



Posgrado en Ciencias del Mar y Limnología
Universidad Nacional Autónoma de México



**“Análisis comparativo de poblaciones parapátricas de
Leptodiaptomus novamexicanus (Copepoda:
Calanoida): ¿especie eurihalina o complejo de especies
gemelas?”**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**MAESTRA EN CIENCIAS DEL MAR Y LIMNOLOGÍA
(LIMNOLOGÍA)**

PRESENTA:

BIOL. AIDEÉ MONTIEL MARTÍNEZ

**DIRECTOR DE TESIS:
DR. JORGE CIROS PÉREZ**



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

DEDICATORIAS

A mi mamá María Guadalupe Laura Martínez Garcilazo por haber soportado la distancia y porque a pesar de ésta, eres la persona más cercana a mi corazón, gracias por tus enseñanzas y entrega incondicional.

A mi papá Juan Manuel Montiel López porque ahora te comprendo un poco más y eso me ha hecho valorar aún más los sacrificios que haces por nosotras, gracias por esos días de colecta, gracias por ser un buen padre.

A Edith porque tu fuerza e independencia me sirven de inspiración y, de manera contrastante y a la vez complementaria, la sensibilidad y dependencia de Miriam me hacen tratar de ser una mejor profesionista y mejor persona. Gracias porque conforme avanza el tiempo, me doy cuenta que si hubiera podido elegir, hubiera elegido lo que tengo hoy: compartir con ustedes esos lazos que nos unen, lazos de amor y apoyo.

A mi abue Concepción Garcilazo Medina porque (aún no sé cómo) estás al pendiente de todos y cada uno de los miembros de su familia.

A Miguel por dejarme conocer la persona tan especial que eres, por entenderme, apoyarme y por ignorarme cuando es preciso, gracias por estar en mi vida.

A mis amigos de toda la vida y a los nuevos por estar justo en el momento y lugar adecuado..... sigan ahí.

A todos los miembros del PILT por los momentos y favores recibidos, en especial a Mayeli por los consejos atinados y por estar ahí cuando lo necesitaba; y a Nohemí porque en mi afán de vivir con adrenalina (y dejar todo hasta el último momento), al tener el tiempo encima no fue necesario pedir tu ayuda, estuviste ahí y todo “.... siempre salió”.

AGRADECIMIENTOS

Al Dr. Jorge Ciros Pérez por haberme dejado aprender de ti y por haber tenido la confianza de depositar en mi tan hermoso proyecto. Gracias no sólo porque eres un buen investigador sino porque eres una persona excepcional.

Al Dr. Alejandro M. Maeda Martínez por su disposición en todo momento y sus observaciones tan atinadas que fueron de gran valor para la realización de la tesis.

Al Dr. Fernando Álvarez Noguera porque sus sugerencias oportunas y precisas fueron esenciales para la culminación del presente estudio.

Al Dr. Manuel Elías Gutiérrez por el material donado y por sus valiosos comentarios importantes para la realización de la tesis.

Al Dr. Singaraju Sri S. Sarma por la revisión del escrito y sus comentarios importantes para el término del mismo.

Al CONACYT, la DGEP y el COMECYT por los apoyos económicos en las diferentes etapas de la tesis, sin los cuales hubiera sido extremadamente difícil la realización de la misma.

ÍNDICE

	Página
RESUMEN	I
INTRODUCCIÓN	1
• Especies gemelas en el zooplancton	2
• El caso de <i>Leptodiatomus novamexicanus</i>	5
ANTECEDENTES	8
HIPÓTESIS	
• Hipótesis de trabajo	10
• Hipótesis alternativa	10
OBJETIVOS	
• Objetivo general	10
• Objetivos particulares	10
ÁREA DE ESTUDIO	
• Lago Alchichica	11
• Lago El Sol	11
• Embalse Ixtlahuaca	12
MATERIAL Y MÉTODO	
• Establecimiento y mantenimiento de cepas de laboratorio	13
o Cultivo de algas	13
o Cultivo de copépodos	13
• Análisis de morfología comparada	14
• Efecto de la salinidad sobre la supervivencia, reproducción y desarrollo de las poblaciones	15
o Supervivencia	15
o Desarrollo	16
o Reproducción intrapoblacional	17

• Reproducción interpoblacional	18
• Definición de status biológico	19
RESULTADOS	
• Morfología comparada	20
• Efecto de la salinidad sobre la supervivencia, el desarrollo y la reproducción intrapoblacional	21
• Reproducción interpoblacional	22
DISCUSIÓN	
• Morfología comparada	34
• Tolerancia a la salinidad	36
• Reproducción	38
• El caso de <i>Leptodiptomus novamexicanus</i>	40
LITERATURA CITADA	42
APÉNDICE	50
• Redescipción	50

RESUMEN

Leptodiatomus novamexicanus es un organismo que ha sido registrado en cuerpos de agua con características muy diversas. Sin embargo, dicha especie también ha sido reportada para el Lago hiposalino Alchichica (9 gramos por litro); cabe mencionar que originalmente este organismo fue descrito como una nueva especie *L. garciai* que posteriormente fue sinonimizada con *L. novamexicanus*.

De esta manera, el objetivo del trabajo es dilucidar si las dos poblaciones de estudio: una perteneciente a un cuerpo de agua dulce, Ixtlahuaca y otra proveniente del lago hiposalino Alchichica están compuestas por la misma especie biológica con una amplia plasticidad fenotípica o si *L. novamexicanus* es un complejo de especies que comparten una morfología similar (especies gemelas). Esta pregunta puede ser resuelta desde distintas aproximaciones que entre ellas son complementarias, para identificar especies dentro de un complejo de especies gemelas se hace uso de análisis comparado de su morfología, de autoecología, de marcadores moleculares y de apareamiento interpoblacional.

En el presente trabajo se muestran los resultados del análisis morfológico, de tolerancia a la salinidad (autoecología) y de reproducción interpoblacional. Los resultados muestran que si existen diferencias morfológicas en estructuras sexuales entre los copépodos de las diferentes poblaciones. Además, los organismos de Alchichica no son capaces de reproducirse o mudar eficientemente y su supervivencia se ve dramáticamente reducida a salinidades menores a 4.5 gramos por litro. Por otro lado, los copépodos de Ixtlahuaca no son capaces de crecer, reproducirse e incluso sobrevivir a salinidades mayores a 2.5 gramos por litro. Asimismo, no existió reproducción interpoblacional por lo que concluimos que *L. novamexicanus* es un grupo de especies gemelas con una baja plasticidad fenotípica a la salinidad por lo que se redefine *L. garciai*.

INTRODUCCIÓN

México es considerado uno de los centros más importantes de diversidad biológica del planeta (Toledo, 1988; Noguera *et al.*, 2002), sin embargo, por los enormes problemas de conservación y manejo que enfrenta es actualmente señalado como un “hot spot” (*sensu* Dirzo, 1999).

