



INSTITUTO POLITECNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS



**DIVERSIDAD DE COPEPODOS PONTELIDOS
(COPEPODA: CALANOIDA: PONTELLIDAE) EN
EL GOLFO DE CALIFORNIA Y EL VALOR
TAXONOMICO DE UN ESTUDIO CON
CITOCROMO C OXIDASA 1 (CO1).**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS
EN
MANEJO DE RECURSOS MARINOS**

PRESENTA

JUAN RAMÓN BELTRÁN CASTRO

LA PAZ, B.C.S., JUNIO DE 2014



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 10 del mes de junio del 2014 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis titulada:

"DIVERSIDAD DE COPÉPODOS PONTELIDOS (COPEPODA: CALANOIDA: PONTELLIDAE) EN EL GOLFO DE CALIFORNIA Y EL VALOR TAXONÓMICO DE UN ESTUDIO CON CITOCROMO C OXIDASA 1 (C01)"

Presentada por el alumno:

BELTRÁN
Apellido paterno

CASTRO
materno

JUAN RAMÓN
nombre(s)

Con registro:

| | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| B | 1 | 2 | 0 | 6 | 7 | 8 |
|---|---|---|---|---|---|---|

Aspirante de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA DEFENSA DE LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISION REVISORA

Director(a) de Tesis

DR. SERGIO HERNÁNDEZ TRUJILLO

DR. PABLO DEL MONTE LUNA

DR. BÁRBARA GONZÁLEZ ACOSTA

DR. ROGELIO GONZÁLEZ ARMAS

DR. JAIME GÓMEZ GUTIÉRREZ

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES

DR. MARÍA MARGARITA CASAS VALDEZ



IPN
CICIMAR
DIRECCION



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 12 del mes Junio del año 2014
el (la) que suscribe BM. JUAN RAMÓN BELTRÁN CASTRO alumno(a) del
Programa de MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO DE RECURSOS MARINOS
con número de registro B120678 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS
manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:
DR. SERGIO HERNÁNDEZ TRUJILLO

y cede los derechos del trabajo titulado:

"DIVERSIDAD DE COPÉPODOS PONTELIDOS (COPEPODA: CALANOIDA: PONTELLIDAE) EN EL GOLFO DE CALIFORNIA Y EL VALOR TAXONÓMICO DE UN ESTUDIO CON CITOGROMO C OXIDASA 1 (C01)"

al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección: damiano lider@hotmail.com - strujil@ipn.mx

Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.


BM. JUAN RAMÓN BELTRÁN CASTRO

nombre y firma

Agradecimientos

Al Instituto Politécnico Nacional por las gestiones y apoyos recibidos a lo largo de mis estudios de maestría a través del Programa Institucional de Formación de Investigadores, a la Coordinación de Cooperación Académica y a la Comisión de Fomento para las Actividades Académicas.

Al CICIMAR por permitir hacer uso de sus instalaciones, especialmente del Laboratorio de Microbiología, del Departamento de Desarrollo de Tecnologías, para la extracción y amplificación del ADN.

Al CONACyT por la beca otorgada a lo largo de los estudios de maestría, y el apoyo recibido para realizar una estancia de investigación.

A los proyectos SIP 20090006, 20100129, 20100173, 20110012, 20110722, 20120948, 20120952, 20130224, 20130752 y 20140497; proyecto CONACyT Ciencia Básica 2004-01-C01-144, 2012-178615-01, proyectos CONACyT-SAGARPA S007-2005-1-11717 y PAPIIT-UNAM (IN20066610-3), y CONACYT (152580) por haber sido las plataformas de investigación que dio origen a este trabajo.

Agradezco especialmente a la tripulación, investigadores y estudiantes que participaron en los cruceros oceanográficos a bordo del B/O El Puma (UNAM) en el Golfo de California y buque Rocío el Mar en Islas Marías por su valiosa ayuda en la recolección de muestras de zooplancton.

A MexBol y al Laboratorio Nacional de Código de Barras de la Vida, Nodo Chetumal por los apoyos para el procesamiento del material y la secuenciación.

Al Dr. Manuel Elías Gutiérrez, a la Dra. Bárbara González Acosta y a la M.C. Arely Martínez Arce por la asesoría en los procesos de extracción y amplificación del Gen, así como en la gestión informática con el Boldsystem.

Al Dr. Jaime Gómez Gutiérrez, Dr. Octavio Aburto Oropeza, Dr. Exequiel Ezcurra y Dr. Carlos Robinson Mendoza por facilitar muestras de zooplancton obtenidas en Islas Marías y en Golfo de California.

A las integrantes de la comisión revisora por sus observaciones y sugerencias, las que permitieron el mejoramiento del presente documento.

Dedicatoria

A mis papás y hermanas que estuvieron
conmigo en todo el trayecto

A mi familia y amigos que siempre están a mi lado
para hacerme sonreír

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|----|
| Índice de tablas | 6 |
| Índice de figuras..... | 7 |
| Glosario..... | 9 |
| Resumen | 13 |
| Abstract..... | 14 |
| Introducción | 15 |
| Antecedentes..... | 19 |
| Planteamiento del problema | 21 |
| Hipótesis | 22 |
| Objetivo general | 22 |
| Objetivos particulares..... | 22 |
| Material y métodos..... | 23 |
| Obtención de muestras | 23 |
| Identificación morfológica de copépodos pontélidos..... | 24 |
| Extracción y amplificación del CO1 | 25 |
| Análisis molecular | 29 |
| Datos BoldSystem | 29 |
| Datos MacroGene | 29 |
| Resultados | 30 |
| Análisis morfológico | 30 |
| Análisis molecular | 50 |
| Discusión | 57 |
| Conclusiones..... | 65 |
| Recomendaciones | 66 |
| Bibliografía | 67 |
| Anexos | 72 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|--|-----------|
| Tabla 1. Pontélidos en la región centro-norte del Pacífico mexicano, en la Península de Baja California, por localidad..... | 32 |
| Tabla 2. Especies identificadas, su característica morfológica relevante y secuencia CO1 | 51 |
| Tabla 3. Muestra las divergencias obtenidas para grupo de especies, géneros y familia..... | 52 |
| Tabla 4. Resultado de las comparaciones con las secuencias de la base de datos de GenBank (Blast)..... | 57 |
| Tabla 5. Porcentaje de divergencia intraespecífica del CO1 en Calanoideos..... | 63 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|-----------|
| Figura 1. Estaciones de muestro, en azul estaciones positivas de copépodos pontelidos y en rojo donde no estuvieron..... | 23 |
| Figura 2. Tagmosis generalizada de un copépodo Calanoide..... | 24 |
| Figura 3. Visualización en gel de los productos de PCR en el gel comercial | 27 |
| Figura 4. Gel de agarosa, los barridos son las bandas claras de las extracciones de ADN..... | 28 |
| Figura 5. Distribución de <i>Calanopia elliptica</i> . Tomado de Razouls et al., 2005-2014; consultado el 28/03/2014. | 33 |
| Figura 6. <i>Calanopia elliptica</i> : Hembra, vista dorsal y lateral | 34 |
| Figura 7. Distribución de <i>Calanopia minor</i> . Tomado de Razouls et al., 2005-2014; consultado el 28/03/2014. | 35 |
| Figura 8. <i>Calanopia minor</i> : Vista lateral, y dorsal de hembra y macho..... | 35 |
| Figura 9. Distribución de <i>Labidocera acutifrons</i> . Tomado de Razouls et al., 2005-2014; consultado el 28/03/2014. | 36 |
| Figura 10. <i>Labidocera acutifrons</i> : disección de los principales apéndices, cuerpo completo y último segmento del prosoma. | 37 |
| Figura 11. Distribución de <i>Pontellopsis brevis</i> . Tomado de Razouls et al., 2005-2014; consultado el 28/03/2014. | 38 |
| Figura 12. <i>Pontellopsis brevis</i> : Urosoma y cuerpo completo en vista lateral..... | 39 |
| Figura 13. Distribución de <i>Labidocera acuta</i> . Tomado de Razouls et al., 2005-2014; consultado el 28/03/2014. | 40 |
| Figura 14. <i>Labidocera acuta</i> : Hembra: quinta pata (P5), cuarta pata (P4), primera pata (P1) Maxilipedo (MX), segunda pata (P2); Macho: antena 1 (A1), cefalotorax en vista dorsal | 41 |

| | |
|--|-----------|
| Figura 15. Distribución de <i>Labidocera diandra</i> . Tomado de Razouls et al., 2005-2014; consultado el 28/03/2014. | 43 |
| Figura 16. <i>Labidocera diandra</i> : disección de la quinta pata de la hembra, urosoma y cuerpo completo; quinta pata del macho y primera antena (morfortipo B). | 43 |
| Figura 17. Distribución de <i>Labidocera johnsoni</i> . Tomado de Razouls et al., 2005-2014; consultado el 28/03/2014. | 45 |
| Figura 18. <i>Labidocera johnsoni</i> : hembra en vista dorsal, urosoma y quinta pata; macho en vista ventral, quinta pata y último segmento del prosoma | 45 |
| Figura 19. Distribución de <i>Pontellina plumata</i> . Tomado de Razouls et al., 2005-2014; consultado el 28/03/2014 | 46 |
| Figura 20. <i>Pontellina plumata</i> : cuerpo completo en vista dorsal, latera, cefalón y urosoma. | 47 |
| Figura 21. Distribución de <i>Pontellopsis armata</i> . Tomado de Razouls et al., 2005-2014; consultado el 28/03/2014. | 48 |
| Figura 22. <i>Pontellopsis armata</i> : Urosoma y cuerpo completo en vista dorsal. | 48 |
| Figura 23. Distribución de <i>Pontellopsis occidentalis</i> . Tomado de Razouls et al., 2005-2014; consultado el 28/03/2014. | 49 |
| Figura 24. <i>Pontellopsis occidentalis</i> : cuerpo completo en vista lateral, dorsal; último segmento del prosoma; quinta pata. | 50 |
| Figura 25. Árbol de similitud (Máxima verosimilitud, Bootstrap 1000), puntos en rojo muestran las especies utilizadas de la base de datos de BoldSystem..... | 53 |
| Figura 26. Análisis de la variabilidad del Gen en <i>Labidocera acutifrons</i> | 54 |
| Figura 27. Divergencia intraespecífica de las especies identificadas genéticamente; la línea en rojo resalta el nivel de 2% de divergencia..... | 55 |
| Figura 28. Divergencia dentro de los grupos de los diferentes géneros identificados | 56 |
| Figura 29. Divergencia dentro de la Familia Pontellidae | 56 |

GLOSARIO

Amplicón: Productos de amplificación artificial o natural de una región ADN o ARN, y es una sustancia usualmente en un medio líquido.

Árbol de similitud: Diagrama realizado a partir de análisis de secuencias, que compara la homología entre ellas, y se expresa en porcentaje de similitud.

Blast: (Basic Local Alignment Search Tool) programa informático de alineamiento de secuencias de tipo local, ya sea de ADN, ARN o de proteínas. El programa es capaz de comparar una secuencia contra una gran cantidad de secuencias que se encuentren en una base de datos.

BoldSystems: El Código de Barras de la Vida Data Systems (BOLD) es un banco de datos de secuencias que ayuda a la recopilación, gestión, análisis y uso de códigos de barras de ADN. (<http://www.boldsystems.org/views/login.php>)

Citocromo c oxidasa subunidad 1 (CO1): Enzima que se encuentra en la membrana de las mitocondrias de los seres vivos. Ésta participa en la última etapa de la cadena respiratoria de la célula, actuando en el transporte de electrones, reduciendo el oxígeno molecular y transformándolo en agua.

Código de barras de ADN: Es una representación gráfica que se basa en la secuenciación de una fracción del gen mitocondrial que codifica al Citocromo c oxidasa subunidad 1 o CO1 y permite la identificación rápida y eficiente de los seres vivos, principalmente a nivel de especie, incluyendo organismos incompletos, además permite la comparación de cualquier etapa del ciclo de vida del organismo con su forma adulta.

Copépodo: Subclase de crustáceos maxilópodos, generalmente de tamaño microscópico, muy abundantes tanto en agua dulce como salada. Se conocen más de 15,000 especies descritas (parásitos incluidos).

Divergencia genética: Cuando grupos de individuos de una especie se separan, cada uno evoluciona individualmente, modificando su información genética.

Especiación: Proceso mediante el cual una población de una determinada especie da lugar a otra u otras especies.

Especie genética: Reservas de genes en las que estos se reproducen asexualmente durante la réplica de ADN y genera fenotipos que pueden reproducirse sexualmente para producir nuevas combinaciones de genes.

Especie morfológica: Concepto que se basa solo en caracteres morfológicos, sin tomar en consideración otros factores (morfoespecie).

Evolución Biológica: Conjunto de transformaciones o cambios a través del tiempo que ha originado la diversidad de formas de vida que existen sobre la Tierra a partir de un antepasado común.

Filogenia: Historia del desarrollo evolutivo de un grupo de organismos.

Gen: Una secuencia ordenada de nucleótidos en la molécula de ADN, que contiene la información para la síntesis de una proteína con función celular específica.

Gen Citocromo c oxidasa subunidad 1 (CO1): Secuencia de nucleótidos del genoma mitocondrial que decodifican para la enzima Citocromo c oxidasa subunidad

GenBank: Es una base de datos de secuencias genéticas del NIH (National Institutes of Health de Estados Unidos), una colección de disponibilidad pública de

secuencias de ADN. GenBank se complementa con otras plataformas similares de las que recibe secuencias genéticas producidas en laboratorios de todo el mundo, procedentes de más de 100.000 organismos distintos.

GeneDoc: Software que permite editar y manejar secuencias de forma manual y añadir una amplia gama de atributos de los alineamientos múltiples de secuencias. (<http://www.nrbcs.org/gfx/genedoc/>)

Intrón: Una región del ADN que debe ser eliminada de la transcripción primaria de ARN

K2P: Modelo de 2 parámetros de Kimura, este modelo de evolución asume que las mutaciones (sustitución de nucleótidos) ocurren aleatoriamente pero desigual, logrando establecer que la tasa de transiciones (α) es generalmente mayor que la tasa de transversiones (β) (<http://www.virtual.unal.edu.co/cursos/ingenieria/2001832/lecciones/unidad2.html>)

MEGA 5: Software integrado para procesamiento de secuencias moleculares como alineación automática y manual, infiriendo árboles filogenéticos, índices de estimación de la evolución molecular, inferir secuencias ancestrales y prueba de hipótesis evolutivas. (<http://www.megasoftware.net/>)

Oligonucleótido: Secuencia corta de ADN o ARN, con pocos pares de bases de 15 a 30. Se utilizan como cebadores en reacciones de amplificación.

PCR: Es la Reacción en Cadena de la Polimerasa (por sus siglas en inglés), en este proceso se amplifica una región de ADN o ARN.

Plancton: Organismos microscópicos que viven y flotan a merced de las corrientes, pueden ser marinos o de agua dulce.

Sistemática: Estudio de la clasificación de las especies considerando su historia evolutiva (filogénia). Se ocupa de la diversidad biológica tanto en un plano descriptivo, como en otro explicativo o interpretativo.

Taxonomía: La teoría y la práctica de describir, nombrar y clasificar organismos.

Unidad molecular (genética): Grupo de secuencias que difieren entre sí por un porcentaje de divergencia no mayor al 2% para el CO1.

Unidad taxonómica: Grupo de organismos que comparten los mismos caracteres morfológicos.

Zooplancton: Componente animal del plancton que vive en la columna de agua a merced de las corrientes marinas; se divide a su vez en holoplancton y meroplancton.

RESUMEN. Se identificaron morfológicamente 4 géneros y 10 especies de copepodos de la familia Pontellidae, de las cuales cuatro son nuevos registros *Calanopia elliptica*, *Calanopia minor*, *Pontellopsis brevis* y *Labidocera acutifrons* en el Tropical y subtropical Pacífico Mexicano; la actualización del elenco sistemático de la familia representa 14% de la riqueza específica de los pontelidos de esta región. Se secuenciaron a *Pontellina plumata*, *Pontellopsis occidentalis*, *Pontellopsis armata*, *Labidocera acuta*, *Labidocera acutifrons*, *Labidocera johnsoni* y *Calanopia elliptica*. El análisis molecular mostró que la divergencia promedio intraespecífica fue de 3.8% (0-7.7%); al nivel de género fue 11.35% (0.6-22.1%). El 50% de las especies tuvo una variación intraespecífica superior al 2% lo que indica que este limite no es adecuado para distinguir especies de copépodos Pontellidae. *Labidocera acuta* fue la especie de mayor divergencia intraespecífica. El nivel de variación del gen CO1, para la familia en el Golfo de California, se estimó entre 0 y 7.7%, intervalo taxonómicamente útil que es referente para próximos estudios.

Palabras clave: Copépodos Pontellidae, Golfo de California, CO1, Diversidad, Taxonomía.

ABSTRACT. Four genera and ten Pontellidae copepod species were morphologically identified, and new records of *Calanopia elliptica*, *Calanopia minor*, *Labidocera acutifrons*, and *Pontellopsis brevis* species were obtained in the tropical and subtropical Mexican Pacific; systematic updating of richness species of Pontellid family represents 14% over previously figures of these species. *Pontellina plumata*, *Pontellopsis occidentalis*, *Pontellopsis armata*, *Labidocera acuta*, *Labidocera acutifrons*, *Labidocera johnsoni*, and *Calanopia elliptica* were sequenced. Molecular analysis showed that mean intraspecific divergence was 3.8% (0-7.7%); at genus level mean was 11.35% (0.6-22.1%). 50% of species had intraspecific variation greater than 2%. *Labidocera acuta* shows the higher intraspecific divergence. The CO1 gene level variation in Pontellidae family in the Gulf of California was estimated between 0 and 7.7% that range is taxonomically useful, and a reference for future surveys.

Keywords: Pontellidae, copepods, Gulf of California, CO1, Diversity, Taxonomy.

INTRODUCCIÓN

La organización y clasificación de la variación natural de los seres vivos en conjuntos, grupos y jerarquías tiene sus raíces, desde la época de Aristóteles y avanza hasta las ideas evolutivas de Darwin (Wheeler, 2012); dentro de todo este proceso, resalta por su importancia la aportación de Lineo al establecer el sistema de clasificación de los seres vivos que aún sigue vigente.

Aunque los criterios generales de clasificación propuestos en el *Systema naturae* de Lineo se siguen aplicando, la necesidad de incorporar otras características taxonómicas, además de las morfológicas, ha motivado el análisis de tipo molecular como una herramienta en el proceso de identificación de las especies como primer paso para entender procesos asociados a la biodiversidad, estructura de la comunidad, filogenia y evolución.

La incorporación del análisis genético de las especies se ha reportado en la literatura desde los años 1990, tratando de superar las limitaciones inherentes al sistema de identificación basado únicamente en la morfología interna, externa, embriología y ontogenia (Hebert *et al.*, 2003a). Otro factor que impulsó el uso y generalización de la información genética es el hecho de una preocupante y acelerada disminución de número de especialistas en taxonomía, aunque eso no significa su sustitución (Bucklin *et al.*, 2010b).

Los sistemas de identificación microgenómica permiten la discriminación de las especies crípticas o especies aparentemente no relacionadas, como ha sido demostrado para los Lepidópteros (Brown, 1999), los Onicóforos (Trewick, 2000), las moscas (Vincent *et al.*, 2000) y los copépodos pelágicos marinos (Bucklin *et al.*, 1999; Beltrán-Castro, 2011) con la finalidad de conceptualizar la biodiversidad, filogenia y evolutiva en el planeta.

Los estudios que se han llevado a cabo para el análisis sistemático, usaron genes mitocondriales 12S y 16S rRNA, pero los resultados no fueron los esperados debido a que la prevalencia de numerosas inserciones y supresiones (*indels*) de

nucleótidos que complican la alineación de las secuencias y el análisis comparativo desde una perspectiva taxonómica a nivel taxonómico de especie pero es útil para niveles taxonómicos mayores. En cambio, el gen mitocondrial citocromo C oxidasa subunidad 1 (CO1) ha demostrado una utilidad práctica para identificar a los organismos a nivel específico ya que entre las ventajas que tiene sobre el genoma nuclear es que no tiene intrones, tiene una limitada exposición a la recombinación, es altamente abundante en las células, es de carácter haploide y estrictamente de herencia materna (Bucklin *et al.*, 2010b).

La selección y eventual uso generalizado del CO1 derivó en lo que actualmente se conoce como programa de investigación del código de barras del ADN, basándose en dos supuestos fundamentales: 1) la monofilia de las especies respecto al marcador molecular utilizado y 2) que la divergencia genética intraespecífica es mucho más pequeña que la diferencia genética interespecífica (Toffoli *et al.*, 2008). Esto significa que el código de barras del ADN es una metodología molecular útil para identificar y distinguir especies mediante CO1 previamente reconocidas por un taxónomo experto y una vez detectada y comparada la similitud de sus secuencias, pueda ser identificada en lo sucesivo únicamente con su secuencia genética.

Los resultados obtenidos con el CO1 ocasionaron un gran interés en estudios enfocados al conocimiento de la biodiversidad en todo el mundo y en el año 2003 se estableció un consorcio de investigación internacional (Consortium for the Barcode ; CBOL, <http://barcoding.si.edu>, Hebert *et al.*, 2003a), encabezado por Canadá, con la misión de desarrollar códigos de barras de ADN como un método estándar global para la identificación de las especies biológicas y al mismo tiempo promover la compilación de los registros de alta calidad de ADN en una plataforma pública de secuencias y desarrollar nuevos procesos e instrumentos para hacer el código de barras más económico, rápido, eficiente y portátil (Savolainen *et al.*, 2005).

México forma parte del CBOL desde el 2004, debido a que este es considerado un país megadiverso se inició un compromiso de investigar y estimar su biodiversidad. Para tal efecto, todas las acciones encaminadas a contribuir a la

construcción de una base de datos de secuencias de ADN de las especies mexicanas han sido hasta ahora coordinadas en un proyecto nacional auspiciado por el CONACyT y la CONABIO (<http://www.mexbol.org>).

Esta tesis investiga, bajo el marco teórico y logístico de la iniciativa de MexBol, las secuencias genéticas del CO1 de algunas de las especies de copépodos pelágicos de la familia Pontellidae del Golfo de California, La Bahía de La Paz y las Islas Marías. Del Orden Calanoida se seleccionó a la familia Pontellidae con la finalidad de relacionar la morfología de las especies identificadas por expertos taxónomos con una secuencia parcial del gen CO1 para posteriormente incluirlas en la base de datos Nacional de invertebrados acuáticos, en este caso de los copépodos marinos.

Los copépodos de la familia Pontellidae son principalmente oceánicos y está actualmente constituido por ocho géneros: *Anomalocera*, *Epilabidocera*, *Ivellopsis*, *Pontellopsis*, *Pontellina*, *Pontella*, *Labidocera* y *Calanopia*. En conjunto suman hasta el ahora 152 especies (<http://copepodes.obs-banyuls.fr/en/index.php>). En México se han detectado seis de los géneros conocidos y 38 especies. En el noroeste del Pacífico mexicano y Golfo de California se han detectado 23 especies (Hernández-Trujillo & Esqueda-Escárcega, 2002).

Este trabajo aborda, en primera instancia, el censo de las especies de la familia Pontellidae presentes en el Golfo de California recolectados durante varias campañas oceanográficas realizadas entre 2010 y 2013. Este material biológico fue el que se procesó para la identificación específica mediante criterios de taxonomía morfológica y la obtención de secuencias de CO1. En cuanto a la biodiversidad de los pontélidos en México los nuevos registros de especies en aguas mexicanas descubiertas en la presente tesis es uno de los resultados más importantes debido a que permite actualizar el número de especies de esta familia en México.

