ambos progenitores cuidando a los huevos adheridos en un ladrillo; para el seis de mayo del mismo año ya no se observaron los huevos (posiblemente ya habían eclosionado).

Para los tres desoves se retiraron a los alevines con cuidado, esperando el momento en que ellos se acercaban a la superficie, para así poder atraparlos con una red fina y transportarlos a un acuario de 20 L de agua previamente desclorada, con aireación moderada y suficientes refugios. Después del transcurso de un mes, fueron trasladados a un acuario de 800 L de agua. La alimentación en el primer mes de vida fue abundante y diaria, ofreciéndoles exclusivamente nauplios de Artemia y pulga de agua. Tras pasar el primer mes, se les empezó a ofrecer otros alimentos, como alimento formulado, Artemia en etapas más avanzadas, larvas de zancudo, quironómidos, detritus y caracoles. En los meses de invierno, los acuarios se mantuvieron a 25 °C mediante calentadores automáticos.

6.3 Inducción del morfotipo alimenticio

Para inducir el morfotipo alimenticio se llevaron a cabo tres diferentes tratamientos alimenticios:

1. Con alimento blando (tratamiento blando);
 2. Con alimento de dureza moderada (tratamiento con pellets);
 3. Con alimento de dureza extrema (tratamiento con caracoles);
- Más un control negativo, al cual no se les administró alimento. Este tratamiento permitió contemplar muertes por inanición, en el caso de que algún organismo de los diferentes tratamientos no consumiera el alimento administrado.

- Un control externo, al cual se le suministró alimento del tratamiento de dureza blanda. Este tratamiento permitió determinar a qué talla se pudo identificar la morfología faríngea.

El experimento inició el 16 de julio de 2024, a los 71 días de edad de los alevines (considerando el día en que eclosionaron). Para los tres tratamientos (alimento blando, de dureza moderada y extrema) se colocaron 10 individuos al azar de la F2 del tercer desove de *H. minckleyi* en acuarios de vidrio con un volumen de 20 L de agua previamente desclorada. Cada uno de estos tratamientos con sus respectivas tres réplicas. Cada acuario inicialmente fue enriquecido ambientalmente con dos plantas artificiales, dos refugios de PVC y un filtro mecánico. El acomodo de los acuarios fue aleatorio para cada réplica.

6.3.1 Alimento blando

El alimento blando se basó en los primeros 15 días en un alimento formulado de camarón para alevines recién nacidos de 500 μm de diámetro (considerando la apertura de la boca). Posteriormente, se basó en Artemia viva, Artemia liofilizada, tubifex liofilizado, larvas de zancudo y quironómidos.

6.3.2 Alimento de dureza moderada (Tratamiento con pellets)

El alimento de dureza moderada consistió en los primeros meses en alimento formulado para peces marinos (considerando la apertura de la boca, ya que los pellets para peces de agua dulce suelen ser más grandes). Posteriormente, se basó en mini pellets para peces tropicales.

6.3.3 Alimento de dureza extrema (Tratamiento con caracoles)

La alimentación en este tratamiento se basó principalmente en caracoles, seguido de ostrácodos y gamáridos, y en menor medida en alimento formulado los primeros meses. Esto último debido a que en tallas pequeñas se empezó a detectar algunas muertes por inanición (posiblemente por no poder consumir los caracoles de mayor tamaño). Las muertes por inanición fueron repuestas con individuos del control externo. A partir del 15 de noviembre del 2024, se les empezó a dar solo caracoles, ostrácodos y gamáridos, debido a que a partir del 10 de septiembre del mismo año ya no se registró más muertes en este tratamiento.

Para los tres tratamientos previamente descritos, el alimento fue administrado a saciedad dos veces al día (de lunes a viernes, y una vez los sábados). La cantidad administrada se basó en las heces y sobras de alimento, siempre procurando que sobrara alimento. Así mismo, procurando que el diámetro del alimento estuviera acorde al diámetro de la apertura de la boca de los alevines.

6.3.4 Control negativo

El control negativo en un inicio se realizó en un acuario con las mismas características que el resto de los tratamientos, pero posteriormente (30 de julio de 2024) fue necesario separar a los peces, ya que se empezó a observar canibalismo. Para esto se utilizaron acuarios de vidrio redondos de 2 L de agua previamente desclorada y con burbujeo constante. Al día siguiente se pusieron las peceras en un contenedor con agua para mantener la temperatura similar al resto de los tratamientos.

6.3.5 Control externo

Al control externo, se les ofreció alimento del tratamiento blando, y posteriormente, cuando se determinó la talla mínima en la que se pudo caracterizar el morfotipo, se les empezó a ofrecer pellets del tratamiento con alimento de dureza moderada. Este cambio

de alimento se justificó para poder reponer las muertes en el tratamiento con alimento de dureza extrema.

6.3.6 Mantenimiento y monitoreo

El mantenimiento para los tres tratamientos (blando, pellets y caracoles) se basó en extraer con sifón la materia en descomposición tres veces a la semana, seguido de la reposición del agua, y dos veces al mes la limpieza completa del acuario. Así mismo, en verano se cuidó el nivel del agua, y en los meses de invierno se equipó con calentadores automáticos, los cuales se ajustaron a 25 °C. De lunes a viernes se tomó la temperatura, y una vez a la semana el pH.

6.3.7 Caracterización del morfotipo

Se empezaron a caracterizar en el momento en que se pudo identificar la morfología faríngea de acuerdo con el control externo, el cual se identificó el tres de agosto de 2024, aproximadamente a los 2 cm de la LS. Una vez al mes se fijó en alcohol al 96% a un individuo de cada réplica de los tres tratamientos (blando, pellets, caracoles). Para ello, primero fue necesario administrarles anestesia (Aceite de clavo o MS-222) a sobredosis al individuo más grande de cada réplica (para asegurar la caracterización y al mismo tiempo eliminar la competencia). La primera caracterización se realizó el 19 de agosto del 2024 y la última el 3 de marzo del 2025, realizando en total ocho caracterizaciones de cada réplica.

Para cada organismo preservado se les tomó medidas de la dentición faríngea y la longitud del intestino para su caracterización del morfotipo. Las medidas de la dentición faríngea se basaron en las realizadas por Trapani (2003; Figura 7; Tabla 2). También se pesaron con una balanza digital de precisión y se midieron mediante el software ImageJ.

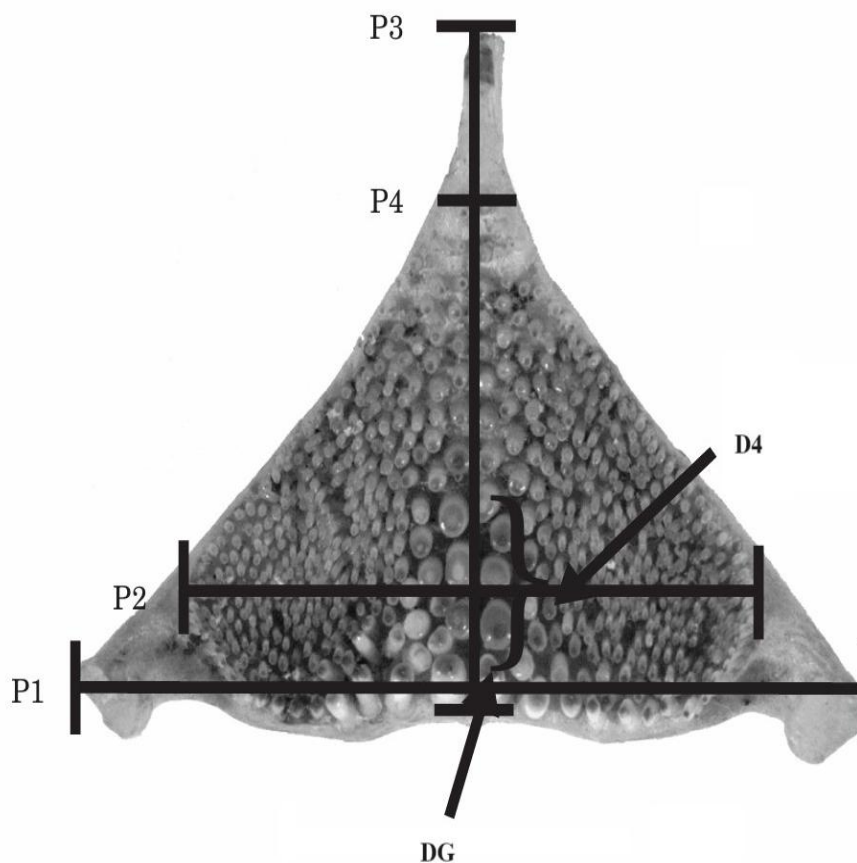


Figura 7. Medidas de la dentición faríngea.
Donde las medidas se describen en la Tabla 2. Imagen tomada y modificada de Trapani (2003).

Tabla 2. Código de las medidas de la dentición faríngea.

Código	Descripción
P1	Ancho máximo en las ramas laterales
P2	Ancho máximo del área dental
P3	Longitud máxima en la sínfisis
P4	Longitud máxima del área dental en la sínfisis
D4	Distancia anteroposterior desde la parte posterior de la fila de dientes hasta la parte anterior del cuarto diente desde la parte posterior
DG	Diámetro mediolateral del diente más grande
nDP	Número de dientes mediolateralmente a lo largo de la fila posterior
nDA	Número de dientes anteroposteriormente a lo largo de la fusión

Para la remoción de la dentadura faríngea inferior se requirió primero remover el opérculo, las branquias, posteriormente aflojar la piel antes del 5° arco branquial, extraer con mucho cuidado la dentadura del arco/ faríngeos y finalmente remover todo el tejido blando.

6.3.8 Análisis morfométricos de la forma del cuerpo

Para analizar si existe o no una variación en la morfometría de la forma del cuerpo en los tres diferentes tratamientos (blando, pellets y caracoles), a cada uno de los organismos preservados se les tomó 11 medidas morfométricas basadas en las realizadas por Trapani (2003; Figura 8, Tabla 3).

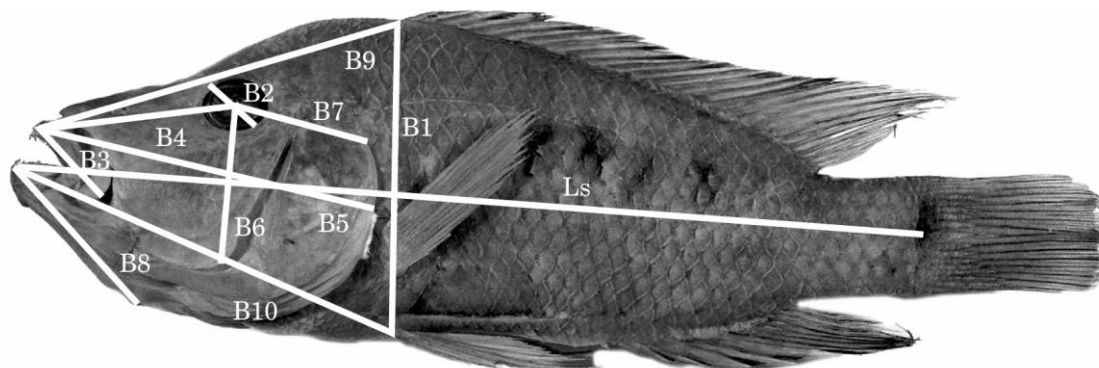


Figura 8. Medidas morfométricas de la forma del cuerpo.
Donde la descripción de las medidas se muestra en la Tabla 3. Imagen tomada de Trapani (2003).

Tabla 3. Código de las medidas morfométricas de la forma del cuerpo.

Código	Descripción
LS	longitud estándar
B1	profundidad del cuerpo (de la aleta pectoral a la pélvica)
B2	anchura de los ojos
B3	longitud de la mandíbula superior
B4	longitud del hocico
B5	longitud de la cabeza
B6	profundidad de las mejillas
B7	longitud postorbital
B8	longitud de la mandíbula inferior
B9	longitud predorsal
B10	longitud prepélvica

6.3.9 Análisis estadísticos

Con el objetivo de evaluar si existían diferencias estadísticamente significativas entre las medidas morfométricas analizadas, primero se estandarizaron dichas variables dividiendo cada una de ellas entre la longitud estándar (LS) de los individuos, obteniendo así proporciones que permitieron controlar el efecto del tamaño corporal y facilitar las comparaciones relativas entre los tratamientos.

Posteriormente, se aplicaron análisis de varianza (ANOVA) a cada una de las variables estandarizadas. Como estos análisis se basan en modelos lineales, fue necesario verificar el cumplimiento de los supuestos de normalidad de los residuos y homogeneidad de varianzas. En los casos en que no se cumplían estos supuestos, las proporciones fueron transformadas mediante funciones de arcoseno o logaritmo natural (base e), dependiendo de la distribución de los datos. Cuando el ANOVA indicó diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$), se realizaron comparaciones post hoc mediante la prueba de Tukey para identificar entre qué tratamientos se encontraban dichas diferencias.

Además, para explorar patrones multivariados en la morfología de la dentición faríngea, se realizó una ordenación no métrica por escalamiento multidimensional (NMDS) basada en la distancia de Bray-Curtis, calculada a partir de las proporciones transformadas (arcoseno de raíz cuadrada) de las medidas morfométricas de la dentición faríngea que indicaron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Este análisis se repitió también en tres dimensiones para evaluar si dicha representación mejoraba la separación entre los tratamientos. Un procedimiento análogo se aplicó a las variables de la forma corporal que mostraron diferencias significativas en el ANOVA, con el propósito de explorar su variación entre los tratamientos.

Para evaluar estadísticamente las diferencias en el espacio morfométrico multivariado, se realizó un análisis PERMANOVA (función `adonis2` en R) utilizando la distancia de Bray-Curtis. Cuando este análisis resultó significativo, se procedió con comparaciones por pares entre tratamientos mediante PERMANOVA, utilizando 999 permutaciones.

Finalmente, con el fin de comparar enfoques alternativos de estandarización y controlar explícitamente el efecto del tamaño corporal, se realizaron análisis de covarianza (ANCOVA) para cada una de las medidas morfométricas, utilizando como covariable la longitud estándar (LS). En los casos necesarios, se transformaron a logaritmo natural (base e) la variable dependiente o/y la covariable para cumplir los supuestos del modelo. La mayoría de los modelos se ajustaron sin interacción entre factores, ya que esta no resultó significativa. Cuando el ANCOVA mostró diferencias significativas, se realizaron comparaciones de medias marginales estimadas (EMMeans) con corrección de Tukey para identificar los tratamientos responsables de las diferencias observadas.

Todos los análisis estadísticos fueron realizados en RStudio (versión XX.X), utilizando los paquetes vegan, emmeans, car, entre otros.

6.3 Inducción a la reproducción *ex situ*

Los tratamientos de inducción a la reproducción se llevaron a cabo del 16 al 25 de octubre del 2024. En total se realizaron cinco diferentes tratamientos más dos controles (Tabla 4). Cada uno de los diferentes tratamientos con sus respectivas tres réplicas. Para este propósito se utilizó el primer desove de la F2 de *H. minckleyi* con 441 días de edad (considerando el día de eclosión).

Tabla 4. Tratamientos para la inducción a la reproducción *ex situ* en *Herichthys minckleyi*.

Tratamiento	Dosis	
	Hembras	Machos
Ovaprim	0.6 ml/kg	La mitad
hCG	1.5 IU/g	
17 β -estradiol	60 mg/Kg	NA
17 β -estradiol y Testosterona	60 mg/Kg	60 mg/Kg
Oral con 17 β -estradiol	Utilizando como vehículo Artemia en un medio con una concentración de E2 de 6.66 mg/ml	NA
Control-1	Suero fisiológico	
Control-2	Artemia sin E2	NA

Los tratamientos de Ovaprim, hCG, 17 β -estradiol, 17 β -estradiol y Testosterona, y el Control-1 se administraron con una jeringa para insulina (U-100 BD Ultra-Fine 6 mmTM) vía intramuscular en la región dorsal (Figura 9). Para estos tratamientos primero se anestesiaron a los organismos con MS-222 (FINQUEL®) a una concentración de 200 mg/L durante aproximadamente 1 a 2 minutos. Antes de la inyección, se les tapó la cara con un paño húmedo para disminuir el estrés (Figura 9).



Figura 9. Inyección vía intramuscular

Las dosis para el tratamiento de Ovaprim y hCG se basaron en las utilizadas en otra especie de cíclido, *Oreochromis niloticus* (Fabanjo y Abdullah 2021; Azevedo et al. 2021). Mientras que para los tratamientos con estradiol se basaron en la utilizada en el cíclido *Labidochromis caeruleus* (Karlı et al. 2021); y la del tratamiento oral se basó en la utilizada en el cíclido joya, *Hemichromis guttatus* (Lozano-Peña, 2020). No obstante, para estos dos últimos tratamientos el propósito no era inducir a la reproducción, sino a la feminización. Por último, las dosis utilizadas en los tratamientos con testosterona se basaron en la utilizada para el estradiol.

En todos los tratamientos, los reproductores fueron alimentados a saciedad durante un mínimo de dos semanas previas a la inducción. También fueron aclimatados durante un mínimo de dos semanas previas en sus respectivos acuarios, pero divididos con una malla transparente.

6.4.1 Preparación del 17β -estradiol

Para preparar el 17β -estradiol vía intramuscular se utilizó un tubo eppendorf de 1.5 ml con 0.0158 g de la hormona y utilizando como vehículo 500 μ l de agua purificada más 1,100 μ l de alcohol al 96%. Para poder disolver completamente la hormona con el

vehículo fue necesario calentar el tubo con la mezcla a 60 °C en una estufa, y enseguida se utilizó un vórtex a la velocidad más alta hasta que no quedaran partículas suspendidas. Posteriormente, se destapó el tubo y se dejó a 60 °C en una estufa hasta que todo el alcohol se evaporara (lo cual sucedió en aproximadamente en 12 horas), utilizando como referencia otro tubo destapado con la misma cantidad de alcohol utilizado.

6.4.2 Tratamiento oral con 17 β -estradiol

Este tratamiento se basó en el protocolo descrito por Lozano-Peña (2020), en el cual el E2 se administró en la dieta, utilizando como vehículo *Artemia sp.* adultas y enriquecidas con dicha hormona. Para este propósito se utilizó 0.0158 g de E2 disuelto en 250 ml de Selco, para así obtener una concentración de 6.66 mg/ml de E2. La solución hormonal fue incorporada mediante goteo en las Artemias durante 2 horas y 30 minutos. Las mojaras que fueron inducidas con este tratamiento fueron alimentadas a saciedad con las Artemias enriquecidas, y como grupo control se utilizó Artemias no enriquecidas. Para evitar que el macho ingiriera a las Artemias se utilizó una malla transparente que los dividía. Dicha malla se retiró hasta que la hembra estuviera saciada o hasta transcurrir aproximadamente 4 horas.