En las últimas décadas la pérdida de la biodiversidad se ha convertido en uno de los problemas ambientales globales más importantes, dado que las condiciones y procesos que caracterizan a los sistemas naturales son esenciales para el ser humano, pues proporcionan una serie de servicios ambientales de los que depende la sociedad (Ehrlich y Ehrlich, 1981). Para conservar la biodiversidad, es necesario evaluar los niveles actuales de ésta y monitorear sus cambios a través del tiempo (Martens y Hamer, 1999).

En la actualidad, la especie es reconocida como la unidad básica de los estudios de biodiversidad, por tal motivo es importante conocer los diferentes conceptos de especie y sus definiciones (Shaw, 2002). En biología evolutiva los tres conceptos más comúnmente empleados y sus definiciones son los siguientes:

(1) El concepto de especie evolutiva, en el cual, una especie consiste de todos aquellos individuos que comparten una historia evolutiva común (Hall, 1993), es decir, una especie se compone de poblaciones que tienen un mismo ancestro y a partir los cuales se tiene un descendiente común.

(2) El concepto de especie por el criterio de aislamiento reproductivo (“Biological Species Concept”, *sensu* Dobzhanski, 1937 y Mayr, 1942), que plantea que una especie es un grupo de organismos que en poblaciones naturales pueden o se cruzan entre si, y que están aislados reproductivamente de otros grupos (Mayr, 1970); por lo tanto, la especiación se da en términos de la evolución de mecanismos de aislamiento reproductivo y se dice que se ha completado cuando las barreras reproductivas son suficientes para prevenir el flujo de genes entre estas dos nuevas especies.

(3) El concepto de especie por el criterio de reconocimiento de pareja (“Recognition Species Concept” *sensu* Paterson, 1985) que define a las especies como una población de organismos biparentales que tienen un sistema de fertilización en común. En este sentido, la especiación ocurre cuando un sistema de fertilización diferente evoluciona y las barreras reproductivas son una consecuencia y no el motor que promueve la especiación.

Especies gemelas en el zooplancton

En tiempos recientes se ha descrito que los organismos zooplanctónicos epicontinentales utilizan estímulos químicos y mecánicos para reconocer a su pareja (Lonsdale *et al.*, 1998; Ohtsuka y Huys, 2001). Esta dependencia a determinados estímulos no visuales hace más probable que la especiación en estos invertebrados se produzca sin necesidad de tener asociada la diferenciación morfológica, por lo que se espera que las especies resultantes sean difíciles de identificar mediante herramientas taxonómicas clásicas, es decir, basándose fundamentalmente en caracteres morfológicos (Hall, 1993).

En la práctica, en la mayoría de los casos, los organismos zooplanctónicos se determinan a nivel de especie utilizando el criterio de máxima semejanza morfológica, aunque éstas características no sean incluidas explícitamente en los conceptos de especie mencionados previamente. Un ejemplo claro de esta situación es el caso de los estudios taxonómicos y de análisis de la biodiversidad de organismos zooplanctónicos de aguas epicontinentales (i.e., rotíferos, cladóceros y copépodos) en nuestro país, los que, hasta la fecha han estado basados únicamente en análisis de morfología comparada (*e.g.*, Ciroso-Pérez *et al.*, 1996; Sarma y Elías-Gutiérrez, 1998; Suárez-Morales y Reid, 1998; Elías-Gutiérrez *et al.*, 1999a; Granados-Ramírez y Suárez-Morales, 2003; Suárez-Morales y Elías-Gutiérrez, 2003).

El criterio de máxima semejanza para determinar organismos puede, en ocasiones, ser insuficiente, como es en el caso de las especies gemelas (las denominadas “sibling species”), que son aquellas especies morfológicamente muy similares (Knowlton, 1993) o prácticamente idénticas (Skelton, 1993), filogenéticamente próximas entre sí, pero genética

y biológicamente distintas, por lo que, utilizando el criterio morfológico tradicional se pueden tener determinaciones erróneas a nivel especie.

Las especies gemelas son frecuentes entre los organismos zooplanctónicos (Gómez *et al.*, 2002) y se encuentran en la mayoría de los hábitats conocidos (Knowlton, 1993). A pesar de que estos complejos de especies gemelas son abundantes, y que en ocasiones son económicamente importantes (*e.g.*, el complejo de especies afines a *Brachionus plicatilis*; véase Ciro-Pérez *et al.*, 2001), falta mucho por dilucidar.

Entre los impactos de considerar a una especie como otra, se tiene el hecho de subestimar los niveles de diversidad de las comunidades zooplanctónicas (Stoch, 2001); este impacto es tal que si se consideraran las posibles especies gemelas en el mar, el número de especies en los inventarios se incrementaría en un orden de magnitud (Knowlton, 1993). Asimismo, se introducen errores en la descripción de patrones de distribución geográfica de dichos organismos, que puede desembocar en equivocaciones en la interpretación de procesos ecológicos y evolutivos (Thompson y Townsend, 2000; Stoch, 2001; Lynch, 2002).

La idea de que la mayoría de los organismos del zooplancton tiene distribución cosmopolita o en grandes áreas geográficas, y en particular de la fauna mexicana, se debió entre otras cosas a que con las claves de identificación especializadas con que se contaba para determinar los ejemplares eran originalmente para fauna de Europa o Norteamérica, y por lo tanto, cada vez que se intentaba identificar a algún organismo, sólo se “ampliaba” el ámbito de distribución de los taxa ya descritos. Por otro lado, la idea del cosmopolitismo fue apoyada desde hace mucho tiempo, dado que se suponía que el zooplancton epicontinental tenían una alta capacidad de dispersión pasiva sustentada por la existencia de estructuras de resistencia, lo que, en teoría, daba como resultado un flujo genético intenso entre las diferentes poblaciones. Sin embargo, actualmente se sabe que esto no es del todo cierto (Lee, 2000), ya que procesos estocásticos y de selección natural determinan que aún en cuerpos de agua muy cercanos entre sí, se presente la denominada adaptación local (véase De Meester *et al.*, 2002).

Numerosas disciplinas biológicas dependen directamente de saber a qué entidad específica referir los problemas o hallazgos de dichas disciplinas (Dirzo, 1999); tal es el caso de la Ecología (*e.g.* la competencia requiere de un claro entendimiento de las especies involucradas (Begon *et al.*, 1996)). Por otro lado, al utilizar indicadores biológicos, es fundamental reconocer si se trata de una especie o de un complejo de especies gemelas, pues se podría pensar que una “especie” registrada en ambientes con características muy disímiles, es un taxón no sensible a la heterogeneidad ambiental, cuando probablemente, en la realidad, se trata de un conjunto de especies que individualmente podrían ser excelentes indicadoras de las condiciones particulares de cada uno de los ambientes que habitan. Además de las consecuencias que se originarían al utilizarlas en bioensayos (Knowlton, 1993).

Por tales motivos es necesario emplear herramientas adicionales para esclarecer la identidad biológica de organismos que puedan encontrarse dentro de un complejo de especies gemelas y no dar por sentado que la mayoría de los organismos zooplanctónicos son cosmopolitas o con tolerancias fisiológicas muy amplias, ya que en realidad, cuando se han analizado detalladamente, estos casos representan la excepción y no la regla (*e.g.* Reid, 1998; Gómez, 1996; Colbourne *et al.*, 1997; Lee *et al.*, 2000; Gómez *et al.*, 2002).