Otro aspecto del trabajo consiste en la asignación de secuencias del CO1 a cada una de las especies identificadas, lo que es una contribución a la base de datos

de MexBol y al mismo tiempo es una referencia del trabajo taxonómico efectuado. En este mismo sentido, se aborda el tema de los niveles de variación inter e intraespecífica y la necesidad de contrastar las secuencias con especímenes de otras latitudes ya que, aparentemente, las especies de la familia presentan la particularidad de sobrepasar el valor límite de variación (típicamente delimitado al 2%), sin que eso necesariamente signifique especies distintas. En la literatura está registrado que para algunas especies de copépodos pelágicos el valor taxonómico del CO1 prevalece aun por encima del valor del 2% de variación intraespecífica; en nuestro caso esa situación también se presentó por lo que para la familia Pontellidae se propone un intervalo considerablemente más amplio en el que el CO1 mantiene su valor taxonómico en la identificación de las especies.

ANTECEDENTES

Las especies de la familia Pontellidae tienden a ser mas abundantes en la zona epipelágica de prácticamente todos los mares templados y tropicales. Debido a su amplia distribución en sentido costa-océano, éstos han sido utilizados para la caracterización de masas de agua superficiales (Fleminger, 1964, 1967,1974; Voronina, 1962,1964). Por ejemplo, Heinrich (1960), encontró la relación entre grandes abundancias de especie sde la familia Pontellidae en función de la salinidad. Sherman (1963) también encontró esta tendencia para *Pontelloopsis villosa* (Brady), *Labidocera acutifrons* (Dana), *Pontella tenuiremis* (Giesbrecht), *Pontellina plumata* (Dana) y *Pontella fera* (Dana). En las costas de California y Baja California se les ha identificado como activos depredadores de huevos y larvas de peces (Lillelund & Lasker, 1971; Alvaríño, 1980), así como de invertebrados zooplanctonicos (Hernández-Trujillo, 1994).

De los trabajos efectuados de la familia Pontellidae en el Golfo de California resaltan las investigaciones de Fleminger (1964) quien describió a *Labidocera johnsoni* dándole categoría de especie endémica del Golfo de California y la Corriente de California. En posteriores estudios Fleminger (1967, 1977) investigó la taxonomía, distribución y el polimorfismo de las especies del género *Labidocera* estableciendo patrones de distribución y de divergencia morfológica del genero *Labidocera* en la costa del Pacífico Americano.

A lo largo de la costa occidental de Baja California Sur y el Golfo de California, Hernández-Trujillo (1989) detectó 20 especies de copépodos Pontélidos en las proximidades de Bahía Magdalena, las que en su mayoría estuvieron relacionadas con aguas superficiales >20° C. Estudios posteriores de la diversidad y patrones de distribución de los copépodos en Bahía Magdalena han reportado cinco (Palomares-García, 1989) y cuatro (Hernández-Trujillo, 1991) especies de pontelidos, de las que solamente *L. acuta* y *L. trispinosa* son las únicas especies reportadas en ambos

estudios. En la zona de confluencia del Golfo de California y el Océano Pacífico, Hernández-Trujillo (1994) encontró 15 especies de la familia, de las cuales 60% son de afinidad tropical. El concluyó sobre la gran influencia que tiene la temperatura superficial del mar sobre la abundancia y distribución de la familia. En la Bahía de La Paz Lavaniegos-Espejo & González-Navarro (1999) reportaron la presencia de 3 especies y Aceves-Medina *et al.* (2007) cuatro especies de copépodos Pontellidae. Las especies comunes en ambos casos fueron *Labidocera acuta* y *Labidocera acutifrons*.

La literatura muestra que el gen citocromo c oxidasa 1 (CO1), es una herramienta útil para la identificación de copépodos marinos y dulceacuícolas (Bucklin *et al.*, 1998; Bucklin *et al.*, 2010b; Camacho, 2011; Raupach, 2010; Blanco-Bercial *et al.*, 2011a y 2011b). En la actualidad no existen estudios de genética de la familia Pontellidae, por lo que esta es la primera aproximación al respecto.

Bucklin *et al.* (2003) realizaron un análisis sobre la diversidad de especies zooplanctónicas en el Mar de los Sargazos concluyendo que el CO1 fue una herramienta útil para discriminar las especies. En México, Beltrán-Castro (2011) realizó un estudio sobre la diversidad de copépodos pelágicos y obtuvo secuencias del CO1 de especies del Golfo de California, encontrando que la divergencia intraespecífica fue menor al 2% en todas las especies. Jungbluth & Lenz (2013) por el contrario, encontraron elevada variabilidad intraespecífica en *Paracalanus crassirostris*, *Acartia tonsa* y *Acartia clausi* en Hawaii. Jeong *et al.* (2014) realizaron una diferenciación genética y morfológica en *Labidocera rotunda* recolectadas en el Mar Amarillo, ubicado al Este de China, encontraron una variación intraespecífica que vario entre 3.7 - 4.7%.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La precisa identificación taxonómica de cada especie es el paso inicial para cualquier estudio de índole biológica, ecológica o filogenética. La herramienta primaria para esto son las claves dicotómicas de identificación taxonómica que, en su mayoría, están acompañadas de esquemas que ilustran las características morfológicas taxonómicamente útiles para la identificación a nivel de especie.

La iniciativa de MexBol tiene como premisa para la secuenciación, la identificación apropiada de las especies por expertos taxónomos de amplia experiencia, además de conservar uno o más ejemplares completos en una colección de referencia. Esta etapa, la mayoría de las veces se lleva a cabo exitosamente, lo que implica la vigencia de los parámetros y características de identificación de acuerdo al Código Internacional de Nomenclatura Zoológica.

La asignación de un Código de Barras de ADN a una especie determinada debe estar en correspondencia con la identificación con base en caracteres morfológicos (principalmente externos); el grado de esa correspondencia está determinada por la variación de la divergencia intraespecífica del gen CO1 por lo que el problema a resolver en la presente tesis de maestría es encontrar la correspondencia máxima entre la morfología y la mínima divergencia genética dentro de cada especie de copépodo Pontellidae, para posiblemente considerar al gen CO1 como una característica de valor taxonómico para especies de esta familia.

HIPOTESIS

El gen CO1 tiene la precisión para separar y discriminar a las especies de copépodos Pontelidos identificados con base en caracteres morfológicos, siempre y cuando el nivel de variación intraespecífica sea menor o igual al 2%, para poder considerarlo como de valor taxonómico.

OBJETIVO GENERAL

Relacionar la clasificación taxonómica morfológica (Lineana) de los copépodos de la familia Pontellidae con el nivel de variación del gen Citocromo c oxidasa 1 (CO1).

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Actualizar el elenco sistemático de los copépodos pontelidos del Golfo de California.
- 2) Analizar las similitudes moleculares del gen CO1 entre las distintas especies identificadas mediante características morfológicas de copépodos de la familia Pontellidae presentes en el Golfo de California.
- 3) Determinar el intervalo de variación óptimo del gen CO1 para ser útil en la identificación de las especies de la familia Pontellidae.

MATERIALES Y MÉTODOS

OBTENCIÓN DE MUESTRAS

Las muestras de zooplancton de las que se obtuvieron los ejemplares de copépodos pontélidos fueron las recolectadas en las campañas oceanográficas Islas Marías IMA (Noviembre 2010) a bordo del Buque turístico Rocío del Mar, CAPEGOLCA VI (Noviembre 2011), CAPEGOLCA VII (Agosto 2012) y CAPEGOLCA VIII (Junio 2013) a bordo del B/O El Puma (UNAM); y salidas de campo en la Bahía de La Paz (BALAP 0911; BAPAZ 1011; BAPAZ 0912) (Figura 1, anexo 1). En las tres campañas oceanográficas realizadas a bordo del B/O El Puma se efectuaron arrastres oblicuos de una red tipo bongo de 1.5 m de longitud, 0.6 m de diámetro con una luz de malla de 500 μm siguiendo la metodología estándar propuesta por Smith & Richardson (1979). En las otras campañas se realizaron arrastres superficiales y circulares a bordo de una lancha con motor fuera de borda durante 10 minutos (en Islas Marías) y 5 minutos (en Bahía de La Paz) utilizando una red cilindro cónica de 1.5 m de longitud y 0.6 m de diámetro con red de luz de malla de 300 μm . En todos los casos, las muestras fueron fijadas en alcohol etílico al 96%, el cual se realizó un recambio de alcohol etílico a las 24 h y se almacenaron en penumbra.

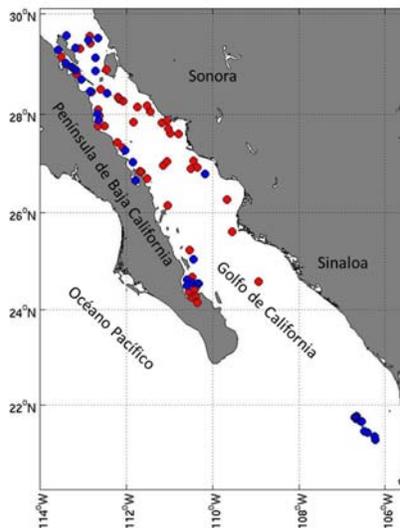


Figura 1. Estaciones de muestro, en azul estaciones positivas de especies de copépodos de la familia Pontellidae y en rojo los muestreos analizados pero que no tuvieron especímenes de la familia Pontellidae.

IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA DE COPÉPODOS PONTÉLIDOS

La identificación morfológica se realizó en el laboratorio de zooplancton del CICIMAR, con un microscopio estereoscópico Karl Zeiss SV11 con aumento máximo de 8×. Se separaron ejemplares adultos de machos y hembras para identificarlos al nivel taxonómico de especie. El arreglo sistemático utilizado fue el propuesto por Huys & Boxshall (1991). Para la identificación de los especímenes se usaron las claves, esquemas y descripciones de Campos & Suárez-Morales (1994), Chen & Shen (1974), Chen & Zhang (1965), Chen & Zhang (1974a), Davis (1949), Fleminger (1964a), Fleminger (1967), Giesbrecht (1892), Mori (1937) y Palomares-García *et al.* (1998).

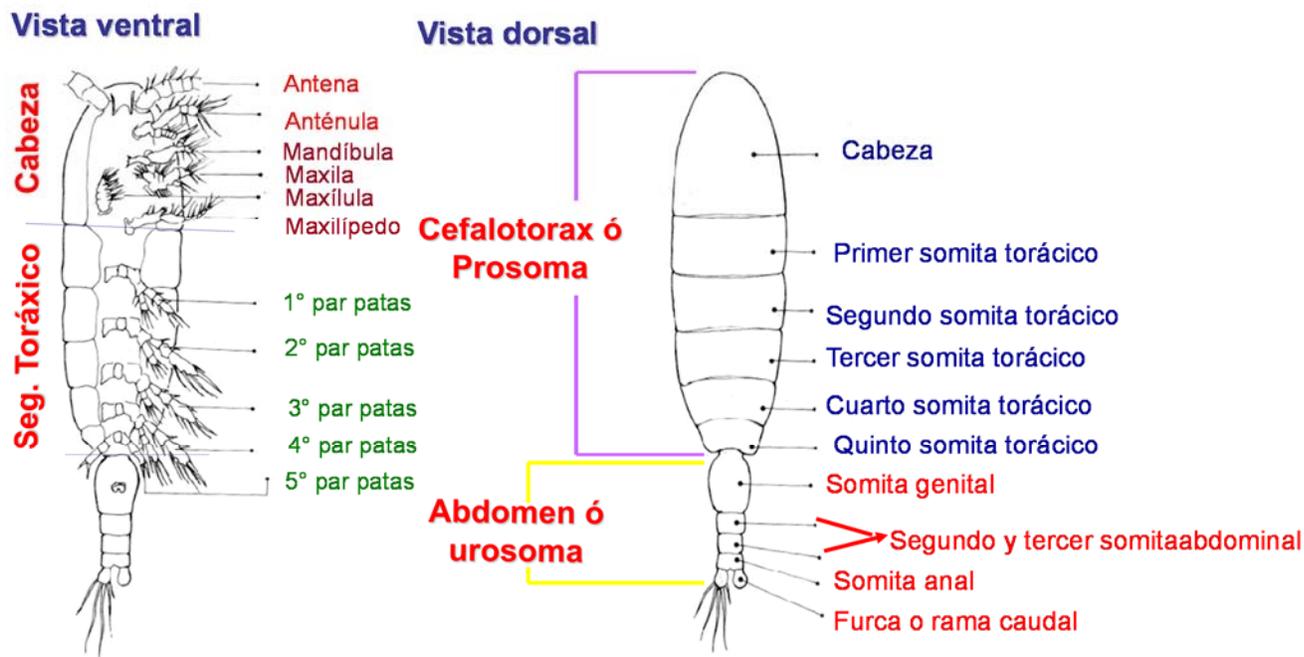


Figura 2. Tagmosis generalizada de un copépodo Calanoide (Modificado de Palomares-García *et al.*, 1998).

De cada estación positiva se extrajeron al menos diez ejemplares de cada una de las especies encontradas que una vez identificadas fueron fotografiadas con una cámara digital (QUASAR, AxioCam ERc5s) adaptada a un estereoscópio Karl Zeiss SV11. Algunas de las imágenes obtenidas fueron subidas a la página de internet BoldSystem

(http://www.boldsystems.org/index.php/resources/handbook?chapter=3_submissions.html§ion=data_submissions) como referencia fotográfica de cada una de las especies secuenciadas genéticamente. De los ejemplares obtenidos cinco fueron conservados como referencia física (o *voucher*) para eventuales revisiones taxonómicas posteriores; los restantes ejemplares fueron utilizados para el análisis molecular.

EXTRACCIÓN Y AMPLIFICACIÓN DEL CO1

Siguiendo el protocolo de Ratnasingham & Hebert (2007) se procedió a colocar los ejemplares en una placa de 96 pozos, con pinzas entomológicas previamente esterilizadas, en cada pozo de la placa se colocó un espécimen completo, cuando estos fueron pequeños (<0.5mm) y para los más grandes se usó únicamente el cefalón, o algún otro segmento del cuerpo. En cada ocasión, las pinzas fueron esterilizadas usando un mechero de gas para evitar posibles contaminaciones entre los pozos de la placa. Este procedimiento va acompañado de la asignación de coordenadas en la placa, empezando con A1 hasta A12 y así sucesivamente terminando con H12. El trabajo se realizó en el Laboratorio de Microbiología del Departamento de Desarrollo de Tecnologías del CICIMAR-IPN.

Del portal de BoldSystem del Programa Código de Barras de la Vida (http://www.boldsystems.org/index.php/resources/handbook?chapter=3_submissions.html§ion=data_submissions) se descargó un archivo de Excel que es estándar y que contiene la información curatorial mínima necesaria para una completa georreferenciación de los especímenes, relación de las imágenes que los acompañan y las coordenadas en las que se encuentran los ejemplares en la placa de PCR (anexo 3).

Posteriormente, la placa se envió al Laboratorio Nacional de Código de Barras Nodo ECOSUR-Chetumal, en Quintana Roo, donde se llevó a cabo la extracción de ADN con la técnica Hot Shot (Montero-Pau *et al.*, 2008) y la amplificación del gen (CO1) de acuerdo al protocolo estándar propuesto por Hajibabaei *et al.* (2005).

El ADN se extrajo utilizando una mezcla de proteínas K con un buffer para lisis para invertebrados; posteriormente se amplificó utilizando los oligonucleótidos o cebadores (primers, en inglés) LCO1490 (GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG) y HCO2198 (TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA), obteniéndose un amplicón entre 600 a 658 pares de bases del gen CO1. La mezcla de reacción contenía estabilizador de trehalosa al 10%, agua ultra pura, buffer 10X para PCR, MgCl₂ 50mM, primer A10μM, primer B10μM, dNTP's 10mM, Taq polimerasa 5 U y 2.0 μl de templado de ADN. Se utilizó el siguiente perfil de amplificación: desnaturalización inicial a 94 °C 1 min, cinco ciclos de 94 °C durante 30 s, alineación a 47 °C 40 s, y extensión a 72 °C durante 1 min, seguido de 30-35 ciclos de 94 °C 30 s, de 53 °C 40 s, y a 72 °C 1 min, con una extensión final a 72 °C 10 min, seguido de espera indefinida a 4 °C (Elías-Gutiérrez & Valdez-Moreno, 2008b).

Los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa comerciales (E-Gels®, Invitrogen) teñidos con bromuro de etidio y documentados en un foto documentador (Figura 3). Los productos seleccionados fueron secuenciados en el Canadian Center for DNA de la Universidad de Guelph, Canada.

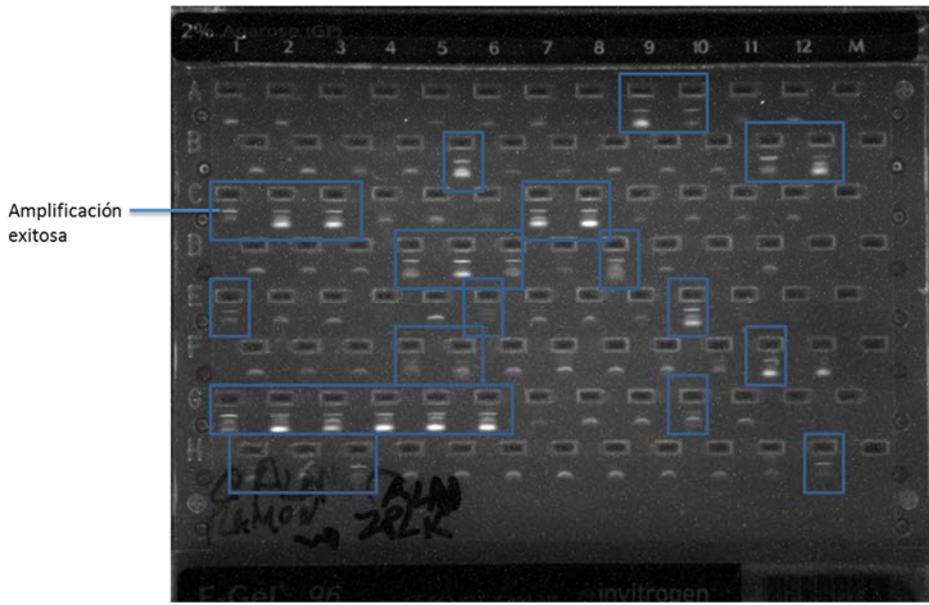


Figura 3. Visualización en gel de los productos de PCR en el gel comercial.

En el laboratorio de microbiología del Departamento de Desarrollo de Tecnologías del CICIMAR, se llevó a cabo una segunda extracción de ADN de acuerdo al protocolo del buffer de bromuro de cetil-trimetilaminio (CTAB) (Ausubel *et al.*, 2002). Los ejemplares utilizados en esta ocasión provinieron de las mismas muestras de donde se obtuvieron los especímenes que se procesaron para la primera extracción siguiéndose el mismo procedimiento de identificación mediante el uso de caracteres morfológicos de valor taxonómico.

Se cortó una porción de tejido de los copépodos, se colocaron en tubos eppendorf de 2 mL, se agregaron 200 μ L del buffer CTAB (2% [w/v] CTAB, 2% PVP, 0.5% β -mercaptoetanol, 1.4 M NaCl, 20 mM EDTA, 100 mM Tris-HCl, pH 8) y con ayuda de un pistilo se maceraron las muestras. Estas se incubaron a 65 °C durante 5 min; al término de ese lapso se homogeneizaron en el vortex a velocidad máxima por un minuto; posteriormente se agregaron 600 μ L del buffer CTAB y se incubaron a 65 °C por 2 h. Al término del periodo de incubación se les agregó un volumen de cloroformo:alcohol isoamilico (24:1). Las muestras se centrifugaron a 14,000 rpm durante 10 min a temperatura ambiente, recuperándose la fase acuosa en un tubo

nuevo. Para precipitar el ADN se utilizaron 0.6x volumen de isopropanol frío y 0.1x volumen de acetato de amonio 7.5 M dejándolas a -20°C durante toda la noche.

El ADN se recuperó mediante centrifugación a 14,000 rpm a 4 °C durante 20 min, se descartó el sobrenadante y el botón se lavó con 500 µL de etanol al 70%, la muestra se centrifugó nuevamente a 14,000 rpm a 4 °C durante 10 min y se descartó el sobrenadante. El botón de ADN se dejó secar y se resuspendió en 50 µL de TE.

Para confirmar la presencia de ADN se procedió a realizar una electroforesis en geles de agarosa, la electroforesis se corrió durante 30 minutos a 70V. Los geles fueron teñidos con SYBR Gold y las bandas de ADN fueron visualizadas en un fotodocumentador.

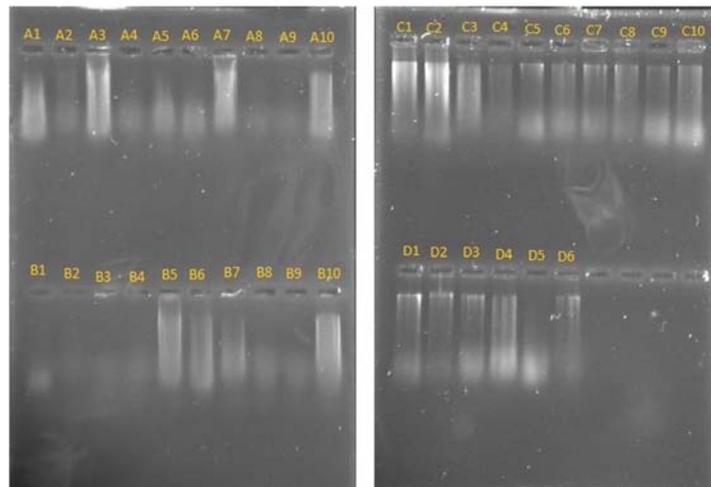


Figura 4. Gel de agarosa, los barridos son las bandas claras de las extracciones de ADN.

Posteriormente se procedió a amplificar las muestras realizando la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), donde la reacción se ajustó a 50 µL conteniendo 0.5 µM de cada cebador (LCO1490 y HCO2198), obteniéndose un amplicón de ~720 pares de bases, 200 µM de dNTP's, 5 µL de Buffer PCR 1X, MgCl₂ 20 mM, Taq polimerasa 1U, 50 ng µL⁻¹ el templado y el volumen final se ajustó con agua ultrapura. Finalmente los productos se visualizaron en un gel de agarosa al 1%, y los productos que dieron una mejor señal fueron seleccionados para enviarlos a secuenciar a Macro Gene.

ANALISIS MOLECULAR

Datos BoldSystem

En el portal de BolSystem en el proyecto BAPAZ (Copepods of the NW of Mexico) se subieron las secuencias de la placa procesada en Canadá. En la sección de registros se revisó que especímenes tenían más de 500 pb como un criterio de selección para el análisis estadístico; posterior a esta selección se descargaron las secuencias de 23 especímenes que correspondieron a 6 especies.

Posteriormente, con fines comparativos y para complementar del análisis genético, se descargaron las secuencias de otras especies de la Familia Pontellidae previamente reportadas en GenBank (*Labidocera sp.*, *Labidocera euchaeta*, *Labidocera rotunda*, *Pontella fera*, *Pontellopsis tenuicauda*, *Pontellopsis regalis*, *Calanopia thomsoni* y *Pontella rostraticauda*); la especie utilizada como grupo externo fue *Candacia simplex*.

