



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS**



**COMPOSICIÓN DE LA COMUNIDAD DE
COPÉPODOS PELÁGICOS EN EL PARQUE
NACIONAL CABO PULMO: ESTUDIO
MORFOLÓGICO Y GENÉTICO**

TESIS

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORADO EN CIENCIAS MARINAS**

PRESENTA

JUAN RAMÓN BELTRÁN CASTRO

LA PAZ, B.C.S, JULIO DE 2020



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de siendo las horas del día del mes de del se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Posgrado de: para examinar la tesis titulada:

del (la) alumno (a):

Apellido Paterno:	<input type="text" value="BELTRÁN"/>	Apellido Materno:	<input type="text" value="CASTRO"/>	Nombre (s):	<input type="text" value="JUAN RAMÓN"/>
-------------------	--------------------------------------	-------------------	-------------------------------------	-------------	---

Número de registro:

Aspirante del Programa Académico de Posgrado:

Una vez que se realizó un análisis de similitud de texto, utilizando el software antiplagio, se encontró que el trabajo de tesis tiene 5 % de similitud. **Se adjunta reporte de software utilizado.**

Después que esta Comisión revisó exhaustivamente el contenido, estructura, intención y ubicación de los textos de la tesis identificados como coincidentes con otros documentos, concluyó que en el presente trabajo **SI** **NO** **SE CONSTITUYE UN POSIBLE PLAGIO.**

JUSTIFICACIÓN DE LA CONCLUSIÓN: *(Por ejemplo, el % de similitud se localiza en metodologías adecuadamente referidas a fuente original)*

El porcentaje de similitud de la tesis es muy bajo, lo que representa que la originalidad del trabajo es muy alta y que las referencias y citas del doctorante en su trabajo recepcional están adecuadamente manejadas.

****Es responsabilidad del alumno como autor de la tesis la verificación antiplagio, y del Director o Directores de tesis el análisis del % de similitud para establecer el riesgo o la existencia de un posible plagio.**

Finalmente, y posterior a la lectura, revisión individual, así como el análisis e intercambio de opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR** **SUSPENDER** **NO APROBAR** la tesis por **UNANIMIDAD** o **MAYORÍA** en virtud de los motivos siguientes:

“SATISFACE LOS REQUISITOS SEÑALADOS POR LAS DISPOSICIONES REGLAMENTARIAS VIGENTES”

COMISIÓN REVISORA DE TESIS

DR. SERGIO HERNÁNDEZ TRUJILLO

Director de Tesis
Nombre completo y firma

DR. RENÉ FUNES RODRÍGUEZ

Nombre completo y firma

DR. FRANCISCO JAVIER GARCÍA RODRÍGUEZ

Nombre completo y firma

DR. JAIME GÓMEZ GUTIÉRREZ

Director de Tesis
Nombre completo y firma

DRA. ANIDIA BLANCO JARVIO

Nombre completo y firma

DR. SERGIO HERNÁNDEZ TRUJILLO

Nombre completo y firma
PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 06 del mes de Julio del año 2020

El (la) que suscribe M en C. JUAN RAMÓN BELTRÁN CASTRO Alumno (a) del Programa

DOCTORADO EN CIENCIAS MARINAS

con número de registro B160996 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 DR. JAIME GÓMEZ GUTIÉRREZ

y cede los derechos del trabajo titulado:

"Composición de la comunidad de copépodos pelágicos en el Parque Nacional Cabo Pulmo:

estudio morfológico y genético"

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: jbeltranc1200@alumno.ipn.mx - strujil@ipn.mx - jagomezg@ipn.mx -

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

M en C. JUAN RAMÓN BELTRÁN CASTRO

Nombre y firma del alumno

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas y al Instituto Politécnico Nacional por todas las facilidades otorgadas para realizar el Doctorado en Ciencias Marinas durante Sep 2016–Junio 2020. Agradezco a mis directores de tesis Dr. Sergio Hernández Trujillo y Dr. Jaime Gómez Gutiérrez y a los miembros del comité tutorial integrado por la Dra. Anidia Blanco Jarvio (UABCS), Dr. Francisco Javier García Rodríguez y Dr. René Funes Rodríguez por su valiosa ayuda en la cuidadosa revisión y reorganización de la presente tesis. Particularmente agradezco a la Dra. Anidia Blanco Jarvio y Dra. Claudia Silva Segundo (UABCS) por su continuo apoyo en los análisis de laboratorio y bioinformática genéticos y la escritura de la parte de genética de copépodos de la presente tesis doctoral.

Agradezco al Dr. Armando Trasviña Castro y Dr. Eduardo González Rodríguez (CICESE, Estación La Paz) y la M. en C. Elizabeth Martínez Soler por la ayuda en la adquisición de datos satelitales de las condiciones ambientales de la región del Parque Nacional de Cabo Pulmo analizados en la presente investigación. Agradezco a la M. en C. María Yesenia Torres-Hernández por el procesamiento de los datos del Perfilador de Corriente Acústico Doppler utilizados para medir la velocidad y dirección de la corriente del mar en diferentes capas de profundidad en el PNCP. Agradezco profundamente a la familia Castro y particularmente a David Castro Arvizu por su ayuda incondicional e invaluable para recolectar las muestras semanales de zooplancton en el Parque Nacional Cabo Pulmo (enero de 2014 a diciembre de 2015). También agradezco al Dr. Carlos A. Sánchez Ortiz (UABCS), Octavio Aburto Oropeza y Brad Erisman (SIO-UCSD) por estimular y alentar la realización de la presente serie temporal de zooplancton en el Parque Nacional Cabo Pulmo. Estoy en deuda con el M. en C. Arturo Sánchez Uvera y el Biol. Mar. Ángel Antonio Silveyra Bustamante por el apoyo en el análisis de abundancia del zooplancton identificado a grandes grupos taxonómicos de las muestras de zooplancton. Agradezco al Delegado Federal de la SAGARPA, BCS por los permisos de Pesca de Fomento para realizar investigación científica en el PNCP otorgados para este proyecto de investigación, al M. en C. Carlos Ramón Godínez-Reyes (Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas, CONANP) por las cartas de no objeción de muestreo de zooplancton en el PNCP. Agradezco

ampliamente a la Dirección del PNCP, coalición Amigos de Cabo Pulmo, y miembros del Programa Marino del Golfo de California de Biodiversidad y Conservación Marina Centro (CMBC) por su ayuda con este proyecto de investigación, especialmente al Biol. Mar. Juan José Cota Nieto (CMBC) por su enorme ayuda en el transporte de muestras de zooplancton del PNCP a La Paz y su intervención para la comunicación y logística para poder realizar el muestreo de zooplancton durante el periodo de estudio. Esta investigación tuvo apoyo económico del Instituto Politécnico Nacional (SIP20141443, 20140497, SIP20150682, 20150113, SIP20160932, 20160049, SIP20170586, 20170127, SIP20181119, 2018008, SIP 20195337, 20195039, SIP20200168 y 20200696) y del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CB-2012-178615-01 y CB-2016-01-284201). Agradezco ampliamente al IPN por la Beca BEIFI (2018, 2019) y el apoyo económico recibido mediante el Programa de Becas Nacionales del CONACyT (CVU: 390374) para realizar la presente tesis doctoral.

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

Lista de Figuras	6
Lista de Tablas	8
Glosario	9
Resumen	11
Introducción	13
Hipótesis	21
Objetivo General	21
Objetivos particulares	21
Material y Métodos	22
Condiciones ambientales	22
Análisis molecular	26
Análisis de la comunidad	31
Resultados	38
Variables ambientales	38
Bioinformática e identificación molecular de especies	42
Abundancia de zooplancton a grandes grupos	48
Ecología de los copépodos en el PNCP	49
Discusión	62
Genética de copépodos	62
Estructura de la comunidad de copépodos en Cabo Pulmo	67
Conclusiones	76
Recomendaciones	78
Bibliografía	79
Anexos	93

Lista de Figuras

Figura 1. Área de estudio en el Parque Nacional Cabo Pulmo	23
Figura 2. Series de tiempo ambientales registradas en la región del Parque Nacional Cabo Pulmo durante 2014–2015.	40
Figura 3. (A) Vectores de la velocidad y dirección promedio diaria del viento satelital a 10 m sobre la superficie del mar por año, (B) vectores de la velocidad y dirección media diaria de la corriente del mar (3 y 5 m de profundidad) registrados con un Perfilador Acústico de Corriente Doppler (ADCP) instalado al noreste de la región del Parque Nacional Cabo Pulmo durante 2014 y 2015.....	41
Figura 4. Posiciones de los oligonucleótidos publicados para amplificar el gen <i>CO1</i> basados en la secuencia del genoma mitocondrial de <i>Tigriopus japonicus</i> (No. acceso DQ913891), las flechas negras simbolizan los oligonucleótidos utilizados con una reacción de PCR, mientras que las flechas grises muestran los oligonucleótidos que desarrollaron dos reacciones PCR (anidado).....	43
Figura 5. Oligonucleótidos universales para Neocopepoda (a) oligonucleótido Forward con la traducción, marco de lectura y oligonucleótidos en los que está basado (b) oligonucleótido Reverse con la traducción, marco de lectura y oligonucleótidos en los que está basado.....	45
Figura 6. Oligonucleótidos internos para Neocopepoda (a) oligonucleótido dirección <i>Froward</i> con la traducción, marco de lectura y oligonucleótidos en los que está basado (b) oligonucleótido <i>Reverse</i> con la traducción, marco de lectura y oligonucleótidos en los que está basado	45
Figura 7. Árbol de identificación basado en la fracción del gen <i>CO1</i> (40 al 693pb) inferido a través del método Maximum Likelihood basado en el modelo Kimura 2-parameter; el porcentaje de árboles en los que los taxones asociados se agrupan se muestra junto a las ramas (Bootstrap), se excluyeron aquellos nodos con una probabilidad menor al 50%.....	47
Figura 8. Abundancia relativa de zooplancton (%) identificada por grupo taxonómico recolectado en el Parque Nacional Cabo Pulmo durante 2014-2015.....	48
Figura 9. (A) Abundancia mensual de los copépodos (barras con todas las especies combinadas) y riqueza de especies (línea), (B) anomalía de la abundancia total mensual de copépodos y (C) abundancia relativa (%) de las 21 especies de copépodos más abundantes recolectado en el Parque Nacional Cabo Pulmo, BCS, México durante 2014–2015	50

Figura 10. Clúster análisis de dos vías que muestra la abundancia semanal de copépodos agrupados por especie y por estaciones de muestreo recolectadas en el Parque Nacional Cabo Pulmo durante 2014–2015	53
Figura 11. El análisis de correspondencia canónica de la abundancia de especies de copépodos (círculos vacíos) que muestra dos grupos estacionales de muestras de zooplancton representadas por la temporada fría (triángulo gris) y la temporada cálida (círculos negros) recolectadas durante 2014-2015 en el Parque Nacional Cabo Pulmo	54
Figura 12. Especies indicadoras de copépodos para períodos con anomalías positivas de TSM en relación con la serie de tiempo 2002-2018 durante la onda cálida de enero a agosto de 2014 (A) <i>Acartia tonsa</i> y durante el evento El Niño ecuatorial 2015 (B) <i>Cosmocalanus darwinii</i> , (C) <i>Copilia mirabilis</i> , y (D) <i>Clausocalanus furcatus</i> de acuerdo con el Análisis de Especies Indicadoras (ISA, $p < 0.005$)	57
Figura 13. Serie de tiempo de la biomasa de copépodos por especie y estación de muestreo. Las especies con <1% de abundancia de copépodos fueron descartadas de este análisis.....	61
Figura 14. Análisis de agrupamiento de la abundancia total de grandes grupos taxonómicos de zooplancton recolectados utilizando la misma metodología en cinco localidades del estado de Baja California Sur, México, obtenidos de Bahía Magdalena (Hernández-Trujillo <i>et al.</i> , 2010), Bahía Concepción (Palomares-García <i>et al.</i> , 2002), Bahía de La Paz (Lavaniegos-Espejo & González-Navarro, 1999), Puerto Escondido (Gómez-Gutiérrez, datos sin publicar) y Parque Nacional Cabo Pulmo (presente estudio). La estructura comunitaria del zooplancton del Parque Nacional Cabo Pulmo se parece más al zooplancton de Bahía de La Paz y Loreto que a Bahía Magdalena y Bahía Concepción	72

Lista de Tablas

- Tabla 1.** Oligonucleótidos publicados para amplificar organismos del grupo de copépodos y que han obtenido resultados exitosos.....**28**
- Tabla 2.** Especies de copépodos que poseen secuencia parcial del gen *CO1* (código de barras) que se utilizaron para hacer las alineaciones con el resto de las secuencias y oligonucleótidos reportados (Beltrán-Castro & Hernández-Trujillo, 2016).....**29**
- Tabla 3.** Biomasa promedio de individuos adultos expresada en peso seco (DW, μg / ind.) y peso de carbono (CW, $\mu\text{gC/ind.}$); longitud del prosoma de las 21 especies de copépodos numéricamente dominantes ($> 1\%$ de abundancia total que representaron el 94.9% de la abundancia total de copépodos) recolectada en el Parque Nacional Cabo Pulmo durante 2014-2015. Los pesos secos y de carbono de los copépodos se estimaron utilizando las ecuaciones de regresión Peso-Longitud publicadas que se muestran en la Tabla 2. DW = peso seco, CW = peso de carbono, μm = longitud del prosoma).....**36**
- Tabla 4.** Ecuaciones de regresión Peso-Longitud (L = longitud total, PL = longitud del prosoma) de copépodos utilizadas para estimar la biomasa expresada en peso seco (DW) o peso de carbono (C) de cada especie recolectada con $>1\%$ de abundancia total de copépodos en el Parque Nacional Cabo Pulmo durante 2014-2015.....**37**
- Tabla 5.** Promedio y Desviación estándar (STD) de la abundancia de especies de copépodos recolectada durante la temporada fría (diciembre-mayo) y la temporada cálida (junio-noviembre) por año. * = especies de copépodos (ordenadas por orden y alfabéticamente) con $> 1\%$ de abundancia recolectada durante 2014 y 2015 en el Parque Nacional Cabo Pulmo, BCS, México.....**51**
- Tabla 6** Análisis de correspondencia canónica (CCA) de la asociación de las ocho variables ambientales disponibles (el rango de marea no fue incluida en este CCA debido su efecto no fue significativo durante los análisis exploratorios previos) y los grupos taxonómicos de zooplancton con la abundancia de especies de copépodos de las unidades de muestreo recolectadas con frecuencia semanal en el Parque Nacional Cabo Pulmo entre enero de 2014 y diciembre de 2015**55**
- Tabla 7.** Análisis Indicadora de especies de asociaciones de especies de copépodos colectados en el Parque Nacional Cabo Pulmo durante 2014–2015 comparando la temporada fría durante Dic–May y la temporada cálida durante Jun–Nov.....**58**
- Tabla 8.** Análisis Indicadora de especies de asociaciones de especies de copépodos colectados en el Parque Nacional Cabo Pulmo durante 2014–2015 comparando los periodos de la onda de calor regional (OCR), el periodo con una pequeña anomalía negativa de temperatura superficial (PAN), y El Niño 2015 ecuatorial (EN) evidenciado con base en anomalías de satélite SST anomalías con valores > 0.5 de MEI v.2.**58**

Glosario

Amplicón: Productos de la amplificación artificial o natural de una región específica del ADN o ARN.

Árbol de similitud: Dendograma realizado a partir de análisis de secuencias, que compara la homología entre ellas expresado en porcentaje de similitud.

BIN's: *Barcode Index Number* (en inglés) hace referencia a haplotipo en un árbol de identificación realizado con secuencias del código de barras de la vida (*Barcode*) del cual se puede inferir la posibilidad de ser una especie biológica.

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

Barcode of Life Data Systems (en inglés, **BOLDSystems**): es un banco de datos de secuencias que permite la recopilación, almacenamiento, gestión, análisis y uso de códigos de barras de ADN (<http://www.boldsystems.org/views/login.php>).

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

Código de barras de ADN: 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 la identificación específica de los seres vivos, principalmente a nivel de especie, incluyendo organismos incompletos o de especímenes en cualquier etapa del ciclo de vida del organismo.

Copépodo: Crustáceos de la Clase Hexanauplia, Subclase Copepoda generalmente de tamaño microscópico altamente abundantes en ecosistemas de agua dulce o salada. Se conocen más de 15,000 especies descritas (parásitos incluidos) y se distinguen por tener un solo ojo, que evolucionó de dos ojos que se fusionaron, y las antenas principales, muy articuladas son mucho mayores que las secundarias. Poseen 4 pares de apéndices torácicos que les sirven para nadar y vestigios de un quinto par que en otras especies de copépodos son más notorios.

Divergencia genética: Cuando grupos de individuos de una especie se separan, cada uno evoluciona individualmente teniendo como resultado la modificación de su información genética.

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

GenBank: Base de datos de internet pública que almacena y administra 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.

K2P: Modelo de 2 parámetros de Kimura, es un modelo de evolución que 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>)

Neocopepoda: Infraclasse de la clase copepoda que incluye la mayoría de las especies de copépodos (super ordenes Gymnoplea y Podoplea).

Oligonucleótido: Secuencia corta (15–30 pares de bases) de ADN o ARN utilizados como cebadores en reacciones de amplificación.

PCR: Acrónimo de *Polymerase Chain Reaction* (en inglés), Reacción en Cadena de la Polimerasa (en español) que es esencialmente la replicación del ADN in vitro.

PCR Anidado: Modificación del PCR convencional que comprende dos rondas de amplificación con los mismos o distintos pares de oligonucleótidos en cada una, con el fin de incrementar la sensibilidad y la especificidad de la detección.

Plancton: Palabra de origen griego que significa “errante”, son organismos principalmente microscópicos que viven movidos por las corrientes que pueden ser marinos o de agua dulce.

RESUMEN

La riqueza específica, abundancia, y biomasa de copépodos fue estudiada durante una serie de tiempo semanal realizada durante 2014-2015 un período de anómalamente cálido y con baja concentración superficial de clorofila-*a* (en comparación con 2002-2018) en el Parque Nacional Cabo Pulmo (CPNP), Golfo de California, México. Para corroborar la identificación de especies de copépodos se diseñó un nuevo juego de oligonucleótidos del gen *CO1* (inferido del análisis bioinformático de datos previamente publicados en copépodos) para incrementar la tasa de eficiencia de amplificación y secuenciación de los copépodos calanoides, el cual fue probado y contrastado en especies de copépodos del Golfo de California. Actualmente no existe un par de primer “universal” para los Neocopepoda. Los primers seleccionados como probables “universales” para Neocopepoda fueron Neocop-CO1-22F y Neocop-CO1-837R. Cuarenta y nueve especies de copépodos representaron el 64% de la abundancia total de zooplancton. Tres pequeñas especies de copépodos (*Oncaea venusta* 12.6%, *Paracalanus parvus* 11.5%, *Clausocalanus jobei* 8.6%) de 45 especies dominaron numéricamente durante 2014. Dos especies de copépodos de tamaño grande (*Subeucalanus subtenuis*, *Subeucalanus subcrassus*) de 39 especies aumentaron en abundancia durante 2015, representando el 69% de la biomasa de carbono de los copépodos. El Análisis de Correspondencia Canónica demostró que la temperatura superficial del mar fue la variable con mayor influencia en las asociaciones de especies de copépodos. La abundancia de copépodos fue significativamente mayor durante la temporada fría (noviembre-mayo) que durante la temporada cálida (junio-octubre) y menor durante la onda de calor regional de enero–agosto 2014 que durante el evento El Niño ecuatorial (noviembre de 2014 a diciembre de 2015). *Acartia tonsa* fue la única especie indicadora registrada durante la onda de calor regional de 2014 y *Clausocalanus furcatus*, *Copilia mirabilis* y *Cosmocalanus darwinii* fueron especies indicadoras de El Niño 2015. El ensamblaje de especies de copépodos tuvo 86% de especies tropicales durante enero-agosto de 2014 asociada a la onda de calor regional que comenzó la tropicalización de la comunidad de copépodos, aumentando al 95% de las especies tropicales durante El Niño 2015.

Palabras clave: Copépodos, Sucesión estacional, Onda de calor, El Niño, La Mancha, CO1, oligonucleótidos, Parque Nacional Cabo Pulmo

ABSTRACT

Copepod species assemblage abundance, species richness, and biomass were studied during a weekly time series done during an anomalously warm and low sea surface Chlorophyll-*a* concentration period (2014–2015, compared with 2002–2018) at Cabo Pulmo National Park (CPNP), Gulf of California, Mexico. A new set of primers of the *CO1* gene (inferred from the bioinformatic analysis previously published on copepods) was designed to corroborate the taxonomic identification of the copepods and increase the efficiency rate in the amplification and sequencing of calanoid copepods. Different available primers were tested and contrasted among species of copepods from the Gulf of California. Currently does not exist a pair of “universal” primers for the Neocopepoda. However, the primers Neocop-CO1-22F and Neocop-CO1-837R were here identified likely as “universal” for Neocopepoda. Forty-nine copepod species accounted for 64% of the total zooplankton abundance. Three small copepods (*Oncaea venusta* 12.6%, *Paracalanus parvus* 11.5%, *Clausocalanus jobei* 8.6%) out of 45 species numerically dominated during 2014. Two large copepods (*Subeucalanus subtenuis*, *Subeucalanus subcrassus*) out 39 species increased in abundance accounting for 69% of copepod Carbon biomass during 2015. A Canonical Correspondence Analysis demonstrated SST controlled the copepod species assemblages. Copepod abundance was significantly higher during the cold (Nov–May) that during the warm (Jun–Oct) season and lower during the Jan–Aug 2014 regional heatwave than during the Equatorial El Niño (Nov 2014–Dec 2015). *Acartia tonsa* was the only significant species indicator recorded during the 2014 regional heatwave and *Clausocalanus furcatus*, *Copilia mirabilis*, and *Cosmocalanus darwinii* were significant species indicators of El Niño 2015. Copepod species assemblage had 86% tropical species during the Jan–Aug 2014 due to the regional heatwave that started the tropicalization of copepod community increasing to 95% of tropical species during El Niño 2015.

Keywords: Copepods, Seasonal succession, Heatwave, El Niño, The Blob, *CO1*, Primers, Cabo Pulmo National Park.

INTRODUCCIÓN

Los copépodos comprenden la mayor parte de la diversidad, biomasa y productividad secundaria de la comunidad del zooplancton que sustenta la fauna planctófaga que viven en hábitats pelágico y bentónico de ecosistemas costeros marinos (Kiørboe, 2010; Kozak *et al.*, 2014; Ambriz-Arreola *et al.*, 2018). Los copépodos responden rápidamente a los cambios estacionales e interanuales de las condiciones ambientales debido a sus ciclos de vida cortos y su rápida tasa de crecimiento. De esta forma, los copépodos modulan en gran medida el aporte de carbono en los ecosistemas marinos costeros (Brinton *et al.*, 1986; Tester & Turner, 1990; Turner, 2004). El presente estudio investiga la riqueza de especies, abundancia, biomasa de carbono y taxonomía morfológica y molecular de los copépodos pelágicos en el Parque Nacional Cabo Pulmo (PNCP), Baja California Sur, México. El PNCP es uno de los parques nacionales protegidos más exitosos en el Golfo de California. En 1995 se implementó una estrategia de no pesca en PNCP que promovió el aumento de la biomasa de hasta un 463% en todos los niveles tróficos (Aburto-Oropeza *et al.*, 2011, 2015). Sin embargo, la estructura de la comunidad, abundancia, biomasa del zooplancton que sustentan la diversa estructura de la comunidad de depredadores zooplanctófagos de arrecifes rocosos y arrecifes de coral en este ecosistema tropical no han sido investigado hasta ahora. El fitoplancton contribuye con toda la productividad primaria de este ecosistema costero (Kahru *et al.*, 2004; Hidalgo-González & Álvarez-Borrego, 2004). La concentración superficial de clorofila-*a* en PNCP inferida a partir de datos satelitales de una serie de tiempo diarias de septiembre 1997 a junio 2018 tuvo una concentración promedio de 0.5 mg Chl-*a* m⁻³ con un intervalo de entre 0.06–9.5 mg Chl-*a* m⁻³ (Ahern *et al.*, 2018). Los pulsos de biomasa de fitoplancton en PNCP están asociados con las corrientes marinas forzadas por las mareas, vientos y la influencia de las estructuras de mesoescala que se producen en la boca del Golfo de California (Trasviña-Castro *et al.*, 2012; Torres-Hernández, 2017; Carrillo-Aguilar, 2018). Los filamentos ocasionalmente causan eventos advectivos intensos que exportan nutrientes y plancton de hábitats costeros a hábitats marinos en esta región (Apango-Figueroa *et al.*, 2015; Torres-Hernández,

2017). Aunque el zooplancton es la principal fuente de carbono disponible para organismos zooplanctófagos que habitan en los arrecifes rocosos y de coral del PNCP, también es un componente relevante del reclutamiento de organismos nectónicos y bentónicos, debido a la deriva de larvas y postlarvas que se reclutan como juveniles (Arizpe-Covarrubias, 2006).

Cuatro series de tiempo de zooplancton en la región noroeste de México han mostrado asociaciones de especies de copépodos regionalmente distintos durante condiciones ambientales estacionales e interanuales distintas (Palomares-García & Gómez-Gutiérrez, 1996; López-Ibarra & Palomares-García, 2006; De Silva-Dávila *et al.*, 2006; Lavaniegos *et al.*, 2012). Estos estudios muestrearon el zooplancton con un método de colecta similar al utilizado en el presente trabajo para fines comparativos usando una red cilindro cónica estándar de 300 μm de luz de malla con un arrastre cerca de la superficie durante diez minutos. El conjunto de especies de copépodos en Bahía Magdalena, costa oeste de la península de Baja California, cambió la abundancia de especies tropicales durante los eventos de El Niño de 1982–1983 (Palomares-García & Gómez-Gutiérrez, 1996) y 1997–1998 (López-Ibarra & Palomares-García, 2006). El ensamblaje de especies de copépodos subtropicales en la región central del Golfo de California también ha sido registrado durante dos períodos sin la influencia de El Niño (De Silva-Dávila *et al.*, 2006; Lavaniegos *et al.*, 2012). Una asociación de especies de copépodos tropicales habita en el Archipiélago Islas Marías (Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2014). Existen otras series de tiempo de abundancia de copépodos muestreados con redes Bongo en la región sur del Golfo de California (Lavaniegos & González-Navarro, 1990; Kozak *et al.*, 2014; Ambriz-Arreola *et al.*, 2018). Actualmente, se desconoce si la estructura de la comunidad de copépodos en CPNP es similar a cualquiera de esas comunidades subtropicales y tropicales observadas en la región noroeste de México (Palomares-García & Gómez-Gutiérrez, 1996; López-Ibarra & Palomares-García, 2006), centro del Golfo de California (Lavaniegos & González-Navarro, 1999; De Silva-Dávila *et al.*, 2006; Lavaniegos *et al.*, 2012; Álvarez-Tello *et al.*, 2015), la boca del Golfo de California (Chen, 1986; Gómez-Gutiérrez *et al.*, 1994) o a las comunidades

de especies tropicales del Pacífico central mexicano (Kozak *et al.*, 2014; Ambriz-Arreola *et al.*, 2018).

Portela *et al.* (2016) utilizando datos de World Ocean Database 2013 y 45 cruceros oceanográficos (1992–2015) informaron que la boca del Golfo de California es una región de confluencia estacional de tres masas de agua diferentes en las capas superiores: Agua del Golfo de California; Agua Tropical Superficial y agua Tropical Transicional. La masa de agua Tropical Transicional resulta de la mezcla entre las masas de agua modificada de la Corriente de California, Tropical Superficial y del Golfo de California (Portela *et al.*, 2016). La masa de agua Tropical Transicional está presente en CPNP durante todo el año (Fiedler & Talley, 2006; Portela *et al.*, 2016). El período del presente estudio incluyó un período de calentamiento anómalo registrado durante 2014 (Ahern *et al.*, 2018) probablemente asociada con una onda de calor regional, simultánea pero independiente de “La mancha” observado en el Pacífico Central Norte (Kintisch, 2015; Cavole *et al.*, 2016) y el inicio del evento ecuatorial El Niño 2015 que prolongó las condiciones anómalamente cálidas hasta 2016 en la región sur del Golfo de California (Sánchez-Velasco *et al.*, 2017; Torres-Hernández, 2017; Ahern *et al.*, 2018; Carrillo-Aguilar, 2018). Una onda de calor marina generalmente se define como un área con temperatura de la superficie de la mar extremadamente cálida que persiste durante días a meses (Frölicher & Laufkötter, 2018).

En el presente trabajo se investigó la composición de especies, abundancia y biomasa de los copépodos en respuesta a los eventos de calentamiento climático ocurridos durante la onda de calor regional del 2014 y El Niño 2015. Por lo tanto, proponemos la hipótesis de que diferentes asociaciones de especies de copépodos estuvieron presentes en la región del PNCP durante estas dos condiciones anómalas cálidas de origen distinto modificando la disponibilidad de carbono para los depredadores planctófagos que habitan en este ecosistema de arrecifes rocosos y de coral tropical actualmente en estatus de protección.

El objetivo de este estudio fue investigar la sucesión estacional de la abundancia y la biomasa de carbono de las asociaciones de especies de copépodos recolectados semanalmente durante enero de 2014 a diciembre de 2015

en el PNCP en función de las condiciones climáticas estacionales e interanuales inferidas mediante telemetría satelital (temperatura de la superficie del mar, concentración de clorofila-a superficial del mar y velocidad y dirección del viento), corriente superficial del mar medido con un ADCP y la abundancia de la estructura de la comunidad de zooplancton identificado a grandes grupos taxonómicos.