Actualmente, la identificación de taxa dentro de un complejo de especies gemelas se realiza por medio del análisis comparado de su ecología, ya que cuando se examinan cuidadosamente, se ha comprobado que cada especie exhibe diferentes preferencias de hábitat, aunque éstas sean pequeñas, son suficientes para explicar su distribución diferencial (Gómez, 1996; Bucklin *et al.*, 1998; Ortells, 2002). También se utiliza la conducta de apareamiento y los factores de reconocimiento de pareja (Rico-Martínez y Snell, 1995; Lonsdale *et al.*, 1996), pues es de esperarse que haya un apareamiento intraespecífico y mecanismos de aislamiento reproductivo.

En la última década el uso de marcadores moleculares para la caracterización y diferenciación de especies se ha incrementado notoriamente (*e.g.* Colbourne *et al.*, 1997;

Bucklin *et al.*, 1998; Ortells *et al.*, 2000; Larsenk, 2001; Gómez *et al.*, 2002). Aunque muchas especies gemelas presentan grandes diferencias a nivel genético (Bucklin *et al.*, 1998; Lee, 2000), existen ejemplos en donde la diferenciación genética es aparentemente muy pequeña según el marcador utilizado (Knowlton, 1993; Lee y Frost, 2002; Lee, 2003). De hecho, existen especies que pueden ser muy similares genéticamente y morfológicamente no serlo; es por esto que los experimentos de fisiología, ecología, etología y reproducción son de gran valor para dilucidar a las diferentes entidades biológicas que pudieran integrar un complejo de especies gemelas.

El caso de *Leptodiaptomus novamexicanus*

Como ya se mencionó anteriormente, los estudios taxonómicos realizados hasta la fecha en nuestro país con organismos zooplanctónicos epicontinentales han consistido en análisis de morfología comparada. Tal es el caso del copépodo calanoideo *Leptodiaptomus novamexicanus* (Herrick, 1895).

El género *Leptodiaptomus* agrupa copépodos diaptómidos de tamaño pequeño a mediano, caracterizados principalmente porque la anténula izquierda del macho y las dos de la hembra presentan una sola seta en el segmento 11, la quinta pata de la hembra tiene el segmento exopodal muy reducido y la anténula derecha del macho posee espinas fuertes en los segmentos 10, 11 y 13 (véase Suárez-Morales *et al.*, 2000). *Leptodiaptomus* se distribuye en Norte América y Asia. Hasta la fecha, se han descrito 20 especies, seis de las cuales se han reportado para México, siendo *L. novamexicanus* la que se distribuye más al sur del continente americano, alcanzando la península de Yucatán (Suárez-Morales *et al.*, 1996; Elías-Gutiérrez *et al.*, 1999b).

L. novamexicanus se distingue por las características morfológicas que a continuación se describen:

Hembra: Coxa de la quinta pata con dos espinas planas, insertadas en la parte externa dispuestas lateralmente con respecto al segmento; el tercer segmento de ambos exópodos con dos setas laterales en el margen externo; los márgenes internos con setas cortas. Los endópodos son largos y unisegmentados. El urosoma con tres segmentos, el

segmento genital con una longitud mayor a la del resto del urosoma, y es más o menos simétrico. Longitud de 1.1 a 1.2 mm (Marsh, 1907; Camacho, 1996).

Macho: Espina del segmento 10 de la anténula derecha más corta que la del segmento 13; el segmento 19 ó 20 con un proceso espiniforme que generalmente no alcanza más allá de la mitad del siguiente segmento. El basipodito derecho de la quinta pata con un proceso en la cara interna proyectado hacia el coxopodito y el endópodo derecho muy conspicuo de forma triangular con vellosidades en la punta y que llega cerca de la mitad del segundo segmento exopodal. La espina lateral del segundo segmento del exópodo derecho no se encuentra insertada en el mismo plano y se localiza en el tercio distal con una longitud menor al segmento. Segundo segmento del exópodo izquierdo con dos proyecciones digitiformes apicales, un cojincillo subterminal y otro en la parte anterior lateral. (Camacho, 1996).

Con respecto a su distribución en nuestro país, *L. novamexicanus* ha sido registrado en Yucatán, Campeche (Suárez-Morales *et al.*, 1996; Suárez-Morales y Reid, 2003), Hidalgo (Álvarez-Silva y González-Ortíz, 2002) y Estado de México, en cuerpos de agua tanto perennes (Cruz, 1989; González, 1991; Camacho, 1996; Grimaldo-Ortega, 1996) como temporales (Camacho, 1996; Grimaldo, 1996; Ocampo, 1996; Grimaldo-Ortega, 1996), y de alta montaña (en el lago cráter El Sol, Volcán Nevado de Toluca; Camacho, 1996; Grimaldo-Ortega, 1996). Estos cuerpos de agua tienen en común un rango de pH que se encuentra entre ligeramente ácido y ligeramente básico, además de una alcalinidad total y dureza que fluctúan de valores bajos a medios (Lugo *et al.*, 1999).

Adicionalmente, este copépodo también ha sido reportado en el estado de Puebla, en el lago hiposalino Alchichica. Es importante señalar que en los años 40's del siglo pasado, los copépodos calanoides del Lago Alchichica fueron descritos (Osorio-Tafall, 1942) como *Diaptomus garciai*, taxón que posteriormente fue considerado como un sinónimo de *L. novamexicanus* (Wilson y Yeatman, 1959), especie descrita en Nuevo México, E.U.A.

Según los estudios antes mencionados, el copépodo *L. novamexicanus* es capaz de colonizar cuerpos de agua con características muy diferentes (temporales vs. perennes, hiposalinos vs. agua dulce, fríos vs. cálidos). Sin embargo, como se mencionó previamente, este tipo de patrones en los que determinados taxa presentan una distribución muy amplia y una alta capacidad de tolerar condiciones de hábitats tan dispares, suelen ser indicios de la probable existencia de grupos de especies crípticas (Gómez *et al.*, 2002). Esto puede estar ocurriendo en el caso de *L. novamexicanus*, por lo que se puede suponer que este copépodo no es una sola especie, sino un complejo de especies gemelas, en donde cada una de ellas pudiera tener preferencia por un hábitat en particular.

Sin embargo, no hay que descartar *a priori* que el taxón *L. novamexicanus* en verdad tenga la capacidad de habitar en todos los cuerpos de agua previamente mencionados, es decir, que los organismos de esta especie tenga la capacidad fisiológica que les permita colonizar con éxito esta diversidad de ambientes (*i.e.*, alta plasticidad fenotípica; Agrawal, 2001). O bien, que a pesar de que sean la misma especie biológica (con un flujo génico potencial interpoblacional), las poblaciones de cada cuerpo de agua presenten genotipos especializados y adaptados a las condiciones locales (bióticas y/o abióticas) de cada ambiente dado (la denominada adaptación local; Kingsolver *et al.*, 2002; De Meester *et al.*, 2002).