El preparado del Selco consistió en agregar 30 g de gelatina sin sabor en 800 ml de agua pura hervida, y se enfrió hasta 40 °C. Se mezclaron 160 ml de aceite de bacalao y 1 g de β -caroteno en una licuadora a la velocidad más alta por 30 segundos, a la cual se le agregó 30 g de mezcla de vitaminas (C, E y Complejo B) y 4 yemas de huevo. Finalmente, se agregó la gelatina por 90 segundos y se almacenó a 4 °C hasta su uso (Lozano-Peña 2020).

6.4.3 Acuarios de apareamiento

Cada acuario de apareamiento tuvo una capacidad de 60 L, con aireación constante mediante un filtro mecánico, y enriquecido ambientalmente con abundantes escondites y rafia plástica. La proporción de sexos en cada acuario fue de 1:1, una hembra y un macho, los cuales se emparejaron de acuerdo con su peso y talla. En total fueron 21 acuarios de

apareamiento. Para la determinación del tratamiento de cada acuario se hizo una aleatorización por bloques, tomando en consideración el peso y talla de los reproductores. Para determinar el sexo de los organismos se observó en un estereoscopio la papila genital, siendo en las hembras más redondeadas y en los machos más alargadas (Figura 10).



Figura 10. Ejemplo de la papila genital de hembra y macho de *H. minckleyi*.

6.4.4 Mantenimiento y monitoreo

Los organismos fueron alimentados de una a dos veces al día a saciedad de lunes a sábado. El mantenimiento consistió en extraer con sifón el 10% del nivel del agua, y al día siguiente recuperar ese nivel con agua limpia y previamente desclorada. Esto se realizó dos veces por semana. También se tomó la temperatura todos los días de lunes a viernes y una vez a la semana se tomó el pH. Se les equipó con un calentador automático a 28 °C para simular las condiciones estables de las cuencas del Valle de Cuatrociénegas.

6.4.5 Finalización y segunda inducción a la reproducción

La finalización de los tratamientos ocurrió el 30 de enero del 2025, y de acuerdo con los resultados obtenidos se realizó una última inducción con Ovaprim, debido a que con este tratamiento se logró en una repetición dos desoves, pero sin eclosión. Es por esto por lo que se realizaron algunos ajustes en las dosis (Tabla 5). Adicionalmente, también se modificó la capacidad de los acuarios, optando por un acuario de 162 L, así como también se adicionó graba y se incrementó la temperatura a 30 °C. Aunque, el número de repeticiones fue menor, debido a que se contó con pocas parejas viables.

Tabla 5. Dosis de Ovaprim utilizados en los segundos tratamientos.

Tratamientos con Ovaprim	Hembra	Macho	Repeticiones
1	0.6 ml/kg	0.6 ml/kg	2
2	0.6 ml/kg	La mitad, cuatro días después	1

6.4.6 Análisis estadísticos

A cada una de las variables medidas, se les realizó una prueba de Shapiro-Wilk para determinar si el conjunto de datos proviene o no de una distribución normal. Posteriormente, a estas mismas variables y cuando los datos lo permitieran, se les efectuó una prueba de Bartlett para determinar si las varianzas entre los grupos de tratamientos son iguales o no. En caso de no cumplir con el supuesto de normalidad, se realizó una prueba de asimetría para determinar que estadístico aplicar para el análisis de homogeneidad de varianzas entre los tratamientos. Siendo para los datos simétricos la prueba de Levene y los asimétricos la de Brown-Forsythe. Debido a que ninguna variable fue estadísticamente diferente entre al menos dos tratamientos, no fue necesario aplicar más estadísticos. Para todos los análisis estadísticos, la significancia se determinó mediante un valor $p < 0.05$. Para cuantificar el éxito reproductivo se tomó en cuenta el número de huevos por puesta, el porcentaje de eclosión, así como la tasa de supervivencia de los alevines. Para llevar a cabo los análisis de los resultados se utilizó RStudio.

6.4 Riesgo potencial de hibridación

Para este propósito se utilizó a la especie hermana de *H. minckleyi*, *H. cyanoguttatus*. Se utilizó a los organismos del segundo desove de la F2 de *H. minckleyi*, los cuales presentaban aproximadamente las mismas tallas que los ejemplares de *H. cyanoguttatus*. Los organismos de *H. cyanoguttatus* fueron donados por el Laboratorio de Acuacultura de la misma facultad.

El experimento inició el 3 de noviembre del 2024, a los 417 días de edad de los organismos (considerando el día de la eclosión). Antes de esta fecha, los organismos fueron

aclimatados en su respectivo acuario y divididos mediante una malla trasparente durante un mínimo dos semanas. Al igual que en el experimento de reproducción, el emparejamiento de las parejas fue proporcional a su peso y talla, siendo los machos de 1 a 2 g más grandes que las hembras. De igual forma, se determinó el sexo mediante la papila genital.

Se llevaron a cabo dos tratamientos:

1. Una hembra de *H. minckleyi* con un macho de *H. cyanoguttatus*.
2. Un macho de *H. minckleyi* con una hembra de *H. cyanoguttatus*.

Más dos controles de parejas de la misma especie. Cada uno de los tratamientos con sus respectivas tres réplicas.

6.5.1 Acuarios de apareamiento

Los acuarios de apareamiento fueron de un volumen de 142 L, con aireación constante mediante un filtro mecánico, y enriquecido ambientalmente con abundantes escondites y rafia plástica. Adicionalmente, se les proporcionó arena de sílice y grava fina a modo de sustrato para que desoven. En total fueron 12 acuarios de apareamiento.

Mantenimiento

Los organismos fueron alimentados de una a dos veces al día a saciedad de lunes a sábado. El mantenimiento consistió en extraer con un sifón el 10% del nivel del agua, y al día siguiente recuperar ese nivel con agua limpia y previamente desclorada. Esto se realizó dos veces por semana. También se tomó la temperatura todos los días de lunes a viernes y una vez a la semana se tomó el pH.

6.5.2 Análisis estadísticos

A todas las variables se les realizó una prueba de Shapiro-Wilk para determinar si el conjunto de datos proviene o no de una distribución normal. Para aquellas variables que cumplieran con el supuesto de normalidad se les aplicó una prueba de Bartlett para ver si las varianzas son iguales o no entre los tratamientos. En su defecto, para aquellas variables no normales se les hizo una prueba de asimetría para ver que prueba es más recomendable utilizar, siendo la prueba de Levene para datos no asimétricos y la prueba de Brown-Forsythe para datos asimétricos. Para aquellas variables no normales con diferencias estadísticamente significativas entre al menos dos tratamientos se les realizó una prueba de Kruskal-Wallis. Una vez siendo significativas se les efectuó la prueba de comparaciones múltiples de Dunn (1964) tras Kruskal-Wallis para ver las diferencias entre los tratamientos.

Para aquellas variables que cumplieran con el supuesto de normalidad se les realizó un ANOVA para identificar si existen diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Posteriormente, se realizó pruebas post hoc (Tukey) si el ANOVA fue significativo. Para todos los análisis estadísticos, la significancia se determinó mediante un valor $p < 0.05$. También, se utilizaron algunas otras herramientas gráficas para visualizar dicha diferencia entre los tratamientos. Para llevar a cabo los análisis de los resultados se utilizó RStudio.

7 RESULTADOS

7.1 Inducción del morfotipo alimenticio

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las medidas relativas de la longitud intestinal (LI). Además, también se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las medidas relativas de la dentadura faríngea para las variables: del ancho máximo en las ramas laterales (P1), ancho máximo del área dental (P2), número de dientes en la fila posterior (nDP), distancia del primer al cuarto diente (D4) y del diámetro del diente más grande (DG; Tabla 6). Así como también en las medidas relativas de la forma del cuerpo para las variables de la profundidad del cuerpo (B1) y la longitud del hocico (B4; Tabla 6).

Tabla 6. Comparaciones post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$) entre tratamientos para variables morfométricas estandarizadas por la longitud estándar (LS).

Variable	Tratamiento			p adj		
	Blando	Pellets	Caracoles	B vs P	B vs C	C vs P
LI	Mayor	Medio	Menor		0.0288*	
P1	Menor	Medio	Mayor		0.0002**	
P2	Menor	Menor	Mayor		< 0.0001***	0.0031*
nDP	Mayor	Menor	Mayor	0.0018*		0.0019*
D4	Menor	Mayor	Mayor	< 0.0001***	0.0002**	
DG	Menor	Mayor	Mayor	0.0003**	0.0053*	
B1	Menor	Mayor	Mayor	< 0.0001***	0.0078*	
B4	Mayor	Menor	Medio	0.0087*		

Nota: Tratamiento blando (B), Tratamiento con pellets (P), Tratamiento con caracoles (C); significancia del valor p ajustado (p adj): *p < 0.05, **p < 0.001, ***p < 0.0001; para más detalles revisar el anexo 1.

En donde en el tratamiento con alimento blando, la longitud relativa del intestino mostró ser significativamente mayor que en el tratamiento con alimento de dureza extrema (caracoles; Figura 11).

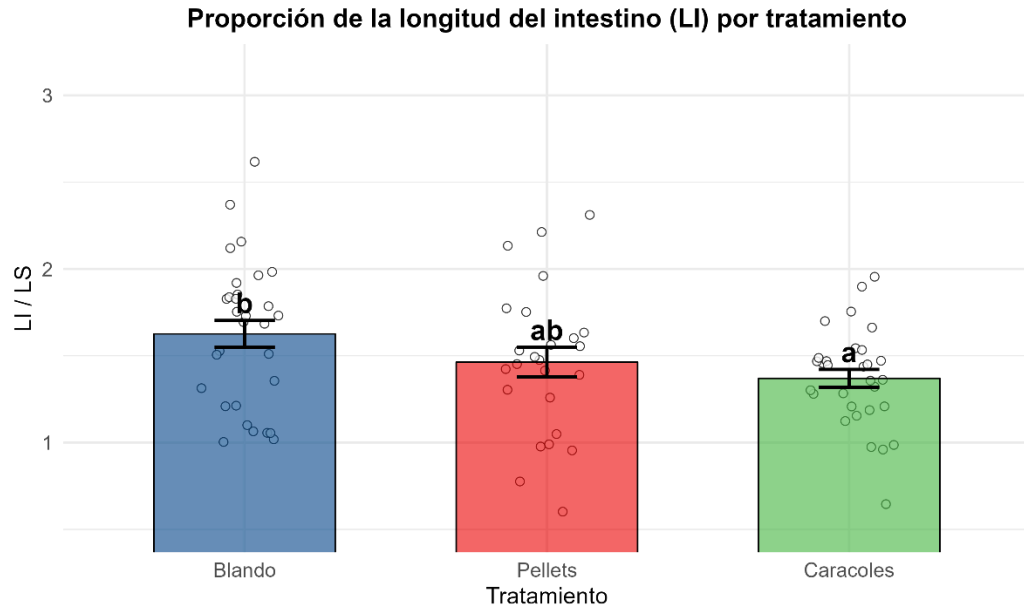
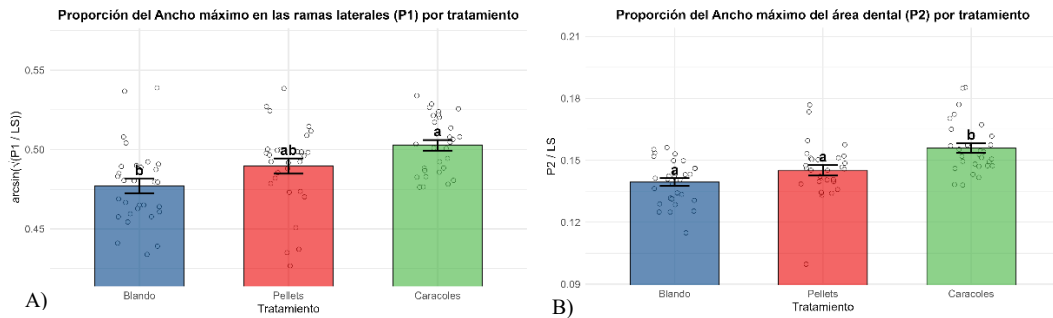


Figura 11. Comparación de la longitud intestinal (LI) entre tratamientos.

En el tratamiento con alimento blando, las medidas relativas de la dentición faríngea fueron significativamente menores para las variables P1, P2, D4 y DG. Mientras que la variable nDP fue significativamente mayor en este tratamiento. Por otro lado, en el tratamiento con alimento de dureza moderada (pellets) las medidas relativas fueron significativamente menores para las variables P2 y nDP. Mientras que las variables D4 y DG fueron significativamente mayores. Por último, en el tratamiento con alimento de dureza extrema (caracoles), las medidas relativas fueron significativamente mayores para las variables P1, P2, nDP, D4 y DG (Tabla 6; Figura 12).



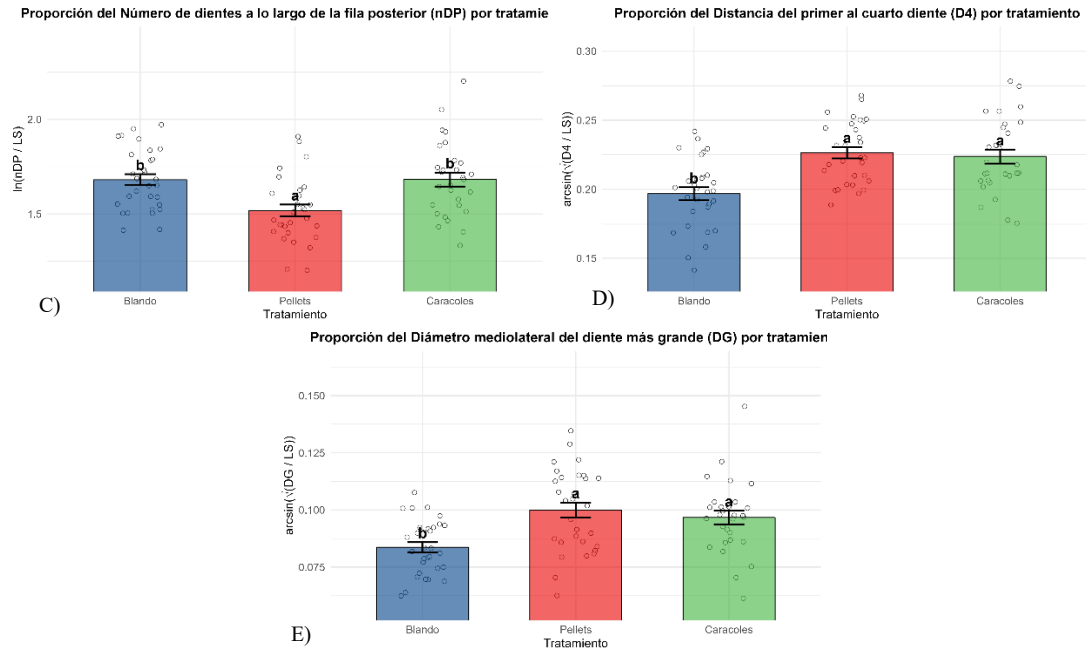


Figura 12. Comparaciones con diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos para las medidas relativas de la dentición faríngea.

En A) del ancho máximo en las ramas laterales (P1); B) del ancho máximo del área dental (P2); C) del número de dientes en la fila posterior (nDP); D) de la distancia del primer al cuarto diente (D4); y E) del diámetro del diente más grande (DG) entre tratamientos.

Respecto a las medidas relativas de la forma del cuerpo, en el tratamiento con alimento blando las medidas fueron significativamente menores para la variable B1 y mayores para la B4. Por otro lado, en el tratamiento con alimento de dureza moderada (pellets), las medidas fueron significativamente mayores para la variable B1 y menores para la B4. Por último, en el tratamiento con alimento de dureza extrema (caracoles) la medida de B1 fue significativamente mayor (Tabla 6; Figura 13).

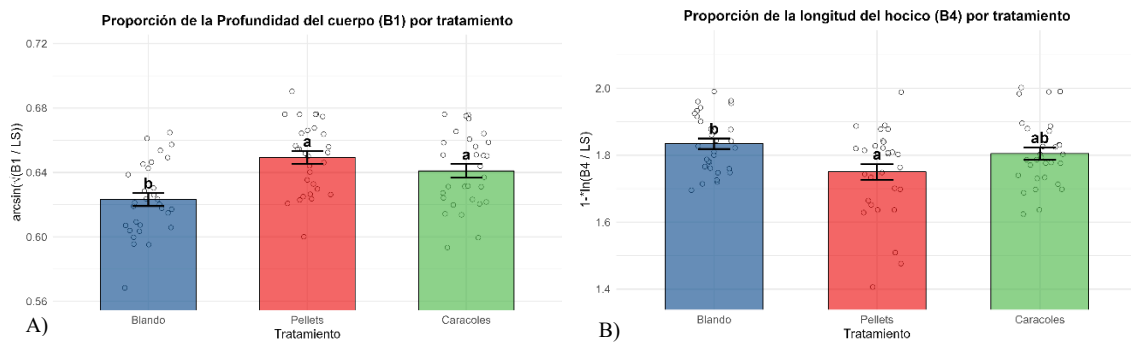


Figura 13. Comparaciones con diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos para las medidas relativas de la forma del cuerpo.

Donde en A) de la profundidad del cuerpo (B1); y en B) de la longitud del hocico (B4).

La ordenación no métrica mediante escalamiento multidimensional (NMDS) basada en la distancia de Bray-Curtis, calculada a partir de las proporciones transformadas (arcoseno de raíz cuadrada) de cuatro medidas morfométricas de la dentición faríngea (P1, P2, D4 y DG) en *Herichthys minckleyi*, mostró un valor de *stress* de 0.110 (Figura 14A), indicando una representación adecuada de los datos en dos dimensiones (*stress* < 0.2). Este mismo análisis, pero en tres dimensiones, mostró un valor de *stress* de 0.077 (Figura 14B), lo que indica una representación excelente de la disimilitud entre individuos (*stress* < 0.1). Además, el análisis PERMANOVA (función *adonis2*, distancia de Bray-Curtis) mostró diferencias significativas en la morfología faríngea entre tratamientos alimenticios ($F = 12.219$, $R^2 = 0.221$, $p = 0.001$; 999 permutaciones). Esto indica que las proporciones de las estructuras medidas (P1, P2, D4, DG) varían sistemáticamente según el tipo de alimento ofrecido. Las comparaciones por pares revelaron que las diferencias multivariadas en la dentición faríngea fueron estadísticamente significativas entre todos los tratamientos ($p < 0.05$), aunque las diferencias más marcadas recaen entre el tratamiento con alimento blando y los otros dos tratamientos ($p = 0.001$; Tabla 7).