La caracterización de la biodiversidad es importante para entender los procesos ecológicos del planeta. Aunque la identificación de especies de copépodos es esencial para realizar inferencias de las respuestas ecológicas en las comunidades marinas ante cambios ambientales, la identificación de especies mediante caracteres diagnósticos morfológicos en algunos casos es controversial (por ejemplo, especies crípticas o especies con plasticidad fenotípica). Sin embargo, para el caso de numerosas especies es contundente su posición taxonómica y los caracteres diagnósticos morfológicos convincentemente ayudan a discriminar y distinguir las especies. De esta forma, en esos casos no se requiere ayuda de técnicas de identificación molecular. Parte del problema es que la mayor parte de la literatura taxonómica de copépodos fue publicada hace > 50 años y en ella no se muestran evidencia clara de estructuras morfológicas o merísticas diagnósticas, las cuales actualmente se consideran imprescindibles para su precisa identificación específica para hacer inferencias ecológicas sustentadas. Así mismo, el desarrollo de microscopía confocal o microscopía electrónica de barrido actualmente permiten visualizar microestructuras imposibles de observar con microscopía óptica con la tecnología con la que se basaba la taxonomía morfológica antes de la década de 1950. Los métodos taxonómicos convencionales para identificar, definir y describir nuevas especies biológicas de copépodos requieren una alta especialización en taxonomía para catalogar la compleja biodiversidad del planeta. Este es el problema conocido como el “impedimento taxonómico” (Rodman & Cody, 2003). En consecuencia, el taxónomo moderno requiere de actualización en el uso de equipos y técnicas de microscopía, así como la aplicación de procedimientos moleculares como herramientas complementarias para la identificación precisa de las especies en los ecosistemas marinos. La integración de criterios morfológicos, biológicos, ecológicos,

biogeográficos y moleculares son la base de la taxonomía integrativa. En este sentido, las técnicas moleculares, constituyen una herramienta complementaria a la taxonomía morfológica clásica (taxonomía de Linneo o taxonomía Linneana), para el estudio de la biodiversidad que en muchos casos permite tener mayor evidencia para discriminar especies (Ebach & Holdrege, 2005).

Durante las últimas dos décadas se han incorporado nuevas estrategias para la identificación de especies de metazoarios mediante el uso del código de barras genético (*Barcoding*, en inglés) para realizar estudios ecológicos de los ecosistemas (Hebert *et al.*, 2003a; Márquez-Becerra, 2015). Esta técnica consiste en utilizar el gen mitocondrial que codifica para la Citocromo c oxidasa (*CO1*). Esta estrategia se ha empleado desde el 2004 como marcador universal para la identificación y separación de especies de metazoarios revolucionando disciplinas que incluyen la taxonomía, ecología, biología de la conservación, biogeografía, filogeografía y evolución, entre otras (Márquez-Becerra, 2015). El *CO1* se ha considerado la "Piedra de Rosetta" para la identificación de especies mediante criterios moleculares (*Molecular Operational Taxonomic Units*, MOTU, BIN's en inglés) (Bucklin *et al.*, 2010b). Al aumentar la disponibilidad y oportunidades de la nueva tecnología de secuenciación de próxima generación (máquinas NGS) que permite técnicas de secuenciación masiva de múltiples organismos al mismo tiempo, como el metacódigo de barras genético, de aquí en adelante mencionado como "metabarcoding" (en inglés) o NGS-Next Generation Sequencing (Taberlet *et al.*, 2012). Sin embargo, en el caso de los copépodos numerosos estudios requieren usar distintos oligonucleótidos a los Folmer (oligonucleótidos universales) por la baja proporción de éxito en la amplificación y secuenciación lo que ha resultado que distintos grupos taxonómicos de los copépodos tengan éxito o mayor proporción de éxito solo con ciertos tipos de oligonucleótidos (Hill *et al.*, 2001; Goetze & Bradford-Grieve, 2005; Papadopoulos *et al.*, 2005; Blanco-Bercial & Álvarez-Marques 2007; Bucklin *et al.*, 2010a; Goetze, 2011). Actualmente, múltiples genes pueden ser usados simultáneamente para complementar la información obtenida mediante el gen *CO1*, y así mismo superar la limitación presente en copépodos pelágicos para obtener su correspondiente código de barras. Este problema es derivado de la falta de oligonucleótidos universales en la Subclase

Copepoda y de un protocolo estandarizado de amplificación (PCR). El metabarcoding realizado con tecnología NGS permite obtener de miles a millones de lecturas de secuencia por amplicón y la longitud de las secuencias de lectura es mediante cortos fragmentos de estos genes (200–400 pb). Sin embargo, existe una limitación metodológica significativa al diseñar oligonucleótidos de estudios de metabarcoding porque varias especies requieren que los genes se amplifiquen en el mismo experimento de PCR. Por lo tanto, los oligonucleótidos deben ser altamente versátiles y amplificar numerosas regiones con una similar eficiencia para diferenciar entre especies biológicas distintas. El diseño apropiado de los oligonucleótidos y la estandarización de los perfiles de PCR disminuyen el riesgo de subestimar la biodiversidad y permite obtener bibliotecas de códigos de barras comparables en estudios de metabarcoding de diferentes regiones del mundo. La actual tecnología permite obtener el genoma completo de una especie de copépodo, pero actualmente es un método analítico costoso. Actualmente existen 11 genomas mitocondriales completos (Machida *et al.*, 2002; Jung *et al.*, 2006; Burton *et al.*, 2007; Minxiao *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2012; Weydmann *et al.*, 2017), los más utilizados con fines comparativos son los de dos especies de copépodos del género *Tigriopus*: *Tigriopus japonicus* (Machida *et al.*, 2002; Jung *et al.*, 2006) y *Tigriopus californicus* (Burton *et al.*, 2007), esto derivado de que sus genomas son más estables y presentan un mayor consenso en las secuencias de sus genes (Weydmann *et al.*, 2017), aun así, existen secuencias parciales de copépodos Calanoides como son las especies *Eucalanus bungii* y *Neocalanus cristatus* (Machida *et al.*, 2004).

En el presente estudio se revisó la eficacia de los oligonucleótidos publicados para copépodos (Hill *et al.*, 2001; Goetze & Bradford-Grieve, 2005; Papadopoulos *et al.*, 2005; Blanco-Bercial & Álvarez-Marques 2007; Bucklin *et al.*, 2010a; Goetze, 2011). Estos oligonucleótidos han mostrado distinto éxito de amplificación y secuenciación para la obtención de código de barras genéticos para ciertos grupos taxonómicos, aún no se ha demostrado su eficiencia en el grupo de Neocopepoda. Sin embargo, el uso de los oligonucleótidos “universales” para metazoarios (Folmer, 1994) han sido ineficaces al momento de obtener códigos de barras para los copépodos pelágicos (típica baja proporción de amplificación exitosa) (Prosser *et al.*, 2013; Elías-

Gutiérrez *et al.*, 2018). Por lo tanto, es necesario diseñar un grupo de oligonucleótidos para Neocopepoda y estandarizar el protocolo de PCR para este grupo taxonómico. Los resultados obtenidos con estos primers se compararon con los resultados previamente obtenidos de los copépodos recolectados en el Golfo de California usando primers universales de Folmer (Beltrán-Castro, 2011; Beltrán-Castro, 2014; Beltrán-Castro & Hernández-Trujillo, 2016) para inferir qué factores metodológicos y logísticos tienen mayor influencia en resultados insatisfactorios durante el proceso de amplificación del *gen CO1* en los copépodos calanoides. Los copépodos son altamente diversos con una estimación de 12,500 especies en el mundo (Schminke, 2007; Humes, 1994). A pesar de que los copépodos son extremadamente abundantes, el registro fósil es sumamente pobre debido a su pequeño tamaño y su fragilidad (Selden *et al.*, 2010). Recientemente se encontraron fragmentos de copépodos y otros crustáceos en una roca bituminosa clástica de una diamictita glacial del Carbonífero tardío (ca. 303 ma) de Omán oriental (Selden *et al.*, 2010). La combinación de setas geniculadas en el endópodo antenarior y la presencia de un exópodo en la alobasis colocan algunos de los restos de copépodos en el orden Harpacticoida, y específicamente la familia Canthocamptidae (Selden *et al.*, 2010); hasta la actualidad todavía no han podido consolidar, una clasificación y/o filogenia completamente satisfactoria del grupo Copepoda (Huys & Boxshall, 1991; Blanco-Bercial *et al.*, 2011; Eyun, 2017). Los pocos estudios genéticos y filogenéticos de los copépodos marinos actualmente limitados al análisis de algunos genes y/o secuencias parciales, por ejemplo, datos de secuencias de la subunidad ribosomal pequeña del DNA (18S), permitan en el futuro comprender y precisar la diversidad y sus relaciones filogenéticas de este exitoso grupo del zooplancton (Regier *et al.*, 2005; Selden *et al.*, 2010; Khodami *et al.*, 2017). Así mismo, existe una discusión y falta de consenso en la comprensión de las relaciones filogenéticas dentro de la Subclase Copepoda. Actualmente hay evidencia molecular que respalda la hipótesis del origen monofilético de los copépodos (Eyun, 2017). Sin embargo, las relaciones filogenéticas dentro de este grupo aún no están claras, lo que sigue siendo un enigma, en este sentido diferentes autores coinciden en 10 ordenes (Huys y Boxshall, 1991; Eyun, 2017) con

sus respectivas hipótesis filogenéticas, mientras que Ho *et al.* (2003) proponen un orden nuevo (Thaumatopsylloida) con un reacomodo en su cladograma.

Una vez que la identificación de las especies de los copépodos recolectados durante la serie semanal de zooplancton en el Parque Nacional de Cabo Pulmo recolectada durante 2014-2015 ha sido realizada mediante caracteres morfológicos diagnósticos reportados en la literatura y contrastados con métodos moleculares se obtuvo una mayor certidumbre en la correcta identificación de especies biológicas para hacer inferencias ecológicas pertinentes asociadas con las condiciones oceanográficas y climáticas ocurridas durante este periodo. La presente investigación es la primera serie de zooplancton en el noroeste de México (Palomares-García & Gómez-Gutiérrez, 1996; López-Ibarra & Palomares-García, 2006; De Silva-Dávila *et al.*, 2006; Lavaniegos *et al.*, 2012) en la cual sus especies fueron contrastadas con análisis moleculares para definir con precisión su identificación como especies biológicas.

HIPÓTESIS

La proporción de especies de copépodos pelágicos de afinidad tropical se incrementará y disminuirá su abundancia y biomasa durante 2015 bajo la influencia de El Niño 2015–2016 en comparación con el 2014 cuando ocurrió una onda de calor regional con el aumento de la temperatura y disminución de la concentración de la clorofila-*a* superficial del mar en relación a la serie 2002–2018 en el Parque Nacional de Cabo Pulmo.

OBJETIVO GENERAL

Establecer el grado de influencia de la temperatura y la concentración de clorofila-*a* superficial durante los años anómalamente cálidos de la onda de calor regional del 2014 y El Niño (2015) en la estructura de la comunidad, abundancia y la aportación en biomasa de especies de copépodos epipelágicos en el Parque Nacional de Cabo Pulmo.

OBJETIVOS PARTICULARES

- 1) Analizar las condiciones ambientales imperantes en el PCNP durante 2014-2015.
- 2) Detectar los clados genéticos de los copépodos pelágicos presentes en PNCP (2014–2015) inferidos con el gen *CO1*.
- 3) Diseñar oligonucleótidos específicos para el grupo Neocopepoda y estandarizar el protocolo de PCR para el gen *CO1*.
- 4) Establecer el nivel de correspondencia entre la identificación morfológica y la identificación molecular.
- 5) Analizar la estructura y variación temporal de la comunidad de copépodos en función con los cambios semanales de la abundancia de los grupos taxonómicos del zooplancton, la temperatura y concentración de clorofila-*a* superficial del mar obtenidos de telemetría satelital.
- 6) Estimar la variación de la riqueza, abundancia y biomasa específica expresada en Carbono en la serie de tiempo semanal durante 2014–2015 en PNCP.

MATERIALES Y MÉTODOS

Condiciones ambientales

Temperatura superficial del mar. La serie mensual de temperatura superficial del mar (TSM, SST en inglés, °C) se obtuvo del producto del sensor infrarrojo satelital Aqua de la NASA de 1 km² de resolución (https://podaac.jpl.nasa.gov/Multi-scale_Ultra-high_Resolution_MUR-SST). Los datos fueron promediados a partir de 64 píxeles localizados dentro del Polígono de 71 km² del Parque Nacional Cabo Pulmo durante el periodo del junio 2002 a diciembre 2018 (Figura 1a,b). La TSM se analizó utilizando el nivel 4 (L4) del multisensor de ultra alta resolución (MUR) llamado Grupo de alta resolución de la temperatura de la superficie del mar (GHRSSST, <http://www.ghrsst.org>) (Chin *et al.*, 2017).

Este producto de TSM tiene cobertura global con alta resolución espacial y temporal y no tiene problemas con la nubosidad. Esta característica lo hace ideal para estudios de procesos de pequeña y alta frecuencia en áreas costeras (Chin *et al.*, 2017). La TMS se filtró mediante el uso de un promedio mensual de orden 12 para eliminar la variabilidad estacional de acuerdo con Makridakis & Wheelwright (1978). Las anomalías mensuales de la TSM se calcularon sobre la base de los valores promedio mensuales para toda la serie de tiempo mensual de satélite (2002–2018) mostrando únicamente las anomalías de TSM del período de estudio 2014–2015. La anomalía de TSM de cada mes se calculó con la siguiente ecuación:

$$Z_{ij} = X_{ij} - Y_j$$

donde Z_{ij} es la anomalía de j mes en el año i , X_{ij} es el valor variable en el mes j de i año, Y_j es el valor promedio de TSM en el mes j .

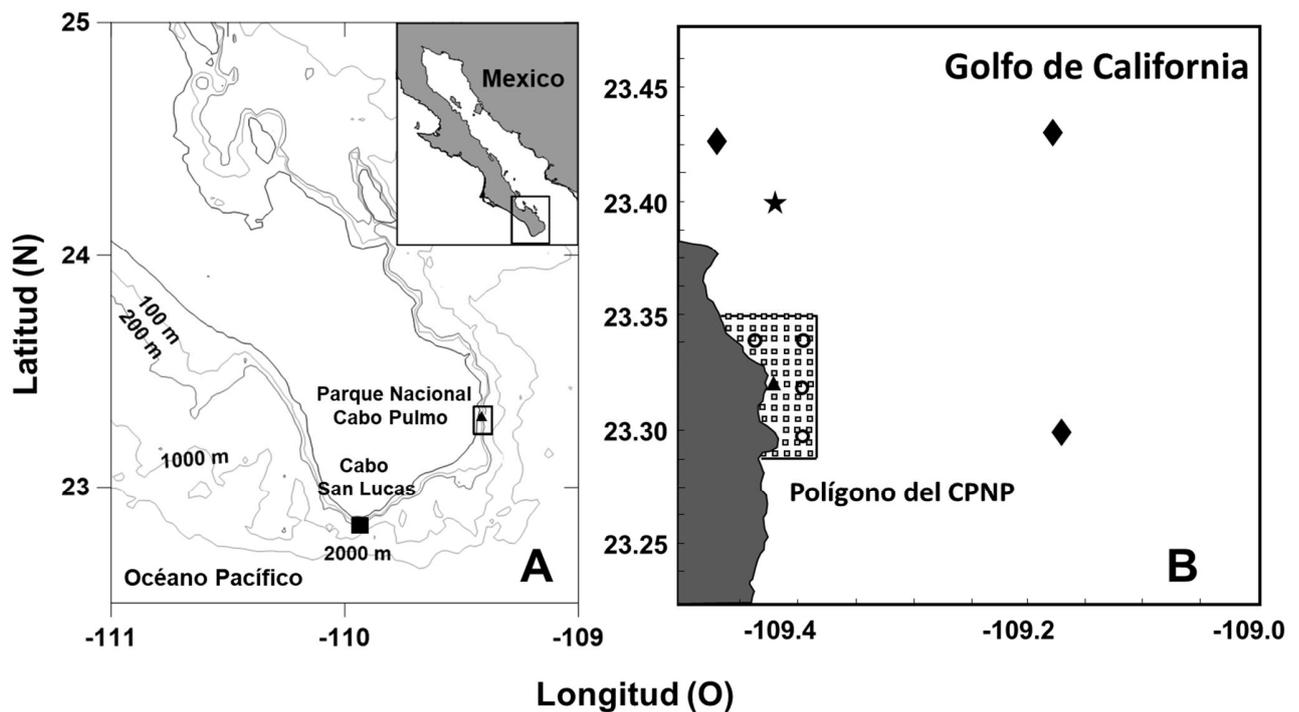


Figura 1. (A) Área de estudio que muestra el Parque Nacional Cabo Pulmo delimitado con un rectángulo, el cuadrado negro muestra la ubicación de la serie temporal de altura de marea modelada en Cabo San Lucas y el rectángulo el polígono del PNCP. (B) Área de estudio que muestra información biológica y satelital para series de tiempo ambientales durante 2014–2015. Los cuadrados grises son píxeles dentro del polígono del CPNP donde se extrajeron los datos de la TSM del satélite, los círculos blancos muestran las ubicaciones donde se obtuvo la concentración de clorofila-a superficial satelital, los tres rombos negros muestran las ubicaciones donde se extrajeron los datos de la velocidad y dirección del viento; la estrella negra indica la ubicación del perfilador de corriente acústico doppler (ADCP) localizada en Los Arbolitos. El triángulo negro en ambos mapas muestra la ubicación de la estación de muestreo de zooplancton en el Parque Nacional Cabo Pulmo, Baja California Sur, México.

Concentración de clorofila-a en la superficie del mar. Los datos de la concentración de clorofila-a en la superficie del mar (Chl-a, mg/m^3) se obtuvieron del producto satelital diario de 4×4 km de resolución promediando las concentraciones de Chl-a de los cuatro píxeles localizados dentro del polígono de 71 km^2 de PNCP durante el período de estudio (2014–2015) (Figura 1A,B). La concentración de Chl-a también es un producto L4, como SST-MUR, que no tiene problemas de con la turbidez del agua marina en aguas costeras. La concentración semanal de la Chl-a de la superficie del

mar se obtuvo del sitio web COPERNICUS de la Agencia Espacial Europea (ESA, https://www.esa.int/Our_Activities/Observing_the_Earth/Copernicus).

Las anomalías mensuales de la concentración de Chl-*a* en la superficie del mar durante 2014–2015 fueron calculadas con base en los valores promedio mensuales para toda la serie de tiempo satelital (2002–2018) con el mismo método como se estimaron las anomalías mensuales de la temperatura superficial del mar.

Velocidad y dirección del viento. La dirección promedio diaria de los componentes del viento u y v registrados a 10 m sobre la superficie del mar se obtuvo del NOAA-NCEP North American Regional Reanalysis (NARR, <https://www.esrl.noaa.gov/psd/data/gridded/data.narr.monolevel.html>). Estos datos de velocidad y dirección del viento tienen una resolución de 33×33 km seleccionando datos de tres píxeles con registro de datos diarios ubicados en la región adyacente al polígono del Parque Nacional Cabo Pulmo (Figura 1B). La velocidad del viento (m/seg) se estimó calculando la hipotenusa del componente zonal (u) y componente meridional (v) proveídos en los datos satelitales.

Velocidad y dirección de las corrientes marinas. Se utilizó un Perfilador de Corriente Acústico Doppler (ADCP, *Acoustic Doppler Current Profiler* en inglés, NORTEK Aquadopp) para medir la velocidad y dirección de la corriente del mar en diferentes capas de profundidad en el PNCP ($23^{\circ} 24.501$ 'N, $-109^{\circ} 25.005$ 'O). Este método funciona basado en la transmisión de pulsos de sonido de frecuencia de 200 kHz producidos por los transductores del instrumento (Figura 1B). El ADCP registra la posición y la velocidad de las partículas suspendidas y del plancton que se mueven en promedio a la misma velocidad y dirección que las corrientes marinas para inferir la velocidad y la dirección de la corriente de agua de mar en la columna de agua en la que penetra el haz de sonido (Torres-Hernández, 2017).

Torres-Hernández (2017) realizó el análisis de este conjunto de datos de corriente marítima con el paquete *U_Tide* del software MATLAB calculando un análisis

armónico que reconstruye las series temporales de velocidad y dirección de la corriente marina utilizando los componentes obtenidos del análisis descrito en Codiga (2011). Para estandarizar las mediciones, se realizó una interpolación en la columna de agua a profundidades entre 3–13 m (Torres-Hernández, 2017) aunque aquí solo se muestran los datos entre 3–5 m de profundidad en la cual fue aproximadamente hasta donde alcanzó a muestrear la red de zooplancton.

Amplitud de marea. La amplitud de las mareas diarias (intervalo de marea) se calculó de las predicciones del modelo de la altura de la superficie del mar de la marea de la región de Cabo San Lucas, ubicada a 78 km al sur de PNCP (CICESE, <http://predmar.cicese.mx>) (Figura 1A). La amplitud de la marea permite detectar períodos bajo la influencia de las mareas vivas (valores diarios por encima del promedio a largo plazo asociado con corrientes de marea más fuertes) y mareas muertas (valores diarios por debajo del promedio a largo plazo asociado con corrientes de marea más débiles).

Índice multivariado ENSO y PDO. El índice multivariado bimensual de El Niño Oscilación del Sur (ENSO) (índice MEI V.2) del periodo 2014-2015 fue obtenido de la base de datos de la NOAA *Physical Sciences Division* localizada en el sitio web (<https://www.esrl.noaa.gov/psd/enso/mei/>). El Índice de Oscilación Decadal del Pacífico (DOP) se obtuvo del grupo *Global Climate Observing System* (GCOS) de la NOAA sobre zonas de presión superficial en el sitio web (<https://www.esrl.noaa.gov/psd/gcos wgsp/Timeseries/PDO/>). Los datos bimensuales del MEI y PDO se obtuvieron del período de estudio 2014–2015.

Análisis molecular

Protocolo Estándar de BOLDSystems. Los copépodos, o parte de ellos, de las especies identificadas mediante criterios morfológicos diagnósticos se colocaron en una placa estándar de 96 pozos manipulados con pinzas entomológicas previamente esterilizadas siguiendo el protocolo de Ratnasingham & Hebert (2007). En cada ocasión, las pinzas fueron esterilizadas con el fuego de un mechero de alcohol para evitar la posible contaminación cruzada de especímenes colocados en distintos pozos de la placa. Este procedimiento fue asociado con la asignación de coordenadas en la placa, empezando con A1 hasta A12, B1 hasta B12 y así sucesivamente terminando con el pozo H12.

La extracción de ADN fue realizada del tejido de muestras completas utilizando la técnica "Hot-Shot" descrita por Truett *et al.* (2000). Primero se preparó una solución de lisis (NaOH 100 mM; EDTA disódico 0.26 mM) agregando la solución a la muestra completa y se incubó a 95°C durante 30 minutos. Posteriormente se agregó 20 µl de Tris-HCl 40 mM. Finalmente se separó el espécimen (exoesqueleto) de la solución para análisis morfológico posterior. Para la amplificación del gen (*CO1*) se siguió el protocolo estándar propuesto por Hajibabaei *et al.* (2005) utilizando los oligonucleótidos LCO1490 (GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG) y HCO2198 (TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA) (Folmer *et al.*, 1994) obteniéndose un amplicón entre 600 a 658 pb del *gen CO1*. La mezcla de reacción del PCR contenía un estabilizador de trehalosa al 10%, agua ultra pura, buffer 10X para PCR, MgCl₂ 50 mM, oligonucleótido LCO1490 10 µM, oligonucleótido HCO2198 10 µM, dNTP's 10 mM, Taq polimerasa 5 U y 2.0 µl de la plantilla de ADN. Se utilizó el siguiente perfil de amplificación: desnaturalización inicial a 94°C 1 min, seguido de 30-35 ciclos de desnaturalización 94°C durante 30 s, de alineación 53°C durante 40 s, y de extensión 72°C durante 1 min; con una extensión final a 72°C durante 10 min, seguido de espera indefinida a 4°C (Elías-Gutiérrez & Valdez-Moreno, 2008). Los productos de PCR fueron visualizados en geles de agarosa al 2%, revelados con bromuro de etidio. Los productos que mostraron una amplificación exitosa fueron seleccionados para ser

secuenciados bidireccionalmente en el Instituto de Biología de la UNAM (Ciudad de México) y en MacroGen (Corea del Sur, <https://dna.macrogen.com>).

Primers usados en copéodos. Los copéodos se han estudiado genéticamente con distintos oligonucleótidos con una variada proporción de éxito en la amplificación y secuenciación de los genes analizados (Hill *et al.*, 2001; Goetze & Bradford-Grieve, 2005; Papadopoulos *et al.*, 2005; Blanco-Bercial & Álvarez-Marques 2007; Bucklin *et al.*, 2010a; Goetze, 2011). Motivado por el problema analítico del bajo éxito de amplificación obtenido en estudios previos se realizó una búsqueda bibliográfica de todos los oligonucleótidos que se han utilizado para la amplificación de la región parcial del gen *CO1* (código de barras) en la Subclase Copepoda (Tabla 1). A partir de esto se realizó un alineamiento con secuencias de regiones del gen *CO1* registradas en los bancos de genes públicos (NCBI y BOLDSystem) de los diferentes grupos taxonómicos que pertenecen a Neocopepoda utilizando el programa Mega (Kumar *et al.*, 2018). El genoma mitocondrial completo del copéodo intermareal *Tigriopus californicus* (GenBank DQ913891) fue utilizado como referencia para obtener el gen *CO1* completo y poder inferir un marco de lectura correcto (Burton *et al.*, 2007). Se identificó el gen *CO1* completo y se determinó la región parcial a amplificar (código de barras). Se utilizaron como grupos externos secuencias de cangrejo herradura (*Limulus polyphemus*: GenBank AF216203.1 y NC_003057.1) y del ciempiés (*Lithobius forficatus*: GenBankAJ270997.1 y *Scutigera coleoptrata*: GenBank AJ507061.2). En el presente estudio se analizaron las secuencias parciales (códigos de barras) de 27 especies de copéodos pelágicos recolectados en el Golfo de California (Beltrán-Castro & Hernández-Trujillo, 2016) (Tabla 2) y 151 secuencias publicadas del *CO1* disponibles en bases de datos públicas de genes de copéodos pelágicos, parásitos y bentónicos (Anexo 2). Posteriormente se identificó el marco de lectura y se procedió a realizar la traducción de las bases nucleotídicas a aminoácidos, así mismo se seleccionaron los oligonucleótidos que flanquean el lugar de interés del código de barras con ayuda del Software MEGA X (versión 10.1, <https://www.megasoftware.net/>) (Kumar *et al.*, 2018).

Tabla 1. Oligonucleótidos publicados para amplificar el gen COI de las especies de copépodos que han demostrado obtener resultados exitosos.

Taxón	Nombre	Secuencia (5' - 3')	Referencia
Copepoda	Cop-COI-2189R	GGGTGACCAAAAAATCARAA	Bucklin <i>et al.</i> (2010a)
Copepoda	Cop-COI-1498F	AAYCATAAAGAYATYGGDAC	Bucklin <i>et al.</i> (2010a)
Copepoda	Cop-COI-2105R	CGRTCHGTHARNARYATDGAATDGC	Bucklin <i>et al.</i> (2010a)
Copepoda	Crus-COI-2198R	CCHACDGTAAAYATRTGRTG	Bucklin <i>et al.</i> (2010a)
Copepoda	Crus-COI-2428R	TTAATHCCHGTDGGNACVGAAT	Bucklin <i>et al.</i> (2010a)
Copepoda	HCO-Co-2358	CCHACDGTAAAYATRTGRTG	Bucklin <i>et al.</i> (2010b)
Eucalanidae	COI_RNI	GTAGT(AGCT)GTAAC(AT)GCTCATGC	Goetze & Bradford-Grieve (2005)
Eucalanidae	COI_VH	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	Goetze & Bradford-Grieve (2005)
<i>Clausocalanus</i>	No name	GAGCCTGGTCAGGAATAATCG	Blanco-Bercial & Álvarez-Marques (2007)
<i>Clausocalanus</i>	No name	GGTCTCCTCCTCCTCCAACAT	Blanco-Bercial & Álvarez-Marques (2007)
Calanoida	LCO-1703	CTATTTGATTGGAGGATTTGG	Hill <i>et al.</i> (2001)
Calanoida	LCO-1719	GGATTTGGTAACTGATTAGTGCC	Hill <i>et al.</i> (2001)
Calanoida	H2612-COI	AGGCCTAGGAAATGTATAGGGAAA	Figuerola (2011)
Calanoida	L592-RCOI	AACCTTAATACATCTTTTTATGATG	Figuerola (2011)
<i>Pleuromamma</i>	PLXI_VH	CCAAACGTTTCTTTCTTCCC	Goetze (2011)
<i>Pleuromamma</i>	PLXI_VL	TCAGCCAGGGTCTTTAATTGG	Goetze (2011)
<i>Calanus helgolandicus</i>	ChelgCOI-F	GGCCAAAACAGGGAGAGATA	Papadopoulos <i>et al.</i> (2005)
<i>Calanus helgolandicus</i>	ChelgCOI-R	CGGGACTCAGTATAATTATTCGTCTA	Papadopoulos <i>et al.</i> (2005)
Animalia (Universales)	HCO 2198 R	TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA	Folmer <i>et al.</i> (1994)
Animalia (Universales)	LCO 1490	GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG	Folmer <i>et al.</i> (1994)
Fresh water crustaceans	ZplankF1_t1	TGTA AACGACGGCCAGTTCTASWAATCATAARGATATTGG	Prosser <i>et al.</i> (2013)
Fresh water crustaceans	ZplankR1_t1	CAGGAAACAGCTATGACTTCAGGRTGRCCRAARAATCA	Prosser <i>et al.</i> (2013)
Invertebrados marinos	Nancy	CCCGGTA AAAATTA AAAATATAAACTTC	Simon <i>et al.</i> (1994)
Copépodos parásitos y calanoides	Coxf	GGTCCTGTAATCATAAAGAYATYGG	Cheng <i>et al.</i> (2013)
Copépodos parásitos y calanoides	Coxr1	GCG ACT ACA TAA GTR TCR TG	Cheng <i>et al.</i> (2013)
Copépodos parásitos y calanoides	Coxr2	TCT ATC CCA ACT GTA AAT ATR TGR TG	Cheng <i>et al.</i> (2013)
Zooplankton	ICO140U	TCAACAAATCATAARGAYATHGG	Cheng <i>et al.</i> (2013)
Zooplankton	ICO820L	CACTTCNNGGGTGACCRAARAAYCA	Cheng <i>et al.</i> (2013)
Caligidae	WOBCOIF	AGWGGRTTTTGATCHGGNYT	Øines & Heuch (2005)
Caligidae	WOBCOIR	GGRTCAAAAAAYSTDGTRTTTA	Øines & Heuch (2005)

Tabla 2. Especies de copépodos que se obtuvieron exitosamente secuencias de una región del *gen* CO1 (código de barras) utilizadas para hacer las alineaciones con el resto de las secuencias y oligonucleótidos previamente reportados (Beltrán-Castro & Hernández-Trujillo, 2016).