ANTECEDENTES

Existen diversos trabajos que describen complejos de especies gemelas del zooplancton. En algunos casos, el análisis de las “poblaciones” se realizó comparando características morfológicas, de lo cual derivó en descripciones de nuevas especies (e.g. *Tisbe marmorata* n. sp., *T. pentataenia* n. sp.; Volkmann-Rocco, 1973; *Calanus marshallae* n.sp.; Frost, 1974; *Daphnia similoides* n. sp.; Hudec, 1991; *Normanella pallaresae* n. sp., *N. paratenuifurca* n. sp., *N. farsi* n. sp.; Lee y Huys; 1999; *Brachionus ibericus* n. sp.; Ciros-Pérez *et al.*, 2001).

Sin embargo, en ocasiones, las revisiones taxonómicas son apoyadas por observaciones de restricción de hábitats de las especies que integran los diferentes complejos de especies gemelas (Frost, 1974), pues se han reportado diferentes preferencias de hábitat entre especies disímiles (Ortells, 2002).

Cuando los organismos se encuentran sometidos a algún tipo de estrés, su eficiencia biológica se ve reducida. De tal forma, que su desempeño, por ejemplo, como competidores se verá afectado de diferente manera cuando se trata de especies distintas (el complejo de especies gemelas compuesto por *Tisbe holothuriae* y *T. battagliai*; Bergmans y Janssens, 1988; *B. plicatilis* grupo; Ciros-Pérez *et al.*, 2001, 2002), además de que la importancia relativa de las interacciones interespecíficas con otros zooplanctontes es diferente (Ciros-Pérez *et al.*, 2004).

Si los organismos no poseen plasticidad fenotípica suficiente para hacer frente a alguno de los diferentes factores de estrés, éstos pueden limitar la distribución; tal es el caso, por ejemplo, de la salinidad en organismos como *Acartia tonsa* (Lance, 1963) y *Eurytemora affinis* (Lee y Petersen, 2003).

Los experimentos de reconocimiento de pareja en complejos de especies crípticas zooplanctónicas también han sido empleados para distinguir especies biológicas, pues la presencia de glicoproteínas (señales químicas), sus concentraciones, su naturaleza y su localización en sitios diferentes (Snell y Carmona, 1994) sugiere que son especie-

específicas. Esas propiedades químicas, aunadas al comportamiento y a características morfológicas hacen de dichos experimentos herramientas útiles para separar especies gemelas. Aunque existan casos en los que se produce cópula entre especies diferentes, generalmente los híbridos no prosperan pues existen barreras postzigóticas (i.e., huevos no viables o descendencia infértil; Lee, 2000).

Hipótesis de trabajo: La especie morfológica *L. novamexicanus* registrada en la parte central de México está constituida por entidades biológicas y taxonómicas con amplia plasticidad fenotípica o que presentan adaptación local.

Hipótesis alternativa: La especie morfológica *L. novamexicanus* registrada en la parte central de México corresponde a entidades biológicas y taxonómicas diferentes y, por lo tanto, representa un complejo de especies gemelas.

OBJETIVO GENERAL

Realizar un análisis comparativo de tres poblaciones aisladas geográficamente del copépodo *L. novamexicanus* (Copepoda, Calanoida), provenientes de cuerpos de agua mexicanos con características limnológicas muy disímiles entre sí, con el fin de dilucidar el estatus del taxón como especie eurioica o como complejo de especies gemelas.

OBJETIVOS PARTICULARES

1. Realizar un análisis de morfología comparada de tres poblaciones de *L. novamexicanus* y compararlas con material proveniente lo más cercano posible a la localidad tipo.
2. Evaluar el efecto de la salinidad sobre la supervivencia y desarrollo de las dos poblaciones de estudio de *L. novamexicanus* provenientes de ambientes ecológicamente contrastantes.
3. Realizar estudios de reproducción intrapoblacional e interpoblacional para evaluar si existe divergencia reproductiva entre dos poblaciones de estudio de *L. novamexicanus* provenientes de ambientes ecológicamente contrastantes.
4. En base a los anteriores, definir el estatus biológico y taxonómico del taxón *L. novamexicanus* en poblaciones representativas de la región central de México.

ÁREA DE ESTUDIO

Los organismos de estudio proceden de tres cuerpos de agua, uno hiposalino, (a) Lago Alchichica, y dos de agua dulce con características limnológicas dispares: (b) Lago El Sol (lago perenne de alta montaña y oligotrófico) y (c) Embalse Ixtlahuaca (lago temporal y eutrófico).

a) Lago Alchichica. Se ubica en la cuenca endorreica Oriental, situada entre los estados de Puebla, Tlaxcala y Veracruz en las coordenadas $18^{\circ} 48'$ y $19^{\circ} 43'$ de latitud Norte y $97^{\circ} 09'$ y $98^{\circ} 03'$ de longitud Oeste. El área de la cuenca es de $4,982 \text{ km}^2$; se ubica a una altitud promedio de 2,300 m.s.n.m. (Alcocer y Lugo, 2003). La fuente principal de abastecimiento de la cuenca es el agua subterránea y de manera secundaria por la lluvia; la cuenca almacena $69,920,000 \text{ m}^3$ de agua salobre ($8.3 - 9 \text{ g L}^{-1}$; Lugo *et al.*, 1999) y básica con pH en un rango de 8.8 a 10 (Oliva *et al.*, 2001). El cloruro de sodio es la sal que se encuentra en más alta concentración (Caballero *et al.* 2003). La conductividad eléctrica específica varía entre $12,676$ y $13,727 \mu\text{S cm}^{-1}$, valores propios de agua mineralizada (Lugo *et al.*, 1999).

El clima es semiárido con una temperatura promedio anual de 12.9°C y una precipitación media anual menor a 400 mm. La evaporación es muy alta y causa un notorio déficit de agua, sobretodo en marzo. La estación de lluvias y las más altas temperaturas (30°C) ocurren durante el verano. En invierno, la precipitación y las temperaturas son las más bajas (Lugo *et al.*, 1999).

Durante un estudio realizado por Lugo *et al.* (1999) de agosto 1993 a julio 1994, *L. novamexicanus* fue la única especie de microcrustáceo zooplanctónico encontrado en la zona limnética; las más altas densidades se encontraron en enero 1994, durante el periodo de mezcla, además de encontrarse preferentemente en la capa superior de la columna de agua del lago.

b) Lago El Sol. Se encuentra dentro del cráter del Volcán Nevado de Toluca, Estado de México, ubicado entre los $19^{\circ}06'$ de latitud Norte y los $99^{\circ}45'$ de longitud Oeste,

a una altitud de 4,200 m.s.n.m. No existen afluentes ni efluentes, por lo que los ingresos del agua están representados por las lluvias y las pérdidas exclusivamente por evaporación. Tiene una profundidad máxima de 12 m y toda la columna de agua se considera como zona fótica. La temperatura se encuentra en un rango entre 5°C y 11°C, con un pH de 5.5 a 7 y la conductividad específica entre 16 y 18 $\mu\text{S cm}^{-1}$ (Alcocer *et al.*, 2004). La alcalinidad varía de 23.2 a 50 mg $\text{CaCO}_3 \text{ L}^{-1}$ (Camacho, 1996).