Datos MacroGene

Las secuencias fueron recibidas en formato *ABI y fueron visualizadas con ayuda del programa FinchTV (versión 1.4.0.). Después se exportaron en formato FASTA como “forward” y como complemento “reverse”, para poder alinearlas y obtener una secuencia coincidente (o consenso - *consensus*) con el programa SeaView (versión 4.5.1.).

Las secuencias así obtenidas fueron alineadas con el programa ClustalX (versión 2.0); también se llevó a cabo la alineación manual a 550 bases con el programa GeneDoc (versión 2). Con el programa MEGA5 (versión 5.2.2, Tamura *et al.*, 2011) se construyeron los árboles de similitud utilizando el método estadístico de Máxima Verosimilitud, con un Bootstrap de 1000. Se obtuvieron las distancias genéticas con el modelo de dos parámetros de Kimura (K2P) recomendado por el protocolo de BoldSystem (Ratnasingham & Hebert, 2007). Todos los datos que se obtuvieron de las hojas de cálculo de Excel, las fotografías tomadas a los organismos

y las secuencias, fueron cargados al proyecto Pontellids of Mexico (POM) en la plataforma de Boldsystems (<http://www.boldsystems.org/views/login.php>).

Finalmente se utilizó el programa BLAST para comparar las secuencias obtenidas con las que están en las bases de datos del NCBI (National Center for Biotechnology Information; <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) y determinar cuántas secuencias del CO1 son similares a las obtenidas en este trabajo. Para tal efecto se utilizó la búsqueda con “*nucleotide blast*” (búsqueda en la base de datos de nucleótidos) con el algoritmo blastn y se seleccionaron las secuencias que tuvieron el porcentaje de similitud más alto.

RESULTADOS

Análisis Morfológico

De 62 muestras de zooplancton analizadas se separaron e identificaron sobre la base de su morfología externa 10 especies de copépodos de la familia Pontellidae (Tabla I). De éstas *Calanopia elliptica*, *Calanopia minor*, *Pontellopsis brevis* y *Labidocera acutifrons* son nuevos registros para el Golfo de California. Estas especies junto a las 24 previamente registradas en el Pacífico Mexicano (Hernández-Trujillo & Esqueda-Escárcega, 2002; Palomares-García, *et al.*, 2013) dan un total de 28 especies de la familia Pontellidae en el Golfo de California.

Listado taxonómico de las especies de acuerdo a Huys & Boxshall (1991)

Subclase Copepoda Milne-Edwards, 1840

Infraclasse Neocopepoda Huys y Boxshall, 1991

Superorden Gymnoplea Giesbrecht, 1882

Orden Calanoida Sars, 1903

Familia Pontellidae Dana, 1852

Género *Calanopia* Dana, 1853

Calanopia elliptica Dana, 1849

Calanopia minor Scott, 1902

Género *Labidocera* Lubbock, 1853

Labidocera acuta (Dana, 1849)

Labidocera acutifrons (Dana, 1849)

Labidocera jonhsoni Fleminger, 1964

Labidocera diandra Fleminger, 1967

Género *Pontellina* Dana, 1852

Pontellina plumata (Dana, 1849)

Género *Pontellopsis* Brady, 1883

Pontellopsis armata Giesbrecht, 1889

Pontellopsis brevis Giesbrecht, 1889

Pontellopsis occidentalis Esterly, 1906

Tabla 1. Copépodos de la familia Pontellidae en la región centro-norte del Pacífico mexicano, en la Península de Baja California, por localidad. * = Nuevo registro de especie en aguas mexicanas.

| | Golfo de California | Bahía de La Paz | Islas Marías | Total |
|--|----------------------------|------------------------|---------------------|--------------|
| * <i>Calanopia elliptica</i> Dana, 1849 | X | X | X | 3 |
| * <i>Calanopia minor</i> Scott, 1902 | X | | X | 2 |
| <i>Labidocera acuta</i> (Dana, 1849) | X | X | X | 3 |
| * <i>Labidocera acutifrons</i> (Dana, 1849) | X | X | | 2 |
| <i>Labidocera diandra</i> Fleminger, 1967 | X | X | | 2 |
| <i>Labidocera johnsonii</i> Fleminger, 1964 | X | X | | 2 |
| <i>Pontellina plumata</i> (Dana, 1849) | X | X | X | 3 |
| <i>Pontellopsis armata</i> Giesbrecht, 1889 | | | X | 1 |
| * <i>Pontellopsis brevis</i> Giesbrecht, 1889 | X | | | 1 |
| <i>Pontellopsis occidentalis</i> Esterly, 1906 | X | | | 1 |
| Total | 9 | 6 | 5 | |

DIAGNOSIS PARA ESPECIES DE LA FAMILIA PONTELLIDAE CON EXTENSIÓN DE ÁMBITO EN EL GOLFO DE CALIFORNIA

A continuación, para cada especie se detallan las características diagnósticas, descripción general de cada especie y la distribución geográfica fue tomada de Razouls *et al.* (2005-2014). Los números en negritas representan las zonas en las que la especie ha sido reportada y los números en gris representan localidades en donde hasta el momento aún no se ha registrado su presencia.

Calanopia elliptica Dana, 1849

Los representantes del género *Calanopia* pueden o no estar armados con ganchos laterales. El extremo anterior del cefalotorax y el primer segmento generalmente están separados. En la hembra, el somita genital es simétrico y miden entre 1.7 – 2 mm y los machos entre 1.8 - 1.9 mm. En las hembras, el urosoma es aproximadamente dos veces más largo que el segmento genital. El quinto apéndice torácico es asimétrico y la furca es aproximadamente tres veces más larga que el ancho. En los machos, el segmento dos del urosoma tiene un diente bien definido. La pata 5, en el segmento terminal, el exopodito izquierdo termina con un grupo de setas finas (Scott, 1909; Braddford-Grieve, 1999a; Mori, 1937; Tanaka, 1964c; Silas & Pillai, 1976; Mulyadi, 2002; Conway, 2003. Según Bradford-Grieve *et al.* (1999); Bradford-Grieve (1999a) y Mori (1937). ésta especie es de afinidad cálida,). La especie es epipelágica, encontrándose comúnmente en ambientes oceánicos y se ha reportado con distribución tropical y subtropical en aguas de los océanos Atlántico, Pacífico e Índico, región Indo-Malasia, sureste de Australia, , y en el mar Mediterráneo. Es la primera vez que se registra esta especie en el Golfo de California (región 25) aunque se he reportado para el Pacífico Orienta Tropical (región 20).

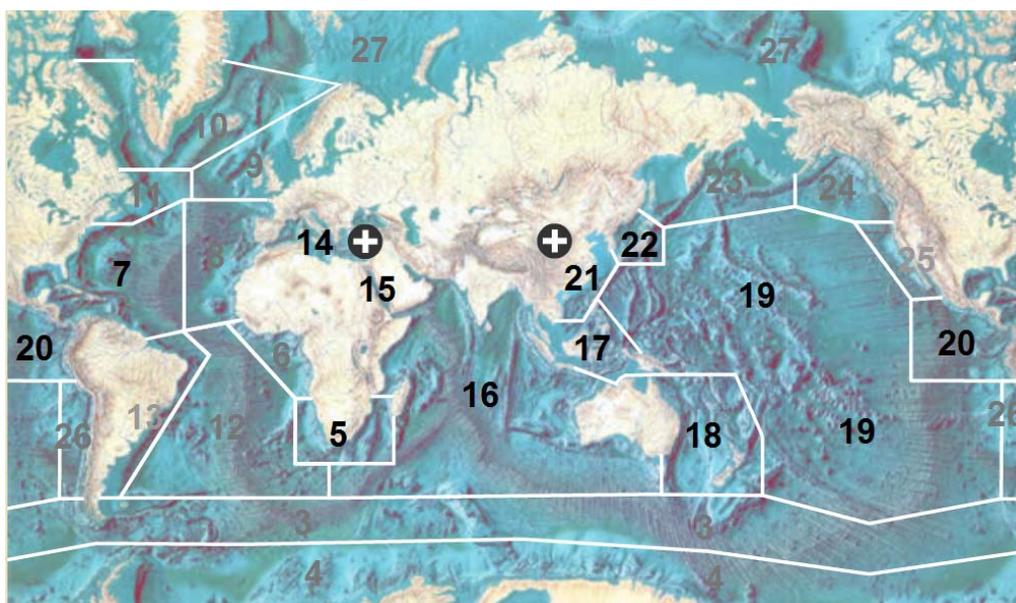


Figura 5. Distribución de *Calanopia elliptica*. Tomado de Razouls *et al.*, (2005-2014) (consultado el 28/03/2014).

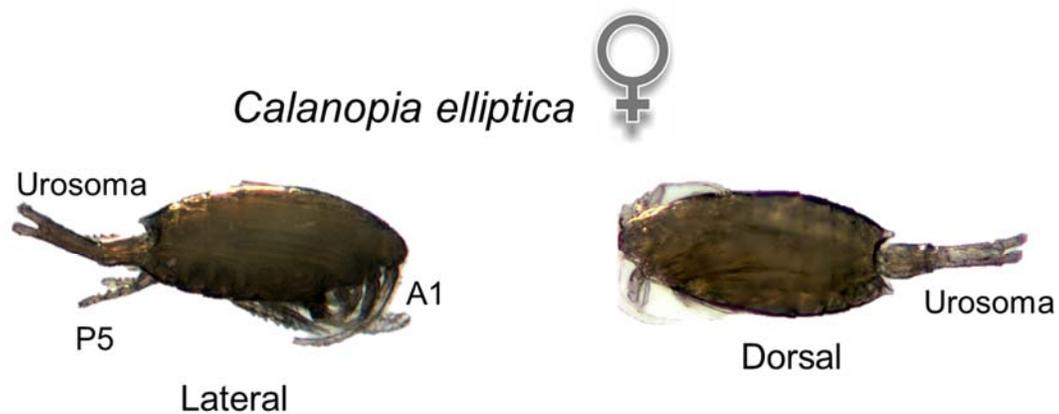


Figura 6. *Calanopia elliptica*: Hembra, vista dorsal y lateral.

***Calanopia minor* Scott, 1902**

Las hembras *Calanopia minor* miden en promedio 1.4 mm de longitud total y los machos 1.2 mm,. La hembra se distingue por tener el cefalón medianamente alargado; la máxima anchura se encuentra en el segmento 2. El rostro tiene una protuberancia en la base, terminando en un proceso puntiagudo. El urosoma presenta dos segmentos, siendo el segundo 1.5 veces más largo que el segmento genital. La quinta pata es simétrica. El macho presenta un prosoma como el de la hembra. El urosoma tiene cinco segmentos. La primera antena derecha esta geniculada. El segundo segmento del quinto apéndice torácico derecho, tiene una protuberancia en la parte media (Scott, 1909; Tanaka, 1964c; Silas & Pillai, 1976; Mulyadi, 2002; Conway, 2003). Especie epipelágica, costera y oceánica, con una mayor afinidad al ambiente tropical, distribuida en las aguas de los Océanos Atlántico, Pacífico e Índico (Bradford-Grieve *et al.*, 1999). Es la primera vez que se registra en la región 25 y Golfo de California aunque se ha reportado esta especie en el Pacífico Oriental Tropical (región 20).

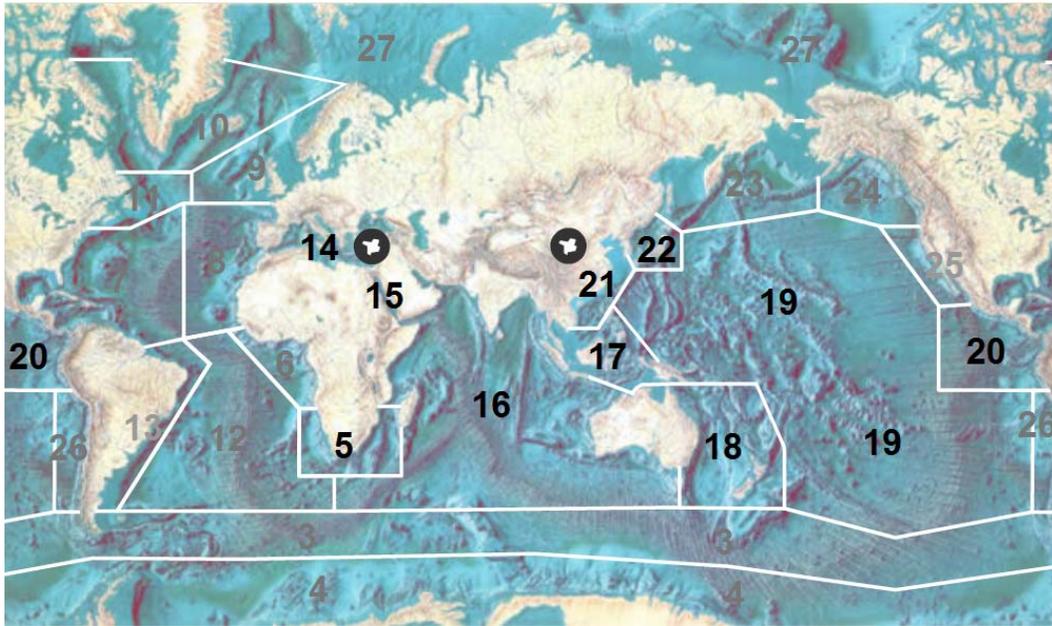


Figura 7. Distribución de *Calanopia minor*. Tomado de Razouls *et al.*, (2005-2014) (consultado el 28/03/2014).

Calanopia minor

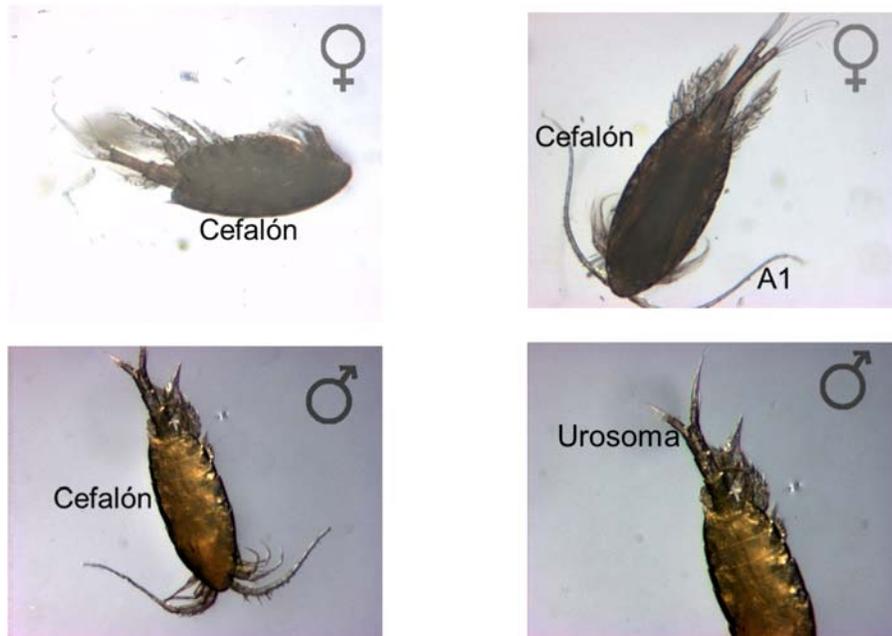


Figura 8. *Calanopia minor*: Vista lateral, y dorsal de hembra y macho.

Labidocera acutifrons (Dana, 1849)

En promedio, las hembras de *Labidocera acutifrons* miden entre 3.4 - 4.15 mm y los machos entre 3.3 - 4.08 mm. La hembra se distingue por tener una pequeña espina en la cefalototax, ligeramente proyectada, no posee ganchos cefálicos, el tercer segmento genital es ligeramente asimétrico, con un pequeño abultamiento del lado derecho seguido de una espina del mismo lado hacia la parte anal. El macho también tiene una espina en la cefalotorax, con el metasoma simétrico. La quinta pata tiene un endopodito rudimentario y un exopodito que en el segmento 2 termina en tres espinas (Tanaka, 1964c; Silas & Pillai, 1976; Braddford-Grieve, 1999a; Conway, 2003; Jeong *et al.*, 2009). Son organismos epipelágicos distribuidos preferentemente en ambientes oceánicos tropicales y subtropicales en los océanos Atlántico, Pacífico e Índico (Braddford-Grieve *et al.*, 1999; Braddford-Grieve, 1999a; Mori, 1937).

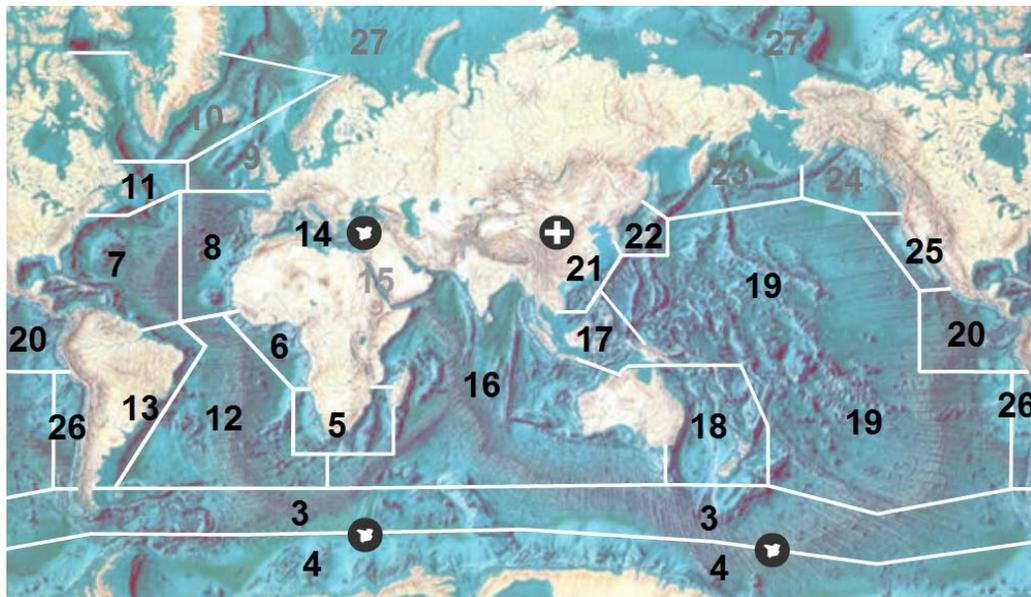


Figura 9. Distribución de *Labidocera acutifrons*. Tomado de Razouls *et al.*, (2005-2014). (Consultado el 28/03/2014.)

Labidocera acutifrons

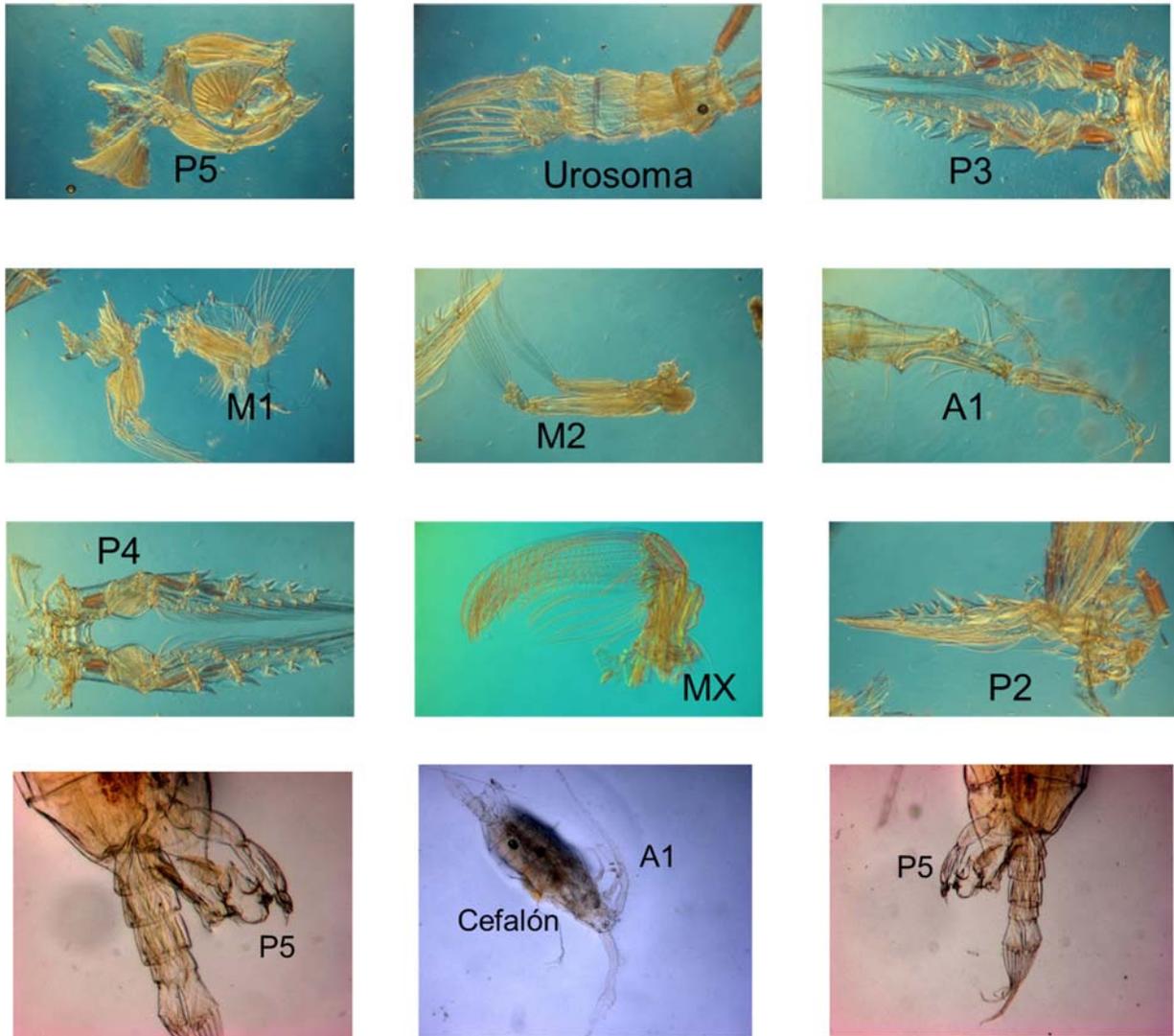


Figura 10. *Labidocera acutifrons*: disección de los principales apéndices, cuerpo completo y último segmento del prosoma.

Pontellopsis brevis Giesbrecht, 1889

No se encontró hembras de *Pontellopsis brevis* y los machos miden aproximadamente 2.27 cm. Esta especie es epipelágica, oceánica y de distribución tropical-subtropical con registros para el Océano Atlántico, suroeste de África, Océano Índico y reportada previamente como probablemente en el Océano Pacífico (Bradford-Grieve *et al.*, 1999) pero confirmada su presencia en el Golfo de California. Es la primera vez que se reporta para la región de estudio. Como característica distintiva, el macho posee en el último segmento torácico una espina en cada lado. Es simétrico, tiene un rostro largo y delgado. El segmento genital tiene un proceso largo y triangular en el margen lateral izquierdo. La antena geniculada posee una fornida espina en los segmentos 13 - 14. La quinta pata tiene una larga seta en el segmento distal del exopodito (Tanaka, 1964c).