Orden	Familia	Especies	No. Acceso de BOLDSystems
Calanoida	Acartidae	<i>Acartia danae</i> (Giesbrecht 1889)	BALAP065-11
	Aetideidae	<i>Aetideus armatus</i> (Boeck 1872)	PDMX047-11
	Calanidae	<i>Undinula vulgaris</i> (Dana 1852)	BAPAZ143-11
		<i>Canthocalanus pauper</i> (Giesbrecht 1888)	BAPAZ180-11
	Paracalanidae	<i>Acrocalanus gibber</i> (Giesbrecht 1888)	BAPAZ164-11
		<i>Paracalanus parvus</i> (Claus 1863)	BAPAZ156-11
	Calocalanidae	<i>Calocalanus pavo</i> (Dana 1849)	BALAP075-11
	Candaciidae	<i>Candacia curta</i> (Dana 1849)	BALAP086-11
		<i>Candacia simplex</i> (Giesbrecht 1889)	PDMX077-11
	Centropagidae	<i>Centropages furcatus</i> (Dana 1849)	PDMX028-11
	Eucalanidae	<i>Pareucalanus sewelli</i> (Fleminger 1973)	BALAP009-11
		<i>Rhincalanus nasutus</i> (Giesbrecht 1888)	BAPAZ084-10
		<i>Subeucalanus mucronatus</i> (Giesbrecht 1888)	BAPAZ168-11
		<i>Subeucalanus subcrassus</i> (Giesbrecht 1888)	BAPAZ157-11
		Clausocalanidae	<i>Clausocalanus furcatus</i> (Brady 1883)
	Pontellidae	<i>Calanopia elliptica</i> (Dana 1849)	BALAP092-11
		<i>Labidocera johnsoni</i> (Fleminger 1964)	PDMX092-11
		<i>Labidocera acutifrons</i> (Dana 1849)	PDMX075-11
		<i>Labidocera acuta</i> (Dana 1849)	PDMX076-11
		<i>Pontellopsis armata</i> (Giesbrecht 1889)	BAPAZ118-11
		<i>Pontellopsis occidentalis</i> (Esterly 1906)	BAPAZ284-12
		<i>Pontellina plumata</i> (Dana 1849)	BALAP007-11
	Euchaetidae	<i>Euchaeta indica</i> (Wolfenden 1905)	PDMX064-11
Temoridae	<i>Temora discaudata</i> (Giesbrecht 1889)	BAPAZ115-11	
Poecilostomatoida	Sapphirinidae	<i>Copilia mirabilis</i> (Dana 1849)	BAPAZ123-11
		<i>Sapphirina intestinata</i> (Giesbrecht 1891)	BALAP008-11
		<i>Sapphirina scarlata</i> (Giesbrecht 1892)	BAPAZ179-11

Extracción de ADN y optimización del protocolo de PCR para oligonucleótidos publicados.

Los oligonucleótidos Cop-CO1-1498F, Cop-CO1 2105R, Crus-CO1-2189R, SNF, SNR y los oligonucleótidos universales LCO-1490F y HCO-2198R fueron usados para evaluar y optimizar el protocolo de PCR. Primero se utilizó el protocolo de PCR recomendado por BOLDSystems (Ratnasingham & Hebert, 2007). Posteriormente se modificó el protocolo de PCR con un gradiente de temperatura alineado a las distintas temperaturas de alineación (TM) de diferentes pares de oligonucleótidos como se muestra a continuación: 1) activación de polimerasa: 95°C durante 3 min; 2) ciclos térmicos: 30 ciclos, desnaturalización: 95° C durante 40 s, gradiente alineación: 40, 43, 46, 49, 52, 55°C durante 40 s, elongación: 72°C durante 30 s; 3) extensión: 72°C durante 2 min, y 4) almacenamiento a 4°C, indefinido.

Las combinaciones de oligonucleótidos SNF/SNR, Cop-CO1-1498F/Crus-CO1-2189R, Cop-CO1-1498F/Cop-CO1 2105R, LCO-1490F/Cop-CO1 2105R, SNF/HCO-2198R, LCO-1490F/SNR, LCO-1490F/HCO-2198R fueron seleccionados para realizar las pruebas experimentales para un PCR anidado usando los productos obtenidos de los oligonucleótidos “*universales*” (PCR1) como plantillas. Posteriormente se llevó a cabo una re-amplificación (PCR2) usando las diferentes combinaciones incluyendo re-amplificación una con los oligonucleótidos “*universales*”. Los productos de PCR se analizaron posteriormente usando electroforesis en gel de agarosa (2%) seguido de visualización bajo luz ultravioleta (UV).

Diseño de oligonucleótidos. Una vez verificado que los oligonucleótidos utilizados en investigaciones de artículos publicados no amplificaron para todas las especies del presente estudio, se prosiguió con la fase de diseño de oligonucleótidos. Cabe señalar que las especies del Golfo de California que no amplificaron con estas pruebas no han amplificado en múltiples intentos previos. Para este paso se realizó el alineamiento previo considerando los siguientes criterios: marco de lectura, número de puentes de hidrógeno (como indicador de la fuerza de atracción intermolecular) entre T-A (con dos puentes de hidrógeno) vs C-G (con tres puentes de hidrógeno). Para este análisis, además se ubicaron todos los oligonucleótidos reportados de las especies de

copépodos reportados en la literatura para hacer alineamientos con cada una de las especies (Tabla 1), así como con las secuencias obtenidas de GenBank (Anexo 2). El primer paso fue hacer un consenso de las secuencias en todas las regiones donde se alinearon los primers publicados. Posteriormente, considerando el marco de lectura se seleccionó el inicio y fin del consenso que se tomaría para la secuencia del oligonucleótido. En todos los casos se intentó en la manera de lo posible el menor nivel de degeneración y de longitud de las secuencias, y así poder obtener los mejores pares para igualar las temperaturas de alineación. Por último, una vez obtenidos los primers evaluados en función de su secuencia se eliminaron aquellas que no cumplían con las siguientes características buscadas: flanquear la región de interés, estar ubicados en las regiones consenso, el marco de lectura no afectara la traducción del aminoácido.

Identificación molecular de las especies de copépodos. Las secuencias de las especies de copépodos obtenidas fueron alineadas con el programa MEGA X (versión 10.1, <https://www.megasoftware.net/>) (Kumar *et al.*, 2018) realizando la alineación a 550 pares de bases con Clustal por codones. Posteriormente, se construyeron los árboles de similitud utilizando el método estadístico de Máxima Verosimilitud, con un Bootstrap de 1000 repeticiones y calculando las distancias genéticas con el modelo de dos parámetros de Kimura (K2P) recomendado por el protocolo de BOLDSsystem (Ratnasingham & Hebert, 2007).

Análisis de la comunidad

Colecta de zooplancton. Se recolectaron semanalmente 81 muestras de zooplancton en el Parque Nacional Cabo Pulmo, Baja California Sur, México (23° 27 'N, -109° 25' O) durante enero de 2014 y diciembre de 2015 (Figura 1A,B). El mesozooplancton se recolectó utilizando una red de zooplancton cónica simple (diámetro de boca de 60 cm; red de malla 300 µm de luz de malla) remolcada con embarcación tipo panga con motor fuera de borda en círculo cerca de la superficie (<5 m de profundidad) durante diez minutos (Smith & Richardson, 1977). Esta fue la misma metodología utilizada en cuatro

series de tiempo de zooplancton realizadas en el noroeste de México donde se reportó la abundancia mensual de copépodos (Palomares-García & Gómez-Gutiérrez, 1996; De Silva-Dávila *et al.*, 2006; López-Ibarra & Palomares-García, 2006; Lavaniegos *et al.*, 2012). Las muestras de zooplancton se recolectaron durante el día (08:30-18:00 h) pero el 79% de las muestras de zooplancton se recolectaron antes del mediodía. La red de zooplancton estaba equipada con un flujómetro digital calibrado General Oceanics (modelo 2030R6) para estimar el volumen de agua de mar filtrada para estandarizar la abundancia de distintos grupos taxonómicos del zooplancton y especies de copépodos expresada en número de individuos por 1000 metros cúbicos (ind./1000 m³) (Smith & Richardson, 1977).

Las muestras de zooplancton se filtraron en un tamiz de 300 µm para eliminar el agua de mar y se preservaron en etanol no desnaturalizado al 96% con un cambio completo de etanol después de 24 h. El biovolumen de zooplancton se midió utilizando el método estándar de volumen desplazado (Beers, 1976). Todos los grupos taxonómicos de zooplancton se identificaron y contaron a partir de tres alícuotas de 10 ml consecutivas (sin reemplazo) obtenidas agitando la muestra para homogenizarla con una pipeta Stempel calibrada (capacidad de 10 ml). Las alícuotas se obtuvieron de un volumen total conocido de 250 ml de muestra de zooplancton y etanol. Los individuos de cada grupo taxonómico de zooplancton (Phylum a nivel orden) se contaron desde la primer alícuota. En las otras dos alícuotas se contaron solo organismos de distintos grupos taxonómicos de zooplancton no observados en las alícuotas previas. El número total de muestras contadas por grupo taxonómico de zooplancton se extrapolaron al número de alícuotas tomadas y luego se volvió a extrapolar al volumen total de la muestra original de zooplancton de 250 ml. La abundancia estandarizada de cada grupo taxonómico de zooplancton (ind. /1000 m³) se estimó posteriormente dividiendo el número total de especímenes contabilizados en la alícuota de zooplancton entre el volumen de agua de mar filtrada de cada fecha de muestreo estimada y multiplicado por 1000 utilizando el método estándar de Smith & Richardson (1977).

Abundancia de copéodos. Se tomaron alícuotas de las muestras conservadas usando una pipeta Stempel calibrada con capacidad de 12.5 ml. Todos los copéodos adultos se identificaron a nivel de especie y se contaron utilizando características morfológicas diagnósticas externas siguiendo las claves dicotómicas de identificación de especies (Giesbrecht, 1892; Mori, 1937; Davis, 1949; Fleminger, 1964b, 1967a; Chen & Shen, 1974; Campos & Suárez, 1994; Palomares-García *et al.*, 1998; Razouls *et al.*, 2019). La abundancia estandarizada de los copéodos adultos (ind./1000 m³) se estimó con el número de copéodos colectados en la muestra por el factor de fraccionamiento de la alícuota dividido entre el volumen de agua de mar filtrada de cada fecha de muestreo y multiplicado por 1000 (Smith & Richardson, 1977). Las anomalías mensuales de la abundancia estandarizada de los copéodos se calcularon con base en los valores promedio mensuales de 2014-2015.

Ordenamiento ecológico y análisis estadístico. Los datos se procesaron mediante un Análisis de Agrupamiento de dos vías (*Two-ways Cluster Analysis*, en inglés) y Análisis de Correspondencia Canónica (*Canonical Correspondence Analysis*, CCA, en inglés) con el programa PC-ORD v.6 (McCune & Mefford, 2011). Estos análisis estadísticos se realizaron utilizando dos matrices: (1) una de especies para la abundancia estandarizada de cada especie de copéodos (ind./1000 m³), (2) otra de variables ambientales incluyendo la TSM (°C), concentración de Chl-*a* superficial del mar (mg Chl-*a*/m³), velocidad (m/s) y dirección (grados) del viento superficial y de las corriente superficial del mar, amplitud de la altura de la marea diaria, PDO, índice MEI y la abundancia estandarizada de cada grupo taxonómico del zooplancton (ind./1000 m³). Las abundancias de copéodos se transformaron $\log(x+1)$ y todas las variables ambientales se relativizaron por columna utilizando el programa PC-ORD v.6 para evitar dar más peso (sesgo) a cualquier variable ambiental dependiendo del rango natural de variabilidad de las unidades de cada variable (McCune & Mefford, 2011). El análisis de agrupamiento de dos vías de la abundancia de todas las especies de copéodos recolectadas a lo largo de la serie temporal de zooplancton 2014-2015 se calculó con la medida de proximidad de distancia de Bray-Curtis debido a que es el método más robusto para analizar datos ecológicos (McCune & Mefford, 2011) usando el método de vinculación de grupos con un parámetro Beta flexible de -0.25 porque la

distancia entre estos puede variar y, en consecuencia, aumentar la agrupación de los elementos (McCune & Grace, 2002).

El Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) (Ter Braak, 1986) se realizó para explorar la variabilidad temporal de la abundancia de las especies de copépodos en función de los gradientes de las variables ambientales (incluida la abundancia del resto de los grupos taxonómicos de zooplancton). La ordenación de las unidades de muestreo de zooplancton y las especies de copépodos se orientaron en relación con las variables ambientales. Los análisis estadísticos incluyen exclusivamente las especies de copépodos más frecuentes y abundantes que representaron >1% de la abundancia relativa de los copépodos recolectados durante la serie de tiempo de zooplancton 2014-2015.

Se probaron tres hipótesis con el Procedimiento Permutacional de Multi-Respuesta (MRPP) para demostrar si existen diferencias significativas en la abundancia, frecuencia de aparición de la estructura de la comunidad de copépodos comparando entre la estación fría (diciembre-mayo) vs. cálida (junio-noviembre) de ambos años definidos por Hidalgo-González & Álvarez-Borrego (2004); entre el periodo anómalamente cálido de enero-agosto asociado con la onda de calor regional 2014 vs el corto periodo con anomalías negativas (septiembre-octubre 2014) vs noviembre 2014 a diciembre 2015 asociado con el evento ecuatorial de El Niño 2015, y entre períodos con mareas vivas vs. mareas muertas. La técnica MRPP se utilizó aplicando la medida de distancia Bray-Curtis, la opción de enlace $[n/\sum(n)]$, y posteriormente realizando la transformación de rango de la matriz ambiental de distancia. MRPP tiene la ventaja de no requerir supuesto de normalidad multivariada y homogeneidad de la variancia que rara vez se cumplen usando datos de comunidades ecológicas debido al problema de truncamiento cero (McCune *et al.*, 2002). El MRPP proporciona un descriptor estadístico (A) de la homogeneidad dentro del grupo en comparación con la expectativa aleatoria y la probabilidad de significancia.

En las comparaciones donde el MRPP fueron significativamente distintas entre sí, la especie que causó estas diferencias se infirió mediante el Análisis de Especies

Indicadoras (ISA) que describe la fidelidad de cada una de las especies presentes en el grupo de unidades de muestreo consideradas de acuerdo con los criterios de contraste de cada una de las tres hipótesis nulas propuestas para el análisis MRPP. Por ejemplo, si existen diferencias significativas en la estructura de la comunidad de copépodos comparando entre la estación fría (diciembre-mayo) vs. cálida (junio-noviembre) de ambos años. El método ISA calcula la fidelidad de ocurrencia de una especie en un grupo de unidades de muestreo semanales definidas por las tres hipótesis nulas contrastadas con el MRPP. El valor más alto del indicador de especie para cada especie se probó para la significancia estadística utilizando una técnica de Monte Carlo (Dufrene & Legendre, 1997; McCune *et al.*, 2002). Los valores del indicador varían de cero (sin indicación) a 100% (indicación perfecta). La indicación perfecta significa que la presencia de una especie de copépodo está representada en un grupo de unidades de muestreo significativamente más abundante en comparación con otro grupo de unidades de muestreo (sin error).

Biomasa de copépodos. La biomasa de las especies de copépodos con > 1% de la abundancia relativa de los copépodos fue estimada para explorar la variabilidad interespecífica de la biomasa de los copépodos (Tabla 3). La abundancia estandarizada (ind./1000 m³) se convirtió en biomasa de carbono (mg C/1000 m³) de cada especie usando distintas ecuaciones de regresión peso-longitud para cada especie previamente publicadas, usualmente expresada en peso seco (Tabla 4). La biomasa de las especies de copépodos más abundantes se expresó en términos de peso de Carbono expresado en porcentaje (%) y mg C/1000 m³. Cuando las ecuaciones de regresión peso-longitud solo estaban disponibles únicamente para estimar el peso seco de una especie, se asumió que el peso de carbono de los copépodos equivale al 45% del peso seco (Gómez-Gutiérrez & Peterson, 1999). La longitud del prosoma de los copépodos se midió en > 30 especímenes adultos de cada especie de copépodo recolectados en PNCP para calcular su longitud de prosoma promedio (Tabla 4).

Tabla 3. Biomasa promedio de cada individuo adulto de cada especie de copépodo expresada en peso seco (DW, μg / ind.) y peso de carbono (CW, $\mu\text{gC/ind.}$); longitud del prosoma de las 21 especies de copépodos numéricamente dominantes ($> 1\%$ de abundancia total de copepodos que en conjunto sumaron el 94.9% de la abundancia total de copépodos) recolectada en el Parque Nacional Cabo Pulmo durante 2014–2015. Los pesos secos y de carbono de los copépodos se estimaron utilizando las ecuaciones de regresión Peso-Longitud publicadas que se muestran en la Tabla 4. DW = peso seco, CW = peso de carbono, PL = Longitud del prosoma (μm).

Especies	DW ($\mu\text{g/ind.}$)	CW ($\mu\text{g C/ind.}$)	PL (μm)
<i>Oncea venusta</i>	3.2	1.3	687.5
<i>Paracalanus parvus</i>	7.9	3.2	802.5
<i>Clausocalanus jobei</i>	10.0	4.0	872.5
<i>Canthocalanus pauper</i>	28.6	8.3	1145
<i>Subeucalanus subtenuis</i>	277.9	111.2	2687.8
<i>Subeucalanus subcrassus</i>	130.0	52.0	2035
<i>Centropages furcatus</i>	31.8	3.4	1162.5
<i>Undinula vulgaris</i>	17.3	6.9	1995
<i>Acrocalanus gibber</i>	3.2	1.3	770
<i>Temora discaudata</i>	68.4	6.9	1057.5
<i>Corycaeus crassiusculus</i>	3.0	1.2	652.5
<i>Clausocalanus furcatus</i>	6.3	2.5	740
<i>Euchaeta indica</i>	105.0	42.0	1635
<i>Labidocera diandra</i>	15.0	6.0	2210
<i>Oithona plumifera</i>	2.9	1.1	757.5
<i>Corycaeus speciosus</i>	7.4	3.0	1112.5
<i>Corycaeus catus</i>	3.5	1.4	710
<i>Calanopia elliptica</i>	13.5	5.4	870
<i>Acartia clausi</i>	96.9	0.5	757.5
<i>Subeucalanus pileatus</i>	74.9	30.0	1662.5
<i>Calocalanus pavo</i>	6.5	2.6	790

Tabla 4. Ecuaciones de regresión Peso-Longitud (L = longitud total, PL = longitud del prosoma) de copépodos utilizadas para estimar la biomasa específica expresada en peso seco (DW) o peso de carbono (C) de cada especie con >1% de la abundancia total de copépodos de copépodos recolectados en el Parque Nacional Cabo Pulmo durante 2014–2015.

Especies	Ecuaciones Peso-Longitud	Referencias
<i>Oncaea venusta</i>	$\text{Ln DW} = 1.96 \times \text{Ln L} - 11.64$	Chisholm & Roff (1990)
<i>Paracalanus parvus</i>	$\text{Ln DW} = 2.78 \times \text{Ln L} - 16.52$	Webber & Roff (1995)
<i>Clausocalanus jobei</i>	$\text{Ln DW} = 2.78 \times \text{Ln L} - 16.52$	Webber & Roff (1995) <i>Clausocalanus</i> spp.
<i>Mendigo Canthocalanus</i>	$\text{Log DW} = 2.66 \times \text{Log PL} - 6.68$; $\text{Log C} = 3.378 \times \text{Log PL} - 9.416$	Uye (1988) <i>Calanus sinicus</i>
<i>Subeucalanus subtenuis</i>	$\text{Ln DW} = 2.73 \times \text{Ln L} - 15.93$	Webber & Roff (1995) Calanoides combinados
<i>Subeucalanus subcrassus</i>	$\text{Ln DW} = 2.73 \times \text{Ln L} - 15.93$	Webber & Roff (1995) Calanoides combinados
<i>Centropages furcatus</i>	$\text{DW} = 26.11 \times \text{PL}^{1.31}$; $\text{C} = 2.9 \times \text{PL}^{1.11}$	Hernández-Trujillo <i>et al.</i> (2013)
<i>Undinula vulgaris</i>	$\text{DW} = 120 \times \text{PL}^{0.52}$, $\text{C} = 14\text{PL}^{0.52}$	Hernández-Trujillo <i>et al.</i> (2013)
<i>Acrocalanus gibber</i>	$\text{Ln W} = 2.26 \times \text{Ln CL} - 13.85$	Satapoomin (1999)
<i>Temora discaudata</i>	$\text{DW} = 62 \times \text{PL}^{1.01}$; $\text{C} = 6.4 \times \text{PL}^{1.01}$	Hernández-Trujillo <i>et al.</i> (2013)
<i>Corycaeus crassiusculus</i>	$\text{Ln DW} = 1.7 \times \text{Ln L} - 9.92$	Chisholm & Roff (1990)
<i>Clausocalanus furcatus</i>	$\text{Ln DW} = 2.78 \times \text{Ln L} - 16.52$	Webber & Roff (1995) <i>Clausocalanus</i> spp.
<i>Euchaeta indica</i>	$\text{Log C} = 2.45 \times \text{Log L} - 6.25$	Uye (1982) <i>Euchaeta plana</i> y <i>Euchaeta concinna</i>
<i>Labidocera diandra</i>	$\text{DW} = 52.3 \times \text{PL}^{0.57}$; $\text{C} = 47.22 \times \text{PL}^{0.57}$	Hernández-Trujillo <i>et al.</i> (2013) <i>Labidocera johnsoni</i>
<i>Oithona plumifera</i>	$\text{Log DW} = 1.84 \times \text{Log L} - 4.84$; $\text{Log C} = 1.45 \times \text{Log L} - 4.25$	Uye (1982) <i>Oithona similis</i>
<i>Corycaeus speciosus</i>	$\text{Ln DW} = 1.7 \times \text{Ln L} - 9.92$	Chisholm & Roff (1990)
<i>Corycaeus catus</i>	$\text{Ln DW} = 1.7 \times \text{Ln L} - 9.92$	Chisholm & Roff (1990)
<i>Calanopia elliptica</i>	$\text{Ln W} = 2.67 \times \text{Ln L} - 15.47$	Chisholm & Roff (1990) <i>Calanopia americana</i>
<i>Acartia clausi</i>	$\text{DW} = 57.83 \times \text{PL}^{1.21}$; $\text{C} = 0.78 \times \text{PL}^{1.21}$	Hernández-Trujillo <i>et al.</i> (2013)
<i>Subeucalanus pileatus</i>	$\text{Ln DW} = 2.73 \text{Ln L} - 15.93$	Webber & Roff (1995) (Calanoides combinados)
<i>Calocalanus pavo</i>	$\text{Log C} = 2.97 \times \text{Log L} - 8.19$	Uye (1982) <i>Centropages abdominalis</i>

El peso promedio del carbono de cada individuo se estimó utilizando las longitudes totales promedio (o longitud del prosoma en función de la ecuación disponible) observadas en PNCP. Posteriormente se calculó la biomasa total de cada especie de copépodo utilizando la ecuación de Miyashita *et al.* (2009):

$$B = W_{\mu} \times 10^{-3}D$$

Donde B = biomasa (mg C/1000 m³), $W\mu$ = peso de carbono promedio por especie (μg / ind.) y D = abundancia estandarizada de cada especie (ind. /1000 m³) por estación de muestreo (Tablas 3, 4).

RESULTADOS

Variables ambientales

Durante enero–agosto 2014 se observaron anomalías positivas de TSM asociadas a una onda de calor regional y durante noviembre 2014–diciembre 2015, fue asociado con el fenómeno de El Niño Ecuatorial 2015 mostrando valores de PDO positivos que oscilan entre 0.3 y 2.51 durante los dos años (Figura 2A). El periodo de julio-agosto 2014 tuvo pequeñas anomalías negativas y septiembre-octubre 2014 pequeñas anomalías positivas de TSM. MEI v.2 fue negativo o neutral durante enero y mayo de 2014, lo que indica que la anomalía positiva de TSM fue causada por un proceso oceanográfico y meteorológico distinto al evento ecuatorial de El Niño (Figura 2A). El MEI v.2 siempre fue positivo después de julio de 2014 y fue ≥ 0.5 durante mayo-diciembre de 2015 (Figura 2A). Durante el período de estudio en el CPNP prevalecieron condiciones anómalamente cálidas de distinto origen con anomalías positivas en relación con toda la serie temporal 2002-2018 disponible (Figura 2B, C). La variabilidad estacional de la TSM mostró una temporada cálida durante junio-octubre de ambos años con una TSM entre 27.3–31.3°C y la temporada fría durante noviembre-mayo con una TSM entre 22.0–27.2°C (Figura 2B, C). La concentración mensual de Chl-*a* superficial del mar mostró anomalías predominantemente negativas durante 2014-2015 en comparación con la serie de tiempo 2002–2018 (Figura 2D, E). Las altas concentraciones ocasionales de Chl-*a* se registraron durante la temporada fría; noviembre–diciembre 2014 0.72–0.83 mg m⁻³, enero y junio de 2015 0.62–0.63 mg m⁻³. Las concentraciones bajas, entre 0.12–0.13 mg m⁻³, se registraron durante la temporada cálida entre julio-agosto 2014 y septiembre–octubre 2015 (Figura 2D, E). El patrón de variabilidad estacional de la amplitud de la marea mostró bajas

correlaciones estadísticas con abundancia de especies de copépodos; por esta razón esta variable fue excluida de los análisis estadísticos posteriores.

La velocidad y dirección diaria promedio del viento a 10 m sobre la superficie del mar mostraron un claro patrón estacional asociado a la circulación monzónica del Golfo de California. Los vientos fuertes soplaron predominantemente del noroeste a lo largo del eje del Golfo durante la temporada fría (noviembre-mayo). Durante el período cálido (junio-noviembre) los vientos fueron más débiles y soplaron principalmente desde el sureste (Figura 3A). Las velocidades promedio diarias del viento durante 2015 (2.93 m/s) fueron solo ligeramente superiores a las velocidades medias prevalecidas durante 2014 (2.5 m/s) (Figura 3 A). La velocidad de la corriente superficial del mar inferida por telemetría satelital y las corrientes marinas in situ de entre 3–5m de profundidad medido con el ADCP mostró dirección y velocidad similares a través de esta capa (Figura 3A, B). Las corrientes superficiales mostraron una variabilidad estacional compleja (Figura 3A, B); estas corrientes marinas superficiales <0.02 m/s fluyeron principalmente hacia el norte durante la temporada cálida; entre junio y diciembre y hacia el sur <0.03 m/s durante la temporada fría; entre octubre y abril de cada año.

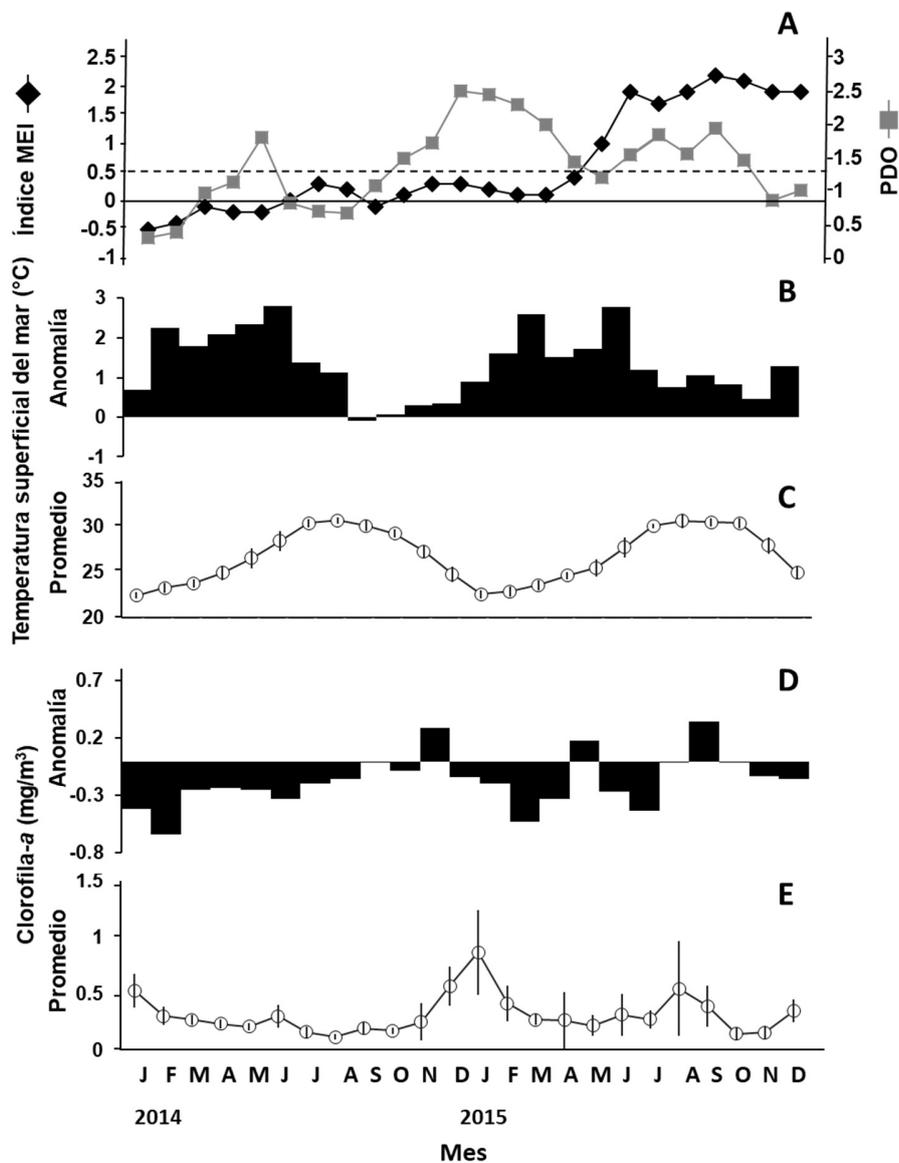


Figura 2. Series de tiempo ambientales registradas en la región del Parque Nacional Cabo Pulmo durante 2014–2015. (A) Índice MEI v.2 estimado para el ecuador (MEI > 0.5 = El Niño, < -0.05 = La Niña; <https://www.psl.noaa.gov/enso/mei/index.html>) e índice de la Oscilación decadal del Pacífico (PDO, https://www.esrl.noaa.gov/psd/gcos_wgsp/Timeseries/PDO/) (B) Anomalia mensual de la temperatura superficial del mar del satelital en relación con las series de TSM 2002–2018, (C) Desviación media y estándar de cada mes de la temperatura superficial del mar, (D) anomalia de concentración mensual de clorofila-a en la superficie del mar en relación con las series de Chl-a superficial del mar 1997–2018, y (E) Desviación media y estándar de la concentración mensual de Chl-a en la superficie del mar.