Las especies de copépodos reportadas en El Sol (Camacho, 1996) son: *Mastigodiaptomus montezumae* (Brehm, 1955) que se encontró en la zona limnética en superficie; en la zona limnética pero en el fondo se registró a *Paracyclops fimbriatus chiltoni* (Thomson, 1883); en la zona litoral se encontraron las dos especies antes mencionadas y, además a *Acanthocyclops robustus* (Sars, 1863), *Eucyclops* cf. *bondi* (Kiefer, 1934) y *L. novamexicanus*.

c) Embalse Ixtlahuaca. Se ubica en la parte central del Estado de México, entre los 99°07' de longitud Oeste y los 19°51' de latitud norte, en una altitud superior a los 2,200 m.s.n.m. (Grimaldo *et al.*, 1998).

Se le ha denominado embalse Ixtlahuaca debido a que se encuentra en el km 26 de la carretera federal Atlacomulco-Toluca (Carretera Federal No. 55). El espejo de agua tiene un área de aproximadamente 2 hectáreas, con una profundidad máxima de 2.8 m en julio y la mínima de 1.7 m en febrero; los muestreos realizados por Grimaldo (1996) no fueron de un ciclo anual debido a que el cuerpo de agua desaparece en época de secas.

En el embalse se encontraron las siguientes especies: *L. novamexicanus*, *M. montezumae*, *A. robustus*, *Eucyclops pseudoensifer* (Dussart, 1984), *E. serrulatus* (Fisher, 1851), *E. cf. solitarius* (Herbst, 1959), *Macrocyclus albidus* (Jurine, 1820), *M. fuscus* (Jurine, 1820) y *Megacyclus viridis* (Jurine, 1820) (Grimaldo *et al.*, 1998).

MATERIAL Y MÉTODO

1. Establecimiento y mantenimiento de cepas de laboratorio

Cultivo de algas. Para contar con alimento adecuado, suficiente y de calidad constante, se mantuvieron cultivos semicontinuos (Boraas, 1993) de microalgas procedentes de cepas mantenidas en el Laboratorio de Limnología Tropical de la FES Iztacala: la microalga proveniente de agua salobre *Nannochloris atomus*, cedidas por el Instituto de Ciencias del Mar de Andalucía (Cádiz, España); y las algas de agua dulce, *Scenedesmus* sp. y *Chlorella* sp., provenientes de la Universidad de Texas. Estas microalgas se eligieron porque se encuentran en el intervalo de tamaños de las partículas alimenticias de las cuales se alimentan los diferentes estadios de copépodos en condiciones naturales (Santer, 1996).

Para las cepas provenientes de agua salobre, el medio de cultivo se preparó con sales marinas comerciales (Instant Ocean, Aquarium Systems) a una salinidad de 9 gL^{-1} . Las microalgas dulceacuícolas se cultivaron en medio EPA (Anónimo, 1985). En ambos casos las sales fueron disueltas en agua desionizada estéril, y fertilizadas con medio f/2 modificado. Las condiciones generales del cultivo fueron fotoperiodo (radiación fotosintéticamente activa $\sim 35 \mu\text{mol foton m}^{-2} \text{ s}^{-1}$) y aireación constantes.

Una vez que se contó con alimento suficiente, se realizaron salidas al campo para coleccionar organismos y así, establecer cultivos de *L. novamexicanus* de las poblaciones de estudio.

Cultivo de copépodos. En cada cuerpo de agua se tomaron medidas de temperatura, conductividad eléctrica, salinidad y sólidos disueltos totales. Para la colecta de zooplancton vivo se utilizó una red de arrastre de $63 \mu\text{m}$ de luz de malla, asimismo, se filtraron 20 litros de agua para obtener organismos que fueron fijados con formol al 4%, para su posterior análisis en laboratorio.

Después de cada recolecta, los copépodos calanoideos encontrados en las muestras fijadas fueron identificados utilizando metodología estandarizada (Dussart y Defaye, 2001; Williamson y Reid, 2001) y siguiendo las claves de Wilson y Yeatman (1959) y de Suárez-Morales *et al.* (1996). Estas claves fueron elegidas por encontrarse en ellas la especie bajo estudio.

En los casos donde se encontraron copépodos determinados como *L. novamexicanus*, se aislaron aleatoriamente entre 100 y 150 organismos adultos para iniciar las cepas de cultivo, para ello, se colocaron en recipientes de vidrio a la salinidad a la que fueron encontrados en el campo, bajo condiciones de laboratorio con temperatura y fotoperíodo constantes, y alimento en abundancia (~20 mgC L⁻¹ de una mezcla de *N. atomus*, *Chlorella* sp. y *Scenedesmus* sp. en todos los cultivos). Cabe mencionar que los copépodos provenientes del Lago Alchichica fueron cultivados en agua filtrada (0.2 µm) del mismo lago, esto debido a que en estas condiciones, en los ensayos preexperimentales, se logró tener cultivo más abundantes que aquellos establecidos en agua reconstituida a partir de sales artificiales. Mientras que los cultivos de *L. novamexicanus* provenientes de Ixtlahuaca fueron cultivados en medio EPA. En todos los cultivos el recambio del medio se realizó semanalmente.

2. Análisis de morfología comparada

Se seleccionaron individuos adultos de ambos sexos de los diferentes cuerpos de agua: Alchichica, Ixtlahuaca y El Sol. Adicionalmente, y con el objetivo de comparar las poblaciones provenientes de la región central de México con aquellas presentes en lugares próximos a la localidad en la que el taxón *L. novamexicanus* (Herrick, 1895) fue descrito originalmente (*i. e., terra typica*), se analizó material biológico proveniente del Lago Castle (California, E.U.), recolectado (09/2002) y donado por el Dr. C. Goldman y el Dr. S. Park (Universidad de California-Davis, Los Angeles).

A partir de las muestras de campo, y con ayuda de un estereomicroscopio, varios organismos fueron aislados y posteriormente disecados en glicerol al 50% con ayuda de agujas de tungsteno. Con estos organismos se hicieron preparaciones semipermanentes y permanentes, a partir de las cuales, y utilizando un microscopio compuesto ZEISS III RS equipado con un tubo de dibujo, se efectuó el trabajo de morfología comparada. Se realizó una caracterización de las diferentes estructuras anatómicas siguiendo procedimientos estándares utilizados en la taxonomía de copépodos (*e.g.* Elías-Gutiérrez *et al.*, 1999; Suárez-Morales *et al.*, 2000; Ooishi, 2002; Granados-Ramírez y Suárez-Morales, 2003), haciendo énfasis en aquellas estructuras implicadas en el reconocimiento de pareja y

apareamiento (Ting *et al.* 2000; Dussart y Defaye, 2001). Cabe mencionar que las estructuras fueron dibujadas preferentemente a 1000×; con excepción de dos estructuras: la anténula y el abdomen de la hembra, las cuales se realizaron a 400×.