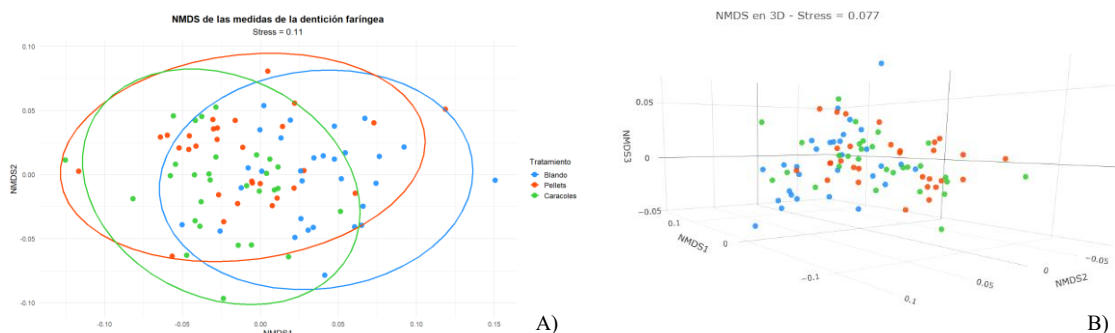


Figura 14. Ordenación no métrica por escalamiento multidimensional (NMDS) para las medidas relativas de la dentición faríngea.

Donde en A) se muestra el NMDS en 2D para las medidas relativas de la dentición faríngea con diferencias significativas (con la excepción de la variable nDP); en B) estas mismas variables, pero en 3D. Para todas las medidas relativas estas fueron transformadas con arcoseno. Los puntos representan individuos agrupados por tratamiento alimenticio (blando, pellets y caracoles), y las elipses indican la distribución multivariada de cada grupo.

Tabla 7. Comparación multivariada de tratamientos mediante PERMANOVA: análisis por pares de las proporciones morfométricas de la dentición faríngea.

Comparación	F	R ²	p-valor
Blando vs Pellets	12.337	0.1754	0.001***
Blando vs Caracoles	20.896	0.26826	0.001 ***
Caracoles vs Pellets	4.0195	0.06587	0.019 *

Nota: Prueba PERMANOVA basada en distancias de Bray-Curtis con 999 permutaciones. Código de significancia: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 ' ' 1.

Por otro lado, la ordenación no métrica mediante escalamiento multidimensional (NMDS) basada en la distancia de Bray-Curtis calculada a partir de las proporciones transformadas (arcoseno de raíz cuadrada) de dos medidas morfométricas del cuerpo (B1 y B4) en *Herichthys minckleyi*, mostró un valor de stress de 0.073 (Figura 15A), lo que indica una representación excelente de los datos en dos dimensiones ($stress < 0.1$). El mismo análisis, realizado en tres dimensiones, presentó un valor de $stress$ aún menor (0.058; Figura 15B), lo que igualmente indica una excelente representación de la disimilitud entre individuos. Además, el análisis PERMANOVA (función `adonis2`, distancia de Bray-Curtis) mostró diferencias significativas en la morfología corporal entre los tratamientos alimenticios ($F = 8.575$, $R^2 = 0.165$, $p = 0.001$; 999 permutaciones). Esto sugiere que las proporciones de las estructuras medidas (B1 y B4) varían sistemáticamente de acuerdo con el tipo de alimento ofrecido. Las comparaciones por pares revelaron que las diferencias multivariadas en la forma del cuerpo fueron estadísticamente significativas entre el tratamiento con alimento blando y los otros dos tratamientos ($p < 0.05$; Tabla 8).

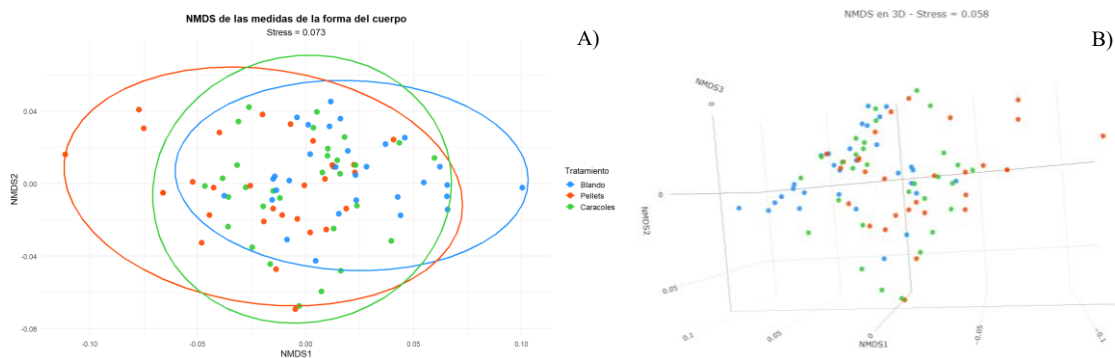


Figura 15. Ordenación no métrica por escalamiento multidimensional (NMDS) para las medidas relativas de la forma del cuerpo.

Donde en A) se muestra el NMDS en 2D para las medidas relativas de la forma del cuerpo con diferencias significativas; y en B) estas mismas variables, pero en 3D. Para todas las medidas relativas estas fueron transformadas con arcoseno. Los puntos representan individuos agrupados por tratamiento alimenticio (blando, pellets y caracoles), y las elipses indican la distribución multivariada de cada grupo.

Tabla 8. Comparación multivariada de tratamientos mediante PERMANOVA: análisis por pares de las proporciones morfométricas del cuerpo.

Comparación	F	R ²	p-valor
Blando vs Pellets	16.562	0.22212	0.001 ***
Blando vs Caracoles	6.345	0.09861	0.004 **
Caracoles vs Pellets	2.7644	0.04549	0.068

Nota: Prueba PERMANOVA basada en distancias de Bray-Curtis con 999 permutaciones. Código de significancia: 0 '***' 0.001 '**' 0.01 '*' 0.05 '.' 0.1 '.' 1.

En contraste, al utilizar un ANCOVA con la longitud estándar (LS) como covariable, las comparaciones de medias marginales estimadas (EMMeans) arrojaron resultados diferentes a los obtenidos mediante las medidas relativas (es decir, proporciones respecto a la LS) (Tabla 9).

Tabla 9. Comparaciones post hoc de medias marginales estimadas (EMMeans) entre tratamientos, ajustadas por LS y con corrección de Tukey.

Variable	Tratamiento			Significancia		
	Blando	Pellets	Caracoles	B vs P	B vs C	P vs C
LI	Mayor	Menor	Medio	0.0173*		
P1	Menor	Mayor	Mayor	0.0011**	0.0088*	
P2	Menor	Mayor	Mayor	0.0199*	< 0.0001***	
D4	Menor	Mayor	Mayor	0.0009***	0.0001***	
DG	Menor	Mayor	Mayor	0.0011**	0.0088**	
B1	Menor	Mayor	Mayor	0.0005**	0.0154*	
B4	Menor	Mayor	Medio	0.0020*		0.0324*
B5	Menor	Mayor	Medio	0.0010**		
B9	Menor	Mayor	Medio	0.0005**		
B10	Menor	Mayor	Medio	0.0280*		

Nota: Tratamiento blando (B), Tratamiento con pellets (P), Tratamiento con caracoles (C); significancia del valor p ajustado (p adj): *p < 0.05, **p < 0.001, ***p < 0.0001; para más detalles revisar el anexo 1.

Por ejemplo, en el tratamiento con alimento de dureza moderada (pellets), la longitud del intestino fue significativamente menor al del tratamiento con alimento blando (Figura 16).

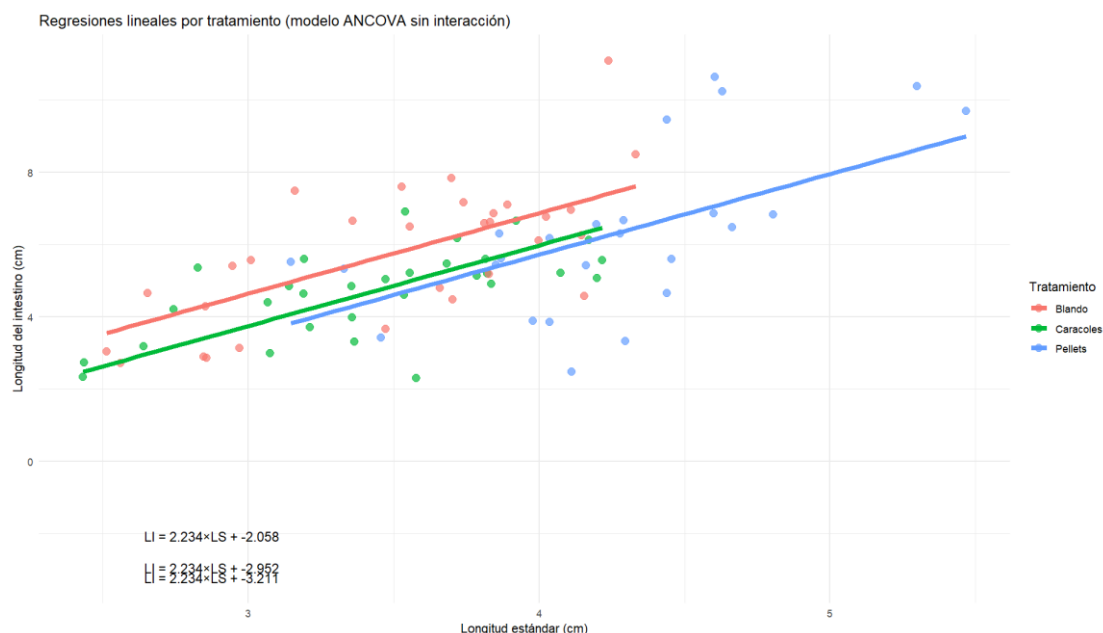


Figura 16. Regresiones lineales por tratamiento (modelo ANCOVA sin interacción) para la longitud del intestino. Nota: para una mejor representación se utilizaron los datos sin transformar.

También, se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$) en las medidas de la dentición faríngea, para el ancho máximo en las ramas laterales (P1), ancho máximo del área dental (P2), distancia desde la parte posterior de la fila de dientes hasta la parte anterior del cuarto diente (D4) y el diámetro mediolateral del diente más grande (DG). En donde estas diferencias se encontraron entre el tratamiento con alimento blando y los otros dos tratamientos, es decir no se encontraron diferencias entre el tratamiento con alimento de dureza moderada (tratamiento con pellets) y el de dureza extrema (tratamiento con caracoles). Donde en todas las variables con la excepción del diámetro mediolateral del diente más grande (DG), el tratamiento de dureza extrema (tratamiento con caracoles) presento mayor medición que en el tratamiento con alimento de dureza moderada (tratamiento con pellets). Mientras que para todas las variables en el tratamiento con alimento blando se presentó una menor medición (Figura 17).

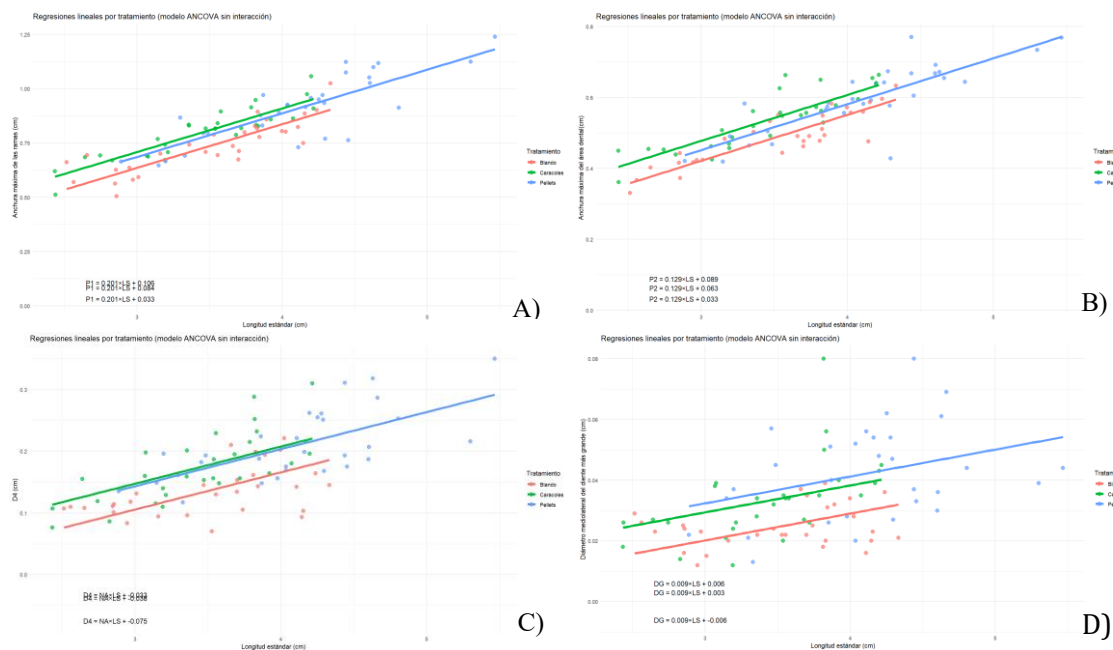


Figura 17. Regresiones lineales por tratamiento (modelo ANCOVA sin interacción) para las medidas de la dentición faríngea.

En A) se muestra la anchura máxima de las ramas (P1), en B) la anchura máxima del área dental (P2), en C) la distancia desde la parte posterior de la fila de dientes hasta la parte anterior del cuarto diente (D4), y en D) el diámetro mediolateral del diente más grande (DG). Nota: para una mejor representación se utilizaron los datos sin transformar.

En las medidas de la forma del cuerpo, se encontraron diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$), para la profundidad del cuerpo (B1), la longitud del hocico (B4), la longitud de la cabeza (B5), la longitud predorsal (B9) y la longitud prepélvica (B10).

En donde estas diferencias para todas las variables mencionadas se encontraron entre el tratamiento con alimento blando y el tratamiento con alimento de dureza moderada (tratamiento con pellets), y además para la B1 entre el tratamiento blando y el de dureza extrema (tratamiento con caracoles), y en la B4 entre el tratamiento con pellets y con caracoles. En donde en todas las medidas fueron mayores en el tratamiento con pellets y menores en el tratamiento blando (Figura 18).

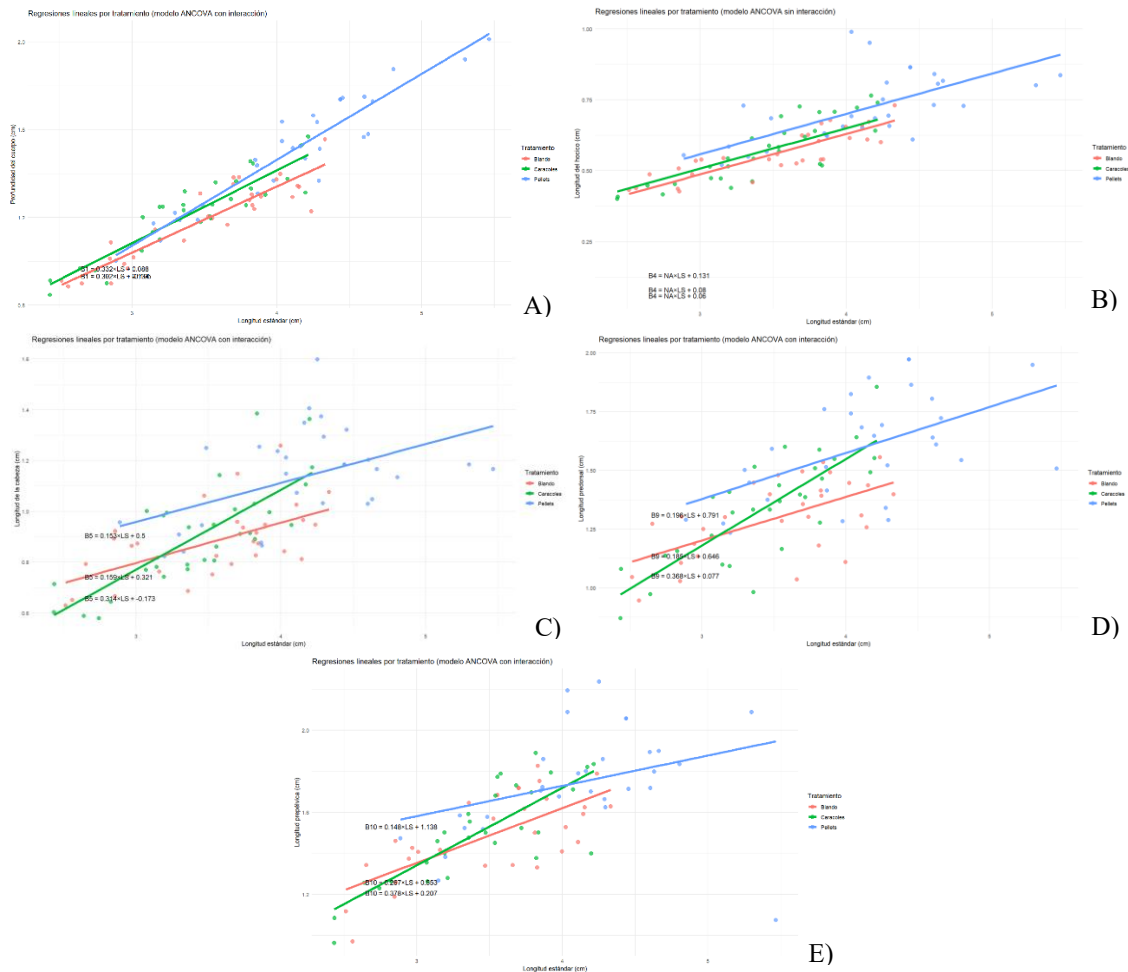


Figura 18. Regresiones lineales por tratamiento (modelo ANCOVA con y sin interacción) para las medidas de la forma del cuerpo.