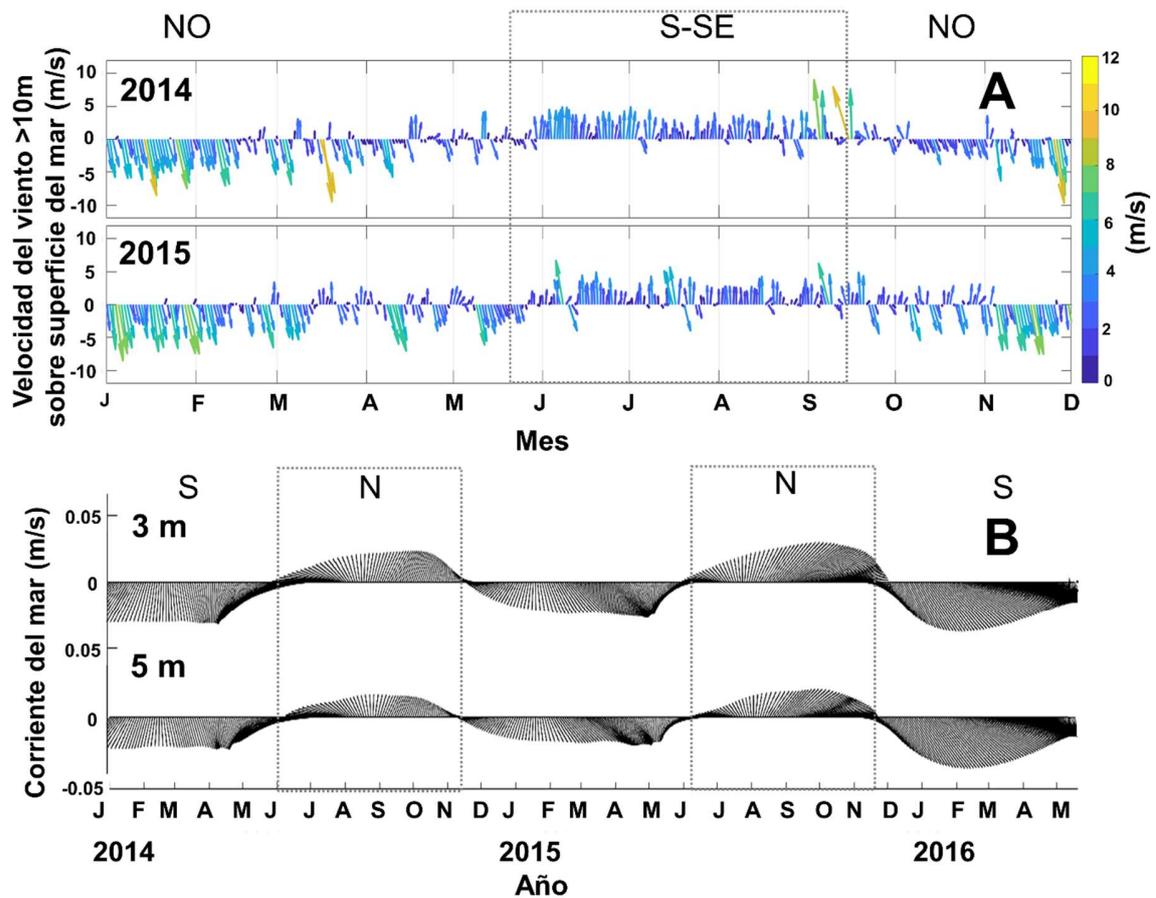


Figura 3. (A) Vectores de la velocidad y dirección promedio diaria del viento satelital a 10 m sobre la superficie del mar por año, (B) vectores de la velocidad y dirección media diaria de la corriente superficial del mar (3 y 5 m de profundidad) registrados con un Perfilador Acústico de Corriente Doppler (ADCP) instalado en Los Arbolitos localizado al noreste de la región del Parque Nacional Cabo Pulmo durante 2014 y 2015.

Bioinformática e identificación molecular de las especies de copépodos

Secuencias públicas y oligonucleótidos de copépodos del CO1

La especie *Tigriopus californicus* fue seleccionada como base para identificar las regiones del gen CO1 por que es una de las pocas especies que tienen completamente secuenciado su genoma mitocondrial (Burton *et al.*, 2007); derivado de que estas especies son las que poseen un orden más estable de sus genes, además de que *T. californicus* es una especie más cercana al área de estudio en comparación con *T. japonicus*. En ese sentido, el genoma mitocondrial completo fue un marco de referencia de lectura a toda la longitud del gen CO1. La longitud total de los pares de bases del gen CO1 de *T. californicus* fue de 1528 pb. Al comparar la fracción parcial de interés que se amplificará (código de barras) de otras especies de copépodos pelágicos con el gen completo de *T. californicus*, este se ubicó entre las bases 40–693. Por lo tanto, el amplicón que se busca posee una longitud aproximada de 653 pb. De la revisión de la literatura se obtuvieron 30 oligonucleótidos diseñados para amplificar la región del gen CO1 de copépodos marinos (Tabla 1). Siete oligonucleótidos (24%) se alinearon en la región de interés (código de barras, 40 a 693 pb), mientras que los 23 oligonucleótidos restantes (76%) no se alinearon en absoluto (Figura 4). El par de oligonucleótidos "universales" se alinearon a regiones altamente conservadas del gen CO1 de los copépodos, así como el resto de los oligonucleótidos seleccionados (Figura 4). Los oligonucleótidos Cop-CO1-1498F, Cop-CO1 2105R, Crus-CO1-2189R, SNF, SNR y los oligonucleótidos universales LCO-1490F y HCO-2198R fueron la mejor opción para ser utilizados para las pruebas de amplificación de PCR para especies de copépodos. Estos oligonucleótidos fueron seleccionados porque flanquean la secuencia del CO1 (código de barras, 40–693 pb). En relación con los experimentos de PCR, el 46% de los estudios usaron la técnica anidada con una primera amplificación con los primers "universales" y una segunda con los diseñados para el grupo específico con el que desarrollaba su investigación. El 54% de los estudios restantes desarrollaron un experimento de PCR con una sola amplificación usando sus propios diseños de oligonucleótidos, y solo un par de

oligonucleótidos fueron usados para amplificar una región diferente del *gen CO1* (segundo segmento 1000–1500 pb) (Figura 4).

Se probaron las diferentes combinaciones de oligonucleótidos publicados que flanquean la región de interés, aunque sin resultados satisfactorios de amplificación varias especies de copépodos de los géneros: *Corycaeus*, *Oithona*, *Paracalanus*, *Oncaea*, entre otros, detectados en tres estudios previos en el Golfo de California (Beltrán-Castro, 2011; Beltrán-Castro, 2014; Beltrán-Castro & Hernández-Trujillo, 2016).

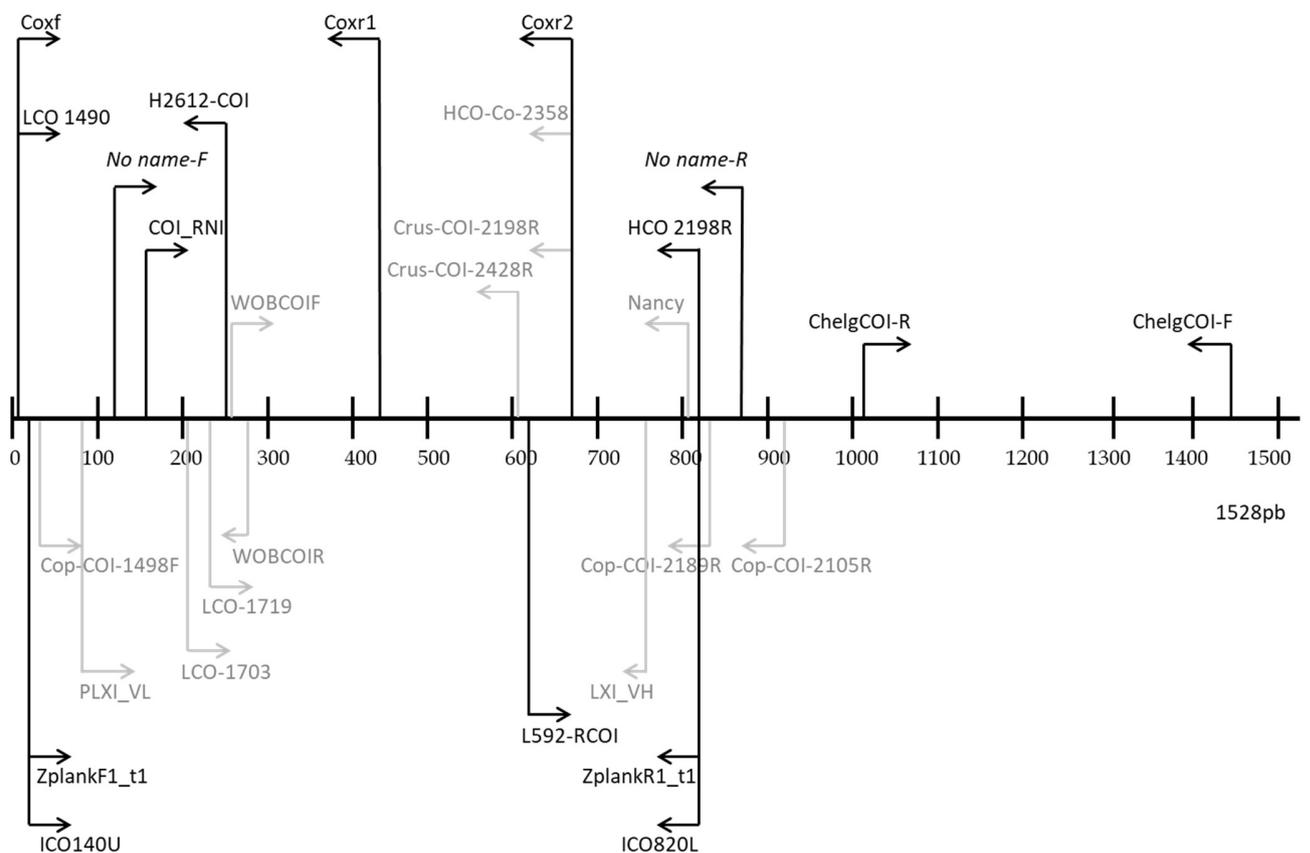


Figura 4. Posiciones de los oligonucleótidos publicados para amplificar el gen CO1 basados en la secuencia del genoma mitocondrial de *Tigriopus japonicus* (No. acceso DQ913891), las flechas negras simbolizan los oligonucleótidos utilizados con una reacción de PCR, mientras que las flechas grises muestran los oligonucleótidos que se utiliza en una segunda reacción de PCR (anidado).

Diseño de primers universales e internos para Neocopepoda

Se diseñaron nueve oligonucleótidos utilizando como base todos los oligonucleótidos y secuencias de copépodos disponibles en las bases de datos públicas de GenBank, BOLDSystems y en la literatura (Tablas 1, 2; Anexo 2). De los 9 oligonucleótidos diseñados se seleccionaron cuatro de ellos; dos hacia delante (de aquí en adelante nombrados “Forward” en inglés) y dos hacia atrás (de aquí en adelante nombrados Reverse en inglés). De estos dos pares complementarios, un Forward (Neocop-CO1-22F; Figura 5A) y un Reverse (Neocop-CO1-837R; Figura 5B) fueron seleccionados como oligonucleótidos “universales”, con un amplicón de aproximadamente 815 pb para el grupo Neocopepoda que incluye especies parásitas, bentónicas y pelágicas. Los otros dos oligonucleótidos, Forward (Neocop-CO1-205F; Figura 6A) y Reverse (Neocop-CO1-679R; Figura 6B) fueron seleccionados como oligonucleótidos internos con un amplicón de 475 pb.

Los oligonucleótidos universales del grupo Neocopepoda fueron diseñados de la siguiente manera: el Neocop-CO1-22F se basó en los oligonucleótidos publicados Cop-CO1-1498F, CO140U-Forward, ZplankF1_t1, Coxf -forward, y el oligonucleótido universal de Folmer (1994) LOC-1490 (Figura 5A, B); mientras que para el Neocop-CO1-837R fueron los oligonucleótidos ICO820L-Reverse, Nancy, ZplankR1_t1, COP-COI-2189R y el universal HCO-2198. Este par de oligonucleótidos diseñados tienen ventajas en comparación con el resto de los oligonucleótidos en que no poseen degeneraciones y mantiene el marco de lectura sin ningún cambio en la secuencia de aminoácidos manteniendo el consenso de estos. Además, este abarca completamente la fracción del código de barras y sus temperaturas de alineación coinciden y se ajustan con facilidad.

A

Translation	G			A			T			N			H			K			D			I			G			T			L		
Position	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45
Cop-COI-1498F	-	-	-	-	-	-	-	-	A	A	Y	C	A	T	A	A	G	A	Y	A	T	Y	G	G	D	A	C	-	-	-	-	-	-
ICO140U-Forward	-	-	-	T	C	A	A	C	A	A	T	C	A	T	A	A	R	G	A	Y	A	T	H	G	G	-	-	-	-	-	-	-	-
ZplankF1_11	-	-	-	T	C	T	A	S	W	A	A	T	C	A	T	A	A	R	G	A	T	A	T	T	G	G	-	-	-	-	-	-	-
Coxf-Forward	-	G	G	T	C	C	T	G	T	A	A	T	C	A	T	A	A	G	A	Y	A	T	Y	G	G	-	-	-	-	-	-	-	-
LCO-1490	-	G	G	T	C	A	A	C	A	A	A	T	C	A	T	A	A	G	A	T	A	T	T	G	G	-	-	-	-	-	-	-	-
IUPAC-Consensus	D	D	D	K	C	N	W	S	N	A	A	Y	C	A	Y	A	A	G	A	Y	A	T	Y	G	G	N	A	C	T	Y	T	Y	
Neocop-CO1-22F	-	-	-	-	-	-	-	-	-	A	T	C	A	T	A	A	A	G	A	T	A	T	T	G	G	T	A	C	-	-	-	-	-
<i>Tigriopus californicus</i>	G	G	G	G	C	T	A	C	G	A	A	C	C	A	C	A	A	G	A	T	A	T	T	G	G	T	A	C	T	T	T	A	

B

Translation	F			F			G			H			P			E			V			Y			I			L			I			L			P			
Position	835	836	837	838	839	840	841	842	843	844	845	846	847	848	849	850	851	852	853	854	855	856	857	858	859	860	861	862	863	864	865	866	867	868	869	870	871	872	873	
ICO820L-Reverse	Y	T	T	Y	G	G	T	C	A	C	C	C	N	G	A	A	G	T	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Nancy	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	A	A	G	T	T	A	T	T	T	T	A	A	T	T	T	A	C	C	G	G	G	-	-	-	-	
ZplankR1_11	Y	T	T	Y	G	G	Y	C	A	Y	C	C	T	G	A	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
COP-COI-2189R	T	T	T	T	G	G	T	C	A	C	C	C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
HCO2198	T	T	T	T	G	G	T	C	A	C	C	C	T	G	A	A	G	T	T	A	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
IUPAC-Consensus	T	T	T	Y	G	G	W	C	A	Y	C	C	N	G	A	R	G	T	K	T	A	Y	A	T	Y	Y	T	V	A	T	T	Y	T	V	C	C	D	G	N	
Neocop-CO1-837R	-	-	T	T	G	G	D	C	A	C	C	C	T	G	A	A	G	T	T	T	A	T	A	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Tigriopus californicus</i>	T	T	T	T	G	G	A	C	A	T	C	C	T	G	A	G	G	T	G	T	A	C	A	T	T	C	T	C	A	T	T	T	A	C	C	G	G	G	-	

Figura 5. Oligonucleótidos universales de Neocopepoda (A) oligonucleótido Forward con la traducción, marco de lectura y oligonucleótidos en los que está basado (B) oligonucleótido Reverse con la traducción, marco de lectura y oligonucleótidos en los que está basado.

En los oligonucleótidos internos, el oligonucleótido Neocop-CO1-205F fue diseñado basándose en los oligonucleótidos LCO-1719 y LCO-1705; mientras que su par Neocop-CO1-679R, tuvo como base los oligonucleótidos Crus-COI-2198R, HCO-Co-2358 y Coxr2-Reverse. (figura 6A, B) Los oligonucleótidos universales, diseñados para Neocopepoda, cuentan con las mismas ventajas mencionadas previamente. Es relevante señalar que, todos los oligonucleótidos utilizados para el diseño de estas propuestas han sido utilizados exitosamente para diferentes grupos de copépodos según muestra en la Tabla 1.

A

Translation	W			A			H			H			M			F			T			V			G			L			D								
Position	679	680	681	682	683	684	685	686	687	688	689	690	691	692	693	694	695	696	697	698	699	700	701	702	703	704	705	706	707	708	709	710	711						
Crus-COI-2198R	-	-	-	-	-	C	A	Y	C	A	Y	A	T	R	T	T	A	C	H	G	T	D	G	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		
HCO-Co-2358	-	-	-	-	-	C	A	Y	C	A	Y	A	T	R	T	T	A	C	H	G	T	D	G	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Coxr2-Reverse	-	-	-	-	-	C	A	Y	C	A	Y	A	T	A	T	T	A	C	A	G	T	D	G	G	G	A	T	A	G	A	-	-	-	-	-	-	-	-	
IUPAC-Consensus	T	G	R	G	C	W	C	A	Y	C	A	Y	A	T	R	T	T	Y	A	C	V	G	T	D	G	G	W	T	T	R	G	A	Y	-	-	-	-	-	
Neocop-CO1-679R	T	G	A	G	C	T	C	A	T	C	A	T	A	T	R	T	T	A	C	A	G	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Tigriopus californicus</i>	T	G	G	G	C	A	C	A	T	C	A	T	A	T	G	T	T	A	C	C	G	T	T	G	G	T	T	A	G	A	C	-	-	-	-	-	-	-	

B

Translation	M			P			V			L			I			G			G			F			G			N			W			L			V			P		
Position	202	203	204	205	206	207	208	209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221	222	223	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234	235	236	237	238	239	240	241	242	243
LCO-1719	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	G	G	A	T	T	T	G	G	T	A	A	C	T	G	A	T	T	A	G	T	G	C	-	-	
LCO-1703	-	-	C	T	A	-	-	T	T	T	G	A	T	T	G	G	A	G	A	T	T	T	G	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
IUPAC-Consensus	A	T	A	C	C	H	R	T	H	Y	T	A	A	T	T	G	G	N	Y	Y	N	T	T	T	G	G	N	A	A	Y	T	G	R	Y	T	N	G	T	D	C	H	
Neocop-CO1-205F	-	-	-	C	C	T	G	T	T	C	T	A	A	T	T	G	G	A	G	A	T	T	T	G	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Tigriopus californicus</i>	A	T	A	C	C	A	G	T	T	T	T	A	A	T	T	G	G	G	G	G	T	T	T	G	G	T	A	A	T	T	G	C	T	G	G	T	A	C	C	-		

Figura 6. Oligonucleótidos internos para Neocopepoda (A) oligonucleótido dirección Forward con la traducción, marco de lectura y oligonucleótidos en los que está basado (B) oligonucleótido Reverse con la traducción, marco de lectura y oligonucleótidos en los que está basado.

Identificación molecular de especies

El dendograma de similitud formo y asignó exitosamente a todas las especies de copépodos dentro de su agrupamiento correspondiente, en su mayoría con un valor de Bootstrap > 90% (Figura 7). Solamente dos especies del género *Subeucalanus* (*S. mucronatus* y *S. subtenuis*) formaron diferentes BIN's, pero sin mezclarse con el resto de las especies. Así mismo, las distancias genéticas intraespecíficas promedio fueron de 9.2%, con una distancia máxima de 30% y una mínima de 0%. En ese sentido la divergencia interespecífica fue mayor con un promedio del 29% y un rango de distancia entre 0–55%. Estas divergencias intraespecíficas fueron altas debido a las especies *S. mucronatus* y *S. subtenuis*. Un análisis de BLAST realizado en la base de datos de GenBank tuvo porcentajes de similitud > 98%. *Subeucalanus subtenuis* tuvo un 98% de similitud con *Eucalanus pseudattenuatus*, con una cobertura de la secuencia de 99%. Dentro del mismo BIN's otra secuencia de *S. subtenuis* tuvo una similitud del 99% con *Subeucalanus subcrassus* con una cobertura de 96%, y posteriormente un 98% con *S. subtenuis* del Mar de China. *Subeucalanus mucronatus* mostró una similitud de 98% con *Subeucalanus monachus*, *S. subtenuis* y con *Eucalanus subtenuis*, mientras que la otra secuencia de *S. mucronatus* obtuvo un 99% de similitud con *E. pseudattenuatus* recolectada en el Mar de China. En ese sentido, se observa un patrón de identificación morfológica de especies no congruentes de la familia Eucalanidae. Esto es probablemente derivado de la falta de atención en cuanto a la taxonomía morfológica de este grupo, donde este análisis molecular y el análisis de comparación de secuencias *CO1* realizada con datos públicos de GenBank, coadyuvan para identificar pero no solucionar de manera contundente estos problemas. Sin embargo, la evidencia molecular confirmó en todos los casos la identificación basada en caracteres morfológicos diagnósticos de los copepodos colectados en el Golfo de California. Esto provee certidumbre a las inferencias ecológicas que se realicen con la comunidad de copépodos recolectada durante la serie de zooplancton del PNCP durante 2014–2015.

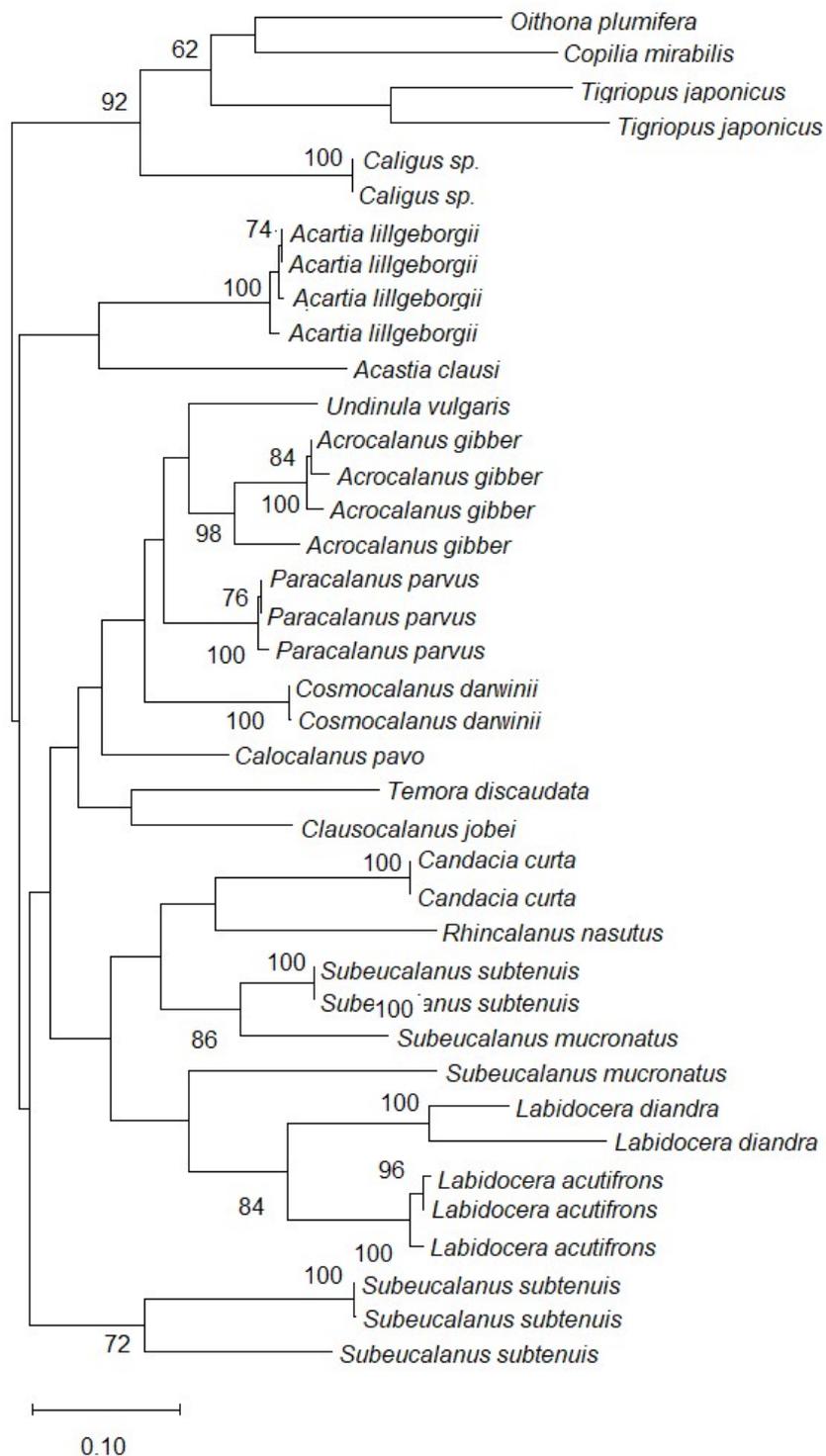


Figura 7. Dendrograma basado en la fracción del gen CO1 (40–693 pb) inferido a través del método de Maximum Likelihood basado en el modelo dos parámetros de Kimura (Kimura 2-parameter model). El porcentaje de árboles en los que los taxones asociados se agruparon se muestra junto a las ramas (Bootstrap). Se excluyeron aquellos nodos con una probabilidad < 50%.

Abundancia de zooplancton a grandes grupos

Los copépodos representaron en promedio el 64% de la abundancia del zooplancton total a lo largo de la serie tiempo 2014-2015. Los copépodos y quetognatos fueron los grupos taxonómicos más abundantes de treinta grupos taxonómicos de zooplancton identificados a través de la serie de tiempo zooplancton de 2014–2015 en el PNCP. Los quetognatos, huevos de peces, cladóceros, radiolarios y eufausidos fueron moderadamente abundantes y el resto de los grupos taxonómicos de zooplancton fueron considerablemente menos abundantes (Figura 8). La riqueza de los grupos taxonómicos de zooplancton recolectados durante ambos años fue mayor durante la temporada cálida, cuando la abundancia relativa de copépodos era baja, que durante la temporada fría, cuando la abundancia relativa de copépodos era alta (Figura 8).

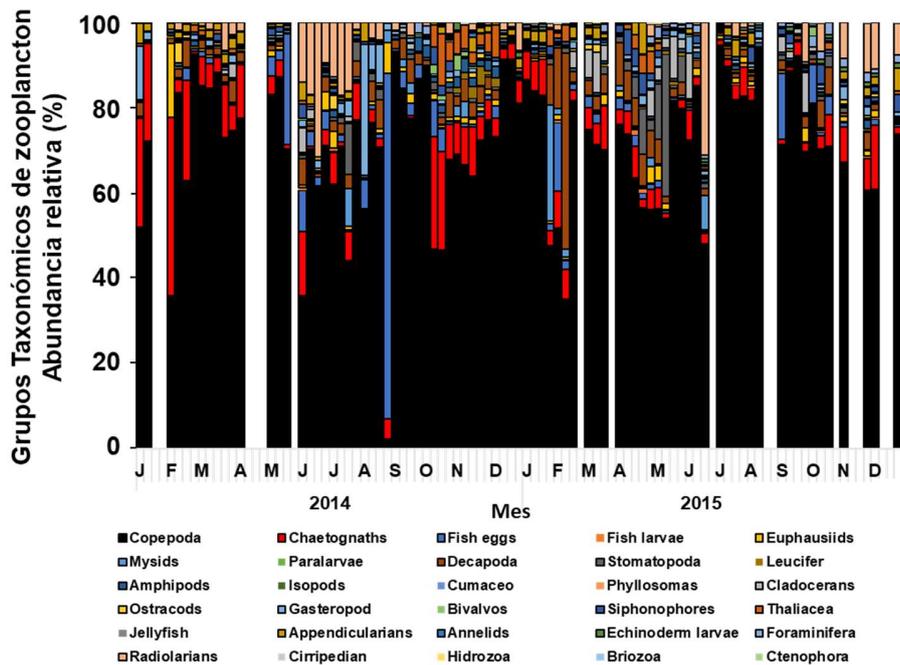


Figura 8. Abundancia relativa de zooplancton (%) identificada por grupo taxonómico recolectado en el Parque Nacional Cabo Pulmo durante 2014-2015. Los copépodos se muestran con barras negras y los quetognatos se muestran con barras grises fueron los grupos taxonómicos de zooplancton más abundantes en toda la serie temporal de zooplancton, contribuyendo con la mayor cantidad de biomasa disponible para los depredadores de zooplanctófagos de este hábitat de arrecifes de coral tropical y arrecifes rocosos.