3. Efecto de la salinidad sobre la supervivencia, reproducción y desarrollo de las poblaciones

Supervivencia: Se evaluó la supervivencia relativa de *L. novamexicanus* proveniente de los cuerpos de agua Alchichica e Ixtlahuaca. Los organismos de ambas poblaciones fueron sometidos a diferentes salinidades: 0, 2.5, 4.5 y 9 g L⁻¹; la última salinidad como grupo control de la población de Alchichica, mientras que para la población de Ixtlahuaca el tratamiento con 0 g L⁻¹ (*i.e.*, medio EPA) fungió como grupo control. Previo al experimento, los organismos fueron aclimatados por tres días al tratamiento correspondiente (cultivos preexperimentales), en el caso de las salinidades en donde no hubo supervivencia de organismos en cantidades suficientes para iniciar experimento, éstos fueron aislados directamente de las cepas de cultivo.

Las diferentes salinidades fueron preparadas mediante la dilución de agua filtrada del Lago Alchichica con medio EPA (Hall y Burns, 2001), adicionando microalgas en exceso (*N. atomus*; ~20 mgC L⁻¹). Todos los tratamientos fueron alimentados en densidades altas para evitar los efectos de limitación del alimento; para que las microalgas no se depositaran en el fondo de los recipientes experimentales, éstos se colocaron en un agitador orbital a ~30 r.p.m.

Para la población de Alchichica se utilizaron organismos en estadios de copepodito 3 (C3) y organismos en estadios de copepodito 1 a 3 (C1-C3) para la población de Ixtlahuaca, cada tratamiento con un mínimo de 45 organismo. Se eligió esta etapa de desarrollo (juvenil) debido a que se encuentran en un término medio de tolerancia a estrés por salinidad, es decir, no son tan sensibles como los estadios naupliares ni tan resistentes como los adultos (Cervetto *et al.*, 1999).

El recambio de matraces y medio de cultivo, cada uno con su respectiva salinidad y alimento, se efectuó diariamente durante una semana, al cabo del cual se dio por concluido el experimento. De igual manera, se realizaron observaciones diarias en un microscopio

estereoscópico, en las cuales se contó y eliminó a los organismos muertos. Con estos resultados se calcularon las tasas de supervivencia diarias. Para comparar los efectos principales de los factores salinidad y tiempo, así como sus interacciones, se hizo un análisis de varianza de medidas repetidas (ANOVAR; von Ende, 1993) de las supervivencias relativas en cada salinidad. Dado que los resultados iniciales no presentaron una distribución normal se realizó una transformación angular ($x' = \sin^{-1}\sqrt{x}$; Dytham, 2003) previa al análisis. Para el cálculo de las probabilidades (P) de los factores inter-sujetos y sus interacciones se hizo un ajuste de Greenhouse-Geisser (von Ende, 1993). Dado que se encontraron diferencias significativas en el ANOVAR, se realizó una prueba *post hoc* de Student-Newman-Kleus (Sokal y Rohlf, 1969).

Para todos los análisis estadísticos se utilizó el programa informático SPSS 12.0 (SPSS Inc., 2003).

Desarrollo: Se evaluó (1) el efecto de diferentes salinidades sobre el éxito de muda en los organismos, y (2) el porcentaje de copepoditos que llegaron a la madurez. Para realizar estos experimentos se prepararon los medios con las diferentes salinidades y cantidad de alimento, de la misma manera que en el experimento de supervivencia descrito anteriormente.

Se contó con mínimo 45 individuos por tratamiento, se utilizaron copépodos en estadio C3 para la población de Alchichica y de C1 a C3 para la población de Ixtlahuaca; estas diferencias se debieron a que las densidades de los cultivos de copépodos de Ixtlahuaca eran bajas. Para los copépodos de Alchichica, la duración de los experimentos fue de hasta 3 días para el experimento de éxito de muda y de 7 días para el de éxito en alcanzar la madurez, tiempos en los que en la mayoría de la población control había muerto o alcanzado el estadio deseado. Debido a la diferencia de edades de los organismos experimentales y a diferencias interpoblacionales, los experimentos realizados con la población de Ixtlahuaca tuvieron una duración de hasta 5 días y 14 días, respectivamente. Los recambios, al igual que en los experimentos anteriores se efectuaron diariamente.

La revisión de los organismos experimentales se realizó diariamente en un estereomicroscopio. En el caso del experimento de éxito de muda, se contabilizó la

proporción de aquellos individuos que mudaron. Cuando una muda era observada, era registrada y eliminada. Al finalizar el experimento de madurez se registró el estadio de desarrollo de los copépodos supervivientes y se contabilizó el número de aquellos que alcanzaron el estadio adulto. Para determinar si hubo o no diferencias significativas entre los diferentes tratamientos se hicieron análisis estadísticos de comparación de medias. Previo a este análisis, se evaluó si los datos presentaban distribución normal por medio de una prueba de Kolmogorov-Smirnov (Dytham, 2003). En caso de que la distribución de los datos no fuera significativamente diferente de la normal, se realizó una prueba de análisis de varianza (ANOVA) de una vía (efectos fijos). Por el contrario, si la distribución no era normal, se aplicó una prueba no paramétrica de Kruskal-Wallis (Dytham, 2003). Dado que se encontraron diferencias significativas en todos los análisis estadísticos, se realizaron pruebas *post hoc* de Student-Newman-Kleus en el caso de ANOVA, y análisis no paramétrico de Mann-Whitney para los análisis de Kruskal-Wallis (Dytham, 2003).

Reproducción intrapoblacional: Para realizar el experimento de reproducción intrapoblacional, se prepararon los medios de cultivo con las diferentes salinidades y cantidad de alimento descritos anteriormente para el estudio de supervivencia. Sin embargo, en este caso, dado que se necesitaban hembras vírgenes (Katona, 1975; Buskey, 1998; Monchenko, 2000), en los cultivos preexperimentales se colocaron hembras en estadios avanzados de copepodito (copepodito 5, o C5) y machos adultos (en proporción 2:1); esta proporción fue elegida por ser el macho el que desempeña el papel activo en el apareamiento (Monchenko, 2000). Cada trío de organismos fue colocado en matraces de 50 ml con el tratamiento y alimento correspondientes. Diariamente, durante una semana, se cambió el medio de cultivo y se realizaron observaciones con un estereomicroscopio a partir de que se observó la muda de C5 a hembra adulta; en los casos donde, debido al estrés por salinidad, los organismos no mudaron de C5-hembra a hembra-adulta, éstas fueron tomadas directamente de los cultivos. Dado que los machos son más sensibles al estrés por salinidad que las hembras (Cervetto *et al.*, 1999; Hall y Burns, 2001), si un macho era encontrado muerto era reemplazado por otro sano proveniente de los cultivos preexperimentales. Los copépodos muertos eran eliminados y las hembras ovígeras o con espermatóforo fueron separadas en recipientes independientes. Las hembras fueron aisladas

y mantenidas en el medio correspondiente en agitación constante (~30 r.p.m.), hasta que en los tratamientos donde se observó fecundación se obtuvieron al menos 9 hembras con sacos de huevos por tratamiento. Se contabilizó el número de huevos puestos por hembra y se calculó el porcentaje de eclosión de los mismos. Para determinar si hubo o no diferencias significativas entre los diferentes tratamientos se utilizaron las pruebas de de comparación de medias, como se indicó en el apartado anterior.