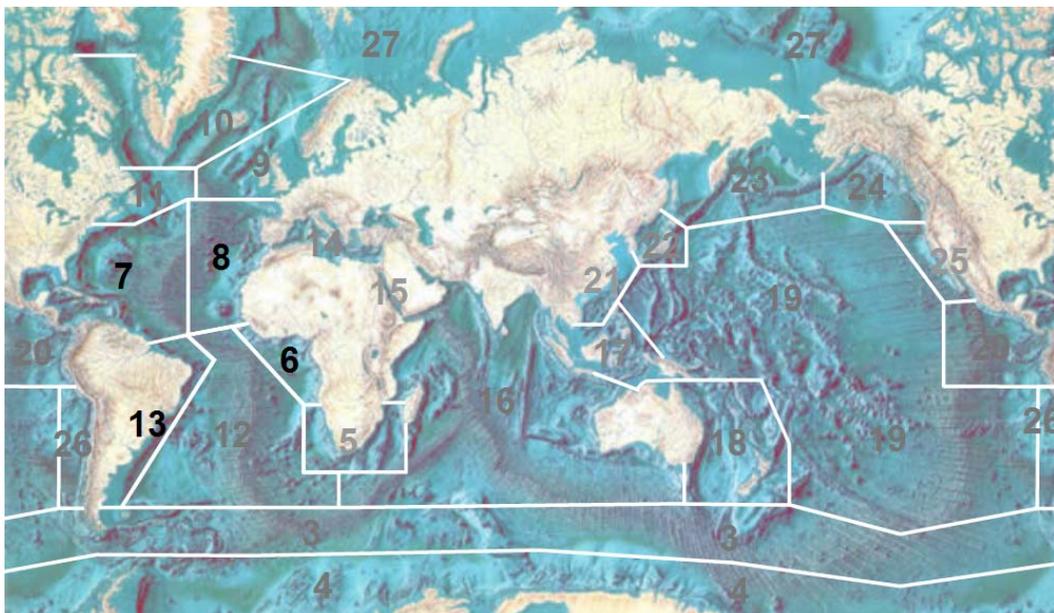


Figura 11. Distribución de *Pontellopsis brevis*. Tomado de Razouls *et al.*, (2005-2014); consultado el 28/03/2014.

Pontellopsis brevis ♀

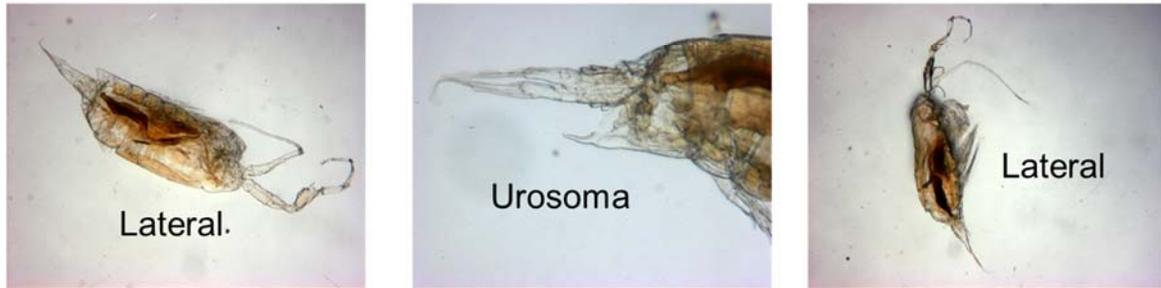


Figura 12. *Pontellopsis brevis*: Urosoma y cuerpo completo en vista lateral.

DIAGNOSIS PARA ESPECIES PREVIAMENTE REPORTADAS EN MEXICO

Labidocera acuta (Dana, 1849)

Las hembras de *Labidocera acuta* miden 3.05 - 3.40 mm y los machos 2.80 - 3.30 mm. Las hembras poseen una espina aguda en la parte apical de la cabeza, sin ganchos cefálicos laterales. En la parte posterior del metasoma posee espinas gruesas simétricas y puntiagudas. El segmento genital es asimétrico con una proyección posterior hacia la derecha, extendiéndose hasta la mitad del siguiente segmento. El macho tiene en el metasoma un par de proyecciones asimétricas; en el lado derecho tiene una proyección entre el ala y el urosoma. En la quinta pata izquierda posee una espina (Scott, 1909; Tanaka, 1964c; Braddford-Grieve, 1999a; Mori, 1937; Silas & Pillai, 1976; Mulyadi, 2002; Conway, 2003). Esta es una especie

epipelágica con una distribución preferentemente en ambientes neríticos habitando en el Pacífico Oeste, Atlántico Suroeste, Atlántico Este y zonas tropicales (Bradford-Grieve *et al.*, 1999; Mori, 1937). Las especies pertenecientes a este género han sido segregadas en grupos, sin embargo este sistema de subdivisión aún no ha sido bien definido.

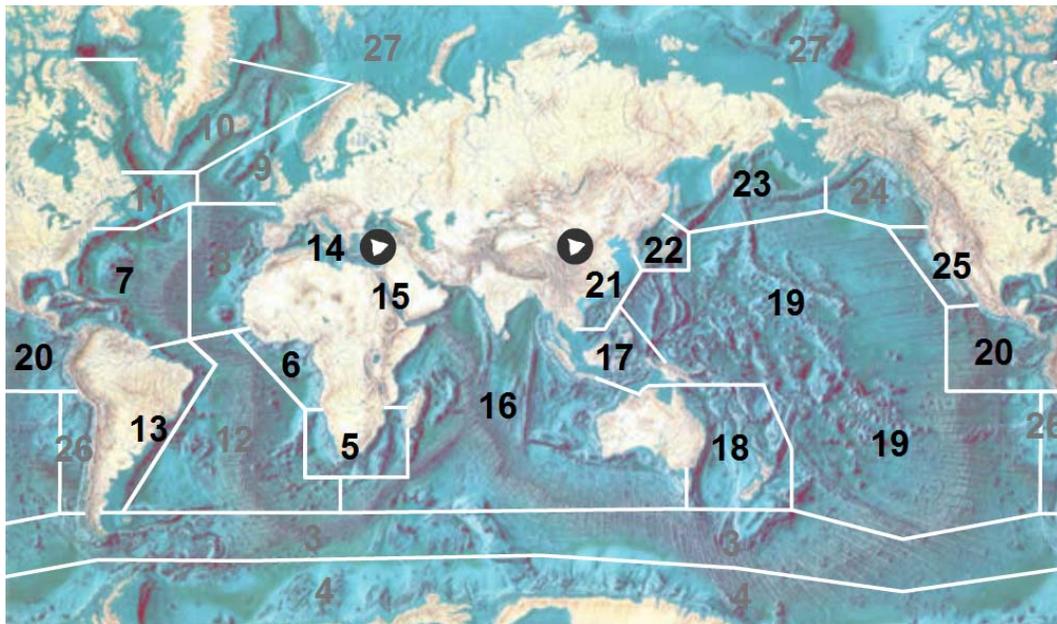


Figura 13. Distribución de *Labidocera acuta*. Tomado de Razouls *et al.*, (2005-2014) (consultado el 28/03/2014).

Labidocera acuta

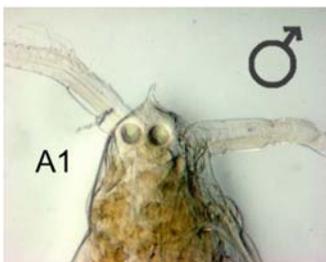
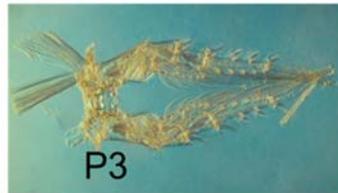
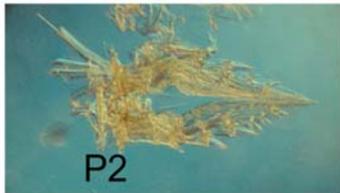
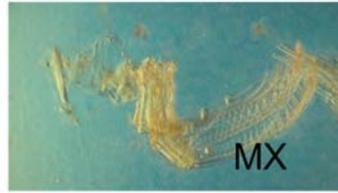
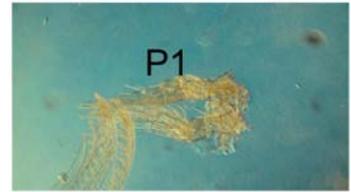
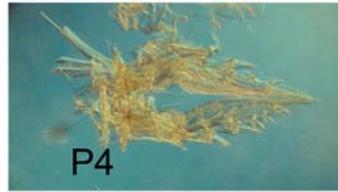
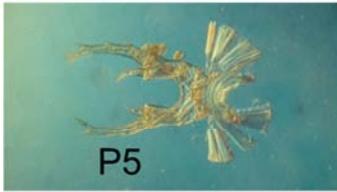


Figura 14. *Labidocera acuta*: Hembra: quinta pata (P5), cuarta pata (P4), primera pata (P1) Maxilipedo (MX), segunda pata (P2); Macho: antena 1 (A1), cefalotorax en vista dorsal.

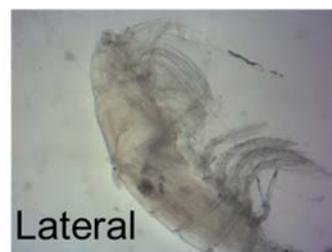
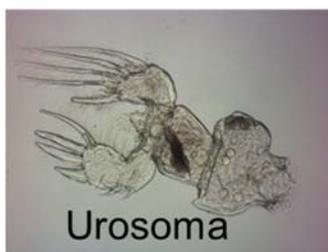
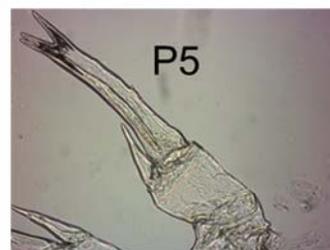
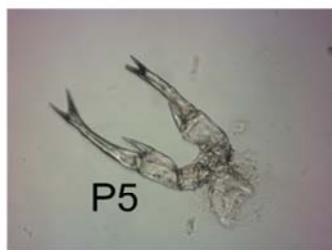
Labidocera diandra Fleminger, 1967

Las hembras de *Labidocera diandra* miden entre 2.57 - 3.49 mm y los machos cuenta con dos morfotipos en los machos (morfotipo A y morfotipo B; de ahí viene el nombre de la especie *diandra*), de esta forma el morfotipo A mide entre 2.53 - 3.25 mm y los machos del morfotipo B entre 2.51 - 3.25 mm. La especie se distingue por presentar estructuras sexuales modificadas, ausencia de ganchos cefálotorácicos. La hembra en vista dorsal, en el último segmento del prosoma, posee dos lóbulos similares y en vista lateral se observan llegar casi hasta el segmento genital. El urosoma es asimétrico y en vista dorsal se aprecia una curvatura relativamente larga hacia la derecha del segmento genital. El segmento anal es pequeño, la rama caudal asimétrica y la rama izquierda es más larga. El segmento genital posee un gancho robusto extendido desde la parte anterior hasta el lado izquierdo. El macho tiene dos morfotipos que son relativamente difíciles de distinguir en la morfología del prosoma y urosoma; los procesos del último segmento del prosoma son simétricos y con márgenes redondeados. Posee una rama caudal alargada cuya longitud es mayor a la de los tres segmentos urosomales combinados. Morfotipo A: la antena 1 tiene dentículos con 18 segmentos. La quela de la quinta pata es delgada, elongada y el segmento proximal tiene un proceso digitiforme perpendicular. El proceso delgado distal (dedo) es opuesto a un proceso proximal (pulgar), formando la quela. El segmento proximal tiene una seta larga proximal. Morfotipo B: antena tiene dentículos con 18 segmentos y una cresta entre los segmentos 16 y 18 que es el criterio diagnóstico para distinguir entre ambos morfotipos. La quela es ovalada y compacta. El segmento proximal es semicircular en vista lateral y posee una lamela delgada con muescas grandes marginales. La seta larga se origina desde la base de la lamela en una posición similar de la seta en el morfotipo A, la lamela es homóloga al proceso digitiforme (dedo) en la quela de este morfotipo (Fleminger, 1967). Esta especie es endémica de la región de la Corriente de California y Golfo de California. Se distribuye en la costa del Pacífico de la península de Baja California, al sur de Bahía Almejas; y por el lado del Golfo de California, hasta un poco más al norte de Santa Rosalía y al sur hasta Bahía Banderas en Jalisco y Nayarit, aunque se ha propuesto que puede distribuirse hasta América central.



Figura 15. Distribución de *Labidocera diandra*. Tomado de Razouls *et al.*, (2005-2014); consultado el 28/03/2014.

Labidocera diandra ♀



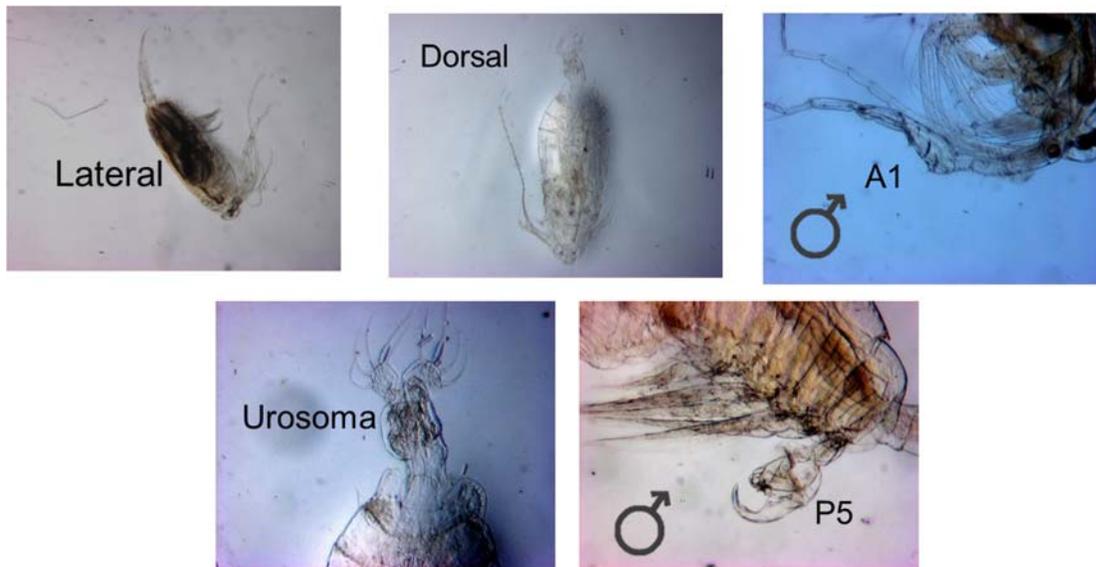


Figura 16. *Labidocera diandra*: disección de la quinta pata de la hembra, urosoma y cuerpo completo; quinta pata del macho y primera antena (morfotipo B).

Labidocera johnsonii Fleminger, 1964

Las hembras de *Labidocera johnsonii* miden entre 2.21 - 3.26 mm y los machos entre 2.12 - 3.01 mm. La hembra posee el segmento genital fuertemente asimétrico y con tres procesos distintivos. El proceso A, en vista dorsal, es rectangular, extendido lateralmente hacia la derecha, con el borde distal rodeado de uno a cinco dentículos. El proceso B es setiforme se extiende desde la base hinchada cercana al margen posterior del segmento ventral hacia proceso A. El proceso C es pequeño e irregular, con una protuberancia adyacente a la mitad del borde del poro genital; la rama furcal es simétrica y relativamente corta. En el macho, la esquina derecha del quinto segmento del metasoma presenta tres subsecuentes espinas extendiéndose posteriormente; en vista dorsal se curvan débilmente hacia la mitad y en vista lateral no se ven doblados o curvos. El quinto apéndice cefalotorácico tiene además un segmento proximal a la quela que posee una gran lamela, rodeada distalmente y con un ancho igual a su largo o mayor; la pata izquierda tiene un proceso distal en el basipodito, usualmente referido como endopodito (Fleminger, 1964). Esta especie es endémica de la costa del Pacífico de la Península de Baja California y el Golfo de California.



Figura 17. Distribución de *Labidocera johnsoni*. Tomado de Razouls et al., (2005-2014) (Consultado el 28/03/2014).

Labidocera johnsoni ♀

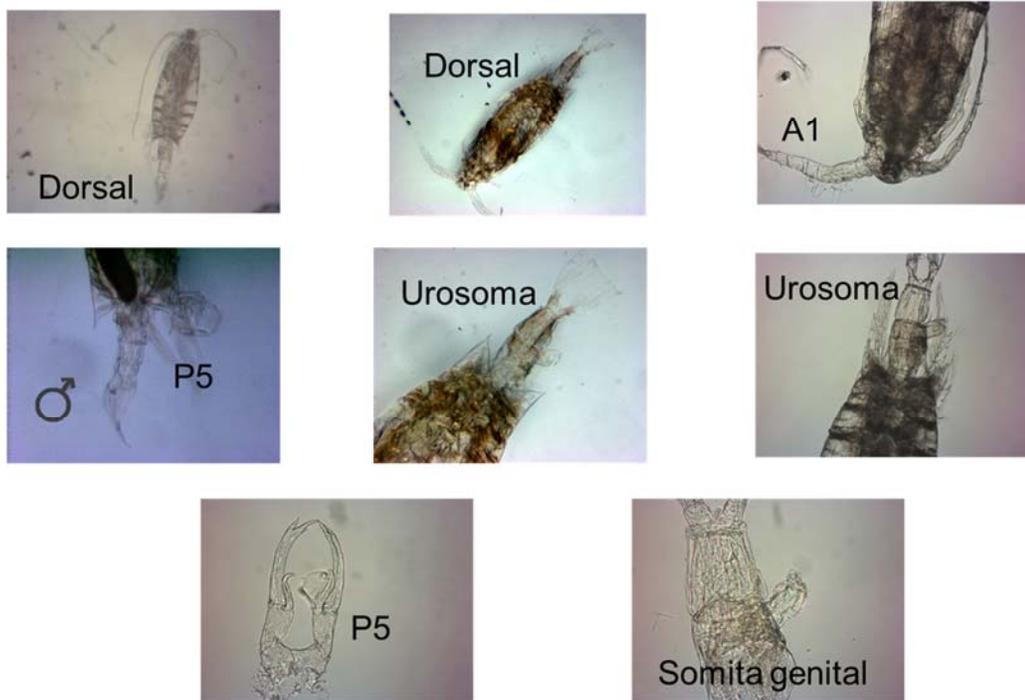


Figura 18. *Labidocera johnsoni*: hembra en vista dorsal, urosoma y quinta pata; macho en vista ventral, quinta pata y último segmento del prosoma.

Pontellina plumata (Dana, 1849)

El género *Pontellina* fue primeramente revisado por Fleminger & Hülsemann (1974). Las hembras de la especie *Pontellina plumata* miden entre 1.44 - 1.94 mm y los machos entre 1.34 - 1.92 mm. La hembra de la especie se distingue por presentar en el metasoma en vista lateral un proceso en forma de espina conspicua. La quinta pata, en el margen interior del exopodito, está carente de setas. El endopodito es polimórfico y tiene una o dos espinas apicales fusionadas al segmento. El exopodito es entre 2 y 3 veces más grande que el endopodito (Scott, 1909; Tanaka, 1964c; Braddford-Grieve, 1999a; Mori, 1937; Silas & Pillai, 1976; Mulyadi, 2002). Esta es una especie epipelágica con distribución preferentemente en el hábitat oceánico. Se ha reportado en áreas tropicales y subtropicales de los océanos Atlántico, Pacífico e Índico, con límites en el norte y sur las zonas de convergencia subtropical (Bradford-Grieve *et al.*, 1999; Silas & Pillai, 1976).

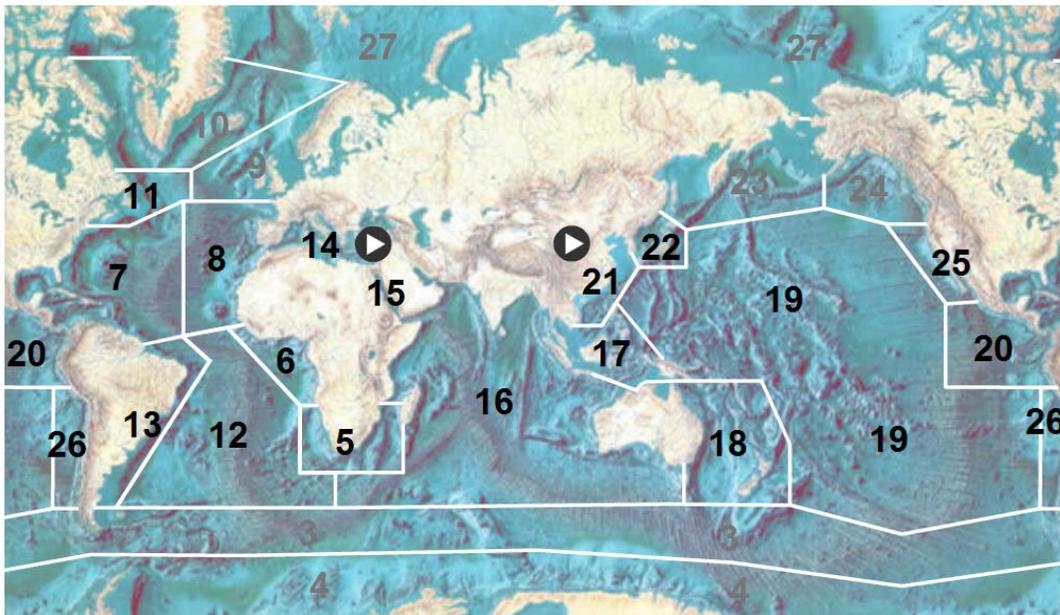


Figura 19. Distribución de *Pontellina plumata*. Tomado de Razouls *et al.*, (2005-2014). (Consultado el 28/03/2014).

Pontellina plumata ♀



Figura 20. *Pontellina plumata*: cuerpo completo en vista dorsal, latera, cefalón y urosoma.

Pontellopsis armata Giesbrecht, 1889

Las hembras de *Pontellopsis armata* miden entre 2.4 mm y los machos entre 2 mm. En la hembra se distingue el cefalotorax redondeado en la parte anterior y la separación del primer segmento y la cabeza. El urosoma tiene dos segmentos. El segmento genital posee una espina dirigida posteriormente hacia el orificio genital, mientras que en el macho, el prosoma es como el de la hembra. Los procesos del último segmento del prosoma están modificados. El lado izquierdo está pronunciado en un lóbulo agudo, alcanzando el tercer segmento del urosoma. El lado derecho es delgado, largo y curvado extendiéndose hasta la base de la furca (Scott, 1909; Tanaka, 1964c; Silas & Pillai, 1976; Conway, 2003). La distribución de esta especie se ha reportado desde el suroeste del Pacífico Central, hasta el Océano Índico, Mar Árabe y Archipiélago Malayo.