En A) se muestra la profundidad del cuerpo (B1); en B) la longitud del hocico (B4); en C) la longitud de la cabeza (B5); en D) la longitud predorsal (B9) y en E) prepélvica (B10). Nota: para una mejor representación se utilizaron los datos sin transformar.

También se pudo observar que el DG más alto es de 0.08 cm, siendo para los tratamientos con alimento de dureza extrema (tratamiento con caracoles) y de dureza moderada (tratamiento con pellets). Esto queda evidenciado, por ejemplo, en un ejemplar de 3.817 cm de longitud estándar (LS) del tratamiento con caracoles, cuyo DG medía 0.08 cm,

mientras que un ejemplar ligeramente más grande de 4.109 cm de LS del tratamiento con alimento blando tenía un DG que medía 0.016 cm. Y, finalmente, un ejemplar de aproximadamente 4.439 cm de LS del tratamiento con pellets, su DG media 0.08 cm (Figura 19).

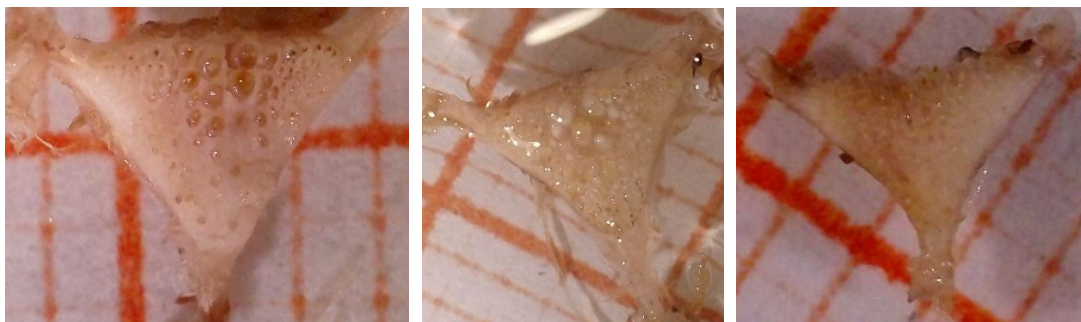


Figura 19. Ejemplo de dientes faríngeos por tratamiento.

Del lado izquierdo se muestra la dentición de un ejemplar del tratamiento con caracoles, en medio la dentición de un ejemplar del tratamiento con pellets y de lado derecho la dentición de un ejemplar del tratamiento con alimento blando.

7.1.1 Tratamiento de inanición

No se pudo registrar la primera muerte por inanición, y la primera muerte registrada sucedió en el día 12. Sin embargo, ya que se observó canibalismo, es posible que no todos los organismos hayan estado completamente en inanición, al menos para las primeras 3 muertes. A partir de la cuarta muerte, los individuos ya se contaron como muertes por inanición segura. Los intervalos en que duraron sin alimento variaron de un día a 22 días. Mientras que los intervalos en que duraron estos alevines (con una edad de 71 días a partir desde que inicio el experimento) tuvieron una restricción de alimento total de antes de 12 días hasta 35 días (Tabla 10).

Tabla 10. Registro de muertes por inanición parcial y total.

No. de muerte	No. de días a partir del inicio del experimento	No. de días a partir del momento en que fueron separados (inanición segura)	°C
2	12	NA	28
3	13	NA	27
4	14	1	31
5	14	1	30
6	20	7	30
7	25	12	29.9
8	30	17	28.8

9	31	18	30
10	35	22	29

7.1.2 Tratamiento con alimento de dureza extrema (tratamiento con caracoles)

En total se murieron 11 ejemplares en el tratamiento con alimento de dureza extrema (tratamiento con caracoles), y a partir del día 56 ya no se registraron más muertes en este tratamiento (Tabla 11).

Tabla 11. Muertes registradas en el tratamiento con caracoles

Rep.	No. de días a partir del inicio del experimento	No. de muertes	°C
1	17	3	30
2	17	2	30
3	17	4	30
1	32	1	27.8
3	56	1	24.9
Total		11	

7.1.3 Tratamiento con alimento de dureza moderada (tratamiento con pellets)

En total se detectaron 8 muertes en este tratamiento, lo cual se le podría atribuir a que en este tratamiento fueron los individuos que más rápido crecieron (observación personal). Por lo que el acuario de 20 L no fue suficiente, y se observó cierta agresividad entre los ejemplares. Dicha agresividad se empezó a apreciar en el día 147 (Tabla 12), a los 218 días de haber eclosionado.

Tabla 12. Muertes registradas en el tratamiento de Pellets

Rep.	No. de días a partir del inicio del experimento	°C
2	147	29
1	149	20
3	171	25
3	177	22.1
2	186	24.2
3	194	25
1	197	24.2
1	203	26.8

Total	8	
-------	---	--

7.2 Inducción a la reproducción *ex situ*

De los 6 diferentes tratamientos, únicamente se detectaron dos desoves en una réplica del tratamiento con Ovaprim. El primero ocurrió el 19 de diciembre de 2024 a 26.1 °C, y se registraron alrededor de 200 huevos de una tonalidad blanca transparente (dicha tonalidad podría indicar que no fueron fertilizados) y adheridos a un refugio de barro, en el cual se observó a la hembra ventilando constantemente a los huevos con sus aletas pectorales y la caudal. El segundo desove ocurrió el 6 de enero del 2025 a 26 °C, y se registraron alrededor de 150 huevos de una tonalidad café transparente (dicha tonalidad podría indicar que los huevos fueron fertilizados) y adheridos al mismo refugio de barro. No obstante, en ninguno de los dos desoves se detectó eclosión. El peso de la hembra fue de 10.955 g (LT = 8.905, LS = 7.521 cm), mientras que del macho de 14.7 g (LT = 10.202, LS = 8.306 cm).

En la mayoría de las réplicas de los diferentes tratamientos se detectaron las muertes de las hembras, lo que es atribuible al estrés causado por el hostigamiento del macho. Las hembras comúnmente se encontraban escondidas evadiendo al macho durante días e incluso meses antes. En algunas réplicas las hembras llegaron a presentar graves heridas y mordeduras en la cola. Un caso en particular, el cual fue el más grave, la hembra había perdido prácticamente toda la parte trasera (Figura 20), cabe mencionar que aún se encontraba viva, y posteriormente falleció.



Figura 20. Hembra extremadamente herida del tratamiento con E2 y T.

Aunque no se logró la reproducción, en varias ejemplares muertas se detectaron hembras grávidas tras realizar la disección (Figura 21, 22 y 23).



Figura 21. Gónadas de hembra grávida (LS de 6.739 cm) con el tratamiento de E2, tras cinco días de haber muerto después de la inducción.

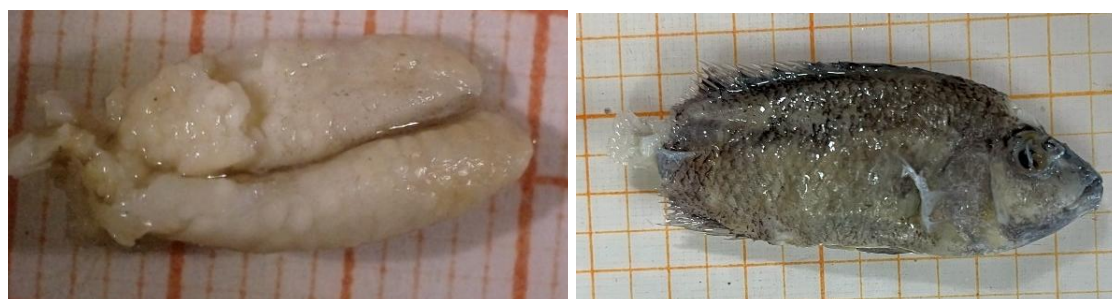


Figura 22. Gónadas de hembra grávida (LS de 6.286 cm) del tratamiento con E2 y T tras haber muerto a los 9 días después de la inducción.



Figura 23. Gónadas de hembra grávida (LS de 6.629 cm) del Control 1, tras haber muerto a los 9 días después de la inducción.

No existe evidencia suficiente para rechazar la hipótesis nula según la prueba de Bartlett, por lo que las varianzas para todas las variables morfométricas consideradas son homogéneas entre los diferentes tratamientos (Tabla 13). De aquí, que el tratamiento de Ovaprim haya resultado más eficaz para inducir el desove, lo cual no es atribuible estadísticamente a ninguna otra variable medida. Asimismo, las muertes registradas tampoco son atribuibles estadísticamente a las diferencias de la talla entre parejas.

Tabla 13. Resultados de la prueba de Bartlett para probar la homogeneidad de varianzas entre los tratamientos.

Variable	Estadístico K ² de Bartlett	gl	p-valor
Peso	6.8868	6	0.3314
LT	7.6077	6	0.2683
LS	7.411	6	0.2845
Diferencia en el peso entre parejas	2.2389	6	0.8965
Diferencia en la LT entre parejas	5.5951	6	0.47
Diferencia en la LS entre parejas	5.9517	6	0.4286

En varias réplicas de los diferentes tratamientos, al momento de finalizar el experimento se regresaron a las parejas, ya que nunca se observó reciprocidad por parte de la hembra. Por lo que al final solo quedaron dos réplicas viables, una del tratamiento de Ovaprim (Acuario 17) y el otro de hCG (Acuario 3), con las cuales se realizó una segunda inducción, pero exclusivamente con Ovaprim.

7.2.1 Segunda inducción a la reproducción

De acuerdo con los resultados obtenidos en la primera inducción, se utilizó únicamente Ovaprim, con el cual se obtuvieron múltiples desoves, eclosiones y la posterior supervivencia de los alevines en diferentes acuarios (Tabla 14 y 15; Figura 24 y 25).

Tabla 14. Resultados del primer éxito reproductivo en los diferentes acuarios

Acuario	No. de huevos	°C	Eclosión	°C	% de Eclosión	% de Supervivencia	Días en que hizo efecto el Ovaprim
A3	292	29.9	0	-	-	-	36
A7	88	28.4	23	29.9	26.14	100	14
A17	184	27	132	29.9	71.74	0	21

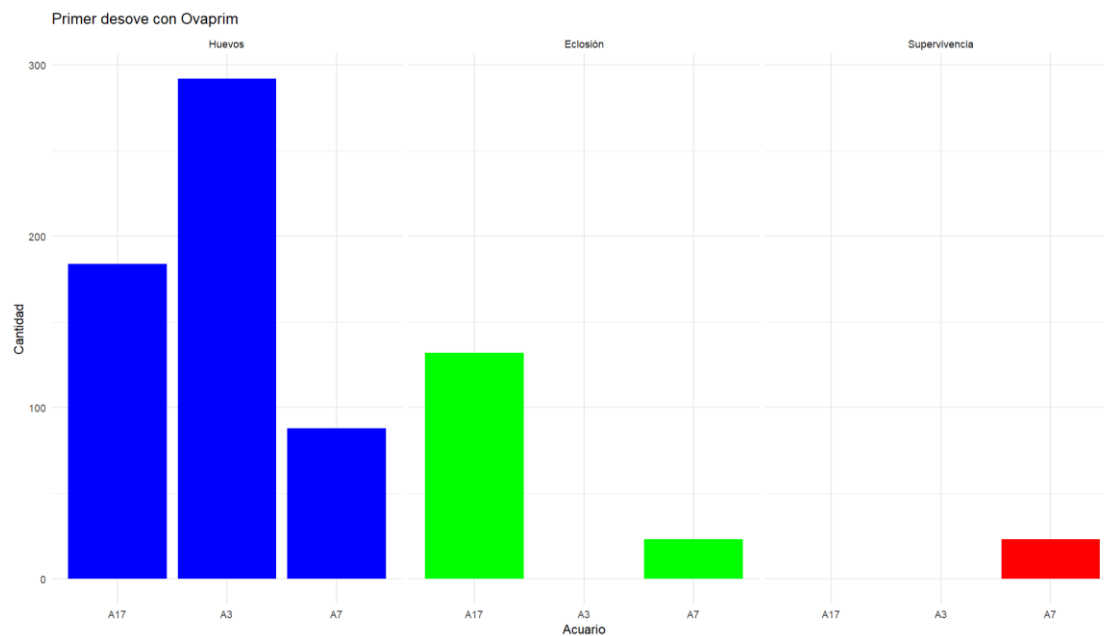


Figura 24. Gráfica de barras que muestra el primer éxito reproductivo en los diferentes acuarios.

Tabla 15. Resultados del segundo éxito reproductivo en los diferentes acuarios

Acuario	No. de huevos	°C	Eclosión	°C	% de Eclosión	% de Supervivencia	Días en que hizo Efecto el Ovaprim
A3	0	-	0	-	0	0	0
A7	112	34.3	0	-	0	0	41
A17	475	30.2	240	31.3	50.53	100	39

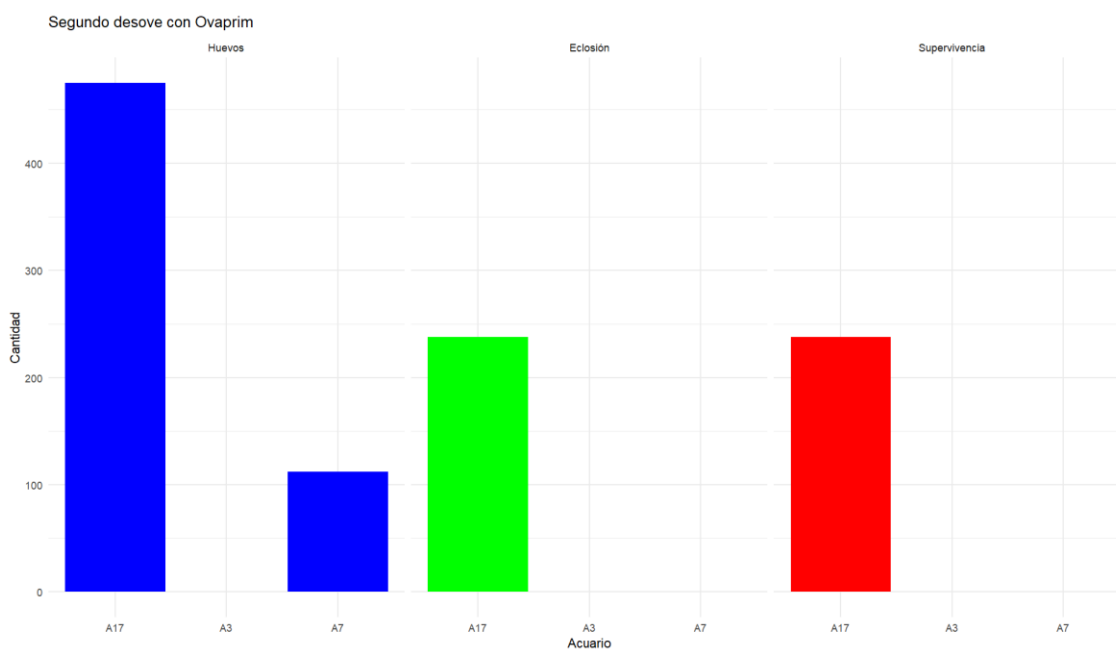


Figura 25. Gráfica de barras que muestra el segundo éxito reproductivo en los diferentes acuarios

El acuario con los mejores resultados fue el 17, mismo que en la primera inducción se le administró Ovaprim, solo que únicamente se le había administrado la mitad de la dosis al macho; y debido a que no se observó la fertilización de los huevos en todos los desoves, es que en esta segunda inducción se decidió administrar la dosis completa. Además, al finalizar la primera inducción a la reproducción se observó al macho con heridas, presumiblemente porque la hembra lo había hostigado. Esto a pesar de que en un principio en este acuario se observó agresividad por parte del macho hacia la hembra, la cual permaneció escondida en la rafia y evadiéndolo por 17 días después de la inducción. Finalmente, se observó el desove (Figura 26) y la eclosión de los alevines a los 4 días, aunque no hubo supervivencia de los alevines. Posteriormente, a los 18 días del primer desove se observó un segundo desove, la fertilización de los huevos al día siguiente a 30.5 °C, y la eclosión a los dos días de la fertilización. Así, se obtuvieron la mayor supervivencia de 240 alevines.

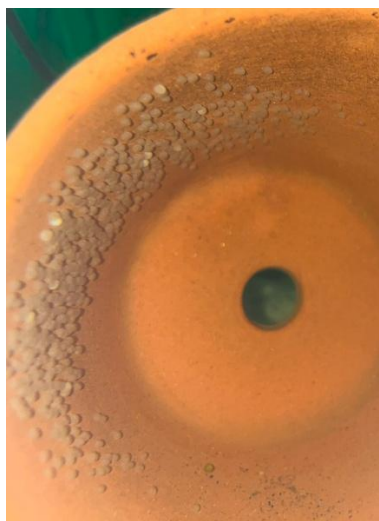


Figura 26. Huevos fertilizados del acuario 17.

7.2.2 Comportamientos reproductivos

Dentro de los comportamientos reproductivos observados se destaca el contacto boca a boca (“beso”), el cual se observó en la mayoría de los acuarios, incluyendo aquellos en donde se observaron desoves (Figura 27). Este “beso” generalmente se observó inmediatamente después de emparejar a los individuos, el cual en varios casos llegaba a ser muy prolongado (aproximadamente de 1 a 5 min.). Después de este “beso”, los

individuos en su mayoría permanecían juntos. Aunque en muchos acuarios no se logró observar el “beso” se les observaron marcas en la boca a los individuos (Figura 28), lo cual podría indicar que habían llevado a cabo dicho comportamiento.



Figura 27. Ejemplo del contacto boca a boca (“beso”) observado en muchos acuarios. Donde el individuo negro corresponde al macho y el claro a la hembra.



Figura 28. Ejemplo de pareja con marcas en la boca después de realizar el “beso”.

También, antes del desove se llegó a observar al macho limpiando el área, en el cual consistía en arrojar con la boca el sustrato de grava. Generalmente, la hembra ponía los huevos cerca de esa área, aunque no precisamente donde el macho limpiaba, ya que solo se observó el desove en estructuras como macetas de barro o refugios de PVC. Después de la eclosión y durante el cuidado de los alevines ambos permanecían juntos (Figura 29), aunque por momentos el macho se retiraba y regresaba.



Figura 29. Hembra (el ejemplar más claro) y macho cuidando a sus alevines (Acuario 7).