4. Reproducción interpoblacional

Para realizar el experimento de reproducción interpoblacional, se aislaron hembras C5 de las dos poblaciones para obtener hembras vírgenes (Katona, 1975; Buskey, 1998); una vez que alcanzaron la edad adulta, se colocaron con machos adultos (en proporción 2:1) en matraces de 50 ml a la salinidad de 2.5 gL^{-1} . Se eligió esta salinidad, debido a que fue la salinidad más alta en la que se observó supervivencia de los copépodos provenientes de Ixtlahuaca. El experimento se llevó a cabo en condiciones de alimento en exceso (una mezcla de *N. atomus* y *Chlorella* sp., en proporción 1:1; $\sim 20 \text{ mgC L}^{-1}$ totales) y fotoperíodo constante.

De esta manera, se contó con cuatro tratamientos, dos intrapoblacionales y dos interpoblacionales (*i.e.*, machos de Alchichica con hembras de Ixtlahuaca y, machos de Ixtlahuaca con hembras de Alchichica); el número de repeticiones fue diferente para cada tratamiento (un mínimo de 5 repeticiones), esto debido a la disponibilidad de organismos con las características experimentales deseadas. Los resultados se contrastaron con los obtenidos en reproducción intrapoblacional en condiciones óptimas de salinidad (para Alchichica de 9 gL^{-1} y para Ixtlahuaca de 0 gL^{-1}).

Diariamente, durante una semana, se recambió el medio de cultivo y se realizaron observaciones con un estéreomicroscopio. Se evaluó lo siguiente: (1) proporción de hembras que llegaron a la madurez; (2) proporción de hembras copuladas; se consideró como hembra copulada aquella con un espermátforo en la región genital; (3) proporción de hembras fecundadas, es decir, aquellas que produjeron un saco de huevos y, (4) porcentaje de huevos eclosionados en cada saco.

5. Definición del estatus biológico y taxonómico del taxón *L. novamexicanus*

Se analizó la evidencia obtenida a partir de los estudios descritos anteriormente para determinar si las diferentes poblaciones corresponden a especies biológicas distintas con morfología similar, o bien si se trata de una sola especie con un amplio espectro fenotípico.

RESULTADOS

1. Morfología comparada

Después de un análisis preliminar de morfología comparada basado en la literatura especializada, los organismos de los cuatro cuerpos de agua (Alchichica, Ixtlahuaca, El Sol y Castle) fueron determinados como *L. novamexicanus* (Herrick, 1895).

Con respecto a la talla, los copépodos de las poblaciones de Ixtlahuaca y el Sol poseen un tamaño significativamente mayor (ANOVA, $P \leq 0.05$) que los organismos de los lagos Alchichica y Castle. No existe dimorfismo sexual con respecto al tamaño en ninguna de las cuatro poblaciones (ANOVA, $P \leq 0.05$; Tabla 1).

A pesar de las diferencias en tamaño, los organismos de las cuatro poblaciones analizadas comparten similitudes en casi todas las estructuras del cuerpo (véanse las descripciones morfológicas detalladas en el Apéndice), sin embargo, existen diferencias observadas en estructuras sexuales de los copépodos, tales diferencias son constantes dentro de las distintas poblaciones y en resumen son: (1) el tamaño reducido del proceso distal derecho en el segmento genital de las hembras procedentes de las diferentes poblaciones de estudio (Fig. 6 D, 9 D, 12 D y 15 D), y en los machos (2) la cantidad de setas piliformes localizadas en la P5 de los machos de las distintas poblaciones (Figs. 8 B, 11 B, 14 B y 17 B) y (3) el tamaño del proceso del antepenúltimo segmento de la anténula (Figs. 8 C, 11 C, 14 C y 17 D).

De las diferencias encontradas, sólo el tamaño del proceso del antepenúltimo segmento de la anténula del macho fue considerado en la descripción hecha por Osorio-Tafall (1942), el resto de las características morfológicas que el autor comparó entre *D. garciai* y *D. novamexicanus* son de carácter ambiguo (Tabla 2). Además, las disimilitudes morfológicas observadas en el presente estudio no son tomadas en cuenta en las claves especializadas, y pudieran ser consideradas como variabilidad interpoblacional, por lo que, el análisis de morfología comparada por sí solo, no fue suficiente para clarificar el status del taxón.

2. Efecto de la salinidad sobre la supervivencia, el desarrollo y la reproducción intrapoblacional

El análisis experimental muestra que conforme disminuye la salinidad disminuye el porcentaje de supervivencia (ANOVAR, $P \leq 0.001$) en la población de *L. novamexicanus* proveniente del Lago Alchichica (Fig. 1 A). No sólo la supervivencia se ve afectada, también el desarrollo de los organismos (ANOVA, $P \leq 0.05$; Fig. 2 A). De esta manera se observa que a una salinidad de 4.5 g L^{-1} el porcentaje de organismos que muda de C3 a C4 es de $37.5 \pm 3.1 \%$ y va en decremento conforme disminuye la salinidad hasta llegar a $2.5 \pm 1.6 \%$ en la salinidad de 0 g L^{-1} .

Con respecto al porcentaje de copépodos que llegan a alcanzar la madurez se observa el mismo patrón; menor número de organismos llega a adulto conforme la salinidad disminuye (Kruskal-Wallis, $P \leq 0.05$; Fig. 3 A). En las dos salinidades experimentales más bajas no se observaron diferencias significativas, en ambas el porcentaje fue menor al 2%.

El decremento de la salinidad también se traduce en menor éxito reproductivo. En el tratamiento de 0 g L^{-1} , el tamaño de la puesta de huevos se redujo a más de la mitad con respecto al control (ANOVA, $P \leq 0.05$; Fig. 4 A). Además de que el porcentaje de eclosión se ve disminuido de cerca del 100% en los tratamientos con la salinidades altas (4.5 y 9 g L^{-1}) a 0% en el tratamiento de 0 g L^{-1} (Kruskal-Wallis, $P \leq 0.05$; Fig. 5 A).

La salinidad sin duda afecta la eficiencia biológica de la población de copépodos de Alchichica, sin embargo, los resultados observados para *L. novamexicanus* proveniente del embalse Ixtlahuaca (sistema dulceacuícola) son aún más drásticos. Se observa que conforme aumenta la salinidad, la supervivencia relativa disminuye (ANOVAR, $P \leq 0.001$; Fig. 1 B) de manera tal que en las dos salinidades más altas (4.5 y 9 g L^{-1}) todos los organismos experimentales mueren antes de 24 horas, para la salinidad de 2.5 ‰ al tercer día el porcentaje de supervivencia fue menor al 40%, para finalmente llegar a 0% en el cuarto día (Fig. 1 B).

Con respecto al éxito de muda se observó que ningún organismo logra mudar a salinidades mayores o iguales a 2.5 (Kruskal-Wallis, $P \leq 0.05$; Fig. 2 B) y, por consecuencia, ninguno logra alcanzar la madurez (Kruskal-Wallis, $P \leq 0.05$; Fig. 3 B).