Ecología de los copépodos en el PNCP

Asociación y abundancia de especies de copépodos

La abundancia total de los copépodos fue 14% mayor durante 2015 que durante 2014, con anomalías principalmente negativas durante 2014 y anomalías positivas durante la mayor parte de 2015 (Tabla 5, Figura 9A,B). La riqueza de especies de copépodos no mostró una clara tendencia estacional o interanual. Sin embargo, la riqueza de especies de copépodos fue mayor durante la estación fría que durante la estación cálida de cada año (Figura 9A). La comunidad de copépodos del PNCP incluyó 49 especies: 35 calanoides, 10 poecilostomatoideos, 2 ciclopoideos, 1 sifonostomatoide y 1 especie harpacticoide (Tabla 5). El Orden Calanoida con 77.5% y Poecilostomatoidea con 20.4 % del total de copépodos fueron los copépodos más abundantes recolectados a lo largo de la serie de tiempo 2014-2015. Veintiún especies de copépodos representaron el 94.9% de la abundancia total y el resto de las 28 especies representaron el 5.1% (Tabla 5).

Un Poecilostomatoide *O. venusta* (12,6%), y dos Calanoides *P. parvus* (11,5%) y *C. jobei* (8.6%) fueron las especies de copépodos más abundantes y frecuentes registrados durante 2014–2015 (Figura 9C). *Oncea venusta* fue la especie más abundante durante la temporada cálida y *P. parvus* y *C. jobei* durante la estación fría (Figura 9C) *Subeucalanus subtenuis* y *Subeucalanus subcrassus* tuvieron poca abundancia durante 2014, pero aumentaron considerablemente su abundancia durante 2015 (Figura 9C).

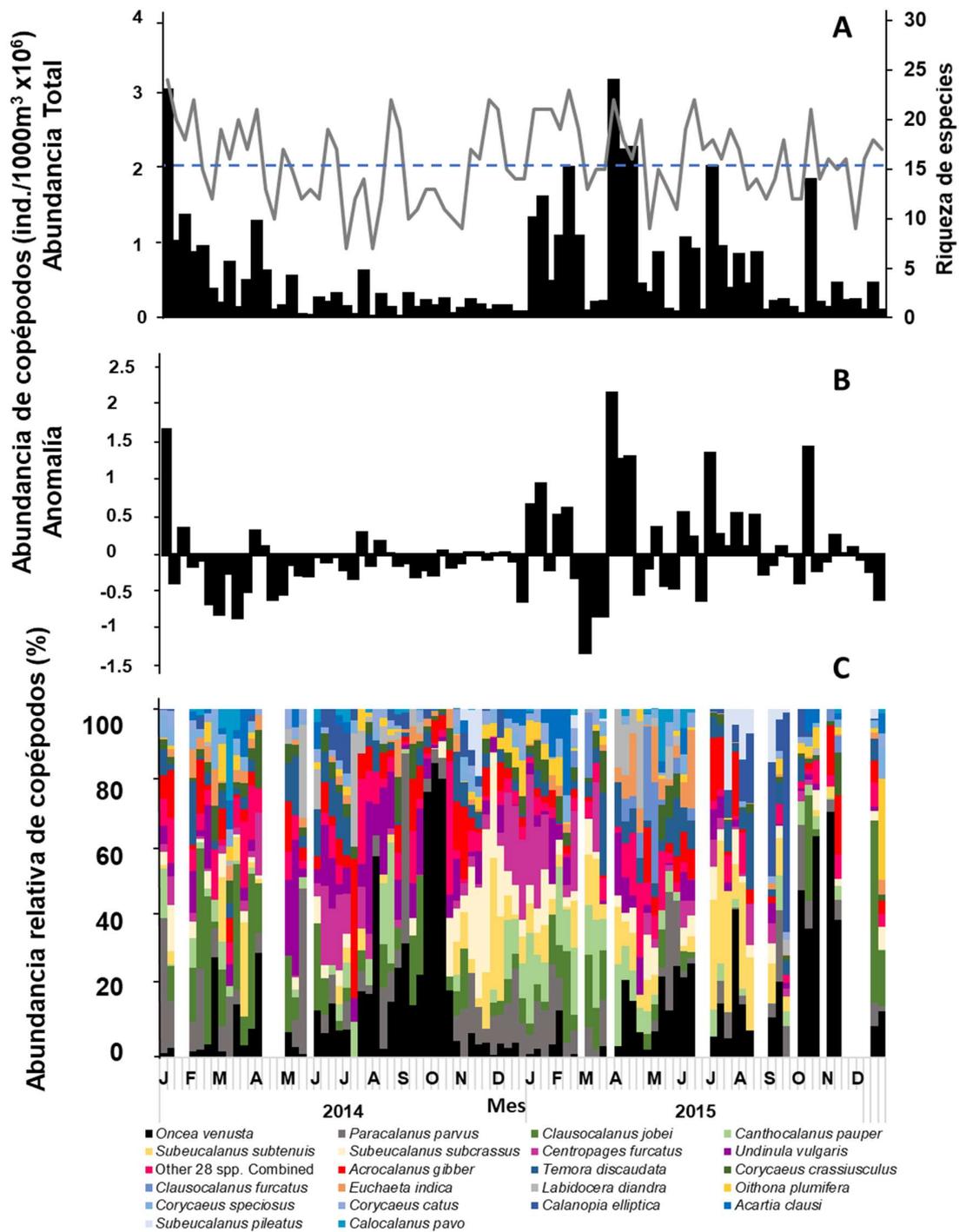


Figura 9. (A) Abundancia semanal de los copépodos (barras con todas las especies combinadas) y riqueza de especies (línea), (B) anomalía de la abundancia total mensual de copépodos y (C) abundancia relativa (%) de las 21 especies de copépodos más abundantes recolectado en el Parque Nacional Cabo Pulmo, BCS, México durante 2014–2015.

Tabla 5. Promedio y desviación estándar (STD) de la abundancia de cada especie de copépodos recolectada durante la temporada fría (diciembre-mayo) y la temporada cálida (junio-noviembre) por año. Especies de copépodos fueron ordenadas taxonómicamente por Orden y después alfabéticamente. * = especies con > 1% de abundancia recolectada durante 2014 y 2015 en el Parque Nacional Cabo Pulmo, BCS, México

Orden	Especies	2014				2015			
		Fría		Cálida		Fría		Cálida	
		Prom	STD	Prom	STD	Prom	STD	Prom	STD
Calanoida	<i>Acartia clausi</i> *	3095	4403	1293	1198	4073	3596	8251	13271
	<i>Acartia danae</i>	-	-	-	-	2376	-	-	-
	<i>Acartia tonsa</i>	3399	2562	-	-	-	-	-	-
	<i>Acrocalanus gibber</i> *	13478	14716	4040	5133	5630	5311	10257	11964
	<i>Acrocalanus gracilis</i>	-	-	-	-	-	-	10481	7546
	<i>Calanopia elliptica</i> *	711	691	2823	4492	415	-	7564	11527
	<i>Calanus pacificus</i>	232	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Calocalanus pavo</i> *	11762	19275	1167	1000	6791	5679	1039	912
	<i>Candacia catula</i>	703	840	244	258	1104	1048	2163	2167
	<i>Candacia curta</i>	192	-	-	-	297	99	653	-
	<i>Candacia truncata</i>	-	-	-	-	367	325	-	-
	<i>Canthocalanus pauper</i> *	10438	19897	15886	39614	16386	17673	7721	11367
	<i>Centropages calaninus</i>	-	-	8291	-	1846	-	238	235
	<i>Centropages furcatus</i> *	3903	4987	3939	5134	24854	36262	5114	8023
	<i>Clausocalanus furcatus</i> *	-	-	-	-	12946	19211	2102	1791
	<i>Clausocalanus jobei</i> *	20829	27384	3477	5860	10621	12835	47545	63746
	<i>Cosmocalanus darwinii</i>	3611	1010	-	-	2367	2667	1409	1337
	<i>Euchaeta indica</i> *	6149	5016	2116	3183	2538	3204	1799	1827
	<i>Euchaeta longicornis</i>	2718	-	-	-	86	-	-	-
	<i>Euchaeta marina</i>	3579	1833	3724	5775	1701	1748	549	686
	<i>Labidocera acuta</i>	1641	2162	1610	2107	996	1355	183	111
	<i>Labidocera acutifrons</i>	1658	581	1737	1047	1283	1344	236	-
	<i>Labidocera detruncata</i>	-	-	223	222	-	-	-	-
	<i>Labidocera diandra</i> *	39421	64563	2357	1610	10168	14823	1495	1221
	<i>Nannocalanus minor</i>	1412	-	935	13	-	-	-	-
	<i>Paracalanus parvus</i> *	15130	19393	10461	18157	20792	37249	13321	23088
	<i>Pontellina plumata</i>	1225	-	1961	1602	315	72	59	5
	<i>Pontellopsis occidentalis</i>	777	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Scolecithrix danae</i>	5658	5273	1942	1419	1466	1908	981	977
	<i>Subeucalanus mucronatus</i>	787	621	1138	2161	2699	3854	706	690
	<i>Subeucalanus subcrassus</i> *	7332	8468	3123	4699	9992	12741	5343	6028
	<i>Subeucalanus subtenuis</i> *	6504	6120	4067	3889	14754	22860	16444	25984
<i>Subeucalanus pileatus</i> *	-	-	18742	18355	10143	9671	7376	5866	

	<i>Temora discaudata</i> *	9469	13470	5394	5795	8980	11412	8522	9096
	<i>Undinula vulgaris</i> *	18369	26627	10913	22662	2735	4479	2960	4513
Poecilostomatoida	<i>Copilia mirabilis</i>	1638	-	4129	3837	2188	1992	2246	2043
	<i>Corycaeus crassiusculus</i> *	3397	4327	2279	3867	9803	11026	1999	2406
	<i>Corycaeus catus</i> *	2445	2398	1867	2841	6700	9986	1426	1703
	<i>Corycaeus speciosus</i> *	8337	9203	3874	5628	3298	4012	1565	1129
	<i>Oncaea venusta</i> *	6264	7043	14975	28072	10616	19358	39125	53843
	<i>Sapphirina angusta</i>	-	-	922	-	-	-	-	-
	<i>Sapphirina gastrica</i>	1737	1722	1588	429	-	-	-	-
	<i>Sapphirina gemma</i>	-	-	135	-	583	385	-	-
	<i>Sapphirina metallina</i>	-	-	74	-	-	-	-	-
	<i>Sapphirina scarlata</i>	2150	738	1645	1704	629	550	621	889
Cyclopoida	<i>Oithona nana</i>	1959	-	-	-	-	-	-	-
	<i>Oithona plumifera</i> *	5354	4817	1287	2385	5002	5715	4080	5483
Harpacticoida	<i>Macrosetella gracilis</i>	-	-	74	-	-	-	-	-
Siphonostomatoida	<i>Caligus</i> sp.	-	-	164	-	-	-	-	-

Análisis de agrupamiento de dos vías

El CA mostró dos grupos de especies de copépodos con un corte del 10% de similitud. El G1 incluyó las 21 especies más abundantes con >1% del total de copépodos abundancia (Figura 10) y el G2 incluyó las 28 especies restantes con <1% del total de la abundancia y frecuencia de ocurrencia (Figura 10). El CA mostró tres grupos a través de unidades de muestreo (corte de 17,5% de similitud). El g1 incluyó principalmente muestras de zooplancton recolectadas durante la estación fría; el g2 incluyó principalmente aquellas muestras de zooplancton recolectadas durante la estación cálida; y el g3 solo incluyó dos muestras de zooplancton de la estación cálida de agosto y septiembre de 2014 con una abundancia de copépodos considerablemente baja (Figura 10).

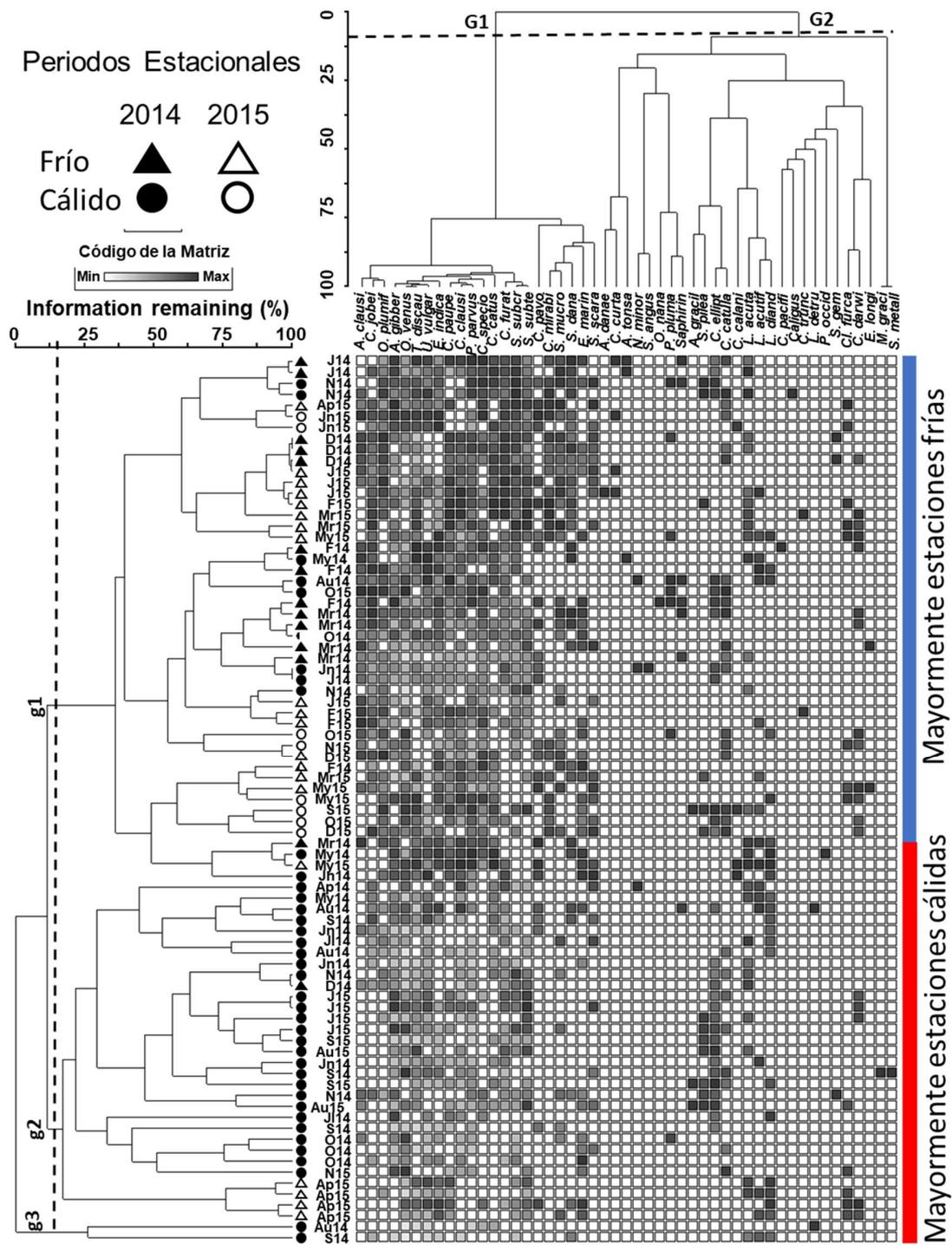


Figura 10. Análisis de agrupamiento de dos vías que muestra la abundancia semanal de copépodos agrupados por especie y por estaciones de muestreo recolectadas en el Parque Nacional Cabo Pulmo durante 2014–2015.

durante la mayor parte de período de estudio que muestra poca influencia evidente de la variabilidad ambiental estacional e interanual evidenciada con su posición cerca del centro del CCA (Figura 11). *Candacia curta* y *Candacia truncata*, *O. nana*, *E. longicornis* y *C. mirabilis* fueron las especies de copépodos más abundantes durante la estación fría negativamente asociado con la temperatura superficial del mar (Figura 11, Tabla 6). *Acrocalanus gracilis*, *C. elliptica*, *L. detruncata*, *N. minor*, *Pontellina plumata*, y *S. pileatus* fueron las especies de copépodos más abundantes durante la estación cálida asociado positivamente con la temperatura superficial del mar (Figura 11, Tabla 6).

Tabla 6. Análisis de Correspondencia Canónica (CCA) de la asociación de las ocho variables ambientales analizadas (la amplitud de la marea no fue incluida en este CCA debido su efecto no fue significativo durante análisis exploratorios previos) y los grupos taxonómicos de zooplancton que tuvieron la mayor correlación con la abundancia de especies de copépodos de las unidades de muestreo recolectadas con frecuencia semanal en el Parque Nacional Cabo Pulmo durante enero de 2014 y diciembre de 2015.

Coefficiente de determinación por eje	Eje 1	Eje 2
Eigen valores	0.108	0.087
Porcentaje de la variancia explicada de las especies	6.200	5.000
Variancia acumulada (%)	6.200	11.200
Correlación de Pearson, spp-ambiente	0.912	0.870
Correlación de rangos de Kendall spp-ambiente	0.663	0.667
Temperatura superficial del mar	-0.632	0.388
Concentración de clorofila-a superficial del mar	0.014	-0.485
Velocidad de viento at 10 m arriba del nivel del mar	-0.296	0.076
Corrientes marinas (ADCP) a 3 m de profundidad	-0.063	0.192
Corrientes marinas (ADCP) a 5 m de profundidad	0.022	0.180
Oscilación Decadal del Pacífico (PDO)	-0.453	-0.162
Indicador Multivariado El Niño (MEI v.2)	-0.014	-0.183
Biovólumen de zooplancton	0.006	0.159
Huevos de peces	0.344	-0.088
Chaetognatha	0.202	0.346
Euphausiacea	0.178	-0.123
Decapoda	0.169	-0.046
Cladocera	0.257	0.013
Appendiculata	0.178	-0.008
Radiolaria	0.145	-0.251

Procedimiento Permutacional de Multirespuesta

Las asociaciones de especies de copépodos fueron significativamente más abundantes durante la temporada fría (diciembre–abril) que durante la temporada cálida (mayo–noviembre) (MRPP, $p=0,0001$). *Subeucalanus pileatus* fue la única especie indicadora para la temporada cálida (ISA = 19.1; $p = 0.0430$; Tabla 7) y *C. mirabilis* fue la única especie indicadora significativa para la temporada fría (ISA = 26.0; $p=0.0406$; Tabla 7). Las asociaciones de especies de copépodos mostraron diferencias significativas en la abundancia y composición de especies entre los períodos de la onda de calor regional durante enero-agosto de 2014, un periodo con pequeñas anomalías de TSM registradas de septiembre a octubre de 2014 y el evento de El Niño registrado de noviembre de 2014 a diciembre de 2015 (MRPP, $p = 0.0001$). *Acartia tonsa* fue una especie indicadora significativa durante las condiciones cálidas anómalas de enero-agosto 2014 de la onda de calor regional (ISA = 12.5 , $p= 0.0314$; Figura 12A, Tabla 8) y *Clausocalanus furcatus*, *C. mirabilis*, y *Cosmocalanus darwinii* fueron especies indicadoras fuertemente significativas de condiciones El Niño ecuatorial del 2015 (ISA = 26.7 a 31.7, $p < 0.0094$) (Figura 12B, C, D; Tabla 8). Ninguna especie de copépodos fue estadísticamente significativa para ser considerada como indicadora durante el breve período de septiembre y octubre de 2014 ($p > 0.05$, Tabla 8). Finalmente, no se encontraron diferencias significativas en las asociaciones de especies de copépodos entre los períodos con mareas vivas y muertas (MRPP, ISA, $p > 0.05$).

En general los cambios relevantes de especies de copépodos numéricamente dominantes entre años fueron que *P. parvus* disminuyó su abundancia del 15% en 2014 al 8.4% en 2015; *O. venusta* aumentó su abundancia de 9.5% en 2014 a 15.2% en 2015 y *C. jobei* su abundancia fue similar entre años con 9.1% en 2014 y 8.2% en 2015. *Canthocalanus pauper* con 8.9% y *S. subcrassus* con el 8.8% del total de la abundancia dentro de las primeras cinco especies numéricamente dominantes en 2015 tuvieron una baja abundancia durante 2014. A excepción de *S. subcrassus*, todas estas especies numéricamente dominantes fueron especies de tamaño corporal pequeño.

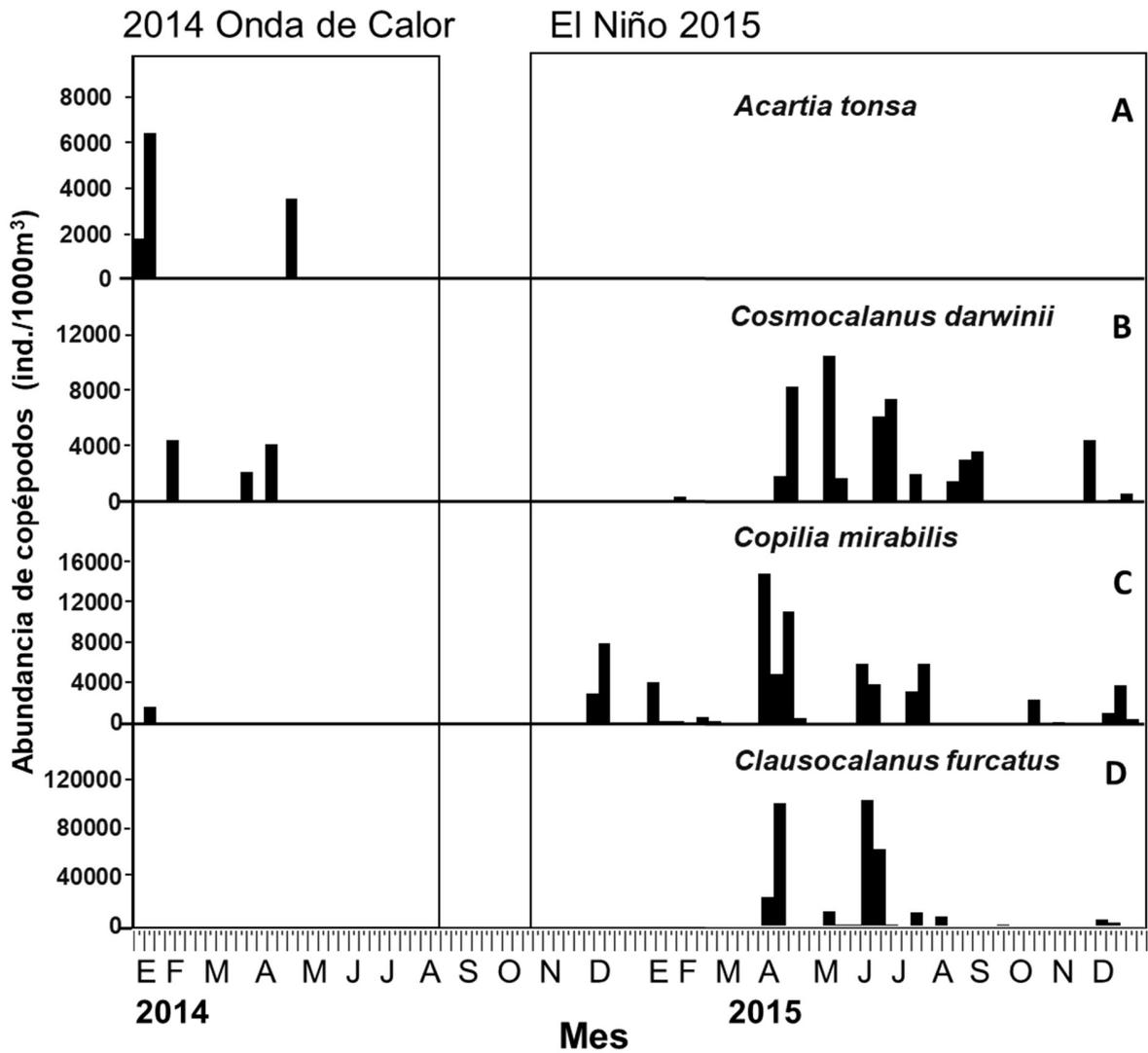


Figura 12. Especies indicadoras de copéodos para los períodos con anomalías positivas de TSM en relación con la serie de tiempo 2002-2018 durante la onda cálida de enero a agosto de 2014 (a) *Acartia tonsa* y durante el evento El Niño ecuatorial 2015 (b) *Cosmocalanus darwinii*, (c) *Copilia mirabilis*, y (d) *Clausocalanus furcatus* de acuerdo con el Análisis Indicadora de Especies (ISA, $p < 0.005$).

Tabla 7. Análisis Indicadora de especies de asociaciones de especies de copépodos colectados en el Parque Nacional Cabo Pulmo durante 2014–2015 comparando la temporada fría durante diciembre–mayo y la temporada cálida durante junio–noviembre. DE = Desviación estándar

Especies	Grupos	Valor Indicador	Media	DE	p-valor
<i>Acartia danae</i>	Fría	2.9	2.5	0.40	0.4177
<i>Acartia tonsa</i>	Fría	4.3	4.2	1.88	0.4585
<i>Acrocalanus gracilis</i>	Cálida	6.4	4.3	1.94	0.2755
<i>Calanus pacificus</i>	Fría	2.9	2.5	0.40	0.4189
<i>Caligus</i> sp.	Cálida	2.1	2.5	0.40	1.0000
<i>Candacia curta</i>	Fría	7.0	5.1	2.09	0.2637
<i>Candacia truncata</i>	Fría	5.9	3.3	1.66	0.1792
<i>Centropages calaninus</i>	Cálida	4.3	5.1	2.09	0.5575
<i>Clausocalanus furcatus</i>	Fría	16.9	11.9	3.190	0.0728
<i>Copilia mirabilis</i>	Fría	26.0	17.5	3.73	0.0406
<i>Cosmocalanus darwini</i>	Fría	19.6	15.4	3.47	0.1038
<i>Euchaeta longicornis</i>	Fría	5.9	3.3	1.67	0.1830
<i>Labidocera acuta</i>	Fría	27.9	22.1	3.96	0.0892
<i>Labidocera acutifrons</i>	Fría	16.8	14.7	2.52	0.2252
<i>Labidocera detruncata</i>	Cálida	4.3	3.3	1.61	0.5065
<i>Labidocera diandra</i>	Cálida	15.6	18.1	3.72	0.7079
<i>Macrosetella gracilis</i>	Cálida	2.1	2.5	0.40	1.0000
<i>Nannocalanus minor</i>	Cálida	6.4	4.2	1.89	0.2629
<i>Oithona nana</i>	Fría	2.9	2.5	0.40	0.4137
<i>Pontellina plumata</i>	Cálida	6.0	8.3	2.67	0.8124
<i>Pontellopsis occidentalis</i>	Cálida	2.1	2.5	0.40	1.0000
<i>Sapphirina angusta</i>	Cálida	2.1	2.5	0.40	1.0000
<i>Sapphirina</i> sp.	Fría	7.5	7.4	2.66	0.3417
<i>Sapphirina gemma</i>	Fría	4.6	4.2	1.90	0.3555
<i>Sapphirina metallina</i>	Cálida	2.1	2.5	0.40	1.0000
<i>Sapphirina scarlata</i>	Fría	22.6	20.7	3.86	0.2529
<i>Subeucalanus pileatus</i>	Cálida	19.1	11.9	3.13	0.0402

Tabla 8. Análisis Indicadora de especies de asociaciones de especies de copépodos colectados en el Parque Nacional Cabo Pulmo durante 2014–2015 comparando los periodos de la onda de calor regional (OCR), el periodo con una pequeña anomalía negativa de temperatura superficial (PAN), y El Niño 2015 ecuatorial (EN) evidenciado con base en anomalías de satélite SST anomalías con valores > 0.5 de MEI v.2.

Especies	Grupos	Valor Indicador	Media	SD	p-valor
<i>Acartia danae</i>	EN	2.4	3.7	1.46	1.0000
<i>Acartia tonsa</i>	OCR	12.5	5.0	2.83	0.0314
<i>Acrocalanus gracilis</i>	EN	7.3	5.1	2.90	0.2466
<i>Calanus pacificus</i>	OCR	4.2	3.7	1.48	0.4947
<i>Caligus</i> sp.	PAN	6.2	3.7	1.48	0.2066
<i>Candacia curta</i>	EN	4.4	5.8	3.11	0.6363
<i>Candacia truncata</i>	EN	4.9	4.6	2.20	0.3803
<i>Centropages calaninus</i>	EN	4.1	5.8	3.14	0.7087
<i>Clausocalanus furcatus</i>	EN	31.7	11.0	3.98	0.0010
<i>Copilia mirabilis</i>	EN	30.8	14.9	4.23	0.0050
<i>Cosmocalanus darwini</i>	EN	26.7	13.4	4.15	0.0094
<i>Euchaeta longicornis</i>	OCR	2.8	4.6	2.17	0.8504
<i>Labidocera acuta</i>	OCR	18.8	18.1	4.43	0.3479
<i>Labidocera acutifrons</i>	OCR	11.3	13.0	4.12	0.5583
<i>Labidocera detruncata</i>	PAN	4.9	4.5	2.41	0.2871
<i>Labidocera diandra</i>	OCR	14.0	15.5	4.34	0.5529
<i>Macrosetella gracilis</i>	PAN	6.2	3.7	1.47	0.1924
<i>Nannocalanus minor</i>	OCR	4.2	5.0	2.81	0.4319
<i>Oithona nana</i>	OCR	4.2	3.7	1.48	0.4843
<i>Pontellina plumata</i>	PAN	11.0	8.2	3.61	0.1564
<i>Pontellopsis occidentalis</i>	OCR	4.2	3.7	1.47	0.4811
<i>S. angustimani</i>	OCR	4.2	3.7	1.46	0.4949
<i>Sapphirina</i> sp.	OCR	10.2	7.7	3.49	0.2446
<i>Sapphirina gemma</i>	OCR	3.2	5.1	2.93	0.6501
<i>Sapphirina metallina</i>	OCR	6.2	3.7	1.47	0.1924
<i>Sapphirina scarlata</i>	EN	22.7	17.2	4.38	0.1150
<i>Subeucalanus pileatus</i>	EN	12.9	11.0	4.06	0.2260

Biomasa de copépodos

La longitud promedio del prosoma de los copépodos de todas las especies recolectadas por fecha de muestreo, muestra en general un conjunto de especies de copépodos más grande durante el período frío, que durante el periodo cálido de ambos años (Figura 13A). La longitud promedio del prosoma de la comunidad de copépodos fue alta durante agosto de 2014 a junio de 2015, asociada con El Niño 2015; posteriormente disminuyeron los tamaños, después de julio de 2015 (Figura 13A). Este aumento en la longitud media del prosoma de copépodos de la población explica el aumento de la biomasa de copépodos durante El Niño 2015 (Figura 13B,C). No se observó correlación significativa entre la longitud media del prosoma y la concentración superficial de Chl-*a* satelital durante la serie de tiempo 2014–2015 ($p > 0.05$; $R^2 = 0.0626$). El pequeño tamaño de *O. venusta*, *P. parvus* y *C. jobei* representó un gran porcentaje de la abundancia total de copépodos, particularmente durante 2014 cuando la abundancia total de copépodos fue baja y la biomasa se distribuyó de manera homogénea entre varias especies. El alto valor de prosoma de *S. subtenuis* y *S. subcrassus* aumentó sustancialmente la abundancia de las asociaciones de especies de copépodos y la biomasa de carbono representando el 69% del total de biomasa de carbono de copépodos de octubre de 2014 a agosto de 2015 (Figura 13B, C). Los copépodos más grandes *Canthocalanus pauper*, *S. subtenuis*, y *Euchaeta indica* dominaron la biomasa de carbono de los copépodos probablemente en respuesta a la tropicalización del ecosistema, debido a la advección hacia el norte de aguas tropicales durante el evento El Niño Ecuatorial 2015 (Figura 13C).