7.3 Riesgo potencial de hibridación

La hibridación fue detectada en el tratamiento mixto que incluía una hembra de *H. minckleyi* y un macho de *H. cyanoguttatus*. A una temperatura de 28.8 °C, se observaron alevines acompañados por ambos progenitores (Figura 30). Cabe destacar que este evento

se registró casi siete meses después del inicio de los experimentos, cuando los ejemplares tenían aproximadamente 1.71 años de edad.



Figura 30. Alevines del tratamiento mixto con una hembra *H. minckleyi* y un macho de *H. cyanoguttatus* (repetición 1).

En otra pareja del mismo tratamiento se observaron conductas reproductivas. Los comportamientos de cortejo registrados incluyeron perseguirse mutuamente en círculos, mordidas en la región bucal y un cambio en la coloración de la hembra de *H. minckleyi*, que adquirió un tono más claro. Además, cinco días después del inicio del experimento, ambos individuos comenzaron a permanecer juntos de manera constante (Figura 31).





Figura 31. Comportamientos reproductivos registrados en el tratamiento 1 (repetición 3), una hembra de *H. minckleyi* con un macho de *H. cyanoguttatus*.

Por otro lado, en una pareja del tratamiento control correspondiente a la especie *H. cyanoguttatus* (tratamiento 4), se observaron alevines junto a los reproductores a una temperatura de 26.6 °C (Figura 32). Este evento se registró a los 100 días del inicio del experimento, cuando los individuos tenían aproximadamente 517 días de edad.



Figura 32. Hembra de *H. cyanoguttatus* con sus alevines (tratamiento 4, repetición 2)

Al igual que en el experimento de reproducción, se registraron muertes de hembras, probablemente causadas por los machos. Este comportamiento se observó únicamente en los tratamientos en los que el macho fue de *H. minckleyi* (Tratamiento 2 y 3; Tabla 16).

Tabla 16. Comportamientos registrados en los tratamientos.

Tto.	Hembra	Macho	Muertes	Evasión	Comp.	Reproducción
1	<i>H. minckleyi</i>	<i>H. cyanoguttatus</i>		1	1	1
2	<i>H. cyanoguttatus</i>	<i>H. minckleyi</i>	2	1		
3	<i>H. minckleyi</i>	<i>H. minckleyi</i>	3			
4	<i>H. cyanoguttatus</i>	<i>H. cyanoguttatus</i>		1	1	1

Nota: Tto. = Tratamiento; Comp. = Compatibilidad. Cada número representa el número de repeticiones en que se registró dichos comportamientos.

La prueba post hoc de Tukey indicó que los individuos del Tratamiento 2 (una hembra de *H. cyanoguttatus* con un macho de *H. minckleyi*) y del Tratamiento 4 (tratamiento control de *H. cyanoguttatus*) presentaron un peso significativamente mayor que los del Tratamiento 1 (una hembra de *H. minckleyi* con un macho de *H. cyanoguttatus*) (Tabla 17). Esta diferencia en el peso podría explicar por qué en el Tratamiento 1 se observó el desove mucho tiempo después.

Tabla 17. Comparación del peso entre los diferentes tratamientos mediante la prueba post hoc (Tukey).

Comparación	Diferencia (diff)	Límite inferior (lwr)	Límite superior (upr)	p-valor (p adj)
2 - 1	6.87	2.21	11.52	0.0027*
3 - 1	2.25	-2.41	6.91	0.5425
4 - 1	4.92	0.26	9.58	0.0363*
3 - 2	-4.62	-9.27	0.04	0.0528
4 - 2	-1.95	-6.61	2.71	0.6517
4 - 3	2.67	-1.99	7.33	0.4000

En * se resaltan aquellas variables con diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$).

También, la prueba post hoc indicó que los individuos del tratamiento 2 (una hembra de *H. cyanoguttatus* con un macho de *H. minckleyi*) tenían una talla (LT y LS) significativamente mayor que los del Tratamiento 1 (una hembra de *H. minckleyi* con un macho de *H. cyanoguttatus*) (Tabla 18 y 19).

Tabla 18. Comparación de la longitud total (LT) entre los diferentes tratamientos mediante la prueba post hoc (Tukey).

Comparación	Diferencia (diff)	Límite inferior (lwr)	Límite superior (upr)	p-valor (p adj)
2 - 1	2.32	0.62	4.02	0.0054*
3 - 1	0.93	-0.77	2.63	0.4423
4 - 1	1.21	-0.49	2.91	0.2247
3 - 2	-1.40	-3.10	0.30	0.1322
4 - 2	-1.11	-2.81	0.59	0.2884
4 - 3	0.28	-1.42	1.98	0.9657

En * se resaltan aquellas variables con diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$).

Tabla 19. Comparación de la longitud estándar (LS) entre los diferentes tratamientos mediante la prueba post hoc (Tukey).

Comparación	Diferencia (diff)	Límite inferior (lwr)	Límite superior (upr)	p-valor (p adj)
2 - 1	1.97	0.55	3.38	0.0048*
3 - 1	0.70	-0.72	2.12	0.5223

4 - 1	1.09	-0.33	2.51	0.1696
3 - 2	-1.26	-2.68	0.16	0.0922
4 - 2	-0.87	-2.29	0.55	0.3406
4 - 3	0.39	-1.03	1.81	0.8662

En * se resaltan aquellas variables con diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$).

8. DISCUSIÓN

8.1 Inducción del morfotipo alimenticio

El tratamiento al que se le suministró alimento de dureza extrema (tratamiento con caracoles), la longitud del intestino (en proporción con la longitud estándar) fue estadísticamente menor que en el tratamiento al que se le suministró alimento blando ($p = 0.029$). Estos resultados concuerdan con los de Kornfield y Taylor (1983), quienes encontraron diferencias en la longitud del intestino de esta especie, siendo más corto en el morfotipo molariforme, y más largo en el papiliforme (Cohen et al. 2005; Ceballos et al. 2016). Esto sugiere que, al considerar esta variable, se pudo inducir el morfotipo molariforme con la dieta de dureza extrema. Por otro lado, al considerar esta variable, fue posible inducir el morfotipo papiliforme mediante la administración de alimento de dureza moderada y con alimento blando.

Respecto a las medidas de la dentición faríngea (en proporción con la longitud estándar), se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cinco variables. Siendo el ancho máximo en las ramas laterales (P1), el ancho máximo del área dental (P2), la distancia del primer al cuarto diente (D4) y del diámetro del diente más grande (DG) menores en el tratamiento con alimento blando. Mientras que en el tratamiento con alimento de dureza extrema (tratamiento con caracoles) todas las cinco medidas fueron mayores. Nuestros resultados concuerdan con Trapani (2003), en el cual en el tratamiento al que se le suministraba caracoles, las medidas lineales de la dentición faríngea fueron mayores.

No obstante, cabe resaltar, que solo en dos medidas de cinco se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos con alimento de dureza extrema (tratamiento con caracoles) y de dureza moderada (tratamiento con pellets). Además, en la medida del número de dientes en la fila posterior (nDP), en el tratamiento con alimento de dureza extrema fue mayor. Lo que podría indicar que no fue posible inducir totalmente el morfotipo molariforme con la dieta de dureza extrema, al menos considerando las variables de la dentición faríngea.

Esto podría atribuirse a lo que reporta Trapani (2003), quien menciona que los morfotipos comienzan a diferenciarse a los 3 cm de la longitud estándar, ya que es a partir de esta talla que los individuos molariformes comienzan a alimentarse de caracoles. En contraste, nuestros individuos del tratamiento con caracoles tenían una mediana de 3.72 cm de la longitud estándar (2.43 - 4.22 cm). Esto también explicaría por qué al principio del experimento en el tratamiento al que se le suministraron caracoles, algunos individuos murieron. Por lo que al principio del experimento se combinó el alimento en este tratamiento, agregando a su dieta, además de caracoles, pellets. También cabe señalar que no siempre se logró tener la suficiente densidad de caracoles, por lo que en varias ocasiones se les combinó el alimento con gamáridos y ostrácodos, esto para respetar la alimentación *ad libitum*.

Además, se debería considerar que replicar en laboratorio la dieta de un morfotipo molariforme es difícil, ya que los caracoles que consumen son endémicos de Cuatrociénegas (Trapani 2003) y se alimentan de los estromatolitos (Dugan 2014). Además, dichos caracoles poseen una concha extremadamente dura, la cual es necesaria para generar el estrés mecánico necesario para generar el morfotipo molariforme (Trapani 2003). Lo que reafirma lo mencionado por Trapani (2003) “la morfología intermedia de muchos individuos de laboratorio refleja su posesión de un fondo genético molariforme en ausencia de la señal ambiental adecuada (la dureza de los caracoles)”. Adicionalmente, también menciona que podría estar relacionado con la baja frecuencia de individuos intermedios (< 5 %; Cohen et al. 2005) en las poblaciones de Cuatrociénegas.

A pesar de las complicaciones, resulta evidente que existen diferencias en la morfología faríngea entre al menos el tratamiento al que se le suministraron alimento blando (en el cual se indujo el morfo papiliforme con éxito) y el tratamiento al que se le suministraron caracoles, cuyos individuos presentaron el morfotipo intermedio o indicios del molariforme. Por lo que, se refuerza la hipótesis de que el morfotipo puede ser inducido por la dureza del alimento (LaBounty 1974; Sage y Selander 1975; Meyer 1990; Huysseune 1995).

En cuanto al componente genético en la variación de la morfología de los dientes faríngeos, Stephens y Hendrickson (2001) observaron que los ejemplares de una sola

nidada, criados con una dieta blanda y descendientes de padres molariformes, desarrollaban denticiones faríngeas molariformes, papiliformes e intermedias. En contraste, en el presente estudio no fue posible inducir los tres morfotipos utilizando únicamente el alimento blando. Esto podría explicarse si se considerara que los progenitores eran de distintos morfotipos, es decir, un cruce entre un individuo molariforme y uno papiliforme. Esta suposición se basa en observaciones durante el experimento, en donde la hembra progenitora aceptaba caracoles como alimento (suponiendo que es del morfotipo molariforme), mientras que el macho no (suponiendo que es del morfotipo papiliforme). Sin embargo, si se acepta la hipótesis genética propuesta por Sage y Selander (1975) como por Kornfield y Taylor (1983), según la cual el polimorfismo trófico está controlado por un solo locus y el alelo papiliforme es el dominante, entonces un cruce molariforme x papiliforme no debería producir descendencia con morfología molariforme.

El polimorfismo trófico es complejo, consideramos que su base genética no puede explicarse mediante un solo locus, ya que la presencia de morfotipos intermediarios plantea una dificultad para este modelo (Trapani 2003), pues solo permitiría un número limitado de combinaciones fenotípicas. Por lo que el polimorfismo trófico podría ser mejor explicado bajo el control poligénico, con variación continua y mantenido por la selección disruptiva (Mather, 1955). Este modelo explicaría por qué, en condiciones naturales, se favorece a los fenotipos extremos, papiliforme y molariforme. Además, con base en nuestros resultados, consideramos posible que exista la dominancia incompleta en la expresión del fenotipo papiliforme.

Aunque la genética determina inicialmente la trayectoria que sigue un individuo y el grado de plasticidad fenotípica que puede expresar (Trapani 2003), en determinadas circunstancias las influencias mecánicas pueden regular la expresión genética en la formación del hueso (Raab-Cullen et al. 1994). No obstante, aún se desconoce el mecanismo por el cual la ingesta de alimentos duros conduce a la molarización en los peces, ya que, en los cíclidos, el desarrollo de los dientes se encuentran encriptados dentro del hueso, fuera del alcance de la tensión mecánica directa (Trapani 2001; Trapani 2003). Por lo que, la variación en la morfología faríngea está controlada tanto genéticamente

como ambientalmente (Trapani 2003), y nuestros resultados respaldan más el componente ambiental.

8.2 Inducción a la reproducción *ex situ*

Los resultados obtenidos indican que el mejor método para inducir a la reproducción *ex situ* en *H. minckleyi* es utilizando Ovaprim a dosis de 0.6 ml/kg para hembras y machos. Esta dosis fue utilizada en otro cíclido, *Oreochromis niloticus*, donde se obtuvo 85.19% de fertilización de los huevos, mientras que en el tratamiento control no se observó ningún desove (Fabanjo y Abdullah, 2021). El tratamiento con Ovaprim fue el único con el cual se logró el desove, fertilización y eclosión. Estos resultados respaldan la eficacia de las hormonas GnRHa y los bloqueadores de dopamina para conseguir la máxima fecundidad en especies asíncronas con una larga estación reproductiva (Mylonas et al. 2010), como podría ser el caso de *H. minckleyi*.

Sin embargo, el tiempo de respuesta para que ocurriera el desove tras la primera inducción fue de 62 días, y de hasta 80 días después de la administración del Ovaprim. En cambio, en la segunda inducción, el desove ocurrió en un periodo más corto, entre 14 y 41 días. Estos resultados contrastan con lo que se reporta sobre el tiempo de acción del Ovaprim, el cual generalmente induce el desove entre 7 y 14 horas después de su aplicación, dependiendo de la especie y las condiciones ambientales (Díaz-Sánchez y Arias-Castellanos 2005; Muñoz y Atencio 2003).

Cabe destacar que la información es nula o inexistente en cuanto a la inducción a la reproducción con hormonas en *H. minckleyi*, por lo que no es posible confirmar si el uso de Ovaprim influyó directamente en el desove, fertilización o eclosión de los huevos. No obstante, ninguna de las variables evaluadas en este estudio mostró diferencias estadísticamente significativas entre los tratamientos. Por lo tanto, si la reproducción se hubiera dado únicamente por las complejiones físicas de los organismos y/o las condiciones ambientales ideales, se esperaría que también ocurriera el desove en al menos otro tratamiento. Aunque no se puede afirmar que la administración del Ovaprim haya provocado por sí solo el desove en *H. minckleyi*, es muy posible que haya contribuido a

estimular el eje hipotálamo-hipófisis-gonadal (HHG), lo cual no ocurrió en los demás tratamientos.

Otra observación positiva con el tratamiento de Ovaprim fue la eclosión de 23 huevos, lo que se logró con una hembra de 4.864 cm de longitud estándar, siendo el desove con el tiempo de acción más rápida tras la inyección, a los 14 días. Esto contrasta con lo que menciona Hendrickson (2006), quien reportó una talla de alrededor de 6 cm de la longitud estándar para la primera madurez sexual en las hembras. Lo que podría atribuirse al éxito reproductivo logrado con el Ovaprim para alcanzar la madurez sexual anticipada. También, Hendrickson (2006) menciona que una hembra de 6 cm de la longitud estándar pone de entre 50 y 100 huevecillos, por lo que la eclosión de 23 huevos provenientes de una hembra de 4.864 cm de longitud estándar se puede considerar congruente.

Dentro de las conductas reproductivas registradas en el experimento se destaca al macho persiguiendo constantemente a la hembra, mientras que la hembra permanecía evadiéndolo y escondida en la rafia. Tras varios días hostigándola, en la mayoría de los acuarios las hembras presentaban lesiones graves, consistiendo en general en la pérdida total o parcial de la aleta caudal, y en los peores casos la muerte. Dichos comportamientos pueden ser explicados con base en la estrategia reproductiva para obtener mayores números de reproducciones (García-Cabello y Palomera-Hernández 2023). En donde los sistemas de apareamiento en peces teleósteos incluyen el cortejo, la coerción y las cópulas forzadas (Clutton-Brock y Parker 1995; McLain y Pratt 1999; Garner et al., 2010; Wootton y Smith 2014; García-Cabello y Palomera-Hernández 2023).

En un principio se pensó que dichas muertes podrían haberse debido a las diferencias entre las tallas entre parejas, sin embargo, los análisis estadísticos mostraron que dichas diferencias no son significativamente distintas entre los tratamientos. Esto sugiere que debe de haber algún tipo de compatibilidad entre parejas, que podría depender de factores que no están relacionados con el tamaño, como el comportamiento, la química o la coordinación entre los individuos. A este respecto, Oliveira y Almada (1998) mencionan que el cortejo en los peces que incuban sobre sustrato (como es el caso de *H. minckleyi*) es un proceso complejo y prolongado que implica la formación de un fuerte vínculo de pareja y una transición gradual del comportamiento agonístico al comportamiento sexual

(Baerends y Baerends van Roon 1950; Barlow 1970; Barlow y Green 1970; Polder 1971; Lamprecht 1973; Baylis 1974, 1976; Baerends 1984; Neil 1984). Esto podría implicar que incluso en parejas de tamaño similar, la falta de un vínculo fuerte podría derivar en conflictos extremos, impidiendo el cambio al comportamiento reproductivo, lo cual se observó en la mayoría de los acuarios.

Este vínculo fuerte entre parejas es especialmente importante en especies monógamas (aunque no es el caso de *H. minckleyi*) o/y con cuidado biparental, donde la cooperación es crucial para el éxito reproductivo. El contacto boca a boca ("beso") observado en los progenitores del pie de cría y en los acuarios donde se detectó el desove, podría constituir algún tipo de reconocimiento social que pudiera permitir la transición al comportamiento reproductivo. Donde este "beso" podría corresponder a lo mencionado por Oldfield y Hofmann (2011) y Oldfield et al. (2014), quienes mencionan que la hembra dirige el comportamiento de unión de pareja hacia el macho con un toque afiliativo con la boca abierta. A este respecto, Baerends y Baerends van Roon (1950), así como Wootton y Smith (2014) mencionan que el cortejo inicial, elaborado y prolongado pueden tener la función de reforzar el vínculo de pareja, especialmente en los cíclidos con cuidado biparental prolongado. Estos autores mencionan que las parejas realizan comportamientos de saludo (la expansión de los opérculos, el temblor y las exhibiciones laterales) cada vez que uno regresa al otro después de una separación. Comportamientos que también se observaron en los experimentos de reproducción realizados en el presente estudio.

No obstante, en dos acuarios donde realizaron dichos comportamientos de cortejo y se observó el desove, después se presentó el hostigamiento y la muerte de la hembra. Esto refuerza la coerción sexual observada como estrategia de reproducción (García-Cabello y Palomera-Hernández 2023). También, los sistemas de apareamiento en peces teleósteos incluyen la elección de pareja tanto pre como post-copulatoria y la formación de vínculos de pareja (Wootton y Smith 2014). Lo que explicaría por qué se presentó la coerción sexual después de haberse formado el vínculo antes, durante el desove, y en algunos casos la eclosión y el cuidado de los alevines.