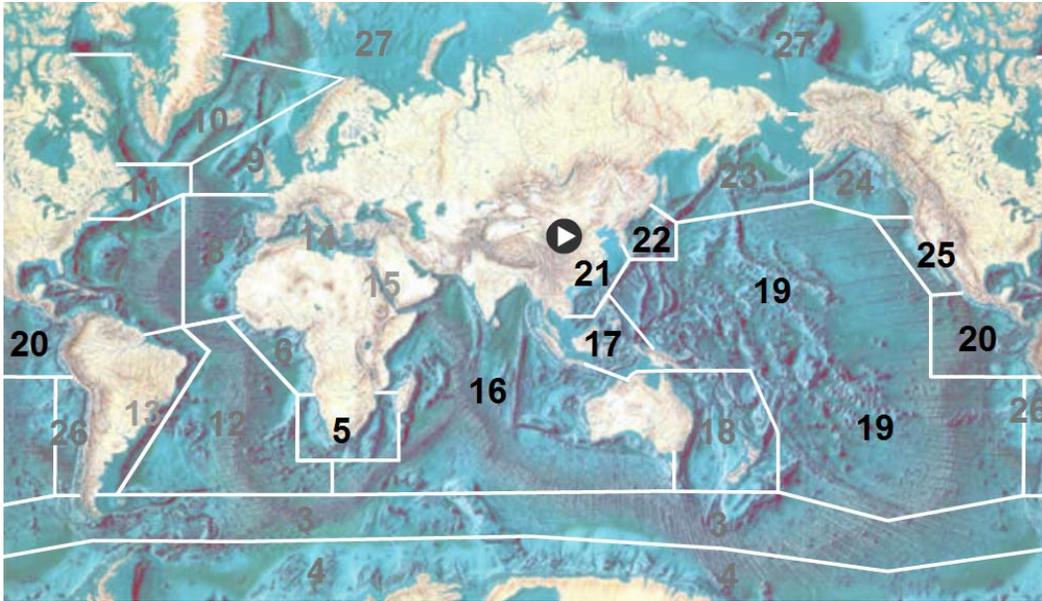


Figura 21. Distribución de *Pontellopsis armata*. Tomado de Razouls *et al.*, (2005-2014) (Consultado el 28/03/2014).

Pontellopsis armata ♀

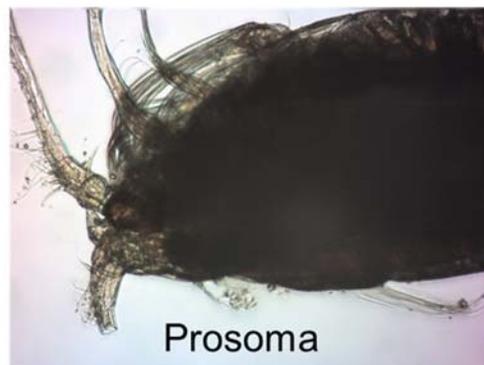
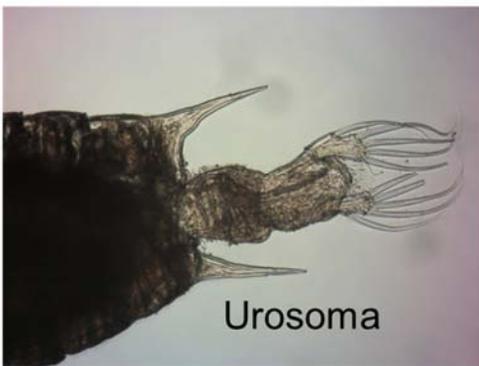


Figura 22. *Pontellopsis armata*: Urosoma y prosoma en vista dorsal.

Pontellopsis occidentalis Esterly, 1906

La hembra de *Pontellopsis occidentalis* posee el somita genital tan largo o ligeramente más largo que el somita anal y tiene un proceso o expansiones en ambos márgenes o sobre la superficie dorsal. Las esquinas del quinto segmento del prosoma son puntiagudas, con procesos espiniformes que apenas llegan al margen posterior del somita genital. En el macho, el segundo somita urosomal posee pequeños procesos laterales sobre el margen izquierdo. El segundo segmento del exopodito de la quinta pata es cilíndrico y tan largo como los segmentos anteriores. El proceso del primer segmento es corto y las esquinas del último segmento del prosoma son simétricas o casi simétricas. Esta especie ha sido registrada en el Golfo de California, sur de California y costa occidental de la península de Baja California. Es considerada como endémica de la región (Suárez-Morales & Kozak, 2012).



Figura 23. Distribución de *Pontellopsis occidentalis*. Tomado de Razouls *et al.*, (2005-2014); consultado el 28/03/2014.

Pontellopsis occidentalis

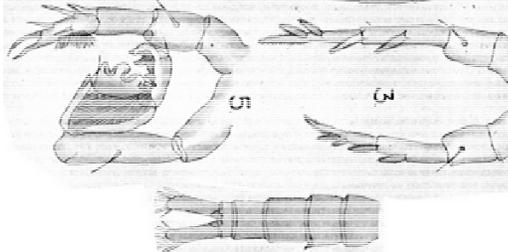
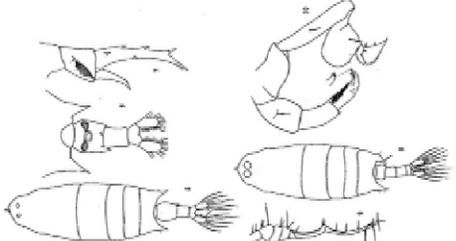
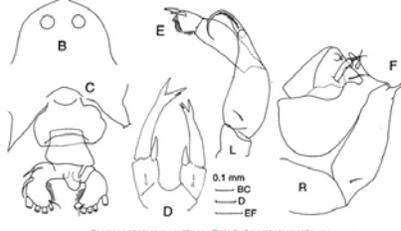
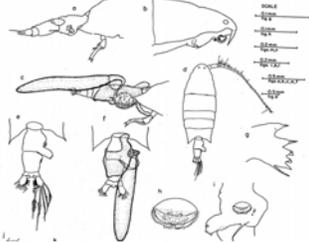
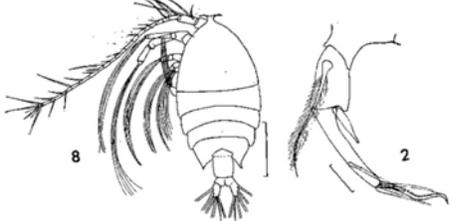


Figura 24. *Pontellopsis occidentalis*: cuerpo completo en vista lateral, dorsal; último segmento del prosoma y quinta pata.

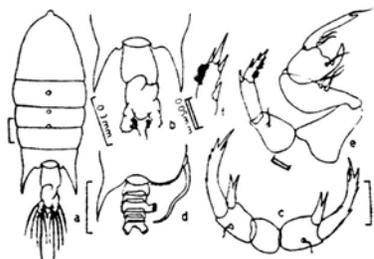
ANALISIS MOLECULAR

Se obtuvieron 66 secuencias del CO1 correspondientes a siete especies de copépodos de la familia Pontellidae; las secuencias de otras dos especies aun estan en proceso. Debido a que se contaba solo con un espécimen de una especie no se procedió a la secuenciación para así poder conservarla como referencia.

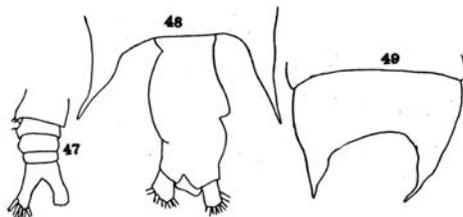
Tabla 2. Especies identificadas, su característica morfológica relevante y secuencia CO1.

| Especie | Característica morfológica | Secuencia Co1 |
|---|---|--|
| <i>Calanopia elliptica</i> Dana, 1849 |  | <pre>GGAGTTAGGCCAGGCCGGCCAGCTGATCGGAGACGATCAGATTATAATGTGGTAGTGA CTGCCACGCATTATCATATATTTTTATGGTGATGCCATTATAATCGGGGTTTG GAAATTGATTGGTCCCTTAATGTTGGGAGCCGGATATAGCATTCCCTCGATAAATA ATATAAGGTTCTGATTCCTCATGCCGGCAGTAGTGATGTTGCTGAGAAGATCTTTAGTGG AGAGTGGGGCAGGAACGGGATGAACAGTTTACCTCCTCTCTAGGAATATTGCTCATG CAGGAAGTTGCGTTGACTTTGCAATCTTTCACTTCAT--TTGGCGGGGTCAGGTCTAT TTTTAGGGCTGTAATTTTATAGGACGTTGGGGAACCTCCGTGTTTTCCGATGTTACT AGACGGATACCTCTATTTGCTGAGCTGTATTAATACCGGAGTATTACTACTATC ACTGC-CGGTACTGGCAGGGG-CTATCACT-ATGTTGCTTACTG-ACCGAAATTTAACT CTTCCTTTTATGAT</pre> |
| <i>Labidocera acuta</i> (Dana, 1849) |  | <pre>AGAANTAG-GACAAGCGGGAAGATTAATTGGTGATGACCAAATTTATAACGTTGTCGTGA CTGCTCAGCCCTTATATAATTTCTCATAGTAATGCCTATTTTGATTGGCGGGTTG GAACCTGGTTAGTTCCTTAATATTAGGGGCTCGAGATAGGCTTTTCTCGTATAAATA ATATAAGATTCTGGTTTTGATGCTGCTTATTAATGTTTATTAACAGATCTTTAGTGG AAGAGGAGCAGGAACCGGTAACGTTTACCCCTCTGCTAGAAATATTGCTCATG CGGAAGCTCAGTAGACTTTGCAATTTTTCATTACAC--TTAGCTGCTGAAGATCAAT TTTTAGTGCAGTAAATTTATTAGAACATTAGGCAATCTTCGTGTTTTTGAATAATCTT AGACCGAATGCCACTATTGCTGAGCAGTTTTAATTAAGTCCGCTTATTGCTGTTATC ACTTC-CTGTGCTAGCTGGTG-CAATTACA-ATACTATTAACTG-ACCGAAATCTAAAT CATCAATTTTATGAT</pre> |
| <i>Labidocera acutifrons</i> (Dana, 1849) |  | <pre>GGNANTAG-GACAANCGNNG-ACTAATTGGTGATGACCAATTTATNATGTAGTAGTGA CTGCNANGCATTATGATTTCTTCATAGTAATACCAATTTAATNGGCGGTTTTG GTAACCTGGTTGGTGCCCTCATGTTAGGAGCCCGGACATANCTNCCCTCGAATGAATA ACATAGATTTCTGGTTTTAATGCCAGCTCTTATATATACTACTAGATCTTTGGTGG AAGAGGGCCGGAACCGGATGAACAGCTATCTCCACTATCTAGAACAATGCAACAG CTGGAAGATCTGTCGATTTGCTATTTTCTCCCTCCAT--TTAGCAGGTGTAGATCAAT TTTTAGGTCAGTAACTTTATTAGAACCTTAGGAACTCTGCGATATTCCGGATCAATCTT AGATCGAATACCCCTTTTGTCTGAGCNGNATNINANTACGGCAGTANTACTGNTATNTC ATNAC-CTGTGTTAGCGG-AN-CAATNACA-ATATNGNNACTGACC-GTAACTAAANN NNNNNTNCNANNAT</pre> |
| <i>Labidocera johnsonii</i> Fleminger, 1964 |  | <pre>-GAATTG-GGGCAGGCTGGAAGATTAATTG-TGATGATCAA-ATTACAATGTTGTGTGA CAGCCACGCATTATATAATTTCTTATAGTAATGCCTATTCTCATGGCGGATTTG GTAATTTGATTAGTCCCTTATATATTAGGGGACCGGATATAGCTTTCCCTCGAATAAATA ATATAAGGTTCTGGTTCTGATGCCAGCACTATCATACTTCTAACAAGATCCTTAGTGG AAGAGGGCCAGGAACAGGTTGAACGTTGACCTCCTTTATCAAGAAATATTGCACATG CTGGAAGATCTGTAGATTTGCTATTTTTCTCTTCAT--TTGGCGGGTGTAGTTCAAT TTTTAGGGCAGTTAATTTATTAGAACAATGGGTAATCTTCGAGTATTGGGATAATCCT TGACCGAATACCTCTATTTGCTGAGCTGTGCTAATTAAGTCTGCTTATTATTATTATC CCTT-CCGGTGTAGCAGGGG-CTATTACA-ATGTTATTAACT-AGATCGTAACTTAACT CCTCATTTTACGAC</pre> |
| <i>Pontellina plumata</i> (Dana, 1849) |  | <pre>AGAANTAG-GTCAAGCCGGTAGTTAATTGGTGATGATCAAATCTATAATGGTAGTGA CGGCTCAGCATTATATGATTTCTTCATAGTAATGCCTATTTAATGGAGGCTTTG GTAATTTGATTAGTACCTTTAATGTTAGGGGACGCTGACATAGCGTTCCCGAATGAATA ATATAAGATTCTGATTCCTTATACCTGCAGCTGTTATACTATTAAAGATCTGTTAGTAG AAGAGGGCCGGAACCGGTTGAACGTTATACCCCTTTGCTAGAAATATTGCTCATG CTGGTAGTTCACTGACTTCCGCTATTTTTCTCTACAC--TTAGCGGGGTTAGATCAAT TTTTAGGGCTGTAATTTTATTAGAACCTTAGGAACTCTGCGATATTCCGGATCAATCTT AGATCGGATACCTTTATTGCTGGGCTGTTCTTATTACTGCAGTACTGTTACTTCTATC TTTG-CTGTATTAGCTGGCG-CTATTACA-ATGTTGCTTAACTG-ACCGAATTTAAAT CATCTTTTATGAT</pre> |

Pontellopsis armata
Giesbrecht,
1889



Pontellopsis occidentalis
Esterly, 1906



```
AGAGCTAG-GACAGGCAGGAAGTTAATTGGGGATGATCAAATTTACAACGTAGTTGTAA
CCGCTCATGCATTATTATAATTTCTTCATAGTTATGCCTATTTTAATTGCGGGTTTG
GGAATTGGTTAGTTCCTTTAATGTTAGGGGCTGCTGACATAGCCCTCCCCCGAATAAATA
ATATAAGATTTTGATTCTCATGCCAGCCTTAGTTATACTACTGACAAGATCTTTAGTAG
AAAGAGGCGCGGAACGGGTTGAACCGTTTACCTCCTTTATCGAGAAACATTGCCCCAG
CGGGAGATCGGTTGATTTTGCAATTTTTCTTACAT--CTGGCTGGTGAAGATCTAT
TTTAGGGCTGTAATTTAATAGACTCTGGTAATTTGCGGGTGTGGAAATATTCT
AGATCGAATACCTCTATTGCTTGAGCAGTTTTAATTACTGCAATCTTACTTTATTATC
TCTT-CCGTCTTAGCGGGG-CGATTACT-ATATTATAAC-AGATCGTAATTTGAAC
CTTCTTTTATGAT
```

```
CTGCCCATGCATTATTATAATTTTTCTCATGGTTATGCCAATTTTGATTGGAGGTTTG
GAAACTGGTTAGTGCCTTAATACTAGGGCGGCTGATATGGCTTTCCTCGTATAAATA
ATATAAGATTTGGTCTTAATACCAGCTTTGGTAATATTATAACAGGTCGTTAGTAG
AAAGAGGGCGGAACAGGTTGAACCTGCTACCTCCTTGTCAAGAAATATCGCGCACG
CGGGAGATCAGTTGACTTCGCTATCTTTCTTCTTAC--TTGGCTGGAGTAAGATCAAT
TTTAGTGCAGTTAATTCATTAGAACTTTAGTAAATCGCGAGTTTTCCGGAATAATCTT
AGATCGAATGCCTTTGCTTGCGGGGTTAATTACTGCAATTTTNCCTTTACTATC
```

TTTNC-

Se obtuvo una divergencia intraespecífica máxima de 7.7%, una divergencia media de 3.8% y una mínima de 0, agrupando de forma exitosa a todas las especies incluidas en el análisis. En los distintos géneros identificados a través de claves, se obtuvo una divergencia máxima de 22%, una divergencia media de 11.3% y una mínima de 0.6%. La familia Pontellidae mostró una divergencia de 23% (Tabla III).

Tabla 3. Divergencias obtenidas para grupo de especies, géneros y familia.

| | Taxa | Mínima (%) | Media (%) | Máxima (%) |
|----------|------|------------|-----------|------------|
| Especies | 10 | 0 | 3.8 | 7.7 |
| Géneros | 6 | 0.6 | 11.3 | 22 |
| Familia | 1 | 23 | 23 | 23 |

Mediante el análisis de secuencias fue posible asignarlas a las especies *C. elliptica*, *L. acuta*, *L. johnsoni*, *P. armata*, *L. acutifrons*, *P. plumata* y *P. occidentalis*. Para aumentar la consistencia y robustez del estudio se incorporaron la secuencias disponibles en la plataforma de BoldSystems, de las especies *Pontella fera* (Costa de China), *Labidocera* sp. (Pacífico Central), *Labidocera rotunda* (Costa de China), *Pontella rostraticauda* (Mar de Japón), *Calanopia thompsoni*, *Labidocera euchaeta* (Costa de China), *Pontellopsis regalis* (Mar de Japón), *Pontellopsis tenuicauda* (Mar de Japón); las secuencias del grupo externo fueron las de *Candacia simplex* (Bahía de La Paz en el Noroeste de México). Casi todos los nodos que agruparon a las especies tuvieron un bootstrap fue e 100% y el grupo externo con un valor de 60%.

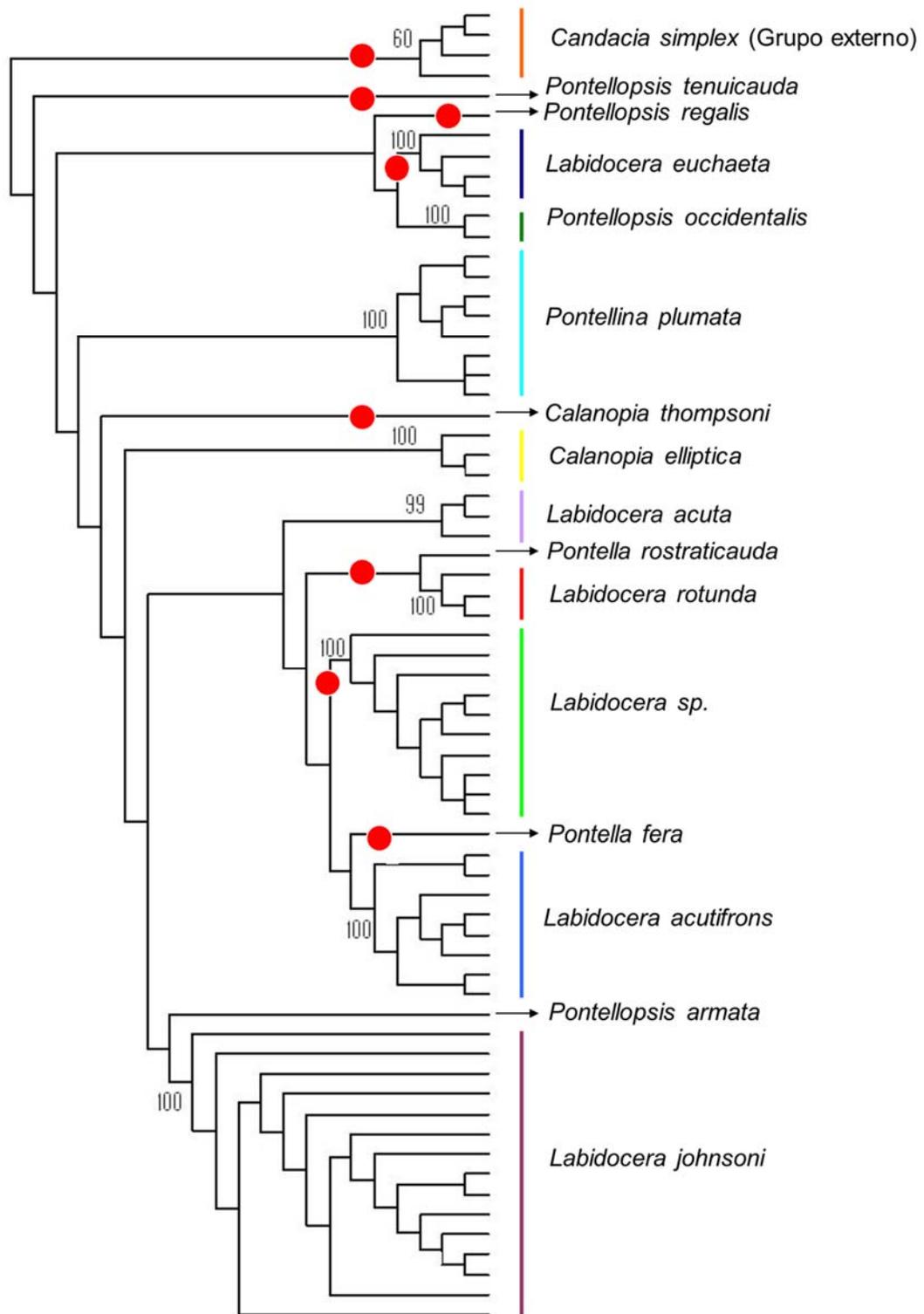


Figura 25. Árbol de similitud (Máxima verosimilitud, Bootstrap 1000), puntos en rojo muestran las especies utilizadas de la base de datos de BoldSystem.

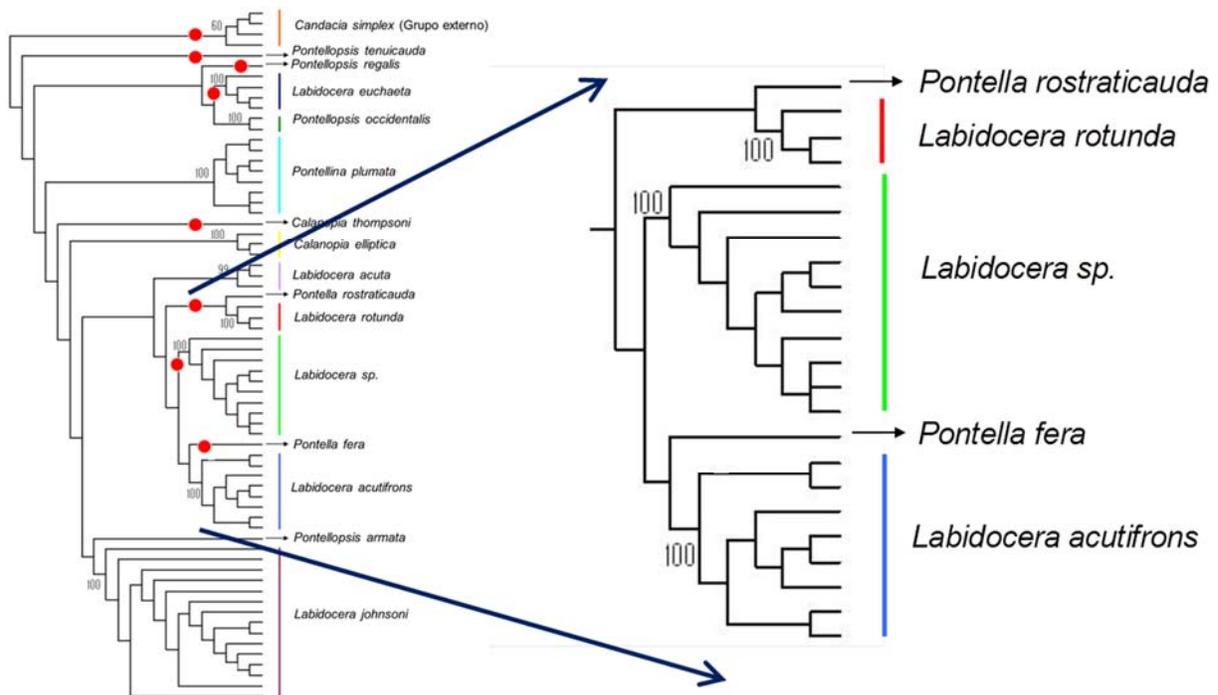


Figura 26. Análisis de la variabilidad del Gen en *Labidocera acutifrons*.