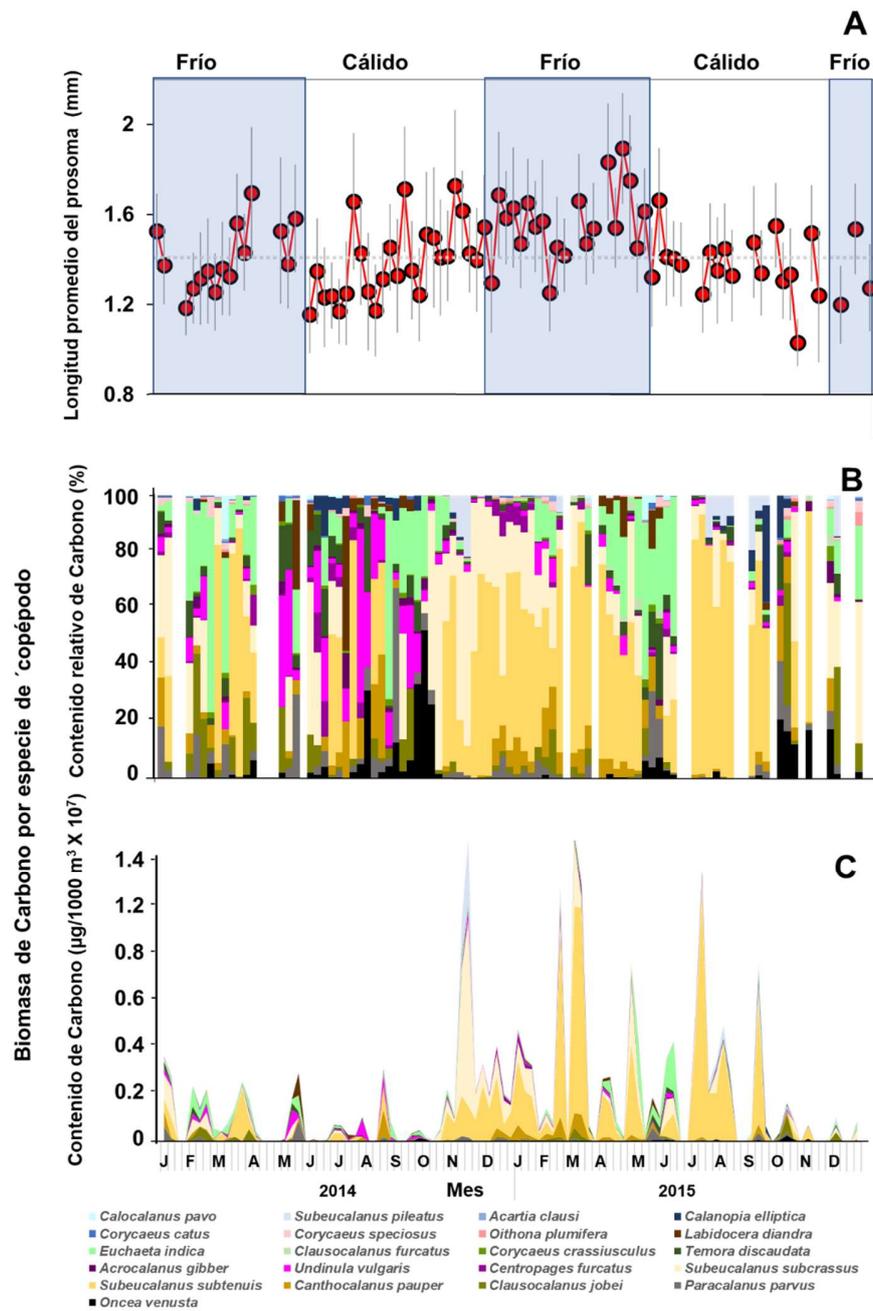


Figura 13. (A) Error medio y estándar (líneas verticales) de la longitud del prosoma de todas las especies de copépodos recolectadas por fecha de muestreo (la línea discontinua gris es la media general de la longitud del prosoma para toda la serie temporal = 1,44 mm de longitud del prosoma). Biomasa de carbono por especie de copépodo y fecha de muestreo expresada en (B) Peso relativo de carbono (%) y (C) suma de peso de carbono ($\mu\text{gC}/1000 \text{ m}^3$) de abundancia total mensual por especie de copépodo en el Parque Nacional Cabo Pulmo, BCS, México durante 2014-2015. Las especies con <1% de abundancia de copépodos se omitieron de este análisis de biomasa de carbono.

DISCUSIÓN

Genética de copépodos

Este es el primer estudio que analiza ampliamente los oligonucleótidos utilizados para amplificar la región del gen *CO1* de copépodos marinos, así como el análisis de secuencias del gen de especies con problemas de amplificación y secuenciación analizando todas las secuencias publicadas hasta ahora en las bases de datos de NCBI y secuencias obtenidas con el protocolo estándar de BOLDSystems de especímenes recolectados en el Golfo de California (Beltrán-Castro & Hernández-Trujillo, 2016). Este análisis consideró la mayor cantidad de especies de copépodos parasitas, pelágicas y bentónicas del mundo. Esta revisión de primers de copépodos se motivó debido al histórico bajo éxito de amplificación reportados en copépodos marinos (Elías-Gutiérrez *et al.*, 2008; Beltrán-Castro & Hernández-Trujillo, 2016). Elías-Gutiérrez *et al.* (2008) estimaron que los primers utilizados en invertebrados acuáticos tienen entre 30–40% de éxito en su amplificación y el caso de los copépodos marinos no es la excepción. Esta problemática se constató al observar al menos 30 oligonucleótidos distintos para amplificar la región del *CO1* (Tabla 1). En el presente estudio se concluyó que no existe un par de primer “universal” para los integrantes del grupo Neocopepoda, y que, dependiendo de la estrategia, experiencia del investigador y del nivel taxonómico con el que desarrolló cada investigación se realizó un diseño de primer distinto (Tabla 1, Figura 4). Otra inferencia de este meta-análisis fue que, el análisis bioinformático requiere cubrir un amplio espectro taxonómico dentro de Neocopepoda para ser más preciso, ya que las secuencias utilizadas para realizar el diseño de los oligonucleótidos se limitaron solo a las especies y/o grupo taxonómico problemático de cada estudio. Este sesgo de representación dentro de los Neocopepoda fue un factor determinante para su uso en otros grupos de copépodos de este taxón. Además, el análisis de estudios previos carecía de un análisis de traducción a aminoácidos y el marco de lectura de las secuencias para establecer de una manera clara los cambios en los codones de la primera, segunda o tercera

posición y con esto determinar la viabilidad de algún probable cambio de aminoácido y sus propiedades (Jean-Baptiste *et al.*, 2016).

Otro aspecto importante que no ha sido comúnmente reportado en la literatura es el uso de genoma mitocondrial para el diseño de los primers. Este problema persiste a pesar de la creciente disponibilidad de nuevas tecnologías de secuenciación de próxima generación (máquinas NGS) que permiten la secuenciación masiva para obtener el genoma completo (Taberlet *et al.*, 2012). Esta carencia de análisis completos del gen *CO1* es debido a que actualmente aún sigue siendo un análisis considerablemente costoso. El grupo Neocopepoda no es la excepción, se utilizó como base para el diseño de oligonucleótidos el mitogenoma de *Tigriopus californicus* (Burton *et al.*, 2007), debido a que según Weydmann *et al.* (2017) los copépodos son un caso particular dentro de los artrópodos porque, a pesar de que existen pocos genomas publicados de copépodos, estos presentan una enorme variación del orden de sus genes y del tamaño de sus mitogenomas. Por lo tanto, para fines de comparación, estabilidad en el orden de los genes y cercanía a los copépodos calanoides, *Tigriopus californicus* es actualmente la especie más adecuada como marco de referencia. Además, se utilizó la secuencia del mitogenoma de *Tigriopus japonicus* (Jung *et al.*, 2006; Machida *et al.*, 2002) como comparación. Sin embargo, existen otras especies de calanoides con genoma mitocondrial parcialmente secuenciado como *Calanus hyperboreus*, *Calanus sinicus*, *Calanus finmarchicus* y *Calanus glacialis* pero sus genomas poseen grandes regiones no codificantes, una disposición de sus genes altamente variable y el tamaño del genoma completo es considerablemente mayor con respecto al número de pares de bases reportados para otros copépodos del superorden Podoplea (Minxiao *et al.*, 2011; Weydmann *et al.*, 2017). Aunque *Eucalanus bungii* y *Neocalanus cristatus* poseen gran parte de su genoma mitocondrial secuenciado (Machida *et al.*, 2004), este no es total. Para el superorden Podoplea se tienen los mitogenomas parciales de *Caligus rogercresseyi*, *Caligus elemensi*, *Lepeophtheirus salmonis*, *S. polycolpus* y *Paracyclopsina nana* (Minxiao *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2012; Weydmann *et al.*, 2017) pero estas especies están filogenéticamente más lejanas de los copépodos calanoides. Aun así, éstas

secuencias no se excluyeron del presente análisis. La importancia de realizar el análisis considerando el mitogenoma, radica en conocer la secuencia completa del gen *CO1*, así como la secuencia que lo flanquea, debido a que puede existir alguna región del genoma altamente conservada en Neocopepoda que pueda funcionar como anclaje para los nuevos oligonucleótidos. Esto puede evitar el problema de tener que diseñar un par de oligonucleótidos para cada especie o grupo de especies en estudio. La solución ideal sería diseñar un oligonucleótido que permita la amplificación y secuenciación con alta tasa de eficiencia en cualquier especie de Neocopepoda. Sin embargo, esto aún no ha sido logrado hasta ahora.

La presente revisión bibliográfica es el primer esfuerzo de metanálisis para estandarizar y construir de manera más eficiente la biblioteca genética de código de barras (*CO1*) de copépodos marinos y estandarizar el uso de los oligonucleótidos diseñados como “universales” para las especies de Neocopepoda (Neocop-CO1-22F y Neocop-CO1-837R). La selección de oligonucleótidos debió satisfacer los requisitos explicados previamente, permitirá a los taxónomos expertos usar estos primers en forma de un protocolo estandarizado. Con esta estrategia se pretende obtener una mayor proporción de éxito de amplificación y secuenciación. En el presente estudio se propone el uso de oligonucleótidos internos para especies con problemas taxonómicos que posiblemente no amplifiquen con los primers “universales” aquí propuestos para Neocopepoda. Los oligonucleótidos Neocop-CO1-205F y Neocop-CO1-679R cumplieron con la mayor parte de las características mencionadas anteriormente. Sin embargo, a diferencia de anterior par (Neocop-CO1-22F y Neocop-CO1-837R), estos poseen un amplicón comparativamente más pequeño. Aun así, la información que se obtiene es suficiente para discriminar entre especies de copépodos y es factible su uso en técnicas de metabarcoding.

El metabarcoding mediante el uso de tecnología NGS en teoría permite obtener varios miles a millones de lecturas de secuencia por amplicón. Sin embargo, la longitud de las secuencias de lectura es actualmente compatible utilizando únicamente para pequeños fragmentos de entre 200–300 pb. Sin embargo, existe una limitación metodológica significativa al diseñar oligonucleótidos para este tipo de estudios,

porque numerosas especies requieren que los genes se amplifiquen en el mismo experimento de PCR. Por lo tanto, los oligonucleótidos deben ser altamente versátiles para amplificar numerosas regiones con una eficiencia similar entre regiones del gen *CO1*. El diseño apropiado de los primers y la estandarización de los perfiles de PCR en teoría evitarán la subestimación de la biodiversidad y permite obtener bibliotecas de códigos de barras comparables en estudios de metabarcoding. Por este motivo, el diseño apropiado de los oligonucleótidos es crítico y es necesario tomar en cuenta todas las características metodológicas aquí propuestas que contribuirá en un uso más eficiente de los recursos financieros y logísticos de la investigación. Una técnica estandarizada eficiente disminuirá el número de experimentos de PCR fallidos si no contemplan un oligonucleótido diseñado para el grupo. Consecuentemente, los productos de investigación estarán soportados de una manera más robusta para lograr inferencias biológicas y taxonómicas de mayor sustento. El diseño apropiado de los oligonucleótidos es un aspecto esencial de la biología molecular que aún está en etapa de desarrollo y perfeccionamiento. Para el diseño del oligonucleótido se deben tomar en cuenta los siguientes aspectos:

1) **Uso del genoma mitocondrial:** Si el genoma mitocondrial del grupo taxonómico de interés es completamente conocido y disponible, se puede identificar el gen *CO1* completo y buscar las regiones conservadas y variables de este gen para analizar la secuencia previas y posteriores del gen *CO1*. Esta acción permite obtener la más amplia perspectiva de la región que se desea amplificar.

2) **Marco de lectura de los aminoácidos:** tomando en cuenta el marco de lectura es posible inferir los cambios y la posición del nucleótido en las secuencias. Para el caso del gen *CO1* la posición de los aminoácidos es relevante porque ese gen traduce proteínas que participa en la cadena respiratoria, por lo tanto, un cambio en las secuencias del gen *CO1* (primera, segunda o tercera posición) tendría una modificación de aminoácidos podría desactivar su función.

3) **Análisis bioinformático:** La comparación consensada de todas las secuencias disponibles del gen *CO1* de copépodos marinos en las bases de datos públicas ayudó para diseñar los oligonucleótidos para identificar las áreas conservadas

y variables, en comparación con los oligonucleótidos públicos específicos y así aprovechar las ventajas y desventajas de cada uno de estos.

El dendograma de similitud basado en el código de barras de copépodos agrupó exitosamente a la mayoría de las especies con valores de Bootstrap > 90%. Únicamente las especies del género *Subeucalanus* formaron diferentes agrupamientos (BIN's); sin que estas se distribuyeran dentro de otros grupos como fue el caso en particular de *S. mucronatus* y *S. subtenuis*. *Subeucalanus mucronatus* actualmente cuenta con únicamente dos secuencias disponibles secuenciadas en el presente trabajo. Sin embargo, Fisher & Smith (2008) mencionaron que la interpretación de los agrupamientos realizados mediante el uso de código de barras es altamente sensible al número de especímenes (secuencias) y número de haplotipos analizados. De esta forma los resultados obtenidos pueden variar con el aporte de nuevas secuencias de una misma especie de distintas regiones geográficas que aporte variabilidad intraespecífica. También es relevante establecer la divergencia intraespecífica de la especie y del género, como se ha observado en copépodos de la familia Pontellidae en el Golfo de California donde se ha reportado una divergencia intraespecífica de hasta 7.7% en *Labidocera acuta* y 3% en *Pontellina plumata* (Beltrán-Castro, 2014). *Subeucalanus subtenuis* formó igualmente dos diferentes BIN's, dejando en evidencia la carencia de estudios de taxonomía integrativa en especies de este género. Al realizar las comparaciones en la base de datos públicos (GenBank) se puede evidenciar la falta de consenso entre las especies. Es decir, una misma secuencia presenta altos porcentajes de similitud (>98%) con especies del género y con especies de otros géneros indicando que esta parte del gen es altamente conservada. El presente estudio corrobora la falta de claves taxonómicas de identificación de especies actualizadas e investigaciones recientes apoyadas con el uso de nuevas tecnologías como la microscopía electrónica de barrido (MEB), microscopía confocal y genética. Las especies *S. mucronatus* y *S. subtenuis* tienen distribución biogeográfica circumglobal (Razouls *et al.*, 2005). Sin embargo, la inconsistencia en el porcentaje de similitud con distintas especies sugiere que las especies de este género necesitan una revisión taxonómica y sistemática profunda

con posibilidad de encontrar especies crípticas, hermanas o que simplemente es un grupo de copépodos que los científicos de distintos países con distinto nivel de experiencia taxnómica confunden y asignan una errónea identificación morfológica a una secuencia CO1. El uso de datos genéticos posee la capacidad de discriminar especies hermanas, especies crípticas o identificar haplotipos endémicos imposibles de discriminar mediante uso exclusivo de caracteres diagnósticos morfológicos (Hedin, 1997; Bond & Sierwald, 2002; Bond, 2004). Claramente, los datos moleculares son un complemento de evidencia crítica para numerosos estudios de taxonomía basado en caracteres diagnósticos morfológicos, biogeografía y evolución. Las diagnosis moleculares pueden en un futuro cercano permitir la identificación rápida de especies una vez definido los criterios de discriminación específica entre estas (Bond, 2004).

Estructura de la comunidad de copépodos en Cabo Pulmo

El presente estudio demostró que 21 especies de copépodos de los ordenes Calanoida y Poecilostomatoida dominaron en términos de abundancia la comunidad tropical de zooplancton y por su biomasa las 49 especies de copépodos registradas en el PNCP durante 2014–2015. Los copépodos representaron el 64% del total de la abundancia de zooplancton indicando su relevante función ecológica en la red trófica pelágica del PNCP. Anomalías positivas de TSM y anomalías negativas de Chl-*a* se observaron durante un periodo mayor al de 2014–2015 con relación a series de tiempo TSM y Chl-*a* 2002–2018 (Ahern *et al.*, 2018). Los valores positivos de PDO indican una fase de calentamiento se observaron durante 2014–2015. Sin embargo, se observaron dos períodos cálidos distintos causados por procesos oceanográficos y meteorológicos diferentes en la región del PNCP. El primer período anormalmente cálido se observó entre enero y agosto de 2014, no asociado con valores positivos de MEI > 0.5 (Figura 2A), si no con un posible origen como onda de calor regional detectada simultáneamente, pero independiente, de un evento de una onda de calor marina más grande del Pacífico norte llamado "The Blob" (Bond *et al.*, 2015; Kintisch,

2015; Peterson *et al.*, 2015; Carrillo-Aguilar 2018; Frölicher y Laufkötter, 2018; Brodeur *et al.*, 2019). Este fenómeno de calentamiento anómalo en el Pacífico noroeste fue causado por unas tasas inferiores de pérdida anormal de calor del océano a la atmosfera causando un debilitamiento de la zona de alta presión atmosférica en el Golfo de Alaska (Bond *et al.*, 2015; Di Lorenzo & Mantua, 2016). Sin embargo, las causas oceanográficas de la onda de calor regional en el sur del Golfo de California durante 2013-2014 aún no es bien comprendida (Carrillo-Aguilar, 2018). De hecho, los procesos que conducen a la acumulación, persistencia y descomposición de las ondas de calor marinas en todo el mundo en general aún no se comprenden bien (Frölicher & Laufkötter, 2018). Sin embargo, esta onda de calor del Blop causo notables cambios en la estructura de la comunidad del macro zooplancton y micro necton en la región costera de surgencia de Oregon, asociada con esta onda de calor sin precedente del 2014 (Brodeur *et al.*, 2019). El segundo período anormalmente cálido registrado entre noviembre de 2014 y diciembre de 2015 en PNCP fue causado por la influencia de El Niño ecuatorial 2015 (Jacox *et al.*, 2016; Frischknecht *et al.*, 2017; Peterson *et al.*, 2017; Sánchez-Velasco *et al.*, 2017). El evento de calentamiento de El Niño ecuatorial 2015-2016 en California fue más débil de lo esperado, debido a anomalías en la temperatura de la superficie del mar tropical; los campos de temperatura y densidad reflejan la persistencia de anomalías multianuales de temperatura ocasionales a las causadas por el evento El Niño 2015-2016 (Jacox *et al.*, 2016); tal como se registró en el sur del Golfo de California (Sánchez-Velasco *et al.*, 2017; Ahern *et al.*, 2018). Las series de tiempo TSM y Chl-a superficial del mar mostraron un proceso progresivo de calentamiento y anomalías negativas en la concentración de Chl-a superficial durante 2008–2018 en PNCP (Ahern *et al.*, 2018). Estudios oceanográficos previos en el PNCP (Trasviña-Castro *et al.*, 2012; Carrillo-Aguilar, 2018) y las imágenes satelitales de corrientes marinas y las mediciones con ADCP de 3– 5 m de profundidad en la columna de agua (Figura 3A,B) indican que las corrientes superficiales en CPNP generalmente fluyen hacia el norte durante la temporada cálida (junio-noviembre) y hacia el sur durante la temporada fría (diciembre-mayo). La variabilidad no estacional de las corrientes de la superficie del mar probablemente se asocia con la influencia de

estructuras de meso escala como remolinos y corrientes de chorro, como se observó con anterioridad al sur del PNCP (Apango-Figueroa *et al.*, 2015).

La riqueza y abundancia de especies de copépodos tropicales fue mayor durante el evento El Niño Ecuatorial 2015 que durante el período de onda de calor regional de enero a junio de 2014. Se observó un notorio aumento relativo de la biomasa de carbono de octubre de 2014 a diciembre de 2015 debido a la aparición e incremento de abundancia de tres grandes especies tropicales de copépodos: *S. subtenuis*, *S. subcrassus* y *E. indica*. Por otro lado, el método de muestreo utilizado no afectó de manera importante la capacidad de recolectar copepodos en la columna de agua debido a que el sitio de muestreo tiene una profundidad < 30m y la hora de recolecta fue siempre al medio día, por lo que la migración vertical de los copépodos posiblemente fue insignificante. Además los copépodos en el hábitat oceánico del Golfo de California generalmente se concentran dentro de los primeros 50 m de profundidad independientemente de la hora del día (Palomares-García *et al.*, 2013; Cruz-Hernández *et al.*, 2018, 2019). Los copépodos calanoides de la zona de convergencia entre el agua tropical de transición y el agua de la corriente de California en la boca del Golfo de California, registrada durante junio de 2010 mostraron abundancias significativamente más altas en agua tropical (24,704 inds./1000 m³, representado por *S. subtenuis* y *Centropages furcatus*) que en agua subtropical (3,304 inds./1000 m³; por *Euchaeta indica* y *Centropages elongatus*) y la zona frontal (4,453 inds./1000 m³; por *Scolecithrix bradyi* y *Heterorhabdus papilliger*) (Cruz-Hernández *et al.*, 2019). Estos patrones espaciales en la boca del Golfo de California, en función de las masas de agua, explican el aumento de la abundancia y la riqueza de especies tropicales observado durante El Niño Ecuatorial 2015 en PNCP con la advección hacia el norte del agua de transición tropical.

La abundancia de todos los grupos taxonómicos de zooplancton, recolectados en el PNCP durante 2014–2015, fue en promedio menor que la del zooplancton en Bahía Magdalena (Hernández-Trujillo *et al.*, 2010), Bahía Concepción (Palomares-García *et al.*, 2002), Navachiste (De Silva-Dávila *et al.*, 2006) y Barra de Navidad (Franco-Gordo *et al.*, 2015) (Figura 14A, B; Anexo 1). Sin embargo, la abundancia de

zooplancton en el PNCP fue ligeramente mayor que el zooplancton recolectado en Bahía de La Paz (Lavaniegos & González-Navarro, 1999), Puerto Escondido (Gómez-Gutiérrez, datos no publicados), y Las Guásimas, Sonora (Álvarez-Tello *et al.*, 2015). El Análisis de Agrupamientos de una vía de la abundancia y estructura comunitaria de zooplancton identificado a grandes grupos taxonómicos comparados en ocho ubicaciones en el noroeste de México, mostró cuatro grupos con un corte del 70% de esta información (Figura 14A,B; Anexo 1). Uno que cubre el área entre Bahía Magdalena, al sur del Golfo de California y Cabo Corrientes Jalisco; un segundo en la costa oeste del Golfo de California entre Bahía de La Paz y Puerto Escondido, y los dos restantes se ubicaron en la región central del Golfo de California mostrando un gradiente latitudinal coherente que concuerda con la distribución de las masas de agua (Portela *et al.*, 2016) (Figura 14A, B; Anexo 1).

Además, las asociaciones de especies de copépodos en el PNCP fue más similar a los reportados en el Pacífico Central Mexicano (Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2014; Kozak *et al.*, 2014; Rojas-Herrera *et al.*, 2016) y la costa oeste de Baja California península (Palomares-García & Gómez-Gutiérrez, 1996; López-Ibarra & Palomares-García, 2006; Hernández-Trujillo *et al.*, 2010) que los reportados en las regiones central y norte del Golfo de California (Brinton *et al.*, 1986; Lavaniegos & González-Navarro, 1999; De Silva-Dávila *et al.*, 2006; Lavaniegos *et al.*, 2012) (Figura 14A,B; Anexo 1). Por lo tanto, el PNCP se considera un ecosistema de abundancia de zooplancton cercano al promedio en la región noroeste de México que actualmente sostiene un arrecife de coral tropical y un ecosistema de arrecife rocoso ecológicamente saludable (Aburto-Oropeza *et al.*, 2011, 2015). La abundancia total y la estructura comunitaria del zooplancton en PNCP fueron similares a los estudios ubicados en Bahía Magdalena y al sur del Golfo de California y distintos del zooplancton del centro del Golfo de California (Figura 14A, B). Este patrón regional latitudinal coincide con los gradientes ambientales latitudinales asociados con las masas de agua de la región (Portela *et al.*, 2016), que apoyan la explicación de la distribución de las especies encontradas.

El conjunto de especies de copépodos observado en el PNCP durante 2014–2015 fue predominantemente tropical, pero con baja riqueza de especies, incluidas 49 especies que contrastan con aproximadamente 480 especies registradas en la región del Pacífico Ecuatorial Tropical (Razouls *et al.*, 2005-2019; Suárez-Morales & Gasca, 1998), 197 especies en el Pacífico mexicano (Hernández-Trujillo & Esqueda-Escárcega, 2002), 130 especies en el Golfo de California (Brinton *et al.*, 1986; Hernández-Trujillo & Esquivel-Herrera, 1989; Palomares-García *et al.*, 1998, 2013) y entre 55–78 especies en la boca del Golfo de California (Gómez-Gutiérrez & Hernández-Trujillo, 1994; Cruz-Hernández *et al.*, 2018, 2019). La baja riqueza de especies de copépodos de afinidad biogeográfica tropical en el PNCP se explica porque el hábitat poco profundo y costero con <30 m de profundidad del fondo marino y regularmente se encuentra bajo la influencia predominante de la masa de agua tropical de transición durante todo el año (Portela *et al.*, 2016). El esfuerzo de investigación en hábitats oceánicos y más profundo en la columna de agua ha reportado una mayor riqueza de especies de copépodos (Palomares-García *et al.*, 2013; Cruz-Hernández *et al.*, 2018, 2019). Por lo tanto, predecimos que incluso durante los años anormalmente fríos, las especies de copépodos de afinidad biogeográfica tropical seguirían siendo numéricamente dominantes en el PNCP.

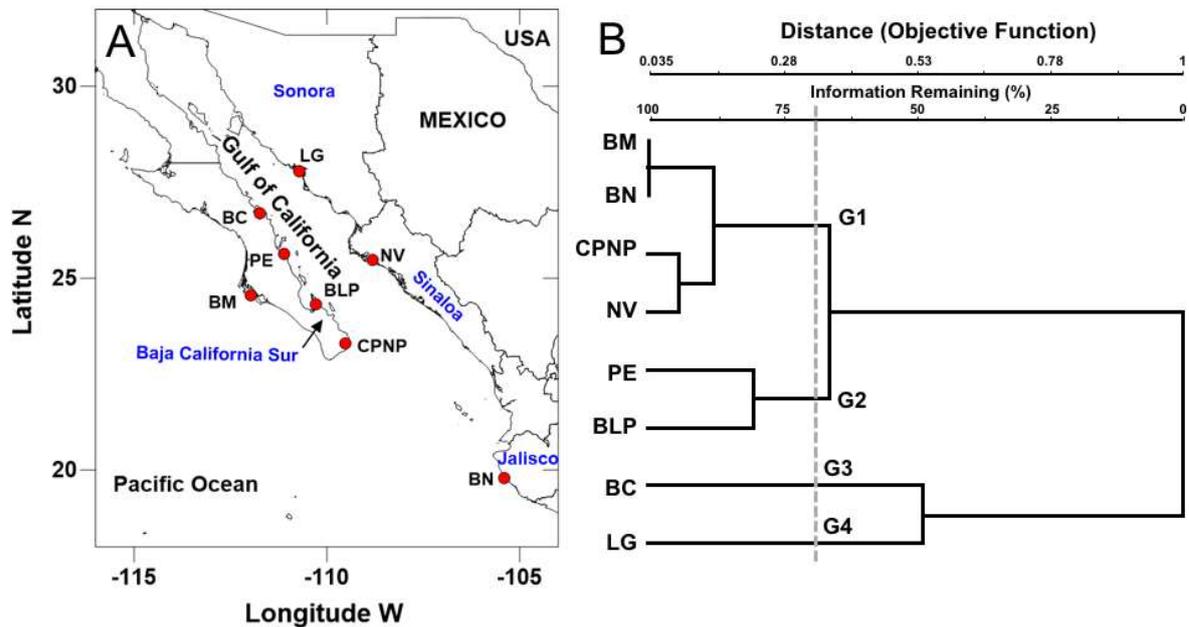


Figura 14. A) Mapa de las ubicaciones de las siete series de tiempo de zooplancton con >1 año de duración de grandes grupos taxonómicos recolectados en la región noroeste de México para comparar con la abundancia de zooplancton recolectada en PNCP (2014-2015). B) Análisis de agrupamiento de la abundancia total de grandes grupos taxonómicos de zooplancton recolectados utilizando la misma metodología en ocho localidades del noroeste de México obtenidas de BM = Bahía Magdalena (Hernández-Trujillo *et al.*, 2010), BC = Bahía Concepción (Palomares-García *et al.*, 2002), BLP = Bahía de La Paz (Lavaniegos-Espejo & González-Navarro, 1999), PE = Puerto Escondido (Gómez-Gutiérrez, datos no publicados), PNCP = Parque Nacional Cabo Pulmo (presente estudio) en la Península de Baja California; LS = Las Guásimas, Sonora (Álvarez-Tello *et al.*, 2015), NV = Navachiste, Sinaloa (De Silva-Dávila *et al.*, 2006) y BN = Barra de Navidad, Jalisco (Franco-Gordo *et al.*, 2015). La estructura comunitaria del zooplancton del Parque Nacional Cabo Pulmo se parece más al zooplancton de Bahía de La Paz y Loreto que a Bahía Magdalena y Bahía Concepción.