8.3 Riesgo potencial de hibridación

Los resultados obtenidos en el presente estudio indicaron que el riesgo potencial de hibridación se reduce cuando el macho es de la especie *H. minckleyi* y la hembra de la especie *H. cyanoguttatus*, debido a la alta agresividad del macho. Aunque esta agresividad fue más fuerte en el tratamiento control de *H. minckleyi*, donde en todas las repeticiones el macho mostró una alta agresividad hacia la hembra a tal punto en que esta terminó muerta. Mientras que en el tratamiento con un macho de *H. minckleyi* y una hembra de *H. cyanoguttatus* solo en dos repeticiones de tres sucedió esto. Además, este comportamiento también se presentó en el experimento de inducción a la reproducción. Lo que pudiera indicar un comportamiento de coerción sexual como estrategia reproductiva (García-Cabello y Palomera-Hernández 2023) y un vínculo débil entre las parejas, las cuales no pudieron cambiar del comportamiento agonístico al comportamiento sexual (Baerends y Baerends van Roon 1950; Barlow 1970; Barlow y Green 1970; Polder 1971; Lamprecht 1973; Baylis 1974, 1976; Baerends 1984; Neil 1984; Oliveira y Almada 1998).

Por otro lado, el riesgo potencial de hibridación podría aumentar en hembras de *H. minckleyi* con machos de *H. cyanoguttatus*, ya que en una repetición se observó el desove, eclosión y supervivencia de los alevines, y en otra repetición se detectó la compatibilidad entre parejas. Los resultados del presente estudio difieren de los reportados por Chan y Levin (2005), Chatfield et al. (2010) y Hulsey et al. (2016), quienes sugieren que fallos en los mecanismos de reconocimiento sexual podrían dar lugar a retrocruzamientos asimétricos, en los que hembras de *H. cyanoguttatus* se aparean con machos de *H. minckleyi*. Según estos autores, dicho patrón favorecería la introgresión mitocondrial (heredada por vía materna) hacia la especie endémica *H. minckleyi*. En contraste, los resultados del presente estudio indican que la introgresión sería más probable en dirección opuesta, lo cual podría resultar beneficioso para *H. minckleyi* si el fenotipo transgresor generado es heredable y confiere una ventaja adaptativa a la población híbrida (Lewontin y Birch 1966; Albertson y Kocher 2005).

9 CONCLUSIONES

9.1 Inducción del morfotipo alimenticio

Mediante la administración del alimento de diferente dureza se logró inducir los morfotipos alimenticios, la cual se pudo constatar con la diferencia en la longitud del intestino, en cinco medidas de la dentición faríngea y en dos medidas de la forma del cuerpo. En donde en el tratamiento al que se le suministró alimento blando se pudo inducir el morfotipo papiliforme. Mientras que en los otros dos tratamientos se logró inducir el morfotipo intermedio o indicios del morfotipo molariforme.

El polimorfismo trófico podría explicarse mejor como resultado de un control poligénico con variación continua, mantenido por selección disruptiva, donde el fenotipo papiliforme presenta dominancia incompleta. No obstante, la variación en la morfología faríngea parece estar influenciada tanto por factores genéticos como ambientales.

9.2 Inducción a la reproducción *ex situ*

La administración de Ovaprim a una dosis de 0.6 ml/kg permitió inducir múltiples desoves, posicionándose como el método más eficaz para la reproducción *ex situ* en *Herichthys minckleyi*. En particular, se logró acelerar la madurez sexual en una hembra de 4.864 cm de la longitud estándar, obteniendo exitosamente el desove, la eclosión y la supervivencia de los alevines.

El comportamiento reproductivo en *H. minckleyi* es complejo y prolongado, y la ausencia de un vínculo fuerte entre las parejas puede obstaculizar la transición del comportamiento agonístico al reproductivo, afectando así el éxito en la reproducción.

9.3 Riesgo potencial de hibridación

El riesgo potencial de hibridación se reduce cuando el macho es de la especie *H. minckleyi* y la hembra de la especie *H. cyanoguttatus*, esto debido al comportamiento fuertemente agonístico del macho hacia la hembra. Considerando lo observado en el grupo control de

H. minckleyi, se puede inferir que el comportamiento fue parte de la estrategia reproductiva por parte del macho.

Por otro lado, el riesgo potencial de hibridación se incrementa cuando el macho es *H. cyanoguttatus* y la hembra *H. minckleyi*, ya que se registró la reproducción y conductas reproductivas con un fuerte vínculo entre los individuos de ambas especies.

10 PERSPECTIVAS

10.1 Inducción del morfotipo alimenticio

- Para inducir el morfotipo molariforme se recomienda empezar a ofrecerles caracoles a partir de los 3 cm de la longitud estándar. Antes de esta talla se les recomienda ofrecerles otros alimentos como ostrácodos y/o pellets. No dejando de lado una dieta de nauplios o pulgas de agua por lo menos el primer mes después de haber eclosionado.
- Para evitar la competencia por territorio se recomienda trasladar a los ejemplares a acuarios de una capacidad por mayor a los 20 L, al menos una vez que hayan cumplido los 7 meses de haber eclosionado.
- En caso de hacer un grupo control de inanición, se recomienda separar a los organismos para evitar el canibalismo.
- Se recomienda extender el experimento por lo menos a un año para generar información valiosa, por lo que también se requeriría un mayor número de individuos, considerando al menos de 12 individuos por réplica.
- De ser posible, se recomienda caracterizar el morfotipo de los progenitores para no dejar de lado el componente genético en la variación de la morfología faríngea.
- Resultaría interesante que además de la mandíbula faríngea inferior, se contemplara también la superior.
- Para analizar el nivel de plasticidad y el momento del desarrollo en que se fija la morfología faríngea de los organismos (si es que se fija o es totalmente plástica en toda la etapa de vida), se recomienda cambiar la dieta de los tratamientos. No obstante, para poder realizar dicho experimento se requerirá un tiempo más prolongado y una muestra de individuos mucho más grande.

10.2 Inducción a la reproducción *ex situ*

- Para los acuarios de reproducción se recomiendan acuarios de mínimo 162 L.
- Se recomienda administrar diferentes dosis de Ovaprim y/o incluir otras hormonas GnRH α .

- Para reducir el comportamiento agonístico, se recomienda, en caso de haber eclosión, retirar a los alevines por lo menos a los 18 días de haber eclosionado.
- Para reducir el sesgo entre los tratamientos, se recomienda formar parejas compatibles (con un fuerte vínculo) antes de administrar las hormonas.

10.3 Riesgo potencial de hibridación

- De ser posible, se recomienda incluir un etograma para detectar comportamientos reproductivos. El cual se puede realizar mediante cámaras acuáticas para evitar el estrés.
- Emparejar a los organismos a una edad temprana podría reducir los comportamientos agonísticos, no obstante, habría que estar seguros de la proporción de sexos, la cual resultaría difícil al menos con la observación de la papila genital.

11 BIBLIOGRAFÍA

Albertson RC, Kocher TD. 2005. Genetic architecture sets limits on transgressive segregation in hybrid cichlid fishes. *Evolution* 59:686–690.

Arnold ET. 1972. Behavioral Ecology of Two Pupfishes (Cyprinodontidae, genus *Cyprinodon*) from Northern México. PhD. thesis, Arizona State University.

Artigas-Azas JM. 1994. La Mojarra del Desierto: *Herichthys minckleyi*. The Cichlid Room Companion. Disponible en: <http://www.cichlidae.com/article.php?id=6>.

Azevedo RO, de Alvarenga ÉR, Fernandes AFA, da Silva MA, Alves GFDO, Menezes WF, Turra EM. 2021. Use of hCG hormone in the natural and artificial reproduction of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Aquaculture Research* 52:6380–6388.

Baerends GP, Baerends van Roon JM. 1950. An Introduction to the Study of the Ethology of the Cichlid Fishes. *Behaviour Supplement* 1:1–243.

Baerends GP. 1984. The Organization of the Pre-Spawning Behaviour in the Cichlid Fish *Aequidens Portalegrensis* (Hensel). *Netherlands Journal of Zoology* 34:233–366.

Barlow GW. 1970. A test of appeasement and arousal hypotheses of courtship behavior in a cichlid fish, *Etroplus maculatus*. *Zeitschrift für Tierpsychologie* 27:779–806.

Barlow GW, Green R. 1970. The Problems of Appeasement and of Sexual Roles in the Courtship Behavior of the Blackchin Mouthbreeder, *Tilapia melanotheron* (Pisces: Cichlidae). *Behaviour* 36:84–115.

Baylis J. 1974. The Behavior and Ecology of *Herotilapia multispinosa* (Teleostei, Cichlidae). *Z. Tierpsychol* 34:115–146.

Baylis J. 1976. A Quantitative Study of Long-Term Courtship: II. A Comparative Study of the Dynamics of Courtship in Two New World Cichlid Fishes. *Behaviour* 59:117–161.

Bell KL, Nice CC, Hulsey D. 2019. Population Genomic Evidence Reveals Subtle Patterns of Differentiation in the Trophically Polymorphic Cuatro Ciénegas Cichlid, *Herichthys minckleyi*. *The Journal of heredity* 110:361–369.

Breton B, Roelants Y, Mikolajczyk T, Epler P, Ollevier F. 1995. Induced spawning in teleost fish after oral administration of GnRH-A. 5. *International Symposium on the Reproductive Physiology of Fish*, Austin, Texas, United States, pp. 389.

Ceballos G, Díaz-Pardo E, Martínez-Estévez L, Espinosa-Pérez H. 2016. Los peces dulceacuícolas de México en peligro de extinción. Colección Ediciones científicas universitarias: México, 487 pp.

Chatfield MWH, Kozak KH, Fitzpatrick BM, Tucker PK. 2010. Patterns of differential introgression in a salamander hybrid zone: inferences from genetic data and ecological niche modelling. *Molecular Ecology* 19:4265-4282.

Chan KMA, Levin SA. 2005. Leaky prezygotic isolation and porous genomes: rapid introgression of maternally inherited DNA. *Evolution* 59:720–729.

Clutton-Brock TH, Parker GA. 1995. Sexual coercion in animal societies. *Animal Behaviour* 49:1345–1365.

Cohen AE, Hendrickson DA, Parmesan C, Marks JC. 2005. Habitat Segregation among Trophic Morphs of the Cuatro Ciénegas Cichlid (*Herichthys minckleyi*). *Hidrobiológica* 15:169-181.

Contreras-Balderas S, Ramírez-Flores M. 2000. Estado de Salud de la Acuicultura, Capítulo V: Inventario Nacional de la ictiofauna dulceacuícola mexicana. Instituto Nacional de la Pesca – DGIA, SEMARNAP: México D.F., pp. 47- 70.

Díaz-Sánchez E, Arias-Castellanos JA. 2005. Reproducción inducida de *Rhamdia sebae* c.f. (Siluriformes: Pimelodidae) con Ovaprim. Universidad de Bogotá Jorge Tadeo Lozano, Biología Marina, Facultad de Biología Marina.

DiMaggio MA, Broach JS, Ohs CL. 2014. Evaluation of Ovaprim and Human Chorionic Gonadotropin Doses on Spawning Induction and Egg and Larval Quality of Pigfish, *Orthopristis chrysoptera*. Journal of the World Aquaculture Society 45:243–257.

DiMaggio MA, Broach JS, Ohs CL. 2013. Evaluation of Ovaprim and human chorionic gonadotropin doses on spawning induction and egg and larval quality of pinfish, *Lagodon rhomboides*. Aquaculture 414–415:9–18.

Dugan LE. 2014. Invasion Risk and Impacts of a Popular Aquarium Trade Fish and the Implications for Policy and Conservation Management. PhD dissertation. The University of Texas at Austin. Environmental Science.

Forniés MA, Mañanós E, Carrillo M, Rocha A, Laureau S, Mylonas CC, Zohar Y, Zanuy S. 2001. Spawning induction of individual European sea bass females (*Dicentrarchus labrax*) using different GnRHa delivery systems. Aquaculture 202:221–234.

Fujimura K, Okada N. 2007. Development of the embryo, larva and early juvenile of Nile tilapia *Oreochromis niloticus* (Pisces: Cichlidae). Developmental saging system. Development, growth & differentiation 49:301–324.

García-Cabello KN, Palomera-Hernández V. 2023. Peces invasores y cópulas forzadas: consecuencias para las poblaciones nativas. BOLETÍN de la SCM 3(5).

Garner SR, Bortoluzzi RN, Heath DD, Neff BD. 2010. Sexual conflict inhibits female mate choice for major histocompatibility complex dissimilarity in *Chinook salmon*. Proceedings of the Royal Society of London, B 277:885–894.

González-Díaz AA, Ramírez-Moreno KF, Matamoros WA, Soria-Barreto M, Rodiles-Hernández R. 2022. Geometric morphometric comparison of the oral jaw and

lower pharyngeal jaw of the closely-related cichlid, *Vieja bifasciata*, *V. breidohri* and *V. hartwegi* (Cichliformes: Cichlidae). *Revista Mexicana de Biodiversidad* 93.

Hendrickson D, Mejía-Guerrero O, Pérez-Miranda F. 2019. *Herichthys minckleyi*. The IUCN Red List of Threatened Species.

Hendrickson DA. 2006. Ficha técnica de *Herichthys minckleyi*, en J.J. Schmitter-Soto (ed), Evaluación del riesgo de extinción de los cíclidos mexicanos y de los peces de la frontera sur incluidos en la NOM-059. El Colegio de la Frontera Sur (ECOSUR). Bases de datos SNIB-CONABIO. Proyecto No. CK001. México, D.F, pp. 13.

Hernández-Vidal U. 2002. Identificación del Sexo y Evaluación de la Inducción Hormonal en el Pejelagarto (*Atractosteus tropicus*). Tesis de Maestría, Universidad Autónoma de Nuevo León, pp. 84.

Huysseune A. 1995. Phenotypic plasticity in the lower pharyngeal jaw dentition of *Astatoreochromis alluaudi* (teleostei: cichlidae). *Archives of Oral Biology* 40:1005-1014.

Hulsey CD, Hollingsworth PR, Fordyce JA. 2010. Temporal diversification of Central American cichlids. *BMC Evolutionary Biology* 10:279.

Hulsey CD, Bell KL, García-de-León FJ, Nice CC, Meyer A. 2016. Do relaxed selection and habitat temperature facilitate biased mitogenomic introgression in a narrowly endemic fish?. *Ecology and evolution* 6:3684–3698.

Fabanjo MA, Abdullah N. 2021. Pemberian Hormon Ovabrim Terhadap Fertilisasi Pada Ikan Nila Merah (*Oreochromis niloticus*). *Jurnal Ilmiah agribisnis dan Perikanan (agrikan UMMU-Ternate)* 14.

Huysseune A. 1995. Phenotypic plasticity in the lower pharyngeal jaw dentition of *Astatoreochromis alluaudi* (teleostei: Cichlidae). *Archives of Oral Biology* 40:1005–1014.

International Union for Conservation of Nature and Natural Resources. 2023. The IUCN Red List of Threatened Species.

LaBounty JF. 1974. Materials for the revision of cichlids from northern México and southern Texas, U.S.A. (Perciformes: Cichlidae). PhD. Dissertation and Theses. University Microfilms, Arizona State University, pp. 120.

Lamprecht J. 1973. Mechanismen des Paarzusammenhaltes beim Cichliden *Tilapia mariae* Boulenger 1899 (Cichlidae, Teleostei). Zeitschrift für Tierpsychologie 32:10-61.

Lewontin RC, Birch LC. 1966. Hybridization as a Source of Variation for Adaptation to New Environments. Evolution 20:315–336.

Lozano-Peña E. 2020. Feminización del Cíclido Joya (*Hemichromis guttatus*) utilizando 17 β -estradiol y flutamida. Universidad Autónoma de Nuevo León Facultad de Ciencias Biológicas departamento de Ecología.

Karslı Z, Şahin D, Öz M, Öz Ü, Aral O. 2021. The Effect of Dietary Supplementation of 17 α -Methyltestosterone and 17 β -Estradiol Hormones on Growth, Sex Conversion and Reproduction in Electric Yellow Cichlid (*Labidochromis caeruleus*). Pakistan J. Zool 54:213-218.

Kornfield I, Smith DC, Gagnon PS, Taylor JN. 1982. The Cichlid Fish of Cuatro Ciénegas, Mexico: Direct Evidence of Conspecificity Among Distinct Trophic Morphs. Evolution 36:658–664.

Kornfield I, Taylor JN. 1983. A new species of polymorphic fish, *Cichlasoma minckleyi*, from Cuatro Cienegas, Mexico (Teleostei: Cichlidae). Proceedings of the Biological Society of Washington 96:253-259.

Magalhaes IS, Ornelas-Garcia CP, Leal-Cardin M, Ramírez T, Barluenga M. 2015. Untangling the evolutionary history of a highly polymorphic species: introgressive hybridization and high genetic structure in the desert cichlid fish *Herichtys minckleyi*. Molecular ecology 24:4505-4520.

Mañanós E, Duncan N, Mylonas C. 2008. Reproduction and Control of Ovulation, Spermiation and Spawning in Cultured Fish. Methods in reproductive aquaculture: Marine and freshwater species 3-80.

Mendoza-Alfaro R, Aguilera-González C, Montemayor-Leal J, Montiel-Condado D, Luna-Peña S, Arias-Gámez A, Barriga-Vallejo C, Lozano-Peña E, Flores-Salinas J, Garza-Cuéllar K, Aguilar-Díaz de León C, Castellanos-Meléndez M, Rivas-Morales S, Vazques-Reyna M, Rodríguez-López S, Pequeño-Granados Y. 2017. Evaluación de alternativas para el control del cíclido joya (*Hemichromis guttatus*) africano. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Ciencias Biológicas. Informe final SNIB-CONABIO, Proyecto No. LI003. Ciudad de México.

Mather K. 1955. Polymorphism as an outcome of disruptive selection. *Evolution*, 9:52-61.

McLain DK, Pratt AE. 1999. The cost of sexual coercion and heterospecific sexual harassment on the fecundity of a host-specific, seed-eating insect (*Neacoryphus bicrucis*). *Behav Ecol Sociobiol* 46:164–170.

Meyer A. 1990. Ecological and evolutionary consequences of the trophic polymorphism in *Cichlasoma citrinellum* (Pisces: Cichlidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 39:279–299.

Minckley WL. 1969. Environments of the Bolson of Cuatro Cienegas, Coahuila, Mexico. Science Series Number Two. The University of Texas at El Paso, Texas Western Press 2:1-65.