En la estructura del árbol de identificación (Figura 25) se observó que existe una diferencia muy clara entre las especies desde el punto de vista del CO1 y de la morfología. Separando también claramente al grupo externo; dentro de las especies cada una tiene un nivel de variación diferente que ocasiona la formación de varios subclados. Esta alta variabilidad del CO1 en las especies del Golfo de California también se observa en las secuencias de otras especies de pontelidos obtenidas del BoldSystem; el árbol muestra que existe un gran número de haplotipos en algunas especies (*L. johnsoni*) en comparación con otras con un reducido número de haplotipos (*L. acuta*).

En cuanto a la divergencia intraespecífica (Figura 27) donde *C. elliptica*, *L. johnsonii*, *C. simplex*, *Labidocera* sp. y *P. occidentalis* mostraron una divergencia menor al 2%, en tanto que en *L. acutifrons*, *P. plumata*, *L. euchaeta*, *L. rotunda* y *L. acuta* fue mayor al 2%. A nivel de género, dos de ellos tuvieron divergencia menor al 5% (*Pontellina* y *Candacia* como grupo externo), en tanto que *Pontellopsis* tuvo una divergencia mayor al 20%. Los géneros *Labidocera*, *Pontella* y *Calanopia* mostraron divergencias entre 10% y 20% (Figura 28). Finalmente, a nivel de Familia se obtuvo una divergencia de 22% y se comparó con obtenida con el grupo externo (Figura 29).

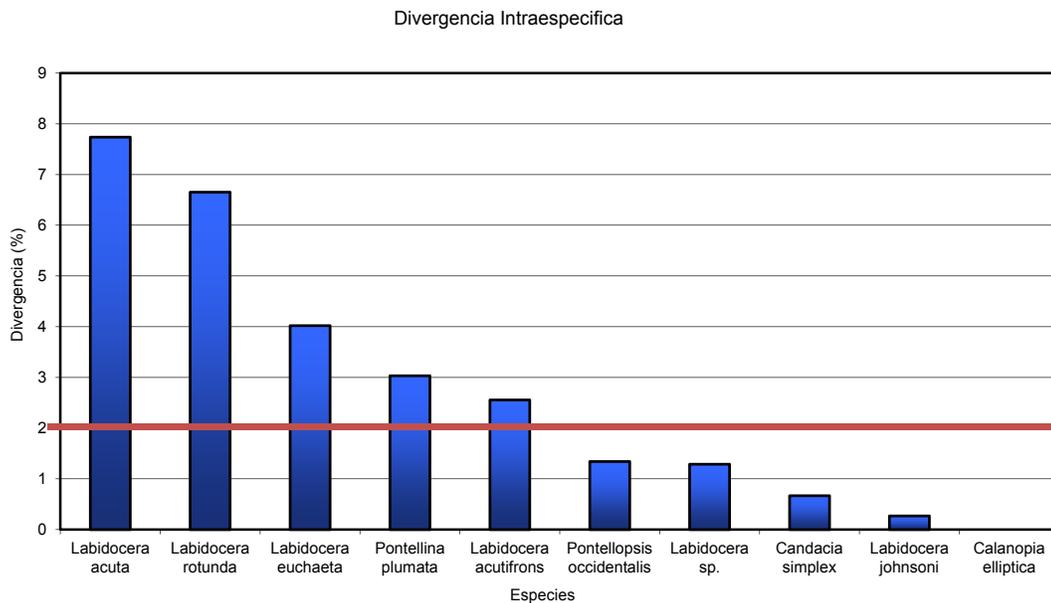


Figura 27. Divergencia intraespecífica de las especies identificadas genéticamente; la línea en rojo resalta el nivel de 2% de divergencia.

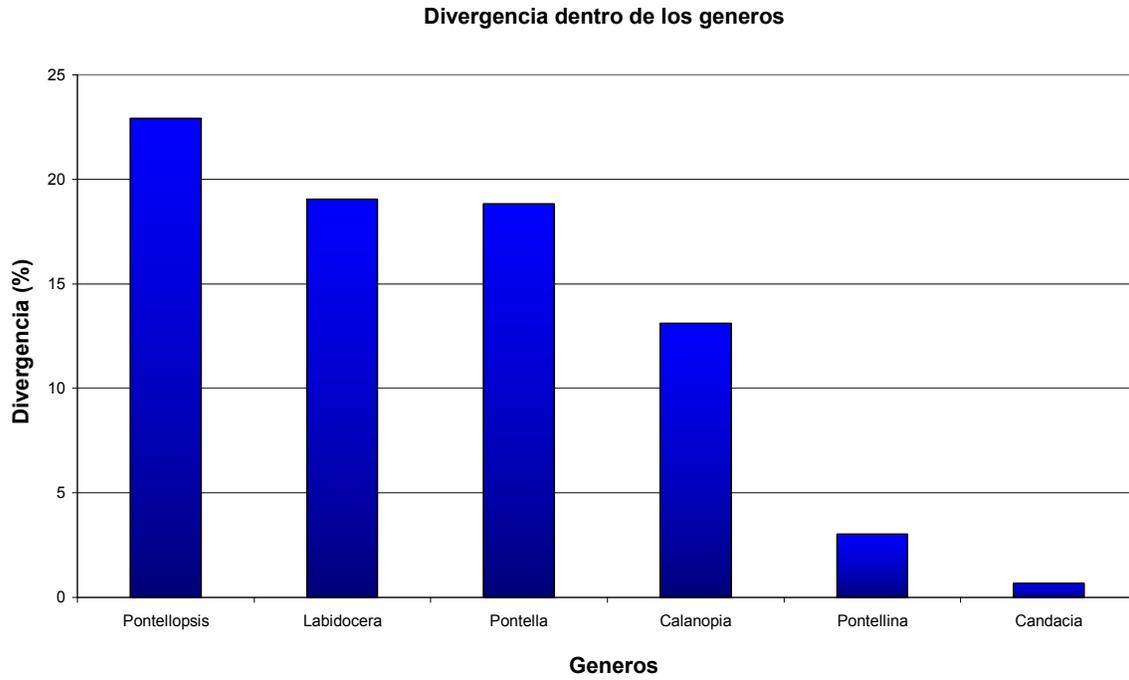


Figura 28. Divergencia dentro de los grupos de los diferentes géneros identificados.

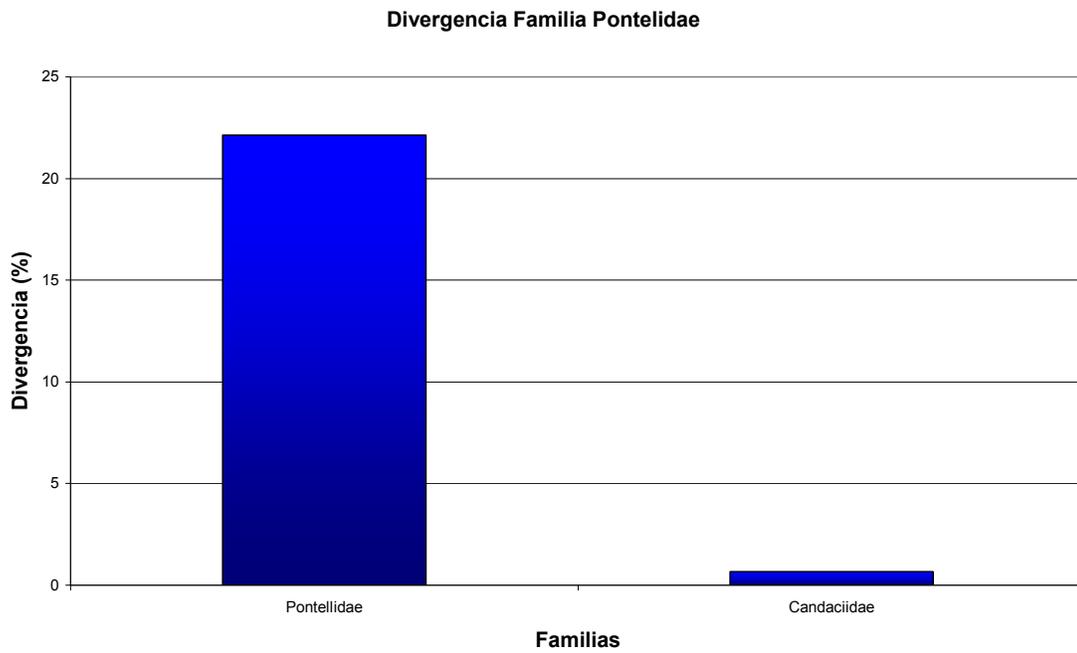


Figura 29. Divergencia dentro de la Familia Pontellidae.

El resultado de la búsqueda de secuencias de otros copépodos de la familia Pontellidae en GenBank fue que solo se encontraron para dos especies: *P. plumata* y *L. acuta*. Estas secuencias y las obtenidas en este trabajo fueron analizadas mediante el “*Blast*” (The Basic Local Alignment Search Tool) de la plataforma del NCBI (National Center for Biotechnology Information). En el caso de *L. acuta*, se obtuvo 92% de similitud con las secuencias esta especie en China y Japón, y 91% de similitud con otra de la India. Para *P. plumata* se obtuvo 93% de similitud con dos secuencias de la especie recolectadas en la costa de China y Japón y 92% de similitud con otras dos secuencias de especímenes del Mar de los Sargazos (Anexo 4). Las ocho especies restantes no tienen registro en GenBank, pero el análisis de Blast dio resultados inconsistentes cuando se sometieron las secuencias ya que dio niveles de similitud de hasta 98% entre especies de distintos órdenes, por lo que hasta que hayan secuencias de las especies en otras latitudes o información curatorial confiable, los análisis comparativos rendirán resultados coherentes y confiables en el futuro.

Tabla 4. Resultado de las comparaciones con las secuencias de la base de datos de GenBank (Blast)

| Especie | Gen | Observaciones |
|----------------------------------|------------|---|
| <i>Calanopia elliptica</i> | CO1 | 98% de similitud con <i>Copilia mirabilis</i> de la costa de China, no se encuentra registrado en la base de datos de GenBank. |
| <i>Labidocera acuta</i> | CO1 | 92% de similitud con <i>Labidocera acuta</i> provenientes de la costa de China y un 91% con otro espécimen de <i>L. acuta</i> de la costa de India. |
| <i>Labidocera johnsoni</i> | CO1 | 82% de similitud con <i>Anomalocera patersoni</i> , no se encuentra registrado en la base de datos de GenBank. |
| <i>Pontellopsis armata</i> | CO1 | 82% de similitud con <i>Paracalanus denudatus</i> . |
| <i>Labidocera acutifrons</i> | CO1 | 83% de similitud con <i>Acartia californiensis</i> . |
| <i>Pontellina plumata</i> | CO1 | 93% de similitud de la costa de China y Japón; y 92% de similitud con otros 2 especímenes del Mar de los Sargazos. |
| <i>Pontellopsis occidentalis</i> | CO1 | Similitud de 83% con <i>Centropages typicus</i> del Atlántico norte. |

DISCUSIÓN

En esta tesis de maestría se identificaron 10 de las 23 especies de copépodos de la familia Pontellidae conocidas para el Pacífico Mexicano y Golfo de California (Palomares-García *et al.*, 1998; Hernández-Trujillo & Esqueda-Escárcega, 2002). Cuatro de las 10 especies no habían sido encontradas en el Golfo de California y representan un aumento de 14.28% en el registro de biodiversidad de la familia en aguas mexicanas. En este trabajo la riqueza específica de la familia se actualiza a 28 especies y de estas faltan 18 especies de ser obtenidas sus secuencias genéticas de CO1.

A pesar del significativo esfuerzo aplicado en la búsqueda de las 23 especies de copépodos pontelidos en distintos periodos, estaciones y ambientes durante diversos cruceros oceanográficos, no se logró obtener la cantidad de especies que se tenían como referentes al principio. Una posible explicación es que la mayor ocurrencia de especies de copépodos de la familia Pontellidae reportadas en la literatura se observó durante el fenómeno oceanográfico “*El Niño*” 1982-1983 (Hernández-Trujillo, 1998) que por su intensidad y duración ocasionó la “tropicalización” de la costa occidental de Baja California y del Golfo de California. Las especies de esta familia se distribuyen en la superficie del mar, por lo que son potencialmente influenciados a eventos oceanográficos como el ENSO (Vives, 1972; López-Ibarra & Palomares-García, 2006) y al mismo tiempo son excelentes indicadores del avance hacia el norte de masas aguas tropicales.

No obstante, la búsqueda e identificación de los copépodos pontelidos permitió encontrar especies desconocidas en la zona como es el caso de *P. brevis*, que se ha reportado únicamente para el Atlántico (Razouls *et al.*, 2005-2014), aunque probablemente también se encuentre distribuida en el Pacífico Tropical (Bradford-Grieve *et al.*, 1999) debido a que no se tiene la certeza en la identificación de la especie. Otro problema que surgió durante la revisión de la clasificación de las especies, fue el de las sinonimias, por ejemplo *P. brevis* se encontraron las

sinonimias *Monops brevis* Giesbrecht, 1889, *Monops edwardsii* Claus, 1893 y *Pontellopsis villosa* Brady, 1883 (Fleminger 1956), aunque en la actualidad la especie reconocida y validada es *P. brevis*.

Las demás especies que son nuevos registros para la zona (*C. elliptica*, *C. minor* y *L. acutifrons*) han sido reportadas en el Pacífico Oriental Tropical (Tanaka, 1964c; Bradford-Grive, 1999; Jeong *et al.*, 2009), por lo que encontrarlas en el área de Islas Marías, era previsible dadas la ubicación tropical de esa zona pero estas pueden encontrarse inclusive en la parte centryal del Golfo de California.

En cuanto a la identificación molecular el gen mtCO1 en eucariotas, ha sido una herramienta eficaz en la identificación de las especies de eucariotas, y en los invertebrados crustáceos es ampliamente utilizada como auxiliar del trabajo taxonómico por ejemplo en copépodos del Océano Atlántico (Buckiln *et al.*, 2010) en el Pacífico (Bradford-Grieve, 1999) e incluso el Golfo de California (Beltrán-Castro, 2011). Entre las aplicaciones que puede tener esta herramienta se encuentra el poder identificar los diferentes estadios de desarrollo de cada especie, pues presentan cambios morfológicos y merísticos altamente variables entre ellos (Lindeque *et al.*, 2013). También puede utilizarse, como ha sido demostrado, para identificar especies crípticas (Lee, 2000) o aquellas que morfológicamente son muy similares (Yigiterhan, 2011) o en aquellas en las que las características merísticas se solapan (Elías-Gutiérrez & Valdez-Moreno, 2008). Todas esas aplicaciones y otra más son de gran utilidad en los estudios de biodiversidad y conservación debido a que proporciona elementos confiables para la precisa identificación de las especies (es otro criterio que adiciona certidumbre a la identificación taxonómica) y permite actualizar los inventarios naturales.

De acuerdo a la literatura el nivel de variación del CO1 debe fluctuar alrededor del 2% para ser considerado efectivo en la separación de las especies de multiples metazoarios (Hebert *et al.*, 2003b). Sin embargo, en el caso de los copépodos se ha encontrado que este nivel de variación puede superar este valor sin que se trate de especies distintas (Tabla 5); por ejemplo Bucklin *et al.* 2003 encontraron niveles de variación del 4% para 31 especies de calanoideos y atribuyen ese valor a la amplia

distribución geográfica argumentando que es el principal promotor de la variabilidad intraespecífica por procesos vicariantes.

En este trabajo se encontró que la divergencia intraespecífica fue máxima para *Labidocera acuta* con 7.7%, y mínima para *C. elliptica* (Tabla 3). *L. acuta* es una especie de amplia distribución en las zonas tropicales, subtropicales y templadas de todos los océanos del mundo, que solo se encuentra ausente en las regiones polares (Razouls *et al.*, 2005-2014). Una consecuencia de lo anterior es la gran capacidad de adaptación que muestra la especie para ocupar nichos y hábitats en diferentes ecosistemas pelágicos; el nivel de variación del CO1 que se obtuvo para la especie en el Golfo de California podemos considerarlo como una característica de una especie que posee una gran plasticidad y contiene un genoma para adaptarse al cambiante ambiente pelágico. Es altamente probable que los haplotipos que están representados en el árbol de similitud (Figura 25) sea reflejo de ciertas condiciones ambientales en el área de estudio o existan dos o más especies circumpolares (Tabla I). Esta hipótesis solo podrá ser probada en la medida que se tenga un mayor número de secuencias de la especie en las áreas en las que se encuentra distribuida. En los casos de *L. rotunda*, *L. euchaeta*, *P. plumata* y *L. acutifrons*, que también tuvieron más del 2% de variación, sus distribuciones geográficas son circumpolares y el número de haplotipos de cada especie es similar al de *L. acuta*, por lo que el mismo tipo de consideraciones ecológicas hechas previamente pueden ser aplicadas a estos pterópodos.

Otra consideración que debe de tomarse en cuenta en el caso de *L. rotunda* y *L. euchaeta* es que las secuencias obtenidas provienen del GenBank y no se tiene la certeza de que la identificación morfológica de esas especies haya sido correcta (GenBank no tiene un sistema de verificación para todas las secuencias incluidas como lo tiene el Sistema BOLD system) debido a que no se tiene un respaldo físico para verificarla, por lo que el nivel de variación de 7 y 4%, respectivamente, pudiera corresponder a una especie diferente a la reportada en esa base de datos. En el Golfo de California *L. rotunda* no ha sido encontrada por lo que la única alternativa es obtener ejemplares de las regiones de Asia donde se distribuye. *L. euchaeta* si ha

sido reportada para la zona pero no fue encontrada en el lapso de este estudio por lo que una vez que esto suceda y se obtenga la secuencia correspondiente se podrá estar en posibilidades de asociarla a esta especie.

En contraste a lo anterior, las especies *P. occidentalis* y *L. johnsoni* tuvieron variaciones menores al 2% y al parecer el hecho de que sus distribuciones espaciales sean más restringidas comparadas con las que tuvieron más del 2% de variación, pudiera ser una primera aproximación para explicar que no excedieran ese valor de variación. Por ejemplo, *P. occidentalis* y *L. johnsonii* solo se ha encontrado a lo largo de la costa de California y la península de Baja California, incluido el Golfo de California. En este sentido *C. elliptica* es un caso especial debido a que es una especie de amplia distribución que no se había encontrado en el Golfo de California y cuya variación del gen CO1 no superó el 2%, a pesar del reducido número de secuencias que se obtuvieron de esta especie que puede considerarse de rara aparición y baja abundancia.

Para el caso de la divergencia dentro de los géneros identificados, se encontró que fue alta (>13%) y en dos de ellos se obtuvo una divergencia baja (<3%); la explicación para este bajo valor es debido a que los géneros *Pontellina* y *Candacia* estuvieron representados por una sola especie, por lo que la divergencia obtenida puede ser atribuida más a nivel de especie que de género. Como ya se mencionó anteriormente, la certidumbre sobre el verdadero nivel de variabilidad a nivel de género es incluir el mayor número posible de especímenes de las especies y de distintas y distantes localidades de su patron de distribución conocido.

Puede observarse que la divergencia intraespecífica e interespecífica está directamente relacionada con la jerarquía taxonómica, es decir un aumento de divergencia se corresponde a una jerarquía mayor y en este caso la diferencia promedio del nivel de especie a género es de 8% y de género a familia de 11%, lo que implica que para clasificar erróneamente a una especie el nivel de variación tendría que aumentar en un 300%.

Debido a que desde hace por lo menos 25 años, se inició la secuenciación de los metazoarios era previsible suponer que podrían existir secuencias genéticas del CO1, o de otro gen, para prácticamente todos o la mayoría de los metazoarios (Elías-Gutiérrez & Valdez-Moreno, 2008b). Tomando esto en consideración el éxito del CO1 para distinguir especie sde metazoarios y con el propósito de obtener una mayor cantidad de información, se llevó a cabo una búsqueda de secuencias por medio del “*Blast*” (ver material y métodos). En términos generales y como ya se reseñó en la sección de resultados fue muy poca la información recabada y la que se pudo recuperar tiene algunos problemas, como carecer de ejemplares de respaldo para un minucioso análisis morfológico y merístico de comprobación de la identificación específica. A pesar de todo lo anterior, la comparación de las secuencias atribuidas a *L. acuta* y *P. plumata* en el GenBank, con las que se obtuvieron en este trabajo, dio como resultado un nivel de similitud del 92% para *L. acuta* y 91% para *P. plumata*. Esto demuestra que el CO1 separa eficientemente las especies de pontelidos, independientemente del área geográfica en la que se encontraron. Por otro lado refuerza el argumento de que las especies de distribución circumglobal despliegan sus capacidades de adaptación de acuerdo a las características de los ecosistemas pelágicos en los que se habitan con una historia de vida posiblemente influenciada por procesos vicariantes en proceso.

El valor del mtCO1 como instrumento auxiliar para el reconocimiento de las especies depende del patrón de variación de la divergencia relativa dentro y entre las especies. Es importante destacar que los copépodos pelágicos del Golfo de California exhiben bajos niveles de variación intraespecífica, típicamente con un promedio del 2% (Beltrán-Castro, 2011).

Sin embargo, en la literatura puede encontrarse que los niveles de variación intraespecífica del gen CO1 sobrepasan el valor originalmente establecido para diferenciar a las especies, considerado en 2% como máximo (Hebert *et al.*, 2003b); asimismo es posible encontrar estudios en los que se ha demostrado que la variación intraespecífica, para el caso de los copépodos es de hasta el 17% como fue obtenido para *Eurytemora affinis* (Lee, 2000).

En este trabajo se encontró que el gen CO1 en la familia pontellidae, específicamente para *L. acuta*, tuvo variaciones máximas de hasta 7.7% aunque para las 10 especies consideradas, el valor promedio fue de 3.8%, lo que coincide con lo obtenido para otras especies de Calanoideos distribuidas en prácticamente todos los océanos del mundo (Tabla 5).