Las asociaciones de especies de copépodos también cambiaron con el patrón estacional de la corriente superficial del mar que duró aproximadamente seis meses cada uno (Figura 3A, B) y con el patrón de variabilidad de la temperatura superficial del mar divide la zona en una temporada fría durante diciembre-abril, una transición frío-calor en mayo, una temporada cálida durante junio-octubre, y una transición de frío-calor en noviembre (Hidalgo-González & Álvarez-Borrego, 2004). La transición de frío-calor en el PNCP observada durante 2000-2018 comienza en mayo, un mes antes de lo reportado considerando el promedio de la mayor parte del Golfo de California

(Hidalgo-González & Álvarez-Borrego, 2004). Así mismo, las asociaciones de copépodos y el zooplancton identificado a grandes grupos no presentaron una correlación significativa con los ciclos de marea vivas vs muertas, cuya duración aproximada es de siete días. El biovolumen del zooplancton y la abundancia total de copépodos disminuyeron en Bahía Magdalena durante dos eventos distintos de El Niño ocurridos durante 1982-1983 y 1997-1998 (Palomares-García & Gómez-Gutiérrez, 1996; López-Ibarra & Palomares-García, 2002). Teniendo en cuenta esta respuesta ecológica del zooplancton, especulamos que la abundancia total de copépodos en el PNCP probablemente fue más baja durante 2014-2015 de lo esperado durante los años fríos anómalos observados a principios de la década de 2000 (Ahern *et al.*, 2018). La anomalía positiva TSM observada en el PNCP durante 2014 se asoció con una onda de calor regional que ocurrió simultáneamente pero independientemente del evento de calentamiento "The Blob" observado en el Pacífico Norte, que apareció durante el final de 2013 y casi todo 2014 en el Pacífico Norte (Kintisch, 2015; Carrillo-Aguilar, 2018; Bond *et al.*, 2015; Peterson *et al.*, 2015; 2017). Esta condición de calentamiento se prolongó en el sur del Golfo de California con la llegada de El Niño ecuatorial 2015-2016 (Sánchez-Velasco *et al.*, 2017). La especie *Cl. furcatus*, *Copilia mirabilis* y *C. darwinii* fueron estadísticamente significativas especies indicadoras de las condiciones de El Niño 2015, coherentes con sus patrones conocidos de distribución biogeográfica de afinidad tropical (Razouls *et al.*, 2005-2019; Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2014; Kozak *et al.*, 2014). La abundancia relativa de 45 especies tropicales aumentó 86% durante 2014 a 95% de 39 especies durante 2015, en respuesta a un periodo prolongado de anomalías positivas de la TSM. Dichas condiciones climatológicas tropicales se prolongaron durante 2016 y se relajaron ligeramente durante 2017 (Sánchez-Velasco *et al.*, 2017; Ahern *et al.*, 2018; Carrillo-Aguilar, 2018). Predecimos un aumento en el porcentaje de especies tropicales durante los futuros periodos de calentamiento más frecuentes y prolongados, como se observó previamente en el PNCP (Ahern *et al.*, 2018) y el centro del Golfo de California (Robinson *et al.*, 2013, 2016). Este patrón de tropicalización también se ha observado en la región noroeste de México durante eventos anteriores de El Niño en el noroeste de México (Palomares-García & Gómez-Gutiérrez, 1996; Hernández-Trujillo, 1999;

Lavaniegos & González-Navarro, 1999; López-Ibarra & Palomares-García, 2006; Pelayo-Martínez *et al.*, 2017).

La abundancia de copépodos en el ecosistema pelágico es un indicador ecológico útil que complementa la riqueza, diversidad y dominancia de la comunidad de copépodos (Kozak *et al.*, 2014). Sin embargo, la abundancia por sí sola proporciona información limitada sobre la relevancia ecológica trófica de cada especie debido al amplio espectro del tamaño del cuerpo que existe entre las especies de copépodos (variabilidad interespecífica) y a la variabilidad debido al ciclo de desarrollo ontogénico (variabilidad intraespecífica). En el presente estudio se obtuvo una observación inesperada del aumento de la abundancia y la biomasa de *S. subcrassus* y *S. subtenuis* asociado con la advección hacia el norte de agua tropical durante el evento El Niño 2015. *Subeucalanus subcrassus* y *Ce. furcatus* fueron las especies más abundantes que representaron el 62% de la abundancia total registrada en la región de Cabo Corrientes durante El Niño 1997–1998; pero sin un aumento evidente de la riqueza de especies en esta región tropical en Cabo Corrientes relacionada con la influencia de El Niño 1997–1998 (Kozak *et al.*, 2014). La biomasa de todo el conjunto de especies de copépodos aumentó considerablemente con la llegada de estas dos grandes especies tropicales durante octubre de 2014 a diciembre de 2015. Este aumento de biomas posiblemente favoreció que estas especies fueran presas abundantes para los depredadores de zooplancton que habitan el ecosistema de arrecifes de coral y arrecifes rocosos del PNCP. El análisis de la biomasa de carbono de copépodos y la longitud del prosoma, en lugar de la abundancia que se usa con más frecuencia en estudios ecológicos, cambió radicalmente la interpretación ecológica de qué especies de copépodos desempeñan una función trófica relevante clave en este ecosistema tropical. Las especies, *S. subtenuis* y *S. subcrassus* contribuyeron en gran medida con biomasa para las especies zooplanctófagas bentónicas y pelágicas en el PNCP, contrastando con las observaciones previas en ecosistemas templados. Turner (2004) informó que los copépodos de pequeño tamaño son los enlaces de carbono más relevantes en las redes alimentarias templadas marinas, porque son los principales organismos herbívoros y presas del zooplancton carnívoro. Proporcionamos pruebas contundentes de que, el calentamiento regional

anómalo en el PNCP, durante el período de estudio favoreció la prevalencia de un conjunto de copépodos tropicales durante todo el año, dominado por copépodos de tamaño pequeño durante ambos años, y que dos especies tropicales y oceánicas de mayor talla aumentaron significativamente la biomasa de carbono de la comunidad de copépodos durante El Niño 2015, lo que probablemente influyó en PNCP debido a su estrecha plataforma continental y la dinámica oceanográfica que se producen en la boca del Golfo de California.

Conclusiones

El gen *CO1* en Neocopepoda posee una extensión de 1528 pb, considerando como base de comparación el genoma mitocondrial completo de *T. japonicus*. Se obtuvieron un total de 30 oligonucleótidos distintos para amplificar el gen *CO1* de copépodos, el 24% de estos flanquean la región de interés. Se determinó que en general estos oligonucleótidos son usados con la técnica de PCR anidado; a partir de esta información se diseñaron dos pares de oligonucleótidos universales para Neocopepoda Neocop-CO1-22F y Neocop-CO1-837R y el par interno Neocop-CO1-205F y Neocop-CO1-679R debido a que cumplieron con la mayor parte de las características deseables y promete incrementar el éxito de amplificación y secuenciación en diversas especies de Neocopepoda.

Se identificaron molecularmente un total de 20 grupos (BIN's) que corresponden a 18 especies nominales identificadas mediante caracteres diagnósticos morfológicos, por lo cual, está la posibilidad de que las especie problema *S. subtenuis* y *S. mucronatus* que formaron dos grupos diferentes cada uno y en el análisis Blast realizado con similitudes > 98% con especies de otras partes del mundo (incluyendo incluso algunas especies género distintos) pero todos pertenecientes a la familia Eucalanidae. Existe la posibilidad que los especímenes de estas secuencias sean especies diferentes, posiblemente crípticas o de la familia Eucalanidae que requieren una revisión taxonómica exhaustiva aplicando herramientas y tecnología en microscopía más avanzada, y así poder actualizar y realizar precisiones a las claves de identificación taxonómica.

Los copépodos aportaron el 64% de la abundancia total en los grupos del zooplancton seguido por los quetognatos, la riqueza de los grupos taxonómicos de zooplancton recolectados durante ambos años fue mayor durante la temporada cálida, cuando la abundancia relativa de copépodos era baja en comparación con la temporada fría. Se identificaron 49 especies de copépodos pelágicos, 14% más en 2015 que en 2014. *O. venusta*, *P. parvus* y *C. jobei* fueron las especies más abundantes; se pudieron diferenciar dos comunidades estacionalmente asociadas a temporada fría (noviembre-abril) y cálida (mayo-octubre). *Acartia tonsa* fue una

especie indicadora de la onda de calor registrada durante el 2014 y *C. darwinii*, *C. mirabilis* y *Cl. furcatus* fueron especies indicadoras de El Niño Ecuatorial 2015. Dos grandes especies de copépodos tropicales llegaron al PNCP al comienzo de El Niño 2015 presentando gran parte de la abundancia de copépodos y la biomasa de carbono disponible para los depredadores de zooplanctófagos que habitan este ecosistema de arrecifes rocosos y de coral. Aunque *O. venusta* fue la especie más abundante en toda la serie de tiempo de abundancia de copépodos, *S. subcrassus* y *S. subtenuis* fueron las dos especies que contribuyeron con la mayor parte de la biomasa de carbono de la comunidad de copépodos presentes en el PNCP durante la mayor parte de 2015. Estas especies probablemente desempeñan una función ecológica relevante pero insospechada en la trama alimentaria marina de este ecosistema costero tropical. Se concluye que la proporción de especies de copépodos pelágicos de afinidad tropical aumentó por la influencia de El Niño Ecuatorial, así como su biomasa en carbono, en comparación con un año previo a su llegada, con una persistencia de anomalías positivas de TSM y una baja concentración de Chl-a.

Recomendaciones

Es necesario continuar con la siguiente fase del diseño de los oligonucleótidos y la estandarización del protocolo de amplificación, probando los oligonucleótidos con las especies de Neocopepoda que tengan problema taxonómicos pero que aún no se han podido obtener sus códigos de barras. Así mismo, es imprescindible continuar con el esfuerzo mundial de la construcción de bibliotecas genéticas de códigos de barras en bases de datos públicas adecuadamente curadas, con la intención de robustecer los análisis de identificación molecular de especies. Esta información va a dar paso al desarrollo de las técnicas y tecnologías de secuenciación de nueva generación como el metabarcoding. El uso de los oligonucleótidos internos propuestos en el presente estudio pueden ser de gran utilidad, por lo que se recomienda realizar pruebas y comparaciones en muestras de zooplancton y hacer una comparación de la tasa de eficiencia de las secuencias obtenidas usando los oligonucleótidos propuestos en el presente estudio y los oligonucleótidos “universales” de Folmer *et al.* (1994). Este análisis permitirá inferir y comparar su eficiencia en la cuantificación de biodiversidad de Neocopepoda. Así mismo, es necesaria una revisión taxonómica de la familia Eucalanidae, en especial al género *Subeucalanus*, derivado de la incertidumbre en los porcentajes de similitud observada con las secuencias actualmente disponibles en las bases públicas de BoldSystem y GenBank. Es necesario el uso no solo de las técnicas moleculares, sino que también de microscopía electrónica de barrido y actualizar las claves taxonómicas dicotómicas basadas en caracteres diagnósticos morfológicos en un esfuerzo por realizar en la medida de lo posible taxonomía integrativa.

Se considera necesario continuar con el monitoreo y cuantificación de la comunidad de zooplancton en el PNCP, en especial a la comunidad de copépodos, que aportan alta abundancia y una mayor cantidad de carbono al ecosistema marino. El presente estudio se realizó en un periodo de calentamiento prolongado, que, aunque fueron de origen distinto no se pudo contrastar con anomalías negativas como sucedería durante periodos bajo la influencia de La Niña. Estas estimaciones de abundancia y biomasa como indicadores de la productividad del ecosistema permiten inferir el impacto que causa en esta zona de importancia turística, social y cultural, un fenómeno de calentamiento anómalo y falta evaluar esto bajo una fase fría.

Bibliografía

- Aburto-Oropeza, O., Erisman, B., Galland, G.R., Mascareñas-Osorio, I., E., Sala, E. & Ezcurra, E., 2011. Large recovery of fish biomass in a no-take marine reserve. *PLoS One* 6, e23601. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0023601>
- Aburto-Oropeza, O., Ezcurra, E., Moxley, J., Sánchez-Rodríguez, A., Mascareñas-Osorio, I., Sánchez-Ortiz, C., Erisman, B., & Ricketts, T., 2015. A framework to assess the health of rocky reefs linking geomorphology, community assemblage, and fish biomass. *Ecol. Indic.* 52, 353–361. <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2014.12.006>
- Aguilar-Carrillo, L.A., 2018. Señales interanuales de temperatura superficial de mar y su efecto en la hidrografía en el Parque Nacional Cabo Pulmo. Universidad de Baja California Sur.
- Ahern, A.L.M., Gómez-Gutiérrez, J., Aburto-Oropeza, O., Saldierna-Martínez, R.J., Johnson, A.F., Harada, A.E., Sánchez-Uvera, A.R., Erisman, B., Arvizú, D.I.C., & Burton, R.S., 2018. DNA sequencing of fish eggs and larvae reveals high species diversity and seasonal changes in spawning activity in the southeastern Gulf of California. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 592, 159–179. <https://doi.org/10.3354/meps12446>
- Álvarez-Tello, F.J., López-Martínez, J., Funes-Rodríguez, R., Lluch-Cota, D.B., Rodríguez-Romero, J. & Flores-Coto, C., 2015. Composición, estructura y diversidad del mesozooplankton en Las Guásimas, Sonora, un sitio Ramsar en el Golfo de California, durante 2010. *Hidrobiológica.* 25. 401–410.
- Ambriz-Arreola, I., Gómez-Gutiérrez, J., Franco-Gordo, M. del C., Plascencia-Palomera, V., Gasca, R., Kozak, E.R. & Lavaniegos, B.E., 2018. Seasonal succession of tropical community structure, abundance, and biomass of five zooplankton taxa in the central Mexican Pacific. *Cont. Shelf Res.* 168, 54–67. <https://doi.org/10.1016/j.csr.2018.08.007>
- Apango-Figueroa, E., Sánchez-Velasco, L., Lavín, M.F., Godínez, V.M., & Barton, E.D., 2015. Larval fish habitats in a mesoscale dipole eddy in the Gulf of California. *Deep. Res. Part I Oceanogr. Res. Pap.* 103, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.dsr.2015.05.005>

- Arizpe-Covarrubias, O., 2008. Caracterización del arrecife coralino de Cabo Pulmo., En: Gámez, A.E. (Ed.), Turismo y Sustentabilidad En Cabo Pulmo, BCS. pp. 53–74.
- Beers, J.R., 1976. Volumetric methods, in: Steedmann, H.F. (Ed.), Monographs on Oceanographic Methodology. Vol. IV. UNESCO, Paris, pp. 55–60.
- Beltrán-Castro, J.R., 2011. Identificación molecular de copépodos pelágicos del Golfo de California empleando ADNmt citocromo c oxidasa subunidad 1 (CO1). Universidad Autónoma de Baja California Sur.
- Beltrán-Castro, J.R., 2014. Diversidad de Copépodos Pontelidos (Copepoda: Calanoida: Pontellidae) en el Golfo de California y el valor taxonómico de un estudio con Citocromo C Oxidasa 1 (CO1). Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas-IPN.
- Beltrán-Castro, J.R. & Hernández-Trujillo, S., 2016. DNA Barcoding of calanoid copepods from the Gulf of California, En: DNA Barcoding in Marine Perspectives. Springer International Publishing, Cham, pp. 147–156. https://doi.org/10.1007/978-3-319-41840-7_9
- Blanco-Bercial, L. & Álvarez-Marquéz, F., 2007. RFLP procedure to discriminate between *Clausocalanus* Giesbrecht, 1888 (Copepoda, Calanoida) species in the Central Cantabrian Sea. J. Exp. Mar. Bio. Ecol. 344, 73–77. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2006.12.016>
- Blanco-Bercial, L., Bradford-Grieve, J. & Bucklin, A., 2011. Molecular phylogeny of the Calanoida (Crustacea: Copepoda). Mol. Phylogenet. Evol. 59, 103–113. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2011.01.008>
- Bond, J.E., 2004. Systematics of the Californian euctenizine spider genus *Apomastus* (Araneae : Mygalomorphae: Cyrtachaeniidae): the relationship between molecular and morphological taxonomy. Invertebr. Syst. 18, 361. <https://doi.org/10.1071/IS04008>
- Bond, J.E. & Sierwald, P., 2002. Cryptic speciation in the *Anadenobolus excisus* millipede species complex on the island of Jamaica. Evolution (N.Y.). 56, 1123–1135. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2002.tb01426.x>

- Bond, N.A., Cronin, M.F., Freeland, H. & Mantua, N., 2015. Causes and impacts of the 2014 warm anomaly in the NE Pacific. *Geophys. Res. Lett.* 42, 3414–3420. <https://doi.org/10.1002/2015GL063306>
- Brinton, E., Fleminger, A. & Siegel-Causey, D., 1986. The temperate and tropical planktonic biotas of the Gulf of California. *Calif. Coop. Ocean. Fish. Invest. Rep.* 27, 228–266.
- Brodeur, R.D., Auth, T.D. & Phillips, A.J., 2019. Major shifts in pelagic micronekton and macrozooplankton community structure in an upwelling ecosystem related to an unprecedented marine heatwave. *Front. Mar. Sci.*, 6, 212. <https://doi.org/10.3389/fmars.2019.00212>
- Bucklin, A., Hopcroft, R.R., Kosobokova, K.N., Nigro, L.M., Ortman, B.D., Jennings, R.M. & Sweetman, C.J., 2010a. DNA barcoding of Arctic Ocean holozooplankton for species identification and recognition. *Deep. Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* 57, 40–48. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2009.08.005>
- Bucklin, A., Ortman, B.D., Jennings, R.M., Nigro, L.M., Sweetman, C.J., Copley, N.J., Sutton, T. & Wiebe, P.H., 2010b. A “Rosetta Stone” for metazoan zooplankton: DNA barcode analysis of species diversity of the Sargasso Sea (Northwest Atlantic Ocean). *Deep. Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* 57, 2234–2247. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2010.09.025>
- Burton, R.S., Byrne, R.J. & Rawson, P.D., 2007. Three divergent mitochondrial genomes from California populations of the copepod *Tigriopus californicus*. *Gene* 403, 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2007.07.026>
- Campos, H.A. & Suárez-Morales, E., 1994. Copépodos pelágicos del Golfo de México y Mar Caribe. I. Biología y Sistemática, Chetumal, Quintana Roo, Mexico.
- Chen, Y.Q., 1986. The vertical distribution of some pelagic copepods in the eastern tropical Pacific. *Calif. Coop. Ocean. Fish. Invest. Rep.* 27, 205–227.
- Chen, Q.C. & Shen, C.J., 1974. The pelagic copepods of the South China Sea. II. *Stud. Mar. Sin.* 9, 125–137.

- Cheng, F., Wang, M., Sun, S., Li, C. & Zhang, Y., 2014. DNA barcoding of Antarctic marine zooplankton for species identification and recognition. *Adv. Polar Sci.* 24, 119–127. <https://doi.org/10.3724/sp.j.1085.2013.00119>
- Chin, T.M., Vázquez-Cuervo, J. & Armstrong, E.M., 2017. A multi-scale high-resolution analysis of global sea surface temperature. *Remote Sens. Environ.* 200, 154–169. <https://doi.org/10.1016/j.rse.2017.07.029>
- Chisholm, L.A. & Roff, J.C., 1990. Size-weight relationships and biomass of tropical neritic copepods off Kingston, Jamaica. *Mar. Biol.* 106, 71–77.
- Codiga, D.L., 2011. Unified tidal analysis and prediction using the UTide Matlab functions. Tech. Rep. 2011-01. Grad. Sch. Oceanogr. Univ. Rhode Island, Narragansett 59.
- Cruz-Hernández, J., Sánchez-Velasco, L., Godínez, V.M., Beier, E., Palomares-García, J.R., Barton, E.D. & Santamaría-Del-Ángel, E., 2018. Vertical distribution of calanoid copepods in a mature cyclonic eddy in the Gulf of California. *Crustaceana* 91, 63–84. <https://doi.org/10.1163/15685403-00003751>
- Cruz-Hernández, J., Sánchez-Velasco, L., Beier, E., Godínez, V.M. & Barton, E.D., 2019. Distribution of calanoid copepods across the mesoscale frontal zone of tropical-subtropical convergence off México. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* 169–170, 104678. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2019.104678>
- Davis, C.C., 1949. The pelagic Copepoda of the north-eastern Pacific Ocean. *Univ. Wash. Publ. Biol.* 14, 1–18.
- De Silva-Dávila, R., Palomares García, R., Zavala Norzagaray, A. & Escobedo Urías, D.C., 2006. Ciclo anual de los grupos dominantes del zooplancton en Navachiste, Sinaloa. *Contributions to the study of East Pacific Crustaceans*, 4, 25–39.
- Di Lorenzo, E. & Mantua, N., 2016. Multi-year persistence of the 2014/15 North Pacific marine heatwave. *Nat. Clim. Chang.* 6, 1042–1047. <https://doi.org/10.1038/nclimate3082>.
- Dufrene, M. & Legendre, P., 1997. Species assemblages and indicator species, the need for a flexible asymmetrical approach. *Ecol. Monogr.* 67, 345–366.

- Ebach, M.C. & Holdrege, C., 2005. DNA barcoding is no substitute for taxonomy. *Nature* 434, 697–697. <https://doi.org/10.1038/434697b>
- Elías-Gutiérrez, M. & Valdez-Moreno, M., 2008. Código de barras, una alternativa para estudiar la biodiversidad. *Cienc. Desarrollo*, 34, 60–67.
- Elias-Gutierrez, M., Fernando Martínez, J., Ivanova, N. V., Valdez-Moreno, M. & Hebert, P.D.N., 2008. DNA barcodes for Cladocera and Copepoda from Mexico and Guatemala, highlights and new discoveries. *Zootaxa*, 1839(1), 1-42.
- Elías-Gutiérrez, M., Valdez-Moreno, M., Topan, J., Young, M.R. & Cohuo-Colli, J.A. 2018. Improved protocols to accelerate the assembly of DNA barcode reference libraries for freshwater zooplankton. *Ecol. Evol.*, 8(5), 3002-3018.
- Eyun, S. II, 2017. Phylogenomic analysis of Copepoda (Arthropoda, Crustacea) reveals unexpected similarities with earlier proposed morphological phylogenies. *BMC Evol. Biol.* 17, 1–13. <https://doi.org/10.1186/s12862-017-0883-5>
- Figueroa, D.F., 2011. Phylogenetic analysis of *Ridgewayia* (Copepoda: Calanoida) from the Galapagos and of a new species from the Florida Keys with a reevaluation of the phylogeny of Calanoida. *J. Crust. Biol.* 31, 153–165. <https://doi.org/10.1651/10-3341.1>
- Fisher, B.L. & Smith, M.A., 2008. A revision of Malagasy species of *Anochetus* Mayr and *Odontomachus* Latreille (Hymenoptera: Formicidae). *PLoS One* 3, e1787. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001787>
- Fiedler, P.C. & Talley, L.D., 2006. Hydrography of the eastern tropical Pacific: A review. *Progr. Oceanogr.* 69, 143–180. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2006.03.008>.
- Fleminger, A., 1964. Distribution Atlas of Calanoid copepods in the California Current region. Part. 1. *Calif. Coop. Ocean. Fish. Invest. Atlas* 2, 1–33.
- Fleminger, A., 1967. Distribution atlas of Calanoid copepods in the California Current region. *Calif. Coop. Ocean. Fish. Invest. Atlas* 7, 1–213.

- Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. & Vrijenhoek, R., 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.* 3, 294–299. <https://doi.org/10.1071/ZO9660275>
- Franco-Gordo, C., Ambriz-Arreola, I., Kozak, E.R., Gómez-Gutiérrez, J., Plascencia-Palomera, V., Godínez-Domínguez, E. & Hinojosa-Larios, A., 2015. Seasonal succession of zooplankton taxonomic group assemblages in surface waters of Bahía de Navidad, Mexico (November 2010-December 2011). *Hidrobiológica*, 25, 335–345.
- Frischknecht, M., Münnich, M., Gruber N., 2017. Local atmospheric forcing driving an unexpected California Current System response during the 2015–2016 El Niño, *Geophys. Res. Lett.* 44, 304–311. <https://doi.org/10.1002/2016GL071316>.
- Frölicher, T.L. & Laufkötter, C., 2018. Emerging risks from marine heatwaves. *Nature Comm.* 9(1), 650. <https://doi.org/10.1038/s41467-018-03163-6>.
- Giesbrecht, W., 1982. Systematik und faunistik der pelagischen copepoden des Golfes Von Neapel. *Fauna und flora des Golf. von Neapel und der angrenzenden Meeresabschnitte* 19, 18–31.
- Goetze, E., 2011. Population differentiation in the open sea: Insights from the pelagic copepod *Pleuromamma xiphias*. *Integr. Comp. Biol.* 51, 580–597. <https://doi.org/10.1093/icb/icr104>
- Goetze, E. & Bradford-Grieve, J., 2005. Genetic and morphological description of *Eucalanus spinifer* T. Scott, 1894 (Calanoida: Eucalanidae), a circumglobal sister species of the copepod *E. hyalinus* s.s. (Claus, 1866). *Prog. Oceanogr.* 65, 55–87. <https://doi.org/10.1016/j.pocean.2005.02.015>
- Gómez-Gutiérrez, J. & Peterson, W.T., 1999. Egg production rates of eight calanoid copepod species during summer 1997 off Newport, Oregon, USA. *J. Plankton Res.* 21, 637–657. <https://doi.org/10.1093/plankt/21.4.637>
- Gómez-Gutiérrez, J., Funes-Rodríguez, R., Arroyo-Ramírez, K., Sónchez-Ortíz, C.A., Beltrán-Castro, J.R., Hernández-Trujillo, S., Palomares-García, R., Aburto-Oropeza, O. & Ezcurra, E., 2014. Oceanographic mechanisms that possibly explain dominance of

neritic-tropical zooplankton species assemblages around the Islas Mariás Archipelago, Mexico. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 42, 1009–1034. <https://doi.org/10.3856/vol42-issue5-fulltext-7>

Hajibabaei, M., DeWaard, J.R., Ivanova, N. V, Ratnasingham, S., Dooh, R.T., Kirk, S.L., Mackie, P.M. & Hebert, P.D., 2005. Critical factors for assembling a high volume of DNA barcodes. *Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci.* 360, 1959–1967. <https://doi.org/10.1098/rstb.2005.1727>

Hebert, P.D.N., Cywinska, A., Ball, S.L. & DeWaard, J.R., 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proc. R. Soc. B Biol. Sci.* 270, 313–321. <https://doi.org/10.1098/rspb.2002.2218>

Hedin, M.C., 1997. Molecular phylogenetics at the population/species interface in cave spiders of the southern Appalachians (Araneae: Nesticidae: Nesticus). *Mol. Biol. Evol.* 14, 309–324. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a025766>

Hernández-Trujillo, S., 1999. Variability of community structure of Copepoda related to El Niño 1982-83 and 1987-88 along the west coast of Baja California Peninsula, Mexico. *Fish. Oceanogr.* 8, 284–295. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2419.1999.00112.x>

Hernández-Trujillo, S. & Esquivel-Herrera, A., 1989. Los copépodos y quetognatos del Golfo de California en la primavera de 1985. *Invest. Mar. CICIMAR* 4, 151–164.

Hernández-Trujillo, S. & Esqueda-Escárcega, G.M., 2002. Marine copepod diversity of México. *Oceanides*, 17, 57–68.

Hernández-Trujillo, S., Esqueda-Escárcega, G.M. & Palomares-García, J.R., 2010. Variabilidad de la abundancia de zooplancton en Bahía Magdalena, Baja California Sur, México (1997-2001). *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 38, 438–446.