Muñoz BR, Atencio GV. 2003. Resumen de "Evaluación de la reproducción inducida del blanquillo (*Sorubim cuspicaudus* Littmann, Burr & Nass, 2000) con ovaprim". *Revista MVZ Córdoba* 8:333-334.

Mylonas CC, Fostier A, Zanuy S. 2010. Broodstock management and hormonal manipulations of fish reproduction. *General and Comparative Endocrinology* 165:516-534.

Neil SJ. 1984. Field studies on the behavioral ecology and agonistic behavior of *Cichlasoma meeki* (Pisces: Cichlidae). *Environ Biol Fish* 10:59–68.

NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SEMARNAT-2010, Protección ambiental-Especies nativas de México de flora y fauna silvestres-Categorías de riesgo y especificaciones para su inclusión, exclusión o cambio-Lista de especies en riesgo. Disponible en: https://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5173091

Oldfield RG, Hofmann HA. 2011. Neuropeptide regulation of social behavior in a monogamous cichlid fish. *Physiology and Behavior* 102:296–303.

Oldfield RG, Harris RM, Hendrickson DA, Hofmann HA. 2013. Arginine vasotocin and androgen pathways are associated with mating system variation in North American cichlid fishes. *Hormones and Behavior* 64:44-52.

Oldfield RG, Mandrekar K, Nieves MX, Hendrickson DA, Chakrabarty P, Swanson BO, Hofmann HA. 2014. Parental care in the Cuatro Ciénegas cichlid, *Herichthys minckleyi* (Teleostei: Cichlidae). *Hydrobiologia* 748:233–257.

Oliveira RF, Almada VC. 1998. Dynamics of social interactions during group formation in males of the cichlid fish *Oreochromis mossambicus*. *Acta ethologica* 1-2:57-70.

Parker GA. 1979. Sexual selection and sexual conflict. In: *Sexual Selection and Reproductive Competition in Insects* (Blum, M.S. & Blum, N.A., eds). Academic Press: New York, pp. 123–166.

Patino R. 1997. Manipulations of the Reproductive System of Fishes by Means of Exogenous Chemicals. *The Progressive Fish-Culturist* 59:118–128.

Polder JJW. 1971. On gonads and reproductive behaviour in the cichlid fish *Aequidens portalegrensis* (Hensel). *Neth. J. Zool* 21:265-365.

Raab-Cullen DM, Thiede MA, Peterson DN, Kimmel DB, Recker RR. 1994. Mechanical loading stimulates rapid changes in periosteal gene expression. *Calcified Tissue International* 455:473-478.

Rizzo E, Bazzoli N. 2020. *Biology and Physiology of Freshwater Neotropical Fish*. Chapter 13 - Reproduction and embryogenesis. Academic Press, pp. 287-313.

Sage RD, Selander RK. 1975. Trophic radiation through polymorphism in cichlid fishes. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 72:4669-4673.

Sancho-Martinez C. 2018. Desarrollo Embrionario en Peces Dulceacuicolas de la Familia Poeciliidae, Estrategias de Conservación. Tesis de Licenciatura. Universidad de Ciencias y Artes de Chapas.

Stephens MJ, Hendrickson A. 2001. Larval Development of the Cuatro Ciénegas Cichlid, *Cichlasoma minckleyi*. *The Southwestern Naturalist* 46:16–22.

Swanson BO, Gibb AC, Marks JC, Hendrickson DA. 2003. Trophic polymorphism and behavioral differences decrease intraspecific competition in a cichlid, *Herichthys minckleyi*. *Ecology* 84:1441–1446.

Taylor DW, Minckley WL. 1966. New world for biologists. *Pacific Discovery*, 19:18-22.

Thomas P, Boyd NW. 1989. Dietary administration of an LHRH analogue induces spawning of spoiled seairout (*Cynoscion nebulosus*). *Aquaculture* 80:363-370.

Trapani J. 2001. Location of developing replacement teeth in teleosts. *Copeia* 1:35-51.

Trapani J. 2003. Morphological variability in the Cuatro Ciénegas cichlid, *Cichlasoma minckleyi*. *Journal of Fish Biology* 62:276-298.

Valdebenito I. 2008. Terapias hormonales utilizadas en el control artificial de la madurez sexual en peces de cultivo: una revisión. Archivos de medicina veterinaria 40:115-123.

Van-Valen L. 1988. Species, sets, and the derivative nature of philosophy. Biology and Philosophy 3:49-66.

Wootton RJ, Smith C. 2014. Chapter 8: Mating systems and sexual selection. Reproductive Biology of Teleost Fishes, First Edition, pp. 201-249.

Zepeda-Morales DA. 2021. Agresividad en el cuidado parental y dimorfismo sexual en el tamaño corporal del pez nativo mojarra criolla y el pez invasor falso boca de fuego. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de Morelos. Cuernavaca, Morelos.

ANEXO 1 (INDUCCIÓN AL MORFOTIPO ALIMENTICIO)

Medidas en proporciones (n variable/ LS)

En la Tabla 20 se muestran las variables en proporción con la LS, indicando si fue necesario transformar la proporción para el cumplimiento de los supuestos de normalidad (con la prueba de Shapiro) y homogeneidad de varianzas (con la prueba de Levene) para el análisis ANOVA.

Tabla 20. Variables en proporción con la LS

Proporción	p-valor para prueba de normalidad	p-valor para prueba de homogeneidad de varianzas	p-valor para el ANOVA
(LI/LS)	0.4412	0.1087	0.0356 *
arcsin($\sqrt{(P1/LS)}$)	0.2898	0.6946	0.000267 **
ln(P2/LS)	0.009674*	0.9197	6.02e-06 ***
ln(P3/LS)	0.1063	0.2246	0.114
ln(P4/LS)	3.339e-07***	0.9586	0.099
ln(nDP/LS)	0.2879	0.7489	0.000476 **
(nDA/LS)	0.7708	0.1632	0.277
arcsin($\sqrt{(D4/LS)}$)	0.7335	0.7331	1.22e-05 ***
arcsin($\sqrt{(DG/LS)}$)	0.818	0.058	0.000257 **
arcsin($\sqrt{(B1/LS)}$)	0.1533	0.764	7.2e-05 ***
arcsin($\sqrt{(B2/LS)}$)	0.5492	0.6372	0.437
arcsin($\sqrt{(B3/LS)}$)	0.4567	0.9091	0.759
1-*ln(B4/LS)	0.3351	0.3922	0.0109 *
ln(B5/LS)	0.007329*	0.6903	0.0579
arcsin($\sqrt{(B6/LS)}$)	0.03255*	0.006681 **	0.337
arcsin($\sqrt{(B7/LS)}$)	0.1965	0.7891	0.371
arcsin($\sqrt{(B8/LS)}$)	0.837	0.3353	0.703
arcsin($\sqrt{(B9/LS)}$)	0.1732	0.3493	0.245
(B10/LS)	0.0007444**	0.2411	0.649

Nota: para la proporción ln(P2/LS), ln(P4/LS), ln(B5/LS), arcsin($\sqrt{(B6/LS)}$) y (B10/LS) no fue posible cumplir el supuesto de normalidad, sin embargo, dicha transformación fue la que más se acercó a dicha normalidad. Así mismo con la proporción arcsin($\sqrt{(B6/LS)}$) para la homogeneidad de varianzas. Significancia del valor p: *p < 0.05, **p < 0.001, ***p < 0.0001.

A continuación, en las Tablas de la 21 a la 28 se muestran las comparaciones post hoc de Tukey con intervalos de confianza del 95%.

Tabla 21. Comparaciones post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$) entre tratamientos para la longitud intestinal (LI) estandarizada por la longitud estándar (LS).

Tratamientos	Diff	lwr	upr	p adj
Caracoles-Blando	-0.25666240	-0.4914620	-0.02186282	0.0287541 *
Pellets-Blando	-0.16279883	-0.4090587	0.08346105	0.2608827

Pellets-Caracoles	0.09386357	-0.1523963	0.34012346	0.6356771
--------------------------	------------	------------	------------	-----------

Nota: la proporción (LI/LS) no fue transformada; significancia del valor p ajustado (p adj): *p < 0.05, **p < 0.001, ***p < 0.0001.

Tabla 22. Comparaciones post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$) entre tratamientos para el ancho máximo en las ramas laterales (P1) estandarizada por la longitud estándar (LS).

Tratamientos	diff	Lwr	upr	p adj
Pellets-Blando	0.01249868	-0.001756617	0.02675398	0.0976609
Caracoles-Blando	0.02567171	0.011294040	0.04004937	0.0001538**
Caracoles-Pellets	0.01317302	-0.001204644	0.02755069	0.0794720

Nota: proporción $\arcsin(\sqrt{P1/LS})$; significancia del valor p ajustado (p adj): *p < 0.05, **p < 0.001, ***p < 0.0001.

Tabla 23. Comparaciones post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$) entre tratamientos para el ancho máximo del área dental (P2) estandarizada por la longitud estándar (LS).

Tratamientos	diff	lwr	upr	p adj
Pellets-Blando	0.005775979	-0.001752450	0.01330441	0.1660213
Caracoles-Blando	0.016543437	0.008950384	0.02413649	0.0000040***
Caracoles-Pellets	0.010767457	0.003174405	0.01836051	0.0030843**

Nota: proporción $\ln(P2/LS)$; significancia del valor p ajustado (p adj): *p < 0.05, **p < 0.001, ***p < 0.0001.

Tabla 24. Comparaciones post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$) entre tratamientos para el número de dientes mediolateralmente a lo largo de la fila posterior (nDP) estandarizada por la longitud estándar (LS).

Tratamientos	Diff	lwr	upr	p adj
Pellets-Blando	-0.162685277	-0.2722149	-0.05315569	0.0018444*
Caracoles-Blando	0.001061494	-0.1094083	0.11153127	0.9997105
Caracoles-Pellets	0.163746771	0.0532770	0.27421654	0.0018883*

Nota: proporción $\ln(nDP/LS)$; significancia del valor p ajustado (p adj): *p < 0.05, **p < 0.001, ***p < 0.0001.

Tabla 25. Comparaciones post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$) entre tratamientos para la distancia anteroposterior desde la parte posterior de la fila de dientes hasta la parte anterior del cuarto diente desde la parte posterior (D4) estandarizada por la longitud estándar (LS).

Tratamientos	diff	lwr	upr	p adj
Pellets-Blando	0.029672109	0.01434836	0.04499586	0.0000398***
Caracoles-Blando	0.026854941	0.01139966	0.04231023	0.0002331**
Caracoles-Pellets	-0.002817168	-0.01827245	0.01263812	0.9012017

Nota: proporción $\arcsin(\sqrt{(D4/LS)})$; significancia del valor p ajustado (p adj): *p < 0.05, **p < 0.001, ***p < 0.0001.

Tabla 26. Comparaciones post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$) entre tratamientos para el diámetro mediolateral del diente más grande (DG) estandarizada por la longitud estándar (LS).

Tratamientos	diff	lwr	upr	p adj
Pellets-Blando	0.016239332	0.006646716	0.025831949	0.0003413**
Caracoles-Blando	0.013013248	0.003338291	0.022688206	0.0052876*
Caracoles-Pellets	-0.003226084	-0.012901042	0.006448874	0.7069411

Nota: proporción $\arcsin(\sqrt{(DG/LS)})$; significancia del valor p ajustado (p adj): *p < 0.05, **p < 0.001, ***p < 0.0001.

Tabla 27. Comparaciones post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$) entre tratamientos para el diámetro mediolateral del diente más grande (B1) estandarizada por la longitud estándar (LS).

Tratamientos	diff	lwr	upr	p adj
Pellets-Blando	0.017780393	0.004001178	0.03155961	0.0077995
Caracoles-Blando	0.026126692	0.012347477	0.03990591	0.0000570
Caracoles-Pellets	0.008346299	-0.005432917	0.02212551	0.3229138

Nota: proporción $\arcsin(\sqrt{(B1/LS)})$; significancia del valor p ajustado (p adj): *p < 0.05, **p < 0.001, ***p < 0.0001.

Tabla 28. Comparaciones post hoc de Tukey ($\alpha = 0.05$) entre tratamientos para el diámetro mediolateral del diente más grande (B4) estandarizada por la longitud estándar (LS).

Tratamientos	diff	lwr	upr	p adj
Pellets-Blando	-0.02960566	-0.09562269	0.03641137	0.5355766
Caracoles-Blando	-0.08418893	-0.15020596	-0.01817190	0.0086695
Caracoles-Pellets	-0.05458327	-0.12060030	0.01143376	0.1254002

Nota: proporción $1 - \ln(B4/LS)$; significancia del valor p ajustado (p adj): *p < 0.05, **p < 0.001, ***p < 0.0001.

Medidas con ANCOVA, utilizando como covariable la LS.

En la Tabla 29 se muestran las variables dependientes, utilizando como covariable la LS, indicando si fue necesario transformar alguna de ellas para el cumplimiento de los supuestos de normalidad (con la prueba de Shapiro) y homogeneidad de varianzas (con la prueba de Breusch-Pagan) para el mejor modelo de ANVOCA, con o sin interacción.

Tabla 29. Variables dependientes para el análisis ANCOVA.

Variable dependiente	Covariable	p-valor para el modelo ANCOVA con interacción	p-valor para la prueba de normalidad	p-valor para prueba de homogeneidad de varianzas
ln(LI)	LS	0.6798	0.05179	0.3599
P1	LS	0.7278772	0.05039	0.0537
P2	ln(LS)	0.294	0.003278*	0.4995
ln(P3)	ln(LS)	0.6833	0.1067	0.1405
ln(P4)	ln(LS)	0.4220	5.741e-07***	0.9245
ln(D4)	ln(LS)	0.144	0.149	0.1523
ln(DG)	ln(LS)	0.143454	0.6307	0.4197
ln(nDP)	ln(LS)	0.2433	0.3233	0.8506
nDA	LS	0.4608	0.0513	0.9485
B1	LS	0.04722*	0.1372	0.2313
ln(B2)	ln(LS)	0.479599	0.3129	0.3775
B3	LS	0.5542	0.2769	0.1643
ln(B4)	ln(LS)	0.074496*	0.1187	0.1833
ln(B5)	LS	0.006808*	0.002353*	0.9414
ln(B6)	LS	0.2377	0.05746	0.01171*
B7	LS	0.1243	0.136	0.2842
ln(B8)	ln(LS)	0.6927	0.8924	0.4656
B9	LS	0.041748*	0.4068	0.01848*
B10	LS	0.04295*	0.0001573**	0.008848*

Nota: Para las variables B1, B4, B5, B9 y B10 se utilizó el modelo con interacción; para las variables P2, P4, B5 y B10, no fue posible cumplir el supuesto de normalidad de los residuos del modelo ANCOVA; para las variables B6, B9 y B10, no fue posible cumplir el supuesto de homogeneidad de varianzas del modelo ANCOVA; significancia: *p < 0.05, **p < 0.001, ***p < 0.0001.

En la Tabla 30 se muestran los resultados del ANCOVA, y en la Tabla 31 se muestran los coeficientes del modelo ANCOVA para aquellas variables dependientes significativas estadísticamente. Así mismo, en la Tabla 32 se muestran las comparaciones post hoc de medias marginales estimadas (EMMeans) entre tratamientos.

Tabla 30. Resultados del ANCOVA para las variables dependientes con LS como covariable y Tratamiento como factor.

Variable dependiente	Fuente de variación	gl	Suma de cuadrados	Media cuadrática	Valor F	p-valor
ln(LI)	LS	1	4.2909	4.2909	61.59	< 0.0001 ***
	Tratamiento	2	0.6482	0.3241	4.65	0.012 *
	Residuales	81	5.6430	0.0697		
P1	LS	1	1.4448	1.4448	296.30	< 0.0001 ***
	Tratamiento	2	0.0820	0.0410	8.41	0.0005 **
	Residuales	85	0.4145	0.0049		
P2	ln(LS)	1	0.56811	0.56811	273.501	< 0.0001 ***

	Tratamiento	2	0.04706	0.02353	11.328	< 0.0001 ***
	Residuales	85	0.17656	0.00208		
ln(P3)	ln(LS)	1	1.9129	1.9129	39.471	< 0.0001 ***
	Tratamiento	2	0.1509	0.0754	1.557	0.2168
	Residuales	85	4.1194	0.0485		
	ln(LS)	1	2.31125	2.31125	133.22	< 0.0001 ***
ln(P4)	Tratamiento	2	0.07462	0.03731	2.15	0.1227
	Residuales	85	1.47467	0.01735		
	ln(LS)	1	4.9735	4.9735	93.46	< 0.0001 ***
	Tratamiento	2	1.2273	0.6137	11.53	< 0.0001 ***
	Residuales	85	4.5232	0.0532		
	ln(LS)	1	4.0040	4.0040	35.53	< 0.0001 ***
ln(DG)	Tratamiento	2	1.8527	0.9264	8.22	0.0005 **
	Residuales	85	9.5796	0.1127		
	ln(LS)	1	0.00907	0.00907	0.89	0.3493
	Tratamiento	2	0.00515	0.00257	0.25	0.7783
ln(nDP)	Residuales	85	0.87027	0.01024		
	LS	1	0.177	0.177	0.26	0.6136
nDA	Tratamiento	2	0.893	0.447	0.65	0.5265
	Residuales	85	58.727	0.691		
B1	LS	1	4.8303	4.8303	748.40	< 0.0001 ***
	Tratamiento	2	0.1433	0.0716	11.10	< 0.0001 ***
	LS × Tratamiento	2	0.0409	0.0204	3.17	0.0472*
	Residuales	84	0.5421	0.0065		
ln(B2)	ln(LS)	1	1.282	1.282	59.93	< 0.0001 ***
	Tratamiento	2	0.002	0.001	0.055	0.9467
	Residuales	86	1.840	0.021		
	LS	1	0.226	0.226	62.62	< 0.0001 ***
B3	Tratamiento	2	0.0007	0.0003	0.095	0.9095
	Residuales	86	0.3106	0.0036		
ln(B4)	ln(LS)	1	2.600	2.600	231.58	< 0.0001 ***
	Tratamiento	2	0.143	0.0717	6.38	0.0026*
	Residuales	86	0.966	0.0112		
	LS	1	2.24933	2.24933	116.05	< 0.0001 ***

	Tratamiento	2	0.17563	0.08782	4.53	0.01353*
	LS × Tratamiento	2	0.20539	0.10269	5.30	0.00681*
	Residuales	84	1.62816	0.01938		
ln(B6)	LS	1	2.43625	2.43625	88.91	< 0.0001 ***
	Tratamiento	2	0.05147	0.02573	0.94	0.3949
	Residuales	86	2.35645	0.02740		
B7	LS	1	0.59219	0.59219	44.13	< 0.0001 ***
	Tratamiento	2	0.04577	0.02289	1.71	0.1878
	Residuales	86	1.15407	0.01342		
ln(B8)	ln(LS)	1	1.20615	1.20615	50.47	< 0.0001 ***
	Tratamiento	2	0.05456	0.02728	1.14	0.3241
	Residuales	86	2.05507	0.02390		
B9	LS	1	2.79179	2.79179	112.48	< 0.0001 ***
	Tratamiento	2	0.30237	0.15118	6.09	0.0034*
	LS × Tratamiento	2	0.16378	0.08189	3.30	0.0417*
	Residuales	84	2.08494	0.02482		
B10	LS	1	2.73579	2.73579	76.7510	< 0.0001 ***
	Tratamiento	2	0.14106	0.07053	1.9786	0.1446
	LS × Tratamiento	2	0.23292	0.11646	3.2672	0.0430*
	Residuales	84	2.99419	0.03565		

Nota: gl = grados de libertad; Significancia: *p < 0.05, **p < 0.001, ***p < 0.0001.