Tabla 5. Porcentaje de divergencia intraespecífica del CO1 en Calanoideos.

| Autor (es) | % de divergencia del CO1 | Localidad | Especies |
|--------------------------------|--------------------------|---|---|
| Lee, 2000 | 17 | Costa Este y Oeste de EU y Mar de Norte | <i>Eurytemora affinis</i> |
| Hill <i>et al.</i> , 2001 | 3 | Océano Atlántico, Pacífico, Ártico | <i>Paracalanus pacificus</i> |
| Bucklin <i>et al.</i> , 2003 | 4 | Océano Atlántico, Pacífico, Ártico y Mar Mediterráneo | 31 especies identificadas |
| Bucklin <i>et al.</i> , 2010 | 12 | Mar Ártico | <i>Nannocalanus minor</i> |
| Machida y Tsuda 2010 | 4 | Noroeste del Pacífico | <i>Nannocalanus plumchrus</i> |
| Makino <i>et al.</i> , 2010 | 6 | Noroeste de Japón y Norte de Nueva Zelanda | <i>Sinodiaptomus valkanovi</i> |
| Makino <i>et al.</i> , 2010 | 2.4 – 4.1 | Sureste de Japón | <i>Sinodiaptomus sarsi</i> |
| Lim <i>et al.</i> 2011 | 0.02 | Mar de Corea | <i>Aetideus acutus</i> , <i>Bradyidius angustus</i> y <i>Gaetanus minutus</i> |
| Staurland <i>et al.</i> , 2011 | 2.73 | Atlántico nororiental | <i>Pseudocalanus moultoni</i> |
| Jungbluth & Lenz, 2013 | 2.40 | Hawái | <i>Oithona simplex</i> |
| Jungbluth & Lenz, 2013 | 3 | Hawái | <i>Undinula vulgaris</i> |
| Jungbluth & Lenz, 2013 | 9 | Hawái | <i>Paracalanus crassirostris</i> |
| Laakmann <i>et al.</i> , 2013 | 0 - 5.9 | Mar del Norte | Calanoideos |
| Lindeque <i>et al.</i> , 2013 | 4 | Thau lagoon, Francia | <i>Acartia clausi</i> |
| Soh <i>et al.</i> , 2013 | 0 - 3 | Estuarios de Corea | <i>Acartia</i> |
| Cornils & Held, 2014 | 0.2 - 3.4 | Mar de China, Océano Pacífico y Océano Atlántico | <i>Paracalanus</i> |
| Este trabajo | 3.8 | Golfo de California, Islas Marías México | Pontelidos (Ver anexo 1) |

La comparación del nivel de variación obtenido en este trabajo solo pudo hacerse con la de otras familias para las que han sido determinadas las secuencias de algunas de sus especies, ya que ésta es la segunda determinación del CO1 efectuada para la familia Pontellidae en el Golfo de California (Beltrán 2011), ya que

como se mencionó anteriormente, además de ser escasa la información de secuencias de la familia, de las especies que se encontraron en la base de datos de BoldSystem ninguna de ellas se encontró en el lapso de este trabajo y las secuencias que pudieron obtenerse pertenecen a ejemplares provenientes de China y Japón ([http://www.boldsystems.org/index.php/Public_SearchTerms?query=Pontellidae\[tax\]](http://www.boldsystems.org/index.php/Public_SearchTerms?query=Pontellidae[tax])); especies como (*Pontella fera*, *Labidocera sp.*, *Labidocera rotunda*, *Pontella rostraticauda*, *Calanopia thompsoni*, *Labidocera euchaeta*, *Pontellopsis regalis* (Mar de Japón), *Pontellopsis tenuicauda* se han reportado para el Golfo de California y la costa del Pacífico Mexicano. Sin embargo, hasta que más ejemplares de la región noroeste puedan ser secuenciados podrán llevarse a cabo la comparación de la variación del CO1 y poder así establecer si corresponden a la misma especie.

Tomando en cuenta lo anteriormente mencionado, pero especialmente el hecho de que para el grupo de los copépodos la variación intraespecífica del CO1 es usualmente $> 2\%$ (Tabla V), sin que implique diferentes especies, se puede establecer que el resultado obtenido en este trabajo respecto a la variabilidad del gen es consistente con el de otras especies de copépodos Calanoides y que en el caso de los Pontelidos una divergencia promedio de 3.8% es un límite práctico y útil para distinguir especies con la finalidad de realizar trabajo taxonómico con las especies de la familia Pontellidae, aunque se puede mencionar que el intervalo de variación que puede proponerse con los datos con los que actualmente se encuentra es de 0 a 7.7%.

CONCLUSIONES

- 1) Mediante criterios de caracteres morfológicos, se identificaron 10 especies de copépodos de la familia Pontellidae de las 23 reportadas para la zona.
- 2) *Calanopia elliptica*, *Calanopia minor*, *Pontellopsis brevis* y *Labidocera acutifrons* son especies que son reportadas por primera vez en el Golfo de California. Con estas 4 especies la diversidad de especies de la familia Pontellidae aumentó 14% el registro de biodiversidad de la familia en aguas mexicanas, actualizándose a un total 28 especies de copépodos pontelidos para el Pacífico mexicano.
- 3) El criterio del 2% de divergencia intraespecífica para metazoarios aparentemente no se aplica estrictamente para los copépodos pelágicos de la familia Pontellidae debido a que se ha encontrado que es incluso mayor al 10% justificado bajo el criterio de que las especies tienen amplios patrones de distribución.
- 4) El 50% de las especies de la familia Pontellidae en el Golfo de California, tuvieron una variación del gen CO1 > 2%.
- 5) *Labidocera acuta* tuvo la mayor divergencia intraespecífica, lo que probablemente permite la amplia distribución espacial que tiene y en consecuencia la capacidad de adaptación a diferentes ambientes.
- 6) El nivel de variación promedio del gen CO1 para las 10 especies analizadas de la familia Pontellidae en el Golfo de California es de 3.8%, aunque este valor puede considerarse taxonómicamente útil en el intervalo de 0 - 7.7%.

RECOMENDACIONES

- Continuar con la búsqueda de especies de copépodos de la familia Pontellidae para detectar el resto de las 13 especies conocidas en México y continuar formando la base de datos de secuencias del CO1.
- Extender el área de estudio para poder obtener un mayor número de especímenes para ajustar el nivel de variabilidad del gen CO1 en las especies de la familia.
- Utilizar otros marcadores moleculares, enfocados a estudios poblacionales, debido a que no existen trabajos que aborden análisis sobre genética poblacional de las especies de la familia en el Pacífico Mexicano.
- Poner en línea un catálogo de imágenes de los copépodos pontelidos del Golfo de California.
- *Labidocera johnsoni* y *Labidocera trispinosa*, son un caso que merece especial atención para el análisis taxonómico debido a la similitud morfológica que presentan. Además de obtener las secuencias, la descripción morfológica de cada estadio de vida desde el nauplio al copepodito VI debe ser efectuada.

BIBLIOGRAFÍA

- Aceves-Medina G., G. M. Esqueda-Escárcega, R. Pacheco-Chávez, A. Zárate-Villafranco, J. R. Hernández-Alonso & S. Hernández-Trujillo. 2007. Cambios diarios en la composición y abundancia de copépodos planctónicos al sur de Bahía de La Paz (Octubre 2002). *Hidrobiológica* 17 2:185-188.
- Alvariño A. 1980. The relation between the distribution of zooplankton predators and anchovy larvae. *CalCOFI Rep.* 21:150-160
- Ausubel, F. M., R. Brent, R. E. Kingston, D. D. Moore, J. G. Seidman, J. A. Smith & K. Struhl. 2002. *Short protocols in molecular biology: A compendium of methods from current protocols in molecular biology*. Jonh-Wiley and Sons. EUA.
- Beltrán-Castro, J. R. 2011. Identificación molecular de copépodos pelágicos del Golfo de California empleando ADNmt citocromo c oxidasa subunidad 1 (CO1). *Tesis Licenciatura*. UABCS. 99 p.
- Blanco-Bercial L., J. Bradford-Grieve & A. Bucklin. 2011a. Molecular phylogeny of the Calanoida (Crustacea: Copepoda). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 59: 103–113.
- Blanco-Bercial L., F. Álvarez-Marqués & A. Bucklin. 2011b. Comparative phylogeography and connectivity of sibling species of the marine copepod *Clausocalanus* (Calanoida). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*. 404: 108–115.
- Bradford-Grieve J.M. 1999a. Pelagic Calanoid copepoda. *NIWA Biodiversity Memoir* 111. 1-268.
- Bradford-Grieve J.M., E. L. Markhaseva, C. E. F. Rocha & B. Abiahy. 1999. Copepoda. South Atlantic Zooplankton. Backhuys Publishers. 869-1098.
- Bucklin A., A.M. Bentley & S.P. Franzen. 1998. Distribution and relative abundance of the copepods, *Pseudocalanus moultoni* and *P. newmani*, on Georges Bank based on molecular identification of sibling species. *Marine Biology*.132: 97-106.
- Bucklin A., B.W. Frost, J. Bradford-Grieve, L.D. Allen & N.J. Copley. 2003. Molecular systematic and phylogenetic assessment of 34 calanoid copepod species of the Calanidae and Clausocalanidae. *Marine Biology*. 142: 333–343
- Bucklin A., B. D. Ortman, R. M. Jennings, L. M. Nigro, C. J. Sweetman, N. J. Copley, T. Sutton & P. H. Wiebe. 2010b. A “Rosetta Stone” for metazoan zooplankton: DNA barcode analysis of species diversity of the Sargasso Sea (Northwest Atlantic Ocean). *Deep-Sea Research II*. 57: 2234-2247.
- Camacho A.I., I. Rey & B.A. Dorda. 2011. Identifying cryptic speciation across groundwater populations: first CO1 sequences of Bathynellidae (Crustacea, Syncarida). *Graellsia* [en línea]

- Chen Q.C. & C. J. Shen 1974. The pelagic copepods of the South China Sea. II. *Studia Marina Sinica*. 9:125-137.
- Chen Q.C. y S. Z. Zhang 1965. The planktonic copepods of the Yellow Sea and the East China Sea. I Calanoida. *Studia Marina Sinica*. 7:20-131, 53 pls.
- Chen Q.C. & S. Z. Zhang. 1974a. The pelagic copepods of the South China Sea I. *Studia Marina Sinica*. 9:105-116, 8 pls.
- Conway D. V. P., R. G. White, J. Hugues-Dit-Ciles, C. P. Gallienne & Robins D. B. 2003. Guide to the coastal and surface zooplankton of the south-western Indian Ocean. DEFRA Darwin Initiative Zooplankton Programme. *Occasional Publication*. 15. 356pp.
- Cornils A. & C. Held. 2014. Evidence of cryptic and pseudocryptic speciation in the *Paracalanus parvus* species complex (Crustacea, Copepoda, Calanoida). *Zoology*. 11:19
- Davis C.C. 1949. The pelagic Copepoda of the north-easter Pacific Ocean. *University of Washington Publications in: Biology*. 14:1-18.
- Elías-Gutiérrez M. & M. Valdez-Moreno. 2008b. Código de barras, una alternativa para estudiar la biodiversidad. *Ciencia y Desarrollo* 34 218: 60-67
- Fleminger A. 1964a. *Labidocera johnsoni* species nov. Pilot Register of Zoology card. no.3^a.
- Fleminger A. & E. Tan. 1966. The *Labidocera mirabilis* species group (COPEPODA, CALANOIDA) with description of a new Bahamian species. *Crustaceana*. 11:291- 300.
- Fleminger A. 1967. Taxonomy, distribution, and polymorphism in the *Labidocera jollae* Group with remarks on evolution. *Proceeding of the United States National Museum*. 1-51.
- Fleminger A. & K. Hülsemann 1974. Systematics and distribution of four sibling species comprising the genus *Pontellina* Dana (Copepoda, Calanoida). *Fishery Bulletin*. 72: 63-120.
- Fleminger A. & Moore E. 1977. Two new species of *Labidocera* (COPEPODA, CALANOIDA) from the western tropical north Atlantic region. *Bulletin of Marine Science*. 27 (3): 520-529.
- Giesbrecht W. 1892. Systematik und faunistik der pelagischen copepoden des Golfes Von Neapel. Fauna und flora des Golfes von Neapel und der angrenzenden Meeresabschnitte 19:1-831, 54 pls.
- Hajibabaei M., J. R. de Waard, N. V. Ivanova, S. Ratnasingham, R. T. Dooh, S. L. Kirk, P. M. Mackie & P. D. N. Hebert. 2005. Critical factors for assembling a high volume of DNA barcodes. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B. Biological Sciences*. 360:1959-1967.
- Hebert P. A., S.L. B. Cywinska & J. R. de Waard. 2003a. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*. 270:313-322

- Hebert P. D. N., S. Ratnasingham & J. R deWaard. 2003b. Barcoding animal life: cytochrome c oxidase subunit 1 divergences among closely related species. *Proceedings of the Royal Society of London, Series B*. 270: S96–S99.
- Heinrich A. K. 1960. On the surface plankton of the Central Pacific. *Akademiya Nauk S.S.S.R. Trudy Ins. Okeanol.* 41: 24-47
- Hernández-Trujillo S. 1991. Copépodos pontélidos en bahía Magdalena, Baja California sur. (Junio, Julio de 1988). *Inv. Mar. CICIMAR*. 6 (1): 155-163.
- Hernández-Trujillo, S. 1994. Pontellidae Copepods in the Pacific Off Baja California, México. July 1988. *Investigaciones Marinas. CICIMAR*, 1:55-58
- Hernández-Trujillo, S. 1998. La comunidad de copépodos pelágicos en la costa del Pacífico de la península de Baja California (1984-1989). Tesis de doctorado, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional Autónoma de México, México, D.F. 127
- Hernández-Trujillo S. & G. A. Esqueda-Escárcega. 2002. La diversidad de copépodos marinos en México. *Oceánides*. 17 1:57-68
- Hill R. S., L. D. Allen & A. Bucklin. 2001. Multiplexed species-specific PCR protocol to discriminate four N. Atlantic *Calanus* species, with an mtCO1 gene tree for ten *Calanus* species. *Marine Biology*. 139: 279-287.
- Huys R. & G. A. Boxshall. 1991. Copepod evolution. The Ray Society. London, 469p.
- Jeong H. G., H. Suh, S. B. Jeong, Y. H. Yoon & H. Y. Soh. 2009. Labidocera Species (Copepoda: Pontellidae) in Waters of the Tsushima Warm Current with Notes on Their Genital Structure and Zoogeography. *Zoological Studies* 48(4): 508-523
- Jungbluth M. & P. Lenz. 2013. Copepod diversity in a subtropical bay based on a fragment of the mitochondrial COI gene. *Journal Plankton Research*. 0(0): 1–14
- Lavaniegos-Espejo B. & E. González-Navarro. 1999. Cambios en la comunidad de copépodos durante el ENSO 1992-93 en el Canal de San Lorenzo, Golfo de California. *Ciencias Marinas*. 25 (2): 239-265.
- Lee C.E. & B.W. Frost. 2002. Morphological stasis in the *Eurytemora affinis* species complex (Copepoda: Temoridae) *Hydrobiologia*. 480: 111-128
- Lillelund K. & R. Lasker. 1971. Laboratory studies of predation by marine copepods on fish larvae. *Fisheries Bulletin U. S.*, 69:655-667
- Lindeque P. K., S. Boyer & D. Bonnet. 2013. A molecular method for the identification of resting eggs of acartiid copepods in the Thau lagoon, France. *Marine Biology*. 160:737–742
- López-Ibarra G. A. & R. Palomares-García. 2006. Estructura de la comunidad de copépodos en Bahía Magdalena, México, durante El Niño 1997-1998. *Revista de Biología Marina y Oceanografía* 41 1: 63-76.

- Maluyadi M. A. 2002. The calanoid copepods family Pontelidae from Indonesian waters, with notes on its species-groups. *Reserch centre for Biology the Indonesian Institute of Sciences*. Bogor, Indonesia. 32(2): 1-167pp.
- Machida R. J. & A. Tsuda. 2010. Dissimilarity of Species and Forms of Planktonic Neocalanus Copepods Using Mitochondrial COI, 12S, Nuclear ITS, and 28S Gene Sequences. *PLoS ONE* 5(4): e10278
- Makino W., M. A. Knox & I. C. Duggan. 2010. Invasion, genetic variation and species identity of the calanoid copepod *Sinodiaptomus valkanovi*. *Freshwater Biology* 55, 375–386
- Montero-Pau J., A. Gómez & J. Muñoz. 2008. Application of an inexpensive and high-throughput genomic DNA extraction method for the molecular ecology of zooplanktonic diapausing eggs. *Limnology Oceanography*: Methods. (6) 218–222
- Mori T. 1937. The pelagic Copepoda from the neighbouring waters of Japan. Published by the autor. *Yokendo Company*. Tokio. 150pp, 80 pls.
- Palomares-García, R. 1989. Análisis de la variación espacio-temporal de los copépodos planctónicos en Bahía Magdalena, Baja California Sur (1983-1984). *Tesis de maestría*, IPN-CICIMAR, La Paz, Baja California Sur, 55
- Palomares R., E. Suárez-Morales & S. Hernández-Trujillo. 1998. *Catálogo de los copépodos (Crustacea) pelágicos del Pacífico Mexicano*. Editorial y Litografía Regia de los Ángeles S. A. México D.F. 352 pp.
- Palamoraes R., J. Gomez-Gutierrez & C. J. Robinson. 2013. Winter and summer vertical distribution of epipelagic copepods in the Gulf of California. *Journal Plankton Reserch*. 35(5): 1009–1026
- Ratnasingham S. & P. D. N. Hebert. 2007. BARCODING BOLD: The Barcode of Life Data System (www.barcodinglife.org). *Molecular Ecology Notes*. 10
- Razouls C., de Bovée F., Kouwenberg J. & Desreumaux N., 2005-2014. Diversity and Geographic Distribution of Marine Planktonic Copepods. Available at <http://copepodes.obs-banyuls.fr/en> [Accessed January 29, 2014]
- Scott A. 1909. Free-swimming, litoral and semi-parasitic Copepoda. Brill Academic Publishers. 324p. 69pl.
- Sherman K. 1963. Pontellid copepods distribution in relation to surface water types in the Central North Pacific. *Limnology Oceanography*. 8(2): 214-227
- Sherma K. 1964. Pontellid copepods occurrence in the Central South Pacific. *Limnology Oceanography*. 9(4): 476-484
- Silas E. G. & P. P. Pillai. 1973. The Calanoid copepod family pontalidae from the Indian Ocean. *Journal Marine Biology Ass. India*. 15 (2): 771-858.
- Suárez-Morales E. & E. Kozak. 2012. Redescription of the poorly known planktonic copepod *Pontellopsis lubbockii* (Giesbrecht, 1889) (Pontellidae) from the Eastern Tropical Pacific with a key to species. *ZooKeys* 234: 1–18.

- Staurland O. N., A. Bucklin, C. Halsband & F. Norrbin. 2011. Discovery of *Pseudocalanus moultoni* (Frost, 1989) in Northeast Atlantic waters based on mitochondrial COI sequence variation. *Journal of Plankton Research*. (33)10:1487–1495
- Soh H. Y., S. Y. Moon, E. O. Park, & B. A. V. Maran. 2013. A new species of acartia subgenus *Euacartia* (COPEPODA: CALANOIDA: ACARTIIDAE) from Korean estuaries based on morphological and molecular evidence. *Journal of Crustacean Biology*, 33(5), 718-729
- Tamura K, D. Peterson, N. Peterson, G. Stecher, M. Nei, & S. Kumar. 2011. MEGA5: Molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Molecular Biology and Evolution*.
- Tanaka O. 1964c. The pelagic copepods of the Izu región, middle Japan systematic account XII families Arietellidae, Pseudocyclopodidae, Candaciidae y Pontellidae. Publications of the Seto Marine Biological Laboratory. (3): 231-271.
- Toffoli D., T. Hrbek, M. L. Góes de Araújo, M. Pinto de Almeida, P. Charvet-Almeida & I. Pires Farias. 2008. A test of the utility of DNA barcoding in the radiation of the freshwater stingray genus *Potamotrygon* (Potamotrygonidae, Myliobatiformes). *Genetics and Molecular Biology*, 31, 1 (suppl), 324-336
- Vives F. 1972. Los copépodos del SW de Portugal en Junio y Julio de 1967. *Investigacion Pesquera*. 36 (2): 201-240.
- Voronina N. M. 1962. On the surface plankton of the Indian Ocean. *Trudy Instituta Okeanologii*. 58: 67-79
- Voronina N. M. 1964. The Distribution of surface plankton in the Pacific Equatorial Current area. *Trudy Instituta Okeanologii*. 65: 95-106
- Yigiterhan E. U. 2011. Population Genetic Structure and Gene Expression Patterns of the Copepod *Calanus finmarchicus* in the North Atlantic Ocean. *Tesis doctoral. University of Connecticut*. 175p
- Wheeler W. C. 2012. *Systematics a course of lectures*. Wiley-Blackwell. 426 pp.

ANEXOS

Anexo 1. - Ubicación de la estaciones de muestreo.

| Estación | Fecha | Hora | Latitud (grados) | Longitud (grados) |
|----------|------------|-------|------------------|-------------------|
| IMAG4 | 14/11/2010 | 14:15 | 21.42112 | -106.415 |
| IMAG6 | 15/11/2010 | 11:00 | 21.45091 | -106.48489 |
| ICL10 | 16/11/2010 | 10:55 | 21.27365 | -106.23342 |
| ICL12A | 17/11/2010 | 13:50 | 21.33554 | -106.24242 |
| ICL12B | 18/11/2010 | 08:00 | 21.33554 | -106.24242 |
| IMM16 | 19/11/2010 | 10:40 | 21.66298 | -106.53734 |
| IMJ17 | 19/11/2010 | 19:45 | 21.77313 | -106.67 |
| IMJ19 | 20/11/2010 | 14:35 | 21.73861 | -106.70174 |
| IMJ20A | 21/11/2010 | 10:50 | 21.70873 | -106.67531 |
| IMJ20B | 22/11/2010 | 22:20 | 21.70873 | -106.67531 |
| IMJ23 | 23/11/2010 | 11:20 | 21.75432 | -106.6601 |
| E2 | 15/08/2012 | 04:51 | 25.611 | -109.5450167 |
| E8 | 14/06/2013 | 00:54 | 26.92498333 | -110.3578833 |
| E14 | 15/06/2013 | 00:53 | 28.05211667 | -111.4455833 |
| E16 | 15/06/2013 | 06:22 | 28.1772 | -111.51645 |
| E22 | 16/06/2013 | 00:19 | 28.30071667 | -112.1603167 |
| E28 | 20/08/2012 | 02:54 | 28.86958333 | -112.7169 |
| E35 | 18/06/2013 | 03:30 | 28.92795 | -113.2282 |
| E41 | 19/06/2013 | 00:15 | 29.52483333 | -112.6564167 |
| E48 | 20/06/2013 | 00:13 | 29.31801667 | -113.078 |
| E55 | 21/06/2013 | 00:20 | 28.49935 | -112.6016833 |
| E63 | 22/06/2013 | 00:50 | 27.7615 | -112.6517167 |
| E69 | 23/06/2013 | 00:44 | 27.4383 | -112.2084 |
| E77 | 31/08/2012 | 02:54 | 26.84913333 | -111.6793833 |
| E86 | 26/06/2013 | 00:29 | 27.04748333 | -111.06045 |
| E93 | 27/06/2013 | 02:04 | 26.15586667 | -111.0478333 |
| E2 | 13/06/2013 | 00:17 | 26.28013333 | -109.6717167 |
| E6 | 16/08/2012 | 00:31 | 26.79363333 | -110.1758333 |
| E9 | 16/08/2012 | 11:16 | 27.60218333 | -110.7833833 |
| E12 | 17/08/2012 | 01:23 | 27.83526667 | -111.1799167 |
| E14 | 17/08/2012 | 09:16 | 28.15283333 | -111.7403167 |
| E18 | 18/08/2012 | 02:07 | 28.27188333 | -112.0726 |
| E20 | 17/08/2012 | 10:11 | 28.42665 | -112.4526333 |
| E22 | 18/08/2012 | 19:22 | 29.13323333 | -112.7138 |
| E24 | 19/08/2012 | 03:17 | 29.4804 | -112.8825333 |
| E26 | 19/08/2012 | 18:04 | 29.28548333 | -113.5840833 |
| E28 | 20/08/2012 | 02:00 | 28.95348333 | -113.2751667 |
| E30 | 20/08/2012 | 09:57 | 28.45285 | -112.8087167 |
| E31 | 20/08/2012 | 13:40 | 27.97868333 | -112.6277667 |

| | | | | |
|--------|------------|-------|-------------|--------------|
| E39 | 21/08/2012 | 14:08 | 27.27611667 | -112.0270667 |
| E40 | 22/08/2012 | 01:06 | 27.88061667 | -112.64855 |
| E42 | 22/08/2012 | 13:50 | 27.03151667 | -111.8497 |
| E45 | 23/08/2012 | 01:10 | 26.70591667 | -111.5170833 |
| E51 | 25/08/2012 | 03:10 | 23.61148333 | -110.80275 |
| E57 | 26/08/2012 | 03:17 | 24.81843333 | -112.49335 |
| E61 | 27/08/2012 | 02:00 | 24.41336667 | -112.0942667 |
| E66 | 29/08/2012 | 03:25 | 25.2338 | -110.53555 |
| E71 | 30/08/2012 | 02:18 | 27.76133333 | -112.5037667 |
| E77 | 31/08/2012 | 02:21 | 26.9705 | -111.1512167 |
| P2 | 22/10/2009 | 20:00 | 24.54750556 | -110.3293306 |
| P1 | 22/10/2009 | 20:50 | 24.54345 | -110.34576 |
| Balap1 | 16/09/2009 | 11:00 | 24.6831 | -110.4814111 |
| balap2 | 16/09/2009 | 13:00 | 24.62920556 | -110.5996028 |
| Balap3 | 16/09/2009 | 15:00 | 24.49838056 | -110.6000556 |
| Balap4 | 16/09/2009 | 17:00 | 24.55328889 | -110.462475 |
| Balap5 | 17/09/2009 | 11:00 | 24.40892222 | -110.423575 |
| Balap6 | 17/09/2009 | 13:00 | 24.36868611 | -110.5457556 |
| Balap7 | 17/09/2009 | 15:00 | 24.26020556 | -110.48765 |
| Balap8 | 17/09/2009 | 17:00 | 24.28392222 | -110.3989306 |
| Balap9 | 17/09/2009 | 19:00 | 24.14481944 | -110.3596139 |