Hernández-Trujillo, S., Esqueda-Escárcega, G.M. & Futema-Jiménez, S., 2013. Prediction models of copepods biomass from the mass-length and Carbon content-length relationship. *J. Mar. Biol. Oceanogr.* 2(4), 2. <https://doi.org/10.4172/2324-8661.1000116>

- Hidalgo-González, R.M. & Alvarez-Borrego, S., 2004. Total and new production in the Gulf of California estimated from ocean color data from the satellite sensor SeaWiFS. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* 51, 739–752. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2004.05.006>
- Hill, R.S., Allen, L.D. & Bucklin, A., 2001. Multiplexed species-specific PCR protocol to discriminate four N. Atlantic *Calanus* species, with an mtCO1 gene tree for ten *Calanus* species. *Mar. Biol.* 139, 279–287.
- Ho, J., Dojiri, M., Hendler, G. & Deets, G.B., 2003. A new species of Copepoda (Thaumatopsyllidae) symbiotic with a brittle star from California, U.S.A., and designation of a new Order Thaumatopsylloida. *J. Crust. Biol.* 23, 582–594. <https://doi.org/10.1651/C-2391>
- Humes, A.G., 1994. How many copepods? En: Ferrari, F.D., Bradley, B.P. (Eds.), *Ecology and morphology of Copepods*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 1–7. https://doi.org/10.1007/978-94-017-1347-4_1
- Huys, R. & Boxshall, G.A., 1991. *Copepod evolution*. The Ray Society, London.
- Jean-Baptiste, L., Berthelot, H. & Favre, M., 2016. Rainbow boxes: A technique for visualizing overlapping sets and an application to the comparison of drugs properties, in: 2016 20th International Conference Information Visualisation (IV). IEEE, pp. 253–260. <https://doi.org/10.1109/IV.2016.26>
- Jung, S.O., Lee, Y.M., Park, T.J., Park, H.G., Hagiwara, A., Leung, K.M.Y., Dahms, H.U., Lee, W. & Lee, J.S., 2006. The complete mitochondrial genome of the intertidal copepod *Tigriopus* sp. (Copepoda, Harpactidae) from Korea and phylogenetic considerations. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 333, 251–262. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2005.12.047>
- Kahru, M., Marinone, S.G., Lluch-Cota, S.E., Parés-Sierra, A. & Greg Mitchell, B., 2004. Ocean-color variability in the Gulf of California: scales from days to ENSO. *Deep Sea Res. Part II Top. Stud. Oceanogr.* 51, 139–146. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2003.04.001>

- Khodami, S., McArthur, J.V., Blanco-Bercial, L. & Martinez Arbizu, P., 2017. Molecular phylogeny and revision of Copepod Orders (Crustacea: Copepoda). *Sci. Rep.* 7, 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-06656-4>
- Kim, S., Lim, B.J., Min, G.S. & Choi H.G., 2012. The complete mitochondrial genome of Arctic *Calanus hyperboreus* (Copepoda, Calanoida) reveals characteristic patterns in calanoid mitochondrial genome. *Gene.* 1–9 <http://dx.doi.org/10.1016/j.gene.2012.09.059>
- Kintisch, E., 2015. 'The Blob' invades Pacific, flummoxing climate experts. *Science* (80)348, 17–18. <https://doi.org/10.1126/science.348.6230.17>
- Kjørboe, T., 2011. What makes pelagic copepods so successful? *J. Plankton Res.* 33, 677–685. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbq159>
- Kozak, E.R., Franco-Gordo, C., Suárez-Morales, E. & Palomares-García, R., 2014. Seasonal and interannual variability of the calanoid copepod community structure in shelf waters of the Eastern Tropical Pacific. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 507, 95–110. <https://doi.org/10.3354/meps10811>
- Kozak, E.R., Franco-Gordo, C., Palomares-García, R., Gómez-Gutiérrez, J. & Suárez-Morales, E., 2017. Annual egg production rates of calanoid copepod species on the continental shelf of the Eastern Tropical Pacific off Mexico. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 184, 138–150. <https://doi.org/10.1016/j.ecss.2016.11.012>
- Kumar, S., Stecher, G., Li, M., Knyaz, C. & Tamura, K., 2018. MEGA X: Molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Mol. Biol. Evol.* 35, 1547–1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>
- Lavaniegos, B.E. & González Navarro, E., 1999. Cambios en la comunidad de copéodos durante el Golfo de California changes in the copepod community during the 1992–93 ENSO at San Lorenzo Channel. *Cienc. Mar.* 25, 239–265.
- Lavaniegos, B.E., Heckel, G. & Ladrón de Guevara, P., 2012. Seasonal variability of copepods and cladocerans in Bahía de los Ángeles (Gulf of California) and importance of *Acartia*

clausi as food for whale sharks. *Cienc. Mar.* 38(1a), 11–30.
<https://doi.org/10.7773/cm.v38i1A.2017>

Lobo, J., Costa, P.M., Teixeira, M.A.L., Ferreira, M.S.G., Costa, M.H. & Costa, F.O., 2013. Enhanced primers for amplification of DNA barcodes from a broad range of marine metazoans. *BMC Ecol.* 13, 1. <https://doi.org/10.1186/1472-6785-13-34>

López-Ibarra, G.A. & Palomares-García, R., 2006. Estructura de la comunidad de copépodos en Bahía Magdalena, México, durante El Niño 1997-1998. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.* 41, 63–76. <https://doi.org/10.4067/s0718-19572006000100009>

Machida, R.J., Miya, M.U., Nishida, M. & Nishida, S., 2002. Complete mitochondrial DNA sequence of *Tigriopus japonicus* (Crustacea: Copepoda). *Mar. Biotechnol.* 4, 406–417. <https://doi.org/10.1007/s10126-002-0033-x>

Machida, R.J., Miya, M.U., Nishida, M. & Nishida, S., 2004. Large-scale gene rearrangements in the mitochondrial genomes of two calanoid copepods *Eucalanus bungii* and *Neocalanus cristatus* (Crustacea), with notes on new versatile primers for the srRNA and *CO1* genes. *Gene* 332, 71–78. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2004.01.019>

Makridakis, S. & Wheelwright, C., 1978. Forecasting methods and application. Wiley-Interscience, New York.

Márquez-Becerra, C., 2015. Application of DNA barcodes for the discovery of marine animal diversity. *CICIMAR Océánides* 30, 35–52.

McCune, B. & Grace, J.B., 2002. Analysis of ecological communities.

McCune, B. & Mefford, M.J., 2011. PC-ORD. Multivariate analysis of ecological data. MjM Software Design, Gleneden Beach, Oregon, USA. URL www.pcord.com

Minxiao, W., Song, S., Chaolun, L. & Xin S., 2011. Distinctive mitochondrial genome of Calanoid copepod *Calanus sinicus* with multiple large non-coding regions and reshuffled gene order: Useful molecular markers for phylogenetic and population studies. *BMC Genomics*, 12:73. 1–20. doi:10.1186/1471-2164-12-73

- Miyashita, L.K., de Melo Junior, M. & Lopes, R.M., 2009. Estuarine and oceanic influences on copepod abundance and production of a subtropical coastal area. *J. Plankton Res.* 31, 815–826. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbp039>
- Mori, T., 1937. The pelagic Copepoda from the neighboring waters of Japan. Yokendo Co. 150.
- Øines, Ø. & Heuch, P.A., 2005. Identification of sea louse species of the genus *Caligus* using mtDNA. *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom.* 85, 73–79.
- Palomares-García, R. & Gómez-Gutiérrez, J., 1996. Copepod community structure at Bahía Magdalena, Mexico during El Niño 1983-84. *Estuar. Coast. Shelf Sci.* 43, 583–595. <https://doi.org/10.1006/ecss.1996.0089>
- Palomares-García, J.R., Martínez-López, A. & Gárate-Lizárraga, I., 2002. Plankton community changes in Bahía Concepción. México. *Oceanides* 17, 113–128.
- Palomares-García, J.R. Suárez-Morales & E. Hernández-Trujillo, S., 1998. Catálogo de los copépodos (Crustacea) pelágicos del Pacífico Mexicano. CICIMAR/ECOSUR, Editorial y Litografía Regia de los Ángeles, S. A., Mexico, D.F.
- Palomares-García, R.J., Gómez-Gutiérrez, J. & Robinson, C.J., 2013. Winter and summer vertical distribution of epipelagic copepods in the Gulf of California. *J. Plankton Res.* 35, 1009–1026. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbt052>
- Papadopoulos, L.N., Peijnenburg, K.T.C.A. & Luttikhuisen, P.C., 2005. Phylogeography of the calanoid copepods *Calanus helgolandicus* and *C. euxinus* suggests Pleistocene divergences between Atlantic, Mediterranean, and Black Sea populations. *Mar. Biol.* 147, 1353–1365. <https://doi.org/10.1007/s00227-005-0038-x>
- Pelayo-Martínez, G., Olivos-Ortiz, A., Franco-Gordo, C., Quijano-Scheggia, S., Gaviño-Rodríguez, J., Kono-Martínez, T. & Castro-Ochoa, F., 2017. Physical, chemical and zooplankton biomass variability (inshore-offshore) of Mexican Central Pacific during El Niño-La Niña 2010. *Lat. Am. J. Aquat. Res.* 45, 67–78. <https://doi.org/10.3856/vol45-issue1-fulltext-7>

- Peterson, W.T., Robert, M. & Bond, N., 2015. The warm Blob-conditions in the northeastern Pacific Ocean. *PICES Press* 23, 36.
- Peterson, W.T., Fisher, J.L., Strub, P.T., Du, X., Risien, C., Peterson, J. & Shaw, C.T., 2017. The pelagic ecosystem in the Northern California Current off Oregon during the 2014-2016 warm anomalies within the context of the past 20 years. *J. Geophys. Res. Ocean.* 122, 7267–7290. <https://doi.org/10.1002/2017JC012952>
- Portela, E., Beier, E., Barton, E.D., Castro, R., Godínez, V., Palacios-Hernández, E., Fiedler, P.C., Sánchez-Velasco, L. & Trastiña, A., 2016. Water masses and circulation in the tropical Pacific off central Mexico and surrounding areas. *J. Phys. Oceanogr.* 46, 3069–3081. <https://doi.org/10.1175/JPO-D-16-0068.1>
- Prosser, S., Martínez-Arce, A. & Elías-Gutiérrez, M., 2013. A new set of primers for *COI* amplification from freshwater microcrustaceans. *Mol. Ecol. Resour.* 13, 1151–1155. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.12132>
- Regier, J.C., Shultz, J.W. & Kambic, R.E., 2005. Pancrustacean phylogeny: hexapods are terrestrial crustaceans and maxillopods are not monophyletic. *Proc. R. Soc. Lond. B.*, 272, 395–401. <https://doi.org/10.1098/rspb.2004.2917>
- Ratnasingham, S. & Hebert, P.D.N., 2007. BOLD: The Barcode of Life Data System (<http://www.barcodinglife.org>). *Mol. Ecol. Notes* 7, 355–364. <https://doi.org/10.1111/j.1471-8286.2007.01678.x>
- Razouls, C., de Bovee, F., Kouwenberg, J. & Desreumaux, N., 2005. Diversity and geographic distribution of marine planktonic Copepods [WWW Document]. <http://copepodes.obs-banyuls.fr/en>.
- Robinson, C.J., Gómez-Gutiérrez, J. & de León, D.A.S., 2013. Jumbo squid (*Dosidicus gigas*) landings in the Gulf of California related to remotely sensed SST and concentrations of chlorophyll *a* (1998-2012). *Fish. Res.* 137, 97–103. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2012.09.006>
- Robinson, C.J., Gómez-Gutiérrez, J., Markaida, U. & Gilly, W.F., 2016. Prolonged decline of jumbo squid (*Dosidicus gigas*) landings in the Gulf of California is associated with

- chronically low wind stress and decreased chlorophyll *a* after El Niño 2009-2010. *Fish. Res.* 173, 128–138. <https://doi.org/10.1016/j.fishres.2015.08.014>
- Rodman, J.E. & Cody, J.H., 2003. The taxonomic impediment overcome: NSF's partnerships for enhancing expertise in taxonomy (PEET) as a model. *Syst. Biol.* 53, 428–435.
- Rojas-Herrera, A.A., Violante-González, J., García-Ibáñez, S., Villerías-Salinas, S. & Moreno-Díaz, G., 2016. Temporal variation of the pelagic copepod community in Acapulco Bay, México. *Open J. Mar. Sci.* 06, 40–48. <https://doi.org/10.4236/ojms.2016.61005>
- Sánchez-Velasco, L., Beier, E., Godínez, V.M., Barton, E.D., Santamaría-del-Angel, E., Jiménez-Rosemberg, S.P.A. & Marinone, S.G., 2017. Hydrographic and fish larvae distribution during the “Godzilla El Niño 2015-2016” in the northern end of the shallow oxygen minimum zone of the Eastern Tropical Pacific Ocean. *J. Geophys. Res. Ocean.* 122, 2156–2170. <https://doi.org/10.1002/2016JC012622>
- Satapoomin, S., 1999. Carbon content of some common tropical Andaman Sea copepods. *J. Plankton Res.* 21, 2117–2123. <https://doi.org/10.1093/plankt/21.11.2117>
- Schminke, H.K., 2007. Entomology for the copepodologist. *J. Plankton Res.* 29, 149–162. <https://doi.org/10.1093/plankt/fbl073>
- Selden, P.A., Huys, R., Stephenson, M.H., Heward, A.P. & Taylor, P.N., 2010. Crustaceans from bitumen clast in Carboniferous glacial diamictite extend fossil record of copepods. *Nat. Comm.* 1(1), 1-6. <https://doi.org/10.1038/ncomms1049>
- Smith, P. & Richardson, S., 1977. Standard techniques for pelagic fish egg and larvae surveys. *FAO Fish. Tech. Pap.* 175, 1–100.
- Suárez-Morales, E. & Gasca, R., 1998. Updated checklist of the free-living marine Copepoda (Crustacea) of Mexico. *An. Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. Méx. Ser. Zool.*, 69, 105–119.
- Taberlet, P., Coissac, E. & Pompanon, F., 2012. Towards next-generation biodiversity assessment using DNA metabarcoding. *Mol. Ecol.*, 33, 2045–2050.

- Ter Braak, C.J.F., 1986. Canonical Correspondence Analysis: A new eigenvector technique for multivariate direct gradient analysis. *Ecology* 67, 1167–1179. <https://doi.org/10.2307/1938672>
- Tester, P.A. & Turner, J.T., 1990. How long does it take copepods to make eggs? *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* 141, 169–182. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(90\)90222-X](https://doi.org/10.1016/0022-0981(90)90222-X)
- Torres-Hernández, M.Y., 2017. Estructuras de mesoescala y pulsos de clorofila en la entrada al Golfo de California. Tesis de Maestría, CICESE.
- Trasviña Castro, A., Aburto Oropeza, O., Ezcurra, E. & Zaytsev, O., 2012. Observaciones de corrientes en el Parque Nacional de Cabo Pulmo, Baja California Sur: mediciones Eulerianas en verano, otoño e inicios del invierno introducción y antecedentes. *GEOS*, 32(2), 1–20.
- Trivedi, S., Aloufi, A.A., Ansari, A.A. & Ghosh, S.K., 2016. Role of DNA barcoding in marine biodiversity assessment and conservation: An update. *Saudi J. Biol. Sci.* 23, 161–171. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2015.01.001>
- Truett, G.E., Heeger, P., Mynatt, R.L., Truett, A.A., Walker, J.A. & Warman, M.L., 2000. Preparation of PCR-quality mouse genomic DNA with hot sodium hydroxide and Tris (HotSHOT). *Biotechniques* 29, 52–54. <https://doi.org/10.2144/00291bm09>
- Turner, J.T., 2004. The importance of small planktonic copepods and their roles in pelagic marine food webs. *Zool. Stud.* 43, 255–266.
- Uye, S., 1982. Length-weight relationships of important zooplankton from the Inland Sea of Japan. *J. Oceanogr. Soc. Japan* 38, 149–158. <https://doi.org/10.1007/BF02110286>
- Webber, M.K. & Roff, J.C., 1995. Annual structure of the copepod community and its associated pelagic environment off Discovery Bay, Jamaica. *Mar. Biol.* 123, 467–479.
- Weydmann, A., Przyłucka, A., Lubośny, M., Walczyńska, K.S., Serrão, E.A., Pearson, G.A. & Burzyński A., 2017. Mitochondrial genomes of the key zooplankton copepods Arctic *Calanus glacialis* and North Atlantic *Calanus finmarchicus* with the longest crustacean non-coding regions. *Nat. Sci.* 7(13702), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-13807-0>

Anexo 1. Abundancia media de zooplancton identificada por grandes grupos taxonómicos (ZA, ind. 1000m⁻³) y abundancia relativa (%) recolectada con una red de plancton de malla de 333 µm en Bahía Magdalena (Hernández-Trujillo *et al.*, 2010), Bahía Concepción (Palomares-García *et al.*, 2002), Bahía de La Paz (Lavaniegos y González-Navarro, 1999), Puerto Escondido (Bahía de Loreto) (Gómez-Gutiérrez, datos no publicados) y el Parque Nacional Cabo Pulmo (presente estudio) en el estado de Baja California Sur; LG = Las Guásimas, Sonora (Álvarez-Tello *et al.*, 2015), Bahía de Navachiste, Sinaloa (De Silva-Dávila *et al.*, 2006), Barra de Navidad, Jalisco (Franco-Gordo *et al.*, 2015), México * = densidad <0.001, nd = sin datos disponibles). Las ubicaciones de todos los sitios de muestreo de zooplancton se muestran en la Figura 14.

Taxa	Bahía Magdalena		Bahía Concepción		Puerto Escondido		Bahía de La Paz		Cabo Pulmo National Park		Las Guásimas		Bahía Navachiste		Barra de Navidad	
	ZA	%	ZA	%	ZA	%	ZA	%	ZA	%	ZA	%	ZA	%	ZA	%
Foraminifera	0	0	0	0	179.16	0.04	5456.5	0.86	4266.6	0.54	1445.0	0.34	16.3	0.002	0	0.00
Radioaria	0	0	0	0	34.62	0.01	2467.4	0.39	22182.8	2.81	0	0.00	0	0.000	0	0.00
Rotifera	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	215.0	0.05	0.0	0.000	0	0.00
Tintinnida	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	510.0	0.12	0.0	0.000	0	0.00
Bryozoa	2089.3	0.15	0	0	288.21	0.06	412.5	0.07	412.4	0.05	12915.0	3.03	0.0	0.000		0.00
Hidroidea	5522.4	0.39	0	0	0	0	0	0	50.3	0.01	0	0.00	32751.5	3.553	0	0.00
Jellyfish	0	0	27765	2.57	93.25	0.02	1630.3	0.26	261.2	0.03	5940.0	1.39	0.0	0.000	0	0.00
Ctenophora	0	0	0	0	2.77	0	0	0	3.8	0	11740.0	2.76	871.0	0.094	500.0	0.05
Siphonophorae	2609.9	0.18	925	0.09	564.88	0.12	17197	2.72	6520.1	0.83	11000.0	2.58	3222.4	0.350	1666.7	0.17
Annelida	1803.4	0.13			446.87	0.09	698.2	0.11	1928.6	0.24	5440.0	1.28	1102.2	0.120	6000.0	0.61
Pteropoda	1430.1	0.1	1265	0.12	1216.65	0.25	9471.3	1.5	0	0	0	0.00	56.2	0.006	12666.7	1.28
Heteropoda	0	0	0	0	46.14	0.01	1344.2	0.21	0	0	0	0.00	0.0	0.000	10333.3	1.05
Bivalvia	1699.3	0.12	430	0.04	450.61	0.09	949.8	0.15	1098.3	0.14	6960.0	1.63	664.1	0.072	0	0.00
Gastropoda	8311.6	0.59	66200	6.12	5023.4	1.05	0	*	19501.7	2.47	62880.0	14.76	11061.3	1.200	0	0.00
Cephalopoda	0	0	0	0	5.88	0	71.5	0.01	114	0.01	0	0.00	0.0	0.000	186.6	0.02
Chaetognatha	94682.1	6.68	80385	7.43	41652.98	8.69	71443.6	11.3	96177.8	12.18	19791.3	4.65	63378.4	6.875	11666.7	1.18

Nemertea	182.6	0.01	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.0	0.000	0	0.00	
Cladocera	90746.1	6.4	505400	46.71	6194.81	1.29	16378	2.59	21791.3	2.76	168685.0	39.60	61849.9	6.709	57000.0	5.77
Cirripedia	6663.6	0.47	2000	0.18	821.3	0.17	584.9	0.09	169.4	0.02	16065.0	3.77	5106.9	0.554	0	0.00
Copepoda	937491.6	66.15	161685	14.94	323421.74	67.47	250188.6	39.58	505230.5	63.98	13329.8	3.13	449791.3	48.789	705666.7	71.47
Ostracoda	717.8	0.05	220	0.02	1738.32	0.36	1041.7	0.16	3476.5	0.44	3170.0	0.74	30.3	0.003	0	0.00
Stomatopoda	1887.8	0.13	1690	0.16	10.96	0	1138	0.18	7433.5	0.94	0	0.00	898.6	0.097	0	0.00
Mysida	443.8	0.03			3.73	0	1041.7	0.16	3796.3	0.48	0	0.00	80.1	0.009	1833.3	0.19
Amphipoda	967.6	0.07	400	0.04	507.46	0.11	1570.4	0.25	4122.1	0.52	1470.0	0.35	1411.1	0.153	35333.3	3.58
Isopoda	80.3	0.01	0	0	23.22	0	0	0	40.4	0.01	310.0	0.07	69.6	0.008	0	0.00
Cumacea	11.7	0	0	0	0	0	0	0	1.5	0	790.0	0.19	57.7	0.006	0	0.00
Euphausiacea	17545.2	1.24	420	0.04	60448.93	12.61	15218.1	2.41	11094.3	1.4	0	0.00	0.0	0.000	49000.0	4.96
Decapoda	141449.2	9.98	26045	2.41	1750.04	0.37	180970.1	28.63	21921.8	2.78	8558.8	2.01	261615.27	28.378	68000.0	6.89
Echinodermata	22386.8	1.58	0	0	196.4	0.04	1454.7	0.23	2116.2	0.27	165.0	0.04	293.5	0.032	0	0.00
Ophiuroidea	0	0	0	0	378.42	0.08	0	0	0	0	0	0.00	1363.5	0.148	0	0.00
Thaliacea	5863.4	0.41	3700	0.34	27973.26	5.84	15218.1	2.41	5708.6	0.72	11955.0	2.81	28.6	0.003	12000.0	1.22
Larvacea	60887.3	4.3	203450	18.8	5704.93	1.19	36153.5	5.72	13573.1	1.72	28077.5	6.59	3527.9	0.383	500.0	0.05
Teleostei eggs	10644.1	0.75	nd	nd	81.99	0.02	nd	nd	35539.1	4.5	nd	nd	20410.2	2.214	12000.0	1.22
Teleostei larvae	1106.9	0.08	nd	nd	101.72	0.02	nd	nd	1163.4	0.15	33945.0	7.97	2217.5	0.241	3000.0	0.30
Platyhelminthes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	450.0	0.11	11.4	0.001	0	0.00
Phoronidea	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	190.0	0.04	5.6	0.001	0	0.00
Pynogonid	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0.00	0.00	32.9	0.004	0	0.00
Total	1 417 223.7		1 081 980.0		479 362.7		632 100.3		789 695.6		425 997.3		921 909.1		987 353.0	

Anexo 2. Número de acceso de especies perteneciente a Neocopepoda y organismos utilizados como grupo hermano para el diseño de oligonucleótidos, provenientes de la plataforma de GenBank; * = especies tomadas como grupo hermano.

Orden	Especie	No. de Acceso
Calanoida	<i>Acartia hudsonica</i>	MG936369
	<i>Acartia negligens</i>	EU856813
	<i>Acartiella gravelyi</i>	KU613359
	<i>Acartiella keralensis</i>	KU215881
	<i>Acartiella sinensis</i>	KF977239
	<i>Acrocalanus andersoni</i>	JQ911963
	<i>Acrocalanus gibber</i>	JQ911964
	<i>Acrocalanus gracilis</i>	JQ911965
	<i>Acrocalanus longicornis</i>	JQ911966
	<i>Acrocalanus monachus</i>	EU599511
	<i>Calanopia thompsoni</i>	AY145429
	<i>Calanopia thompsoni</i>	KF977245
	<i>Calanopia thompsoni</i>	KF977247
	<i>Calanus euxinus</i>	AY604519
	<i>Calanus glacialis</i>	KF271682
	<i>Calanus glacialis</i>	KX675684
	<i>Calanus glacialis</i>	KX675693
	<i>Calanus helgolandicus</i>	AF332761
	<i>Calanus helgolandicus</i>	JX995225
	<i>Calanus hyperboreus</i>	NC 01962
	<i>Calanus hyperboreus</i>	JX678968
	<i>Calanus hyperboreus</i>	MG319633
	<i>Calanus pacificus</i>	AB379975
	<i>Calanus pacificus californicus</i>	AF332763
	<i>Calanus sinicus</i>	EU603281
	<i>Calocalanus contractus</i>	KC287499
	<i>Calocalanus curtus</i>	JQ911970
	<i>Calocalanus minutus</i>	JQ911971
	<i>Calocalanus pavo</i>	KP861438
	<i>Calocalanus pavo</i>	JQ911972
	<i>Calocalanus styliremis</i>	KP861439
	<i>Calocalanus tenuis</i>	KC287651
	<i>Candacia bradyi</i>	KF977251
	<i>Candacia catula</i>	KP068662
	<i>Candacia catula</i>	KP068664
	<i>Candacia discaudata</i>	HM045300
	<i>Candacia ethiopica</i>	AY145434
	<i>Candacia ethiopica</i>	HM045297
	<i>Candacia pachydactyla</i>	HM045301
	<i>Candacia simplex</i>	KP861437
	<i>Candacia truncata</i>	HM045304
	<i>Candacia truncata</i>	HM045302
	<i>Canthocalanus pauper</i>	EU856809
	<i>Canthocalanus pauper</i>	EU856810
	<i>Centropages abdominalis</i>	EU599516
	<i>Centropages tenuiremis</i>	KF977253

<i>Centropages tenuiremis</i>	EU599521
<i>Centropages violaceus</i>	KC287515
<i>Clausocalanus arcuicornis</i>	AF332772
<i>Clausocalanus arcuicornis</i>	KC287522
<i>Clausocalanus furcatus</i>	KC287553
<i>Clausocalanus furcatus</i>	KC306400
<i>Clausocalanus jobei</i>	KC287576
<i>Clausocalanus jobei</i>	KC287569
<i>Clausocalanus parapergens</i>	KC287589
<i>Clausocalanus paululus</i>	KC287601
<i>Clausocalanus pergens</i>	KC287609
<i>Euchaeta acuta</i>	KP861433
<i>Euchaeta concinna</i>	KF977273
<i>Euchaeta concinna</i>	EU599536
<i>Euchaeta indica</i>	KY421046
<i>Euchaeta marina</i>	EU599537
<i>Euchaeta media</i>	GU171301
<i>Euchaeta rimana</i>	HM045307
<i>Euchaeta rimana</i>	HM045308
<i>Labidocera euchaeta</i>	KF977282
<i>Labidocera euchaeta</i>	KF977284
<i>Labidocera euchaeta</i>	EU599538
<i>Nannocalanus minor</i>	KC287718
<i>Nannocalanus minor</i>	GU171286
<i>Nannocalanus minor</i>	KC287729
<i>Nannocalanus minor</i>	KC287737
<i>Neocalanus plumchrus</i>	AB099283
<i>Neocalanus plumchrus</i>	AB099285
<i>Neocalanus plumchrus</i>	AB099266
<i>Neocalanus plumchrus</i>	AB099245
<i>Neocalanus robustior</i>	MH159138
<i>Neocalanus robustior</i>	MH159136
<i>Paracalanus aculeatus</i>	EU856807
<i>Paracalanus aculeatus</i>	KC287770
<i>Paracalanus denudatus</i>	KP861427
<i>Paracalanus gracilis</i>	KF977308
<i>Paracalanus indicus</i>	MH818603
<i>Paracalanus parvus</i>	EU856801
<i>Paracalanus parvus</i>	EU856803
<i>Paracalanus parvus</i>	MH818639
<i>Paracalanus parvus</i>	MH818632
<i>Paracalanus quasimodo</i>	MH818743
<i>Pontellina plumata</i>	KP068679
<i>Pontellina plumata</i>	GU171323
<i>Pontellina plumata</i>	GU171324
<i>Pontellina plumata</i>	EU599547
<i>Pontellina plumata</i>	EU599548
<i>Pontellopsis armata</i>	KT186893
<i>Pontellopsis perspicax</i>	KC287867
<i>Pontellopsis regalis</i>	AB206444
<i>Pontellopsis tenuicauda</i>	AB206445
<i>Pontellopsis yamadae</i>	JQ714070

	<i>Subeucalanus crassus</i>	HM045347
	<i>Subeucalanus monachus</i>	KX100483
	<i>Subeucalanus subcrassus</i>	KF977345
	<i>Subeucalanus subcrassus</i>	KF977347
	<i>Subeucalanus subtenuis</i>	HM045335
	<i>Temora discaudata</i>	EU599554
	<i>Temora discaudata</i>	EU599555
	<i>Temora discaudata</i>	KJ940171
	<i>Temora longicornis</i>	JX995147
	<i>Undinula vulgaris</i>	MH159158
	<i>Undinula vulgaris</i>	GU171333
	<i>Undinula vulgaris</i>	EU599561
	<i>Undinula vulgaris</i>	EU599562
Cyclopoida	<i>Corycaeus crassiusculus</i>	KY923193
	<i>Corycaeus crassiusculus</i>	MF457915
	<i>Corycaeus speciosus</i>	MF077910
	<i>Corycaeus speciosus</i>	KR816563
	<i>Oithona attenuata</i>	KC594140
	<i>Oithona nana</i>	KU982947
	<i>Oithona plumifera</i>	KU982959
	<i>Oithona plumifera</i>	KU982960
	<i>Oithona similis</i>	EU599544
	<i>Oithona simplex</i>	KC594151
	<i>Oncaea curta</i>	KX650376
	<i>Oncaea media</i>	KT369530
	<i>Oncaea scottodicarloi</i>	KX650375
	<i>Paracyclopina nana</i>	EU877959
	<i>Sapphirina angusta</i>	GU171328
	<i>Sapphirina angusta</i>	KT345968
	<i>Sapphirina opalina</i>	JX503000
	<i>Sapphirina opalina</i>	JX503001
	<i>Sapphirina scarlata</i>	HM045348
	<i>Sapphirina scarlata</i>	KT351343
	<i>Sapphirina stellata</i>	KT354294
Harpacticoida	<i>Amphiascoides atopus</i>	KF667526
	<i>Macrosetella gracilis</i>	MG742365
	<i>Macrosetella gracilis</i>	DQ989142
	<i>Tigriopus californicus</i>	DQ913891
	<i>Tigriopus californicus</i>	DQ917373
	<i>Tigriopus californicus</i>	DQ917374
	<i>Tigriopus japonicus</i>	AY959338
	<i>Tigriopus japonicus</i>	AB060648
Siphonostomatoida	<i>Lepeophtheirus salmonis</i>	EU288200
	<i>Lepeophtheirus salmonis</i>	AY625897
	<i>Lepeophtheirus salmonis</i>	AY625897
	<i>Lernaea cyprinacea</i>	KM235194
	<i>Pandarus rhincodonicus</i>	HG942363
	<i>Sinergasilus polycolpus</i>	KR263117
	<i>Carcinoscorpius</i>	
*Cangrejo Cacerola	<i>rotundicauda</i>	JQ178358
*Ciempiés	<i>Lithobius forficatus</i>	AJ270997
*Ciempiés	<i>Scutigera coleoptrata</i>	AJ507061