Tabla 31. Coeficientes del modelo ANCOVA para las variables dependientes con LS como covariable y Tratamiento como factor.

Variable dependiente	Parámetro	Estimación	Error estándar	Valor t	p-valor
ln(LI)	Intercepto	0.2306	0.2007	1.149	0.254
	LS	0.4174	0.0555	7.519	< 0.0001 ***
	Tratamiento: Caracoles	-0.1491	0.0683	-2.183	0.032 *
	Tratamiento: Pellets	-0.2311	0.0825	-2.801	0.006 *
P1	Intercepto	0.0333	0.0493	0.675	0.501
	LS	0.2008	0.0136	14.807	< 0.0001 ***
	Tratamiento: Caracoles	0.0728	0.0182	3.996	0.0001 ***
	Tratamiento: Pellets	0.0504	0.0198	2.544	0.0128 *
P2	Intercepto	-0.08080	0.04002	-2.019	0.0467*
	ln(LS)	0.45718	0.03149	14.520	< 0.0001***
	Tratamiento: Caracoles	0.05580	0.01189	4.694	< 0.0001***
	Tratamiento: Pellets	0.03516	0.01280	2.746	0.0074*
ln(D4)	Intercepto	-3.5848	0.2026	-17.70	< 0.0001***

	ln(LS)	1.2445	0.1594	7.81	< 0.0001***
	Tratamiento: Caracoles	0.2595	0.0602	4.31	< 0.0001***
	Tratamiento: Pellets	0.2445	0.0648	3.77	0.000297 **
ln(DG)	Intercepto	- 4.98311	0.29482	-16.902	< 0.0001***
	ln(LS)	0.99946	0.23192	4.309	< 0.0001***
	Tratamiento: Caracoles	0.28220	0.08755	3.223	0.00180 *
	Tratamiento: Pellets	0.34077	0.09429	3.614	0.00051 **
B1	Intercepto	0.13403	0.09773	1.371	0.174
	LS	0.30174	0.02753	10.961	< 0.0001***
	Tratamiento: Caracoles	-0.04645	0.14269	-0.325	0.746
	Tratamiento: Pellets	-0.23884	0.14095	-1.694	0.094
	Interacción LS × Caracoles	0.03004	0.04071	0.738	0.463
	Interacción LS × Pellets	0.09013	0.03680	2.449	0.016*
ln(B4)	Intercepto	-1.675	0.093	-17.996	< 0.001**
	ln(LS)	0.872	0.073	11.905	< 0.001**
	Tratamiento: Caracoles	0.027	0.027	0.982	0.329
	Tratamiento: Pellets	0.105	0.030	3.519	0.000694**
ln(B5)	Intercepto	-0.79746	0.16937	-4.708	< 0.0001***
	LS	0.18640	0.04770	3.907	0.000188**
	Tratamiento: Caracoles	-0.56305	0.24729	-2.277	0.025332*
	Tratamiento: Pellets	0.28938	0.24427	1.185	0.239497
	Interacción LS × Caracoles	0.17435	0.07054	2.472	0.015474*
	Interacción LS × Pellets	-0.03683	0.06378	-0.577	0.565149
B9	Intercepto	0.64606	0.19166	3.371	0.00113*
	LS	0.18524	0.05398	3.431	0.00093**
	Tratamiento: Caracoles	-0.56871	0.27983	-2.032	0.04528*
	Tratamiento: Pellets	0.14539	0.27642	0.526	0.60030
	LS × Caracoles	0.18246	0.07983	2.286	0.02479*
	LS × Pellets	0.01045	0.07217	0.145	0.88527
B10	Intercepto	0.55342	0.22968	2.410	0.0182*
	LS	0.26681	0.06469	4.124	< 0.0001***
	Tratamiento: Caracoles	-0.34639	0.33534	-1.033	0.3046
	Tratamiento: Pellets	0.58410	0.33125	1.763	0.0815*
	Interacción: LS × Caracoles	0.11139	0.09566	1.164	0.2476
	Interacción: LS × Pellets	-0.11886	0.08649	-1.374	0.1730

Nota: El grupo de referencia del factor Tratamiento es el tratamiento Blando (Intercepto). Modelo con interacción: B1, B5, B9 y B10; Significancia: *p < 0.05, **p < 0.001, ***p < 0.0001.

Tabla 32. Comparaciones post hoc de medias marginales estimadas (EMMeans) entre tratamientos para las medidas de la longitud del intestino, la dentición faríngea y la forma del cuerpo, ajustadas por la covariable (LS) y con corrección de Tukey

Variable	Comparación	Diferencia estimada	Error estándar	t valor	p-valor
LI	Blando – Caracoles	0.149	0.0683	2.183	0.0803

	Blando – Pellets	0.231	0.0825	2.801	0.0173 *
	Caracoles – Pellets	0.082	0.0847	0.968	0.5990
P1	Blando – Caracoles	-0.0092	0.0030	-3.037	0.0088*
	Blando – Pellets	-0.0122	0.0033	-3.693	0.0011*
	Caracoles – Pellets	-0.0030	0.0034	-0.875	0.6575
P2	Blando – Caracoles	-0.0558	0.0119	-4.694	< 0.0001***
	Blando – Pellets	-0.0352	0.0128	-2.746	0.0199*
	Caracoles – Pellets	0.0206	0.0132	1.568	0.2650
D4	Blando – Caracoles	-0.259	0.0602	-4.313	0.0001***
	Blando – Pellets	-0.245	0.0648	-3.774	0.0009**
	Caracoles – Pellets	0.015	0.0666	0.225	0.9726
DG	Blando – Caracoles	-0.0092	0.0030	-3.037	0.0088*
	Blando – Pellets	-0.0122	0.0033	-3.693	0.0011*
	Caracoles – Pellets	-0.0030	0.0034	-0.875	0.6575
B1	Blando – Caracoles	-0.0643	0.0226	-2.842	0.0154*
	Blando – Pellets	-0.0933	0.0237	-3.932	0.0005**
	Caracoles – Pellets	-0.0291	0.0244	-1.189	0.4631
B2	Blando - Caracoles	-0.0269	0.0274	-0.982	0.5900
	Blando - Pellets	-0.1048	0.0298	-3.519	0.0020*
	Caracoles - Pellets	-0.0778	0.0304	-2.560	0.0324*
B5	Blando - Caracoles	-0.0795	0.0392	-2.030	0.1114
	Blando - Pellets	-0.1536	0.0411	-3.735	0.0010*
	Caracoles - Pellets	-0.0741	0.0424	-1.749	0.1932
B9	Blando – Caracoles	-0.1038	0.0443	-2.340	0.0558
	Blando – Pellets	-0.1839	0.0465	-3.951	0.0005**
	Caracoles – Pellets	-0.0801	0.0479	-1.671	0.2222
B10	Blando – Caracoles	-0.0641	0.0531	-1.207	0.4523
	Blando – Pellets	-0.1460	0.0558	-2.618	0.0280*
	Caracoles – Pellets	-0.0819	0.0574	-1.425	0.3325

Nota: Los valores negativos indican que el segundo tratamiento tuvo un mayor valor promedio que el primero. Los resultados de los modelos con interacción: B1, B5, B9 y B10, deben interpretarse con cautela debido a la presencia de interacción significativa entre LS y Tratamiento. Significancia: *p < 0.05, **p < 0.001, ***p < 0.0001.

ANEXO 2 (INDUCCIÓN A LA REPRODUCCIÓN EX SITU)

Primera inducción a la reproducción

En la Tabla 33, se muestran las variables medidas durante el experimento. En la Tabla 34, se muestran los resultados de la prueba de Shapiro-Wilk para el supuesto de normalidad en cada una de las variables. En la Tabla 35 se muestran los resultados de la prueba de Bartlett para probar la homogeneidad de varianzas entre los tratamientos.

Tabla 33. Variables medidas durante el experimento

Variable	Máx.	Mín.	Mdn.
Temperatura (°C)	38	19	26.1
pH	9.9	7.9	8.79
LT (cm)	12.349	6.065	8.748
Diferencia en la LT entre parejas (cm)	2.529	0.106	1.277
LS (cm)	9.964	4.657	6.8925
Diferencia en la LS entre parejas (cm)	2.331	0.01	0.879
Peso (g)	20.3	5.065	9.55
Diferencia en el peso entre parejas (g)	5.41	0.42	3.371

Tabla 34. Resultados de la prueba de Shapiro-Wilk para el supuesto de normalidad en cada una de las variables.

Variable	W	p-valor
Peso	0.91989	0.5045
LT	0.9844	0.8268
LS	0.98321	0.7838
Diferencia en el peso entre parejas	0.96387	0.5973
Diferencia en la LT entre parejas	0.9631	0.5805
Diferencia en la LS entre parejas	0.96957	0.7235

Donde en * se muestran aquellas variables con una distribución No normal.

Tabla 35. Resultados de la prueba de Bartlett para probar la homogeneidad de varianzas entre los tratamientos.

Variable	Estadístico K² de Bartlett	gl	p-valor
Peso	6.8868	6	0.3314
LT	7.6077	6	0.2683
LS	7.411	6	0.2845
Diferencia en el peso entre parejas	2.2389	6	0.8965
Diferencia en la LT entre parejas	5.5951	6	0.47
Diferencia en la LS entre parejas	5.9517	6	0.4286

Segunda inducción a la reproducción

En la Tabla 36 se muestran las medidas morfométricas de las parejas, en la Tabla 37, se muestran las diferencias en las medidas morfométricas entre cada pareja, y en la Tabla 38 se muestran las medidas de temperatura y pH en cada acuario.

Tabla 36. Medidas morfométricas de las parejas para los diferentes acuarios

Acuario	Tratamiento	Sexo	Peso (g)	LT (cm)	LS (cm)
A3	Ovaprim	Macho	16.042	10.74	8.823
A3	Ovaprim	Hembra	11.97	10.11	8.013
A7	Prime Ovaprim	Macho	8.15	8.034	6.488
A7	Ovaprim	Hembra	6.684	6.159	4.864
A17	Ovaprim	Macho	19.25	9.861	8.677
A17	Ovaprim	Hembra	17.736	9.771	7.821

Tabla 37. Diferencias en el peso, LT y LS entre las parejas para cada acuario.

Acuario	Peso (g)	LT (cm)	LS (cm)	No. de días después de la inducción en que murieron las hembras.
A3	4.072	0.63	0.81	44
A7	1.466	1.875	1.624	47
A17	1.514	0.09	0.856	NA

Tabla 38. Diferencias en los parámetros fisicoquímicos

Acuario	Temperatura Mín.	Máx.	Mdn.	pH Mín.	Máx.	Mdn.
3	21.2	36	30.2	9.05	9.7	9.185
7	26.3	37.9	30.2	9.09	9.6	9.215
17	24.6	36.6	30.2	9.12	9.82	9.25

ANEXO 3 (RIESGO POTENCIAL HIBRIDACIÓN)

En la Tabla 39 se muestran los resultados de la prueba de Shapiro-Wilk para el cumplimiento del supuesto de normalidad. En la Tabla 40 se muestra el resultado de la prueba de asimetría para la variable que no cumplió el supuesto de normalidad, para posteriormente determinar que prueba de homogeneidad de varianza es más conveniente utilizar. En la Tabla 41 y 42 se muestran resultados de la prueba de Bartlett y Levene para probar la homogeneidad de varianzas entre los tratamientos. En la Tabla 43 se muestran los resultados del ANOVA entre los tratamientos para las variables de peso, LT, LS, diferencia en LT y LS entre parejas. En la Tabla 44 se muestran los resultados de Kruskal-Wallis para evaluar si los tratamientos provienen de la misma distribución o mediana, para el caso de la variable con una distribución no normal. En la Tabla 45 se muestran las medidas morfométricas de todos los tratamientos y repeticiones. En la Tabla 46 se muestran los valores mínimos, máximos y mediana para los parámetros fisicoquímicos del agua por tratamiento.

Tabla 39. Resultados de la prueba de Shapiro-Wilk en todas las variables.

Variable	W	p-valor
Peso	0.94851	0.2515
LT	0.953	0.3143
LS	0.9303	0.099
Diferencia en el peso entre parejas	0.85714	0.002975*
Diferencia en la LT entre parejas	0.95377	0.3263
Diferencia en la LS entre parejas	0.94074	0.1694

Donde en * se muestran aquellas variables con una distribución No normal.

Tabla 40. Prueba de asimetría para las variables no paramétricas.

Variable	Asimetría	Prueba por usar
Diferencia en el peso entre parejas	0	Levene

Tabla 41. Resultados de la prueba de Bartlett para probar la homogeneidad de varianzas entre los tratamientos.

Variable	Estadístico K² de Bartlett	gl	p-valor
Peso	9.7324	3	0.02098*
LT	8.787	3	0.03226*
LS	9.8795	3	0.01962*
Diferencia en la LT entre parejas	8.1994	3	0.04207*

Diferencia en la LS entre parejas	11.062	3	0.0114*
--	--------	---	----------------

En * se resaltan aquellas variables con varianzas estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) entre al menos dos tratamientos.

Tabla 42. Resultados de la prueba de Levene y Brown-Forsythe para la homogeneidad de varianzas entre los diferentes tratamientos.

Variable	Valor F	Pr(>F)	gl
Diferencia en el peso entre parejas	4.3057	0.01695 *	Grp. = 3, Res. = 20

En * se resaltan aquellas variables con varianzas estadísticamente diferentes ($p \leq 0.05$) entre al menos dos tratamientos.

Tabla 43. Resultados del ANOVA entre los tratamientos para las variables de peso, LT, LS, diferencia en LT y LS entre parejas.

Variable	Factor	gl	Suma Cq	Media Cq	Valor F	Pr(>F)
Peso	Tratamiento	3	162.8	54.28	6.53	0.00294 *
	Res.	20	166.3	8.31		
LT	Tratamiento	3	16.46	5.488	4.957	0.00985 *
	Res.	20	22.14	1.107		
LS	Tratamiento	3	12.09	4.031	5.225	0.00794 *
	Res.	20	15.43	0.771		
Diferencia en LT entre parejas	Tratamiento	3	0.00	0.000	0	1
	Res.	20	21.48	1.074		
Diferencia en LS entre parejas	Tratamiento	3	0.00	0.0000	0	1
	Res.	20	18.12	0.9061		

En * se resaltan aquellas variables con diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$).

Tabla 44. Resultados de Kruskal-Wallis para evaluar si los tratamientos provienen de la misma distribución o mediana.

Variable	Chi ²	gl	Valor p
Diferencia en el peso entre parejas	0	3	1.00

En * se resaltan aquellas variables con diferencias estadísticamente significativas ($p \leq 0.05$).

Tabla 45. Medidas morfométricas de todos los tratamientos y repeticiones.

Tratamiento	Rep.	Especie	Sexo	Peso (g)	LT (cm)	LS (cm)
1	1	<i>H. cyanoguttatus</i>	Macho	8	7.93	6.25
		<i>H. minckleyi</i>	Hembra	7	7.51	5.92
	2	<i>H. cyanoguttatus</i>	Macho	4	6.48	5.30
		<i>H. minckleyi</i>	Hembra	3.5	6.52	5.37
	3	<i>H. cyanoguttatus</i>	Macho	6	6.93	5.38
		<i>H. minckleyi</i>	Hembra	5	6.64	5.23
2	1	<i>H. cyanoguttatus</i>	Hembra	10	8.68	6.88
		<i>H. minckleyi</i>	Macho	11.83	10.53	8.78

	2	<i>H. cyanoguttatus</i>	Hembra	15	9.47	7.75
		<i>H. minckleyi</i>	Macho	15.86	10.48	8.48
	3	<i>H. cyanoguttatus</i>	Hembra	10	8.03	6.32
		<i>H. minckleyi</i>	Macho	12	8.76	7.02
3	1	<i>H. minckleyi</i>	Macho	8	8.39	6.63
		<i>H. minckleyi</i>	Hembra	6	7.04	5.56
	2	<i>H. minckleyi</i>	Hembra	7	7.93	6.49
		<i>H. minckleyi</i>	Macho	9	8.07	6.18
	3	<i>H. minckleyi</i>	Macho	9	7.96	6.40
		<i>H. minckleyi</i>	Hembra	8	8.18	6.39
4	1	<i>H. cyanoguttatus</i>	Hembra	13	8.39	6.83
		<i>H. cyanoguttatus</i>	Macho	15	10.28	8.57
	2	<i>H. cyanoguttatus</i>	Hembra	12	9.19	7.21
		<i>H. cyanoguttatus</i>	Macho	14	9.02	7.22
	3	<i>H. cyanoguttatus</i>	Macho	4	6.13	5.08
		<i>H. cyanoguttatus</i>	Hembra	5	6.26	5.11

Tabla 46. Valores mínimos, máximos y mediana para los parámetros fisicoquímicos del agua por tratamiento.

Tratamiento	1	2	3	4
Temperatura				
Mín.	11.2	13.1	14.3	15.6
Máx.	36	29.8	27.6	37.8
Mdn.	24.3	24	23.6	24.1
pH				
Mín.	8.55	8.66	8.71	8.69
Máx.	9.9	9.3	8.92	9.35
Mdn.	8.95	8.91	8.86	8.96