Anexo 2. Tabla de distancia genética entre las comparaciones realizadas, por especie.

| Especie 1 | Distancia | Especie 2 |
|----------------------------------|------------------|----------------------------------|
| <i>Candacia simplex</i> | 0,409 | <i>Labidocera acutifrons</i> |
| <i>Calanopia elliptica</i> | 0,272 | <i>Labidocera acutifrons</i> |
| <i>Calanopia elliptica</i> | 0,407 | <i>Candacia simplex</i> |
| <i>Labidocera acuta</i> | 0,257 | <i>Labidocera acutifrons</i> |
| <i>Labidocera acuta</i> | 0,303 | <i>Candacia simplex</i> |
| <i>Labidocera acuta</i> | 0,264 | <i>Calanopia elliptica</i> |
| <i>Labidocera johnsoni</i> | 0,204 | <i>Labidocera acutifrons</i> |
| <i>Labidocera johnsoni</i> | 0,428 | <i>Candacia simplex</i> |
| <i>Labidocera johnsoni</i> | 0,317 | <i>Calanopia elliptica</i> |
| <i>Labidocera johnsoni</i> | 0,252 | <i>Labidocera acuta</i> |
| <i>Pontellina plumata</i> | 0,243 | <i>Labidocera acutifrons</i> |
| <i>Pontellina plumata</i> | 0,402 | <i>Candacia simplex</i> |
| <i>Pontellina plumata</i> | 0,267 | <i>Calanopia elliptica</i> |
| <i>Pontellina plumata</i> | 0,199 | <i>Labidocera acuta</i> |
| <i>Pontellina plumata</i> | 0,189 | <i>Labidocera johnsoni</i> |
| <i>Pontellopsis armata</i> | 0,239 | <i>Labidocera acutifrons</i> |
| <i>Pontellopsis armata</i> | 0,421 | <i>Candacia simplex</i> |
| <i>Pontellopsis armata</i> | 0,242 | <i>Calanopia elliptica</i> |
| <i>Pontellopsis armata</i> | 0,241 | <i>Labidocera acuta</i> |
| <i>Pontellopsis armata</i> | 0,225 | <i>Labidocera johnsoni</i> |
| <i>Pontellopsis armata</i> | 0,236 | <i>Pontellina plumata</i> |
| <i>Pontellopsis occidentalis</i> | 0,304 | <i>Labidocera acutifrons</i> |
| <i>Pontellopsis occidentalis</i> | 0,386 | <i>Candacia simplex</i> |
| <i>Pontellopsis occidentalis</i> | 0,338 | <i>Calanopia elliptica</i> |
| <i>Pontellopsis occidentalis</i> | 0,249 | <i>Labidocera acuta</i> |
| <i>Pontellopsis occidentalis</i> | 0,258 | <i>Labidocera johnsoni</i> |
| <i>Pontellopsis occidentalis</i> | 0,190 | <i>Pontellina plumata</i> |
| <i>Pontellopsis occidentalis</i> | 0,258 | <i>Pontellopsis armata</i> |
| <i>Labidocera sp.</i> | 0,206 | <i>Labidocera acutifrons</i> |
| <i>Labidocera sp.</i> | 0,370 | <i>Candacia simplex</i> |
| <i>Labidocera sp.</i> | 0,239 | <i>Calanopia elliptica</i> |
| <i>Labidocera sp.</i> | 0,238 | <i>Labidocera acuta</i> |
| <i>Labidocera sp.</i> | 0,229 | <i>Labidocera johnsoni</i> |
| <i>Labidocera sp.</i> | 0,308 | <i>Pontellina plumata</i> |
| <i>Labidocera sp.</i> | 0,222 | <i>Pontellopsis armata</i> |
| <i>Labidocera sp.</i> | 0,360 | <i>Pontellopsis occidentalis</i> |
| <i>Labidocera euchaeta</i> | 0,338 | <i>Labidocera acutifrons</i> |
| <i>Labidocera euchaeta</i> | 0,366 | <i>Candacia simplex</i> |
| <i>Labidocera euchaeta</i> | 0,348 | <i>Calanopia elliptica</i> |

| | | |
|--------------------------------|-------|----------------------------------|
| <i>Labidocera euchaeta</i> | 0,281 | <i>Labidocera acuta</i> |
| <i>Labidocera euchaeta</i> | 0,328 | <i>Labidocera johnsoni</i> |
| <i>Labidocera euchaeta</i> | 0,344 | <i>Pontellina plumata</i> |
| <i>Labidocera euchaeta</i> | 0,294 | <i>Pontellopsis armata</i> |
| <i>Labidocera euchaeta</i> | 0,298 | <i>Pontellopsis occidentalis</i> |
| <i>Labidocera euchaeta</i> | 0,320 | <i>Labidocera sp.</i> |
| <i>Labidocera rotunda</i> | 0,188 | <i>Labidocera acutifrons</i> |
| <i>Labidocera rotunda</i> | 0,378 | <i>Candacia simplex</i> |
| <i>Labidocera rotunda</i> | 0,257 | <i>Calanopia elliptica</i> |
| <i>Labidocera rotunda</i> | 0,211 | <i>Labidocera acuta</i> |
| <i>Labidocera rotunda</i> | 0,207 | <i>Labidocera johnsoni</i> |
| <i>Labidocera rotunda</i> | 0,199 | <i>Pontellina plumata</i> |
| <i>Labidocera rotunda</i> | 0,213 | <i>Pontellopsis armata</i> |
| <i>Labidocera rotunda</i> | 0,289 | <i>Pontellopsis occidentalis</i> |
| <i>Labidocera rotunda</i> | 0,196 | <i>Labidocera sp.</i> |
| <i>Labidocera rotunda</i> | 0,299 | <i>Labidocera euchaeta</i> |
| <i>Calanopia thompsoni</i> | 0,273 | <i>Labidocera acutifrons</i> |
| <i>Calanopia thompsoni</i> | 0,363 | <i>Candacia simplex</i> |
| <i>Calanopia thompsoni</i> | 0,262 | <i>Calanopia elliptica</i> |
| <i>Calanopia thompsoni</i> | 0,226 | <i>Labidocera acuta</i> |
| <i>Calanopia thompsoni</i> | 0,214 | <i>Labidocera johnsoni</i> |
| <i>Calanopia thompsoni</i> | 0,185 | <i>Pontellina plumata</i> |
| <i>Calanopia thompsoni</i> | 0,228 | <i>Pontellopsis armata</i> |
| <i>Calanopia thompsoni</i> | 0,214 | <i>Pontellopsis occidentalis</i> |
| <i>Calanopia thompsoni</i> | 0,276 | <i>Labidocera sp.</i> |
| <i>Calanopia thompsoni</i> | 0,283 | <i>Labidocera euchaeta</i> |
| <i>Calanopia thompsoni</i> | 0,201 | <i>Labidocera rotunda</i> |
| <i>Pontellopsis tenuicauda</i> | 0,250 | <i>Labidocera acutifrons</i> |
| <i>Pontellopsis tenuicauda</i> | 0,328 | <i>Candacia simplex</i> |
| <i>Pontellopsis tenuicauda</i> | 0,262 | <i>Calanopia elliptica</i> |
| <i>Pontellopsis tenuicauda</i> | 0,228 | <i>Labidocera acuta</i> |
| <i>Pontellopsis tenuicauda</i> | 0,290 | <i>Labidocera johnsoni</i> |
| <i>Pontellopsis tenuicauda</i> | 0,210 | <i>Pontellina plumata</i> |
| <i>Pontellopsis tenuicauda</i> | 0,263 | <i>Pontellopsis armata</i> |
| <i>Pontellopsis tenuicauda</i> | 0,239 | <i>Pontellopsis occidentalis</i> |
| <i>Pontellopsis tenuicauda</i> | 0,265 | <i>Labidocera sp.</i> |
| <i>Pontellopsis tenuicauda</i> | 0,339 | <i>Labidocera euchaeta</i> |
| <i>Pontellopsis tenuicauda</i> | 0,270 | <i>Labidocera rotunda</i> |
| <i>Pontellopsis tenuicauda</i> | 0,247 | <i>Calanopia thompsoni</i> |
| <i>Pontella rostraticauda</i> | 0,238 | <i>Labidocera acutifrons</i> |
| <i>Pontella rostraticauda</i> | 0,350 | <i>Candacia simplex</i> |
| <i>Pontella rostraticauda</i> | 0,261 | <i>Calanopia elliptica</i> |
| <i>Pontella rostraticauda</i> | 0,147 | <i>Labidocera acuta</i> |

| | | |
|-------------------------------|-------|----------------------------------|
| <i>Pontella rostraticauda</i> | 0,213 | <i>Labidocera johnsoni</i> |
| <i>Pontella rostraticauda</i> | 0,232 | <i>Pontellina plumata</i> |
| <i>Pontella rostraticauda</i> | 0,228 | <i>Pontellopsis armata</i> |
| <i>Pontella rostraticauda</i> | 0,265 | <i>Pontellopsis occidentalis</i> |
| <i>Pontella rostraticauda</i> | 0,246 | <i>Labidocera sp.</i> |
| <i>Pontella rostraticauda</i> | 0,263 | <i>Labidocera euchaeta</i> |
| <i>Pontella rostraticauda</i> | 0,171 | <i>Labidocera rotunda</i> |
| <i>Pontella rostraticauda</i> | 0,215 | <i>Calanopia thompsoni</i> |
| <i>Pontella rostraticauda</i> | 0,214 | <i>Pontellopsis tenuicauda</i> |
| <i>Pontella fera</i> | 0,192 | <i>Labidocera acutifrons</i> |
| <i>Pontella fera</i> | 0,427 | <i>Candacia simplex</i> |
| <i>Pontella fera</i> | 0,281 | <i>Calanopia elliptica</i> |
| <i>Pontella fera</i> | 0,247 | <i>Labidocera acuta</i> |
| <i>Pontella fera</i> | 0,214 | <i>Labidocera johnsoni</i> |
| <i>Pontella fera</i> | 0,310 | <i>Pontellina plumata</i> |
| <i>Pontella fera</i> | 0,215 | <i>Pontellopsis armata</i> |
| <i>Pontella fera</i> | 0,366 | <i>Pontellopsis occidentalis</i> |
| <i>Pontella fera</i> | 0,231 | <i>Labidocera sp.</i> |
| <i>Pontella fera</i> | 0,329 | <i>Labidocera euchaeta</i> |
| <i>Pontella fera</i> | 0,228 | <i>Labidocera rotunda</i> |
| <i>Pontella fera</i> | 0,296 | <i>Calanopia thompsoni</i> |
| <i>Pontella fera</i> | 0,324 | <i>Pontellopsis tenuicauda</i> |
| <i>Pontella fera</i> | 0,188 | <i>Pontella rostraticauda</i> |
| <i>Pontellopsis regalis</i> | 0,376 | <i>Labidocera acutifrons</i> |
| <i>Pontellopsis regalis</i> | 0,393 | <i>Candacia simplex</i> |
| <i>Pontellopsis regalis</i> | 0,250 | <i>Calanopia elliptica</i> |
| <i>Pontellopsis regalis</i> | 0,267 | <i>Labidocera acuta</i> |
| <i>Pontellopsis regalis</i> | 0,242 | <i>Labidocera johnsoni</i> |
| <i>Pontellopsis regalis</i> | 0,197 | <i>Pontellina plumata</i> |
| <i>Pontellopsis regalis</i> | 0,249 | <i>Pontellopsis armata</i> |
| <i>Pontellopsis regalis</i> | 0,238 | <i>Pontellopsis occidentalis</i> |
| <i>Pontellopsis regalis</i> | 0,291 | <i>Labidocera sp.</i> |
| <i>Pontellopsis regalis</i> | 0,307 | <i>Labidocera euchaeta</i> |
| <i>Pontellopsis regalis</i> | 0,228 | <i>Labidocera rotunda</i> |
| <i>Pontellopsis regalis</i> | 0,207 | <i>Calanopia thompsoni</i> |
| <i>Pontellopsis regalis</i> | 0,295 | <i>Pontellopsis tenuicauda</i> |
| <i>Pontellopsis regalis</i> | 0,223 | <i>Pontella rostraticauda</i> |
| <i>Pontellopsis regalis</i> | 0,270 | <i>Pontella fera</i> |

Anexo 3. Hoja electrónica con los datos de cada espécimen procesado (Specimen data).

| A | B | C | D | E | F | G | H | I | J | K | L |
|-----------|------------|-----------------|-----------------|---------|---------------------|--------------------|--------|------------|-------------|--------------|-----------|
| Sample ID | Collectors | Collection Date | Continent/Ocean | Country | State/Province | Region | Sector | Exact Site | Latitude | Longitude | Elevation |
| 3 | CHE001 | 26-abr-13 | Mexican Pacific | Mexico | Baja California Sur | LA PAZ BAY | | EICETIMAR | 24.14800072 | -110.3470001 | |
| 4 | CHE002 | 27-abr-13 | Mexican Pacific | Mexico | Baja California Sur | Gulf of California | | La Paz Bay | 24.14800072 | -110.3470001 | |
| 5 | CHE003 | 26-mar-13 | Mexican Pacific | Mexico | Baja California Sur | Gulf of California | | La Paz Bay | 24.14800072 | -110.3470001 | |
| 6 | CHE004 | 26-mar-13 | Mexican Pacific | Mexico | Baja California Sur | Gulf of California | | La Paz Bay | 24.14800072 | -110.3470001 | |
| 7 | CHE005 | 26-mar-13 | Mexican Pacific | Mexico | Baja California Sur | Gulf of California | | La Paz Bay | 24.14800072 | -110.3470001 | |
| 8 | CHE006 | 26-mar-13 | Mexican Pacific | Mexico | Baja California Sur | Gulf of California | | La Paz Bay | 24.14800072 | -110.3470001 | |
| 9 | CHE007 | 26-mar-13 | Mexican Pacific | Mexico | Baja California Sur | Gulf of California | | La Paz Bay | 24.14800072 | -110.3470001 | |
| 10 | CHE008 | 26-mar-13 | Mexican Pacific | Mexico | Baja California Sur | Gulf of California | | La Paz Bay | 24.14800072 | -110.3470001 | |
| 11 | CHE009 | 26-mar-13 | Mexican Pacific | Mexico | Baja California Sur | Gulf of California | | La Paz Bay | 24.14800072 | -110.3470001 | |
| 12 | CHE010 | 26-mar-13 | Mexican Pacific | Mexico | Baja California Sur | Gulf of California | | La Paz Bay | 24.14800072 | -110.3470001 | |
| 13 | CHE011 | 26-mar-13 | Mexican Pacific | Mexico | Baja California Sur | Gulf of California | | La Paz Bay | 24.14800072 | -110.3470001 | |
| 14 | CHE012 | 26-mar-13 | Mexican Pacific | Mexico | Baja California Sur | Gulf of California | | La Paz Bay | 24.14800072 | -110.3470001 | |
| 15 | CHE013 | 26-mar-13 | Mexican Pacific | Mexico | Baja California Sur | Gulf of California | | La Paz Bay | 24.14800072 | -110.3470001 | |
| 16 | CHE014 | 26-mar-13 | Mexican Pacific | Mexico | Baja California Sur | Gulf of California | | La Paz Bay | 24.14800072 | -110.3470001 | |
| 17 | CHE015 | 26-mar-13 | Mexican Pacific | Mexico | Baja California Sur | Gulf of California | | La Paz Bay | 24.14800072 | -110.3470001 | |
| 18 | CHE016 | 10-nov-2010 | Mexican Pacific | Mexico | Nayarit | Islas Marias | | | 21.6989994 | -106.6989975 | |
| 19 | CHE017 | 13-Oct-2016 | Mexican Pacific | Mexico | Baja California Sur | LA PAZ BAY | | EICETIMAR | 24.14800072 | -110.3470001 | |
| 20 | CHE018 | 10-Nov-2010 | Mexican Pacific | Mexico | Nayarit | Islas Marias | | | 21.6989994 | -106.6989975 | |
| 21 | CHE019 | 10-Nov-2010 | Mexican Pacific | Mexico | Nayarit | Islas Marias | | | 21.6989994 | -106.6989975 | |
| 22 | CHE020 | 24-Mar-2010 | Mexican Pacific | Mexico | Baja California Sur | GULF OF CALIFORNIA | | EGGB | 26.65999985 | -110.6999969 | |
| 23 | CHE021 | 10-Nov-2010 | Mexican Pacific | Mexico | Nayarit | Islas Marias | | | 21.6989994 | -106.6989975 | |
| 24 | CHE022 | 10-Nov-2010 | Mexican Pacific | Mexico | Nayarit | Islas Marias | | | 21.6989994 | -106.6989975 | |
| 25 | CHE023 | 10-Nov-2010 | Mexican Pacific | Mexico | Nayarit | Islas Marias | | | 21.6989994 | -106.6989975 | |
| 26 | CHE024 | 10-Nov-2010 | Mexican Pacific | Mexico | Nayarit | Islas Marias | | | 21.6989994 | -106.6989975 | |
| 27 | CHE025 | 10-Nov-2010 | Mexican Pacific | Mexico | Nayarit | Islas Marias | | | 21.6989994 | -106.6989975 | |
| 28 | CHE026 | 10-Nov-2010 | Mexican Pacific | Mexico | Nayarit | Islas Marias | | | 21.6989994 | -106.6989975 | |
| 29 | CHE027 | 10-Nov-2010 | Mexican Pacific | Mexico | Nayarit | Islas Marias | | | 21.6989994 | -106.6989975 | |
| 30 | CHE028 | 10-Nov-2010 | Mexican Pacific | Mexico | Nayarit | Islas Marias | | | 21.6989994 | -106.6989975 | |

Anexo 4. Tabla de resultados de *Blast*.

| Select: | All | None | Selected:0 | | |
|---|-------------|---|------------|-----|----------------------------|
| Alignments Download GenBank Graphics Distance tree of results | | | | | |
| | | Description | | | |
| Max score | Total score | Query cover | E value | | |
| Ident | Accession | | | | |
| <input type="checkbox"/> | 472 | 98% | 2e-129 | 84% | HM045338.1 |
| | | Labidocera acuta voucher DCAS:HD060801.1aac.cytb.chromosome oxidase subunit I (COX1).gene, partial cds: mitochondrial | | | |
| <input type="checkbox"/> | 460 | 98% | 5e-126 | 84% | J0794608.1 |
| | | Labidocera acuta voucher CAS pw02.cytb.chromosome oxidase subunit 1 (COI).gene, partial cds: mitochondrial | | | |
| <input type="checkbox"/> | 457 | 99% | 6e-125 | 83% | JX995196.1 |
| | | Anomalocera paterisomi isolate MT00525.cytb.chromosome c oxidase subunit I (COI).gene, partial cds: mitochondrial | | | |
| <input type="checkbox"/> | 446 | 98% | 1e-121 | 83% | HM045390.1 |
| | | Labidocera rotunda voucher OCAS:z0606002.1abi.cytb.chromosome oxidase subunit I (COX1).gene, partial cds: mitochondrial | | | |
| <input type="checkbox"/> | 446 | 98% | 1e-121 | 83% | HM045362.1 |
| | | Candidacia cuita voucher DCAS:HD060810.ca01a.cytb.chromosome oxidase subunit I (COX1).gene, partial cds | | | |
| <input type="checkbox"/> | 435 | 95% | 3e-118 | 83% | KF977286.1 |
| | | Labidocera rotunda isolate DNZ096.cytb.chromosome oxidase subunit I (COI).gene, partial cds: mitochondrial | | | |
| <input type="checkbox"/> | 446 | 99% | 1e-121 | 83% | JX995212.1 |
| | | Anomalocera paterisomi isolate MT03331.cytb.chromosome c oxidase subunit I (COI).gene, partial cds: mitochondrial | | | |
| <input type="checkbox"/> | 446 | 99% | 1e-121 | 83% | JX995207.1 |
| | | Anomalocera paterisomi isolate MT03326.cytb.chromosome c oxidase subunit I (COI).gene, partial cds: mitochondrial | | | |
| <input type="checkbox"/> | 446 | 99% | 1e-121 | 83% | JX995206.1 |
| | | Anomalocera paterisomi isolate MT03325.cytb.chromosome c oxidase subunit I (COI).gene, partial cds: mitochondrial | | | |
| <input type="checkbox"/> | 446 | 99% | 1e-121 | 83% | JX995200.1 |
| | | Anomalocera paterisomi isolate MT00524.cytb.chromosome c oxidase subunit I (COI).gene, partial cds: mitochondrial | | | |
| <input type="checkbox"/> | 427 | 95% | 5e-116 | 83% | AB206446.1 |
| | | Pontella postiticauda mitochondrial COI gene for cytb.chromosome oxidase subunit 1, partial cds | | | |
| <input type="checkbox"/> | 440 | 98% | 6e-120 | 83% | FJ62504.1 |
| | | Calanus hyperboreus voucher UCONN.Co220.2.1.cytb.chromosome oxidase subunit I (COI).gene, partial cds: mitochondrial | | | |
| <input type="checkbox"/> | 440 | 98% | 6e-120 | 83% | AF332770.1 |
| | | Calanus hyperboreus cytb.chromosome oxidase subunit I (COI).gene, partial cds: mitochondrial gene for mitochondrial product | | | |
| <input type="checkbox"/> | 440 | 99% | 6e-120 | 83% | JX995214.1 |
| | | Anomalocera paterisomi isolate MT03338.cytb.chromosome c oxidase subunit I (COI).gene, partial cds: mitochondrial | | | |
| <input type="checkbox"/> | 440 | 99% | 6e-120 | 83% | JX995211.1 |
| | | Anomalocera paterisomi isolate MT03330.cytb.chromosome c oxidase subunit I (COI).gene, partial cds: mitochondrial | | | |
| <input type="checkbox"/> | 440 | 99% | 6e-120 | 83% | JX995208.1 |
| | | Anomalocera paterisomi isolate MT03327.cytb.chromosome c oxidase subunit I (COI).gene, partial cds: mitochondrial | | | |
| <input type="checkbox"/> | 440 | 66% | 6e-120 | 83% | JX995208.1 |
| | | Anomalocera paterisomi isolate MT00527.cytb.chromosome c oxidase subunit I (COI).gene, partial cds: mitochondrial | | | |