Acercas de la reproducción, ésta se ve afectada completamente pues no se observó en salinidades mayores o iguales a 2.5 g L⁻¹ (Fig. 4 B). Mientras que para la salinidad de 0 g L⁻¹ el número de huevos por saco es de aproximadamente 10 con un porcentaje de eclosión mayor a 60% (ANOVA, $P \leq 0.05$; Fig. 5 B).

Las dos poblaciones de estudio presentaron diferencias en cuanto al número de huevos por saco en sus respectivas salinidades óptimas (*i.e.*, Alchichica de 9 g L⁻¹ e Ixtlahuaca de 0 g L⁻¹). Las hembras de Alchichica produjeron un promedio de 5 ± 0.4 huevos por saco, mientras que el promedio de los huevos por saco producido por las hembras de Ixtlahuaca fue de 10.11 ± 0.6 . Asimismo, el porcentaje de eclosión fue diferente, siendo del 92.9 ± 4.1 % para los huevos de Alchichica y del 70.3 ± 12.0 % para los de Ixtlahuaca. Por otro lado, se observó que ambas poblaciones, al igual que en la mayoría de diatómidos, necesitan copular para producir huevos fértiles en cada puesta, y que ésta debe de ocurrir cuando las hembras están grávidas (Tabla 3) (*véase p. ej.*, Katona, 1975; Jacoby y Youngbluth, 1983; Ianora *et al.*, 1989; Buskey, 1998; Berger y Maier, 2001).

3. Reproducción interpoblacional

No se obtuvo reproducción interpoblacional en las condiciones experimentales (Tabla 3). Esto a pesar de que en las condiciones de salinidad a las que se llevó a cabo el experimento (2.5 ‰) el 33.3 ± 21 % de hembras de Ixtlahuaca y el 100% de hembras de Alchichica alcanzó la madurez, lo cual es fácil de evaluar, pues se observan dos bandas oscuras en la parte dorsal del cefalotórax que evidencian la presencia de ovocitos maduros (Buskey, 1998), lo cual es necesario para realizar la cópula en la mayoría de los copépodos calanoideos. En el caso de las hembras de Ixtlahuaca el porcentaje que alcanza esta

madurez fue menor al 40%. Por otro lado, el 100% de las hembras de Alchichica llegó a ser grávida pero no existió cópula con los machos de Ixtlahuaca.

Tabla 1. Comparación de tamaños (mm) de las hembras y machos adultos de las poblaciones estudiadas. Los valores son rango de tamaño, media \pm error estándar (e. e.) y tamaño de la muestra (n). Figuras iguales indican que no hay diferencias significativas entre tamaños, según pruebas *post hoc* de Tuckey, ($P \leq 0.05$).

Alchichica		Castle		Ixtlahuaca		Sol	
♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂
0.87-1.02	0.84-1.03	0.89-1.07	0.83-0.98	0.98-1.12	0.87-1.12	1.18-1.2	1.10-1.18
0.96 \pm 0.04*	0.91 \pm 0.04*	0.96 \pm 0.05*	0.89 \pm 0.03*	1.06 \pm 0.03°	0.98 \pm 0.06°	1.19 \pm 0.0°	1.15 \pm 0.03°
$n= 20$	$n= 20$	$n= 15$	$n= 17$	$n= 20$	$n= 20$	$n= 2$	$n= 4$

Tabla 2. Análisis comparativo de caracteres morfológicos seleccionadas en las poblaciones de *L. novamexicanus* s. l. estudiadas basado en los caracteres considerados por Osorio-Tafall (1942) para distinguir entre *D. novamexicanus* y *D. garciai*. A1= Anténula, End= Endópodo, Exo= Exópodo, P5= 5o. Par de patas, Seg.= Segmento.

Osorio-Tafall (1942)		Presente estudio
<i>D. novamexicanus</i> (DN)	<i>D. garciai</i> (DG)	<i>L. novamexicanus</i> s. l. (Alchichica, Ixtlahuaca, El Sol y Castle)
♀ Ángulos posteriores del seg. 5 metasomático con 1 espina	Ángulos posteriores del seg. 5 metasomático con 2 espinas	Todas las poblaciones como DG.
Cerdas caudales cortas	Cerdas caudales largas	Carácter ambiguo
End. P5 con longitud aprox. al seg. 1 exopodial	End. P5 bastante + largos que el seg. 1 exopodial	Todas las poblaciones similar a DN
Uña del seg. 2 del exo. tan larga como seg. 1 exopodial	Uña del seg. 2 del exo. + larga que seg. 1 exopodial	Todas las poblaciones similares a DN
Borde interno de uña, denticulado	Borde interno de uña, pestañoso	Todas las poblaciones con como DN
♂ antepenúltimo artejo de A1 der. con una estrecha lámina lateral	♂ antepenúltimo artejo de A1 der. con un pequeño reborde	Carácter ambiguo

Continúa en p. 26

Tabla 2. Continuación.

Osorio-Tafall (1942)		Presente estudio
<i>D. novamexicanus</i> (DN)	<i>D. garciai</i> (DG)	<i>L. novamexicanus</i> s. l. (Alchichica, Ixtlahuaca, El Sol y Castle)
Proceso digitiforme del antepenúltimo artejo de A1 derecha llegando a la ½ de la longitud del artejo siguiente	Proceso digitiforme del antepenúltimo artejo de A1 derecha no pasando de ⅓ de la longitud del artejo siguiente	Ixtlahuaca, El Sol y Castle similares a DN. Alchichica similar a DG
End. derecho P5 un poco + largo que seg. 1 exopodial	End. derecho P5 considerablemente + largo que seg. 1 exopodial	Todas aprox. 35% + largo que 1er seg. exopodial. (¿DG?)
Seg. 1 exo. derecho de la ½ de longitud que el seg. 2	Seg.1 exo. derecho de - de la ½ de longitud que el seg. 2	Todas las poblaciones similares a DG
Espina externa del seg. 2 exopodial de la ½ de longitud del mismo	Espina externa del seg. 2 exopodial de un ⅓ de longitud del mismo	Todas las poblaciones similares a DN

Continúa en p. 27

Tabla 2. Continuación.

Osorio-Tafall (1942)		Presente estudio
<i>D. novamexicanus</i> (DN)	<i>D. garciai</i> (DG)	<i>L. novamexicanus</i> s. l. (Alchichica, Ixtlahuaca, El Sol y Castle)
Extremo distal de P5 izquierda llegando extendido hasta la ½ de seg. 2 exopodial derecho	Extremo distal de P5 izquierda llegando extendido al extremo del seg. 1 exopodial derecho	Todas las poblaciones similares a DG
Extremo libre de la pata izquierda ando el ápice del end. derecho	Extremo libre de la pata izq. no alcanzando el extremo distal del end. derecho	Todas las poblaciones similares a DG
End. izquierdo estrecho	End. izquierdo ancho	Todas las poblaciones similares a DN
Entre los 2 procesos digitiformes del seg. 2 exopodial izquierdo, una lámina de bordes pestañosos	Entre los 2 procesos digitiformes del seg. 2 exopodial izquierdo., una superficie hemisférica con tuberculitos cónicos	Todas las poblaciones similares a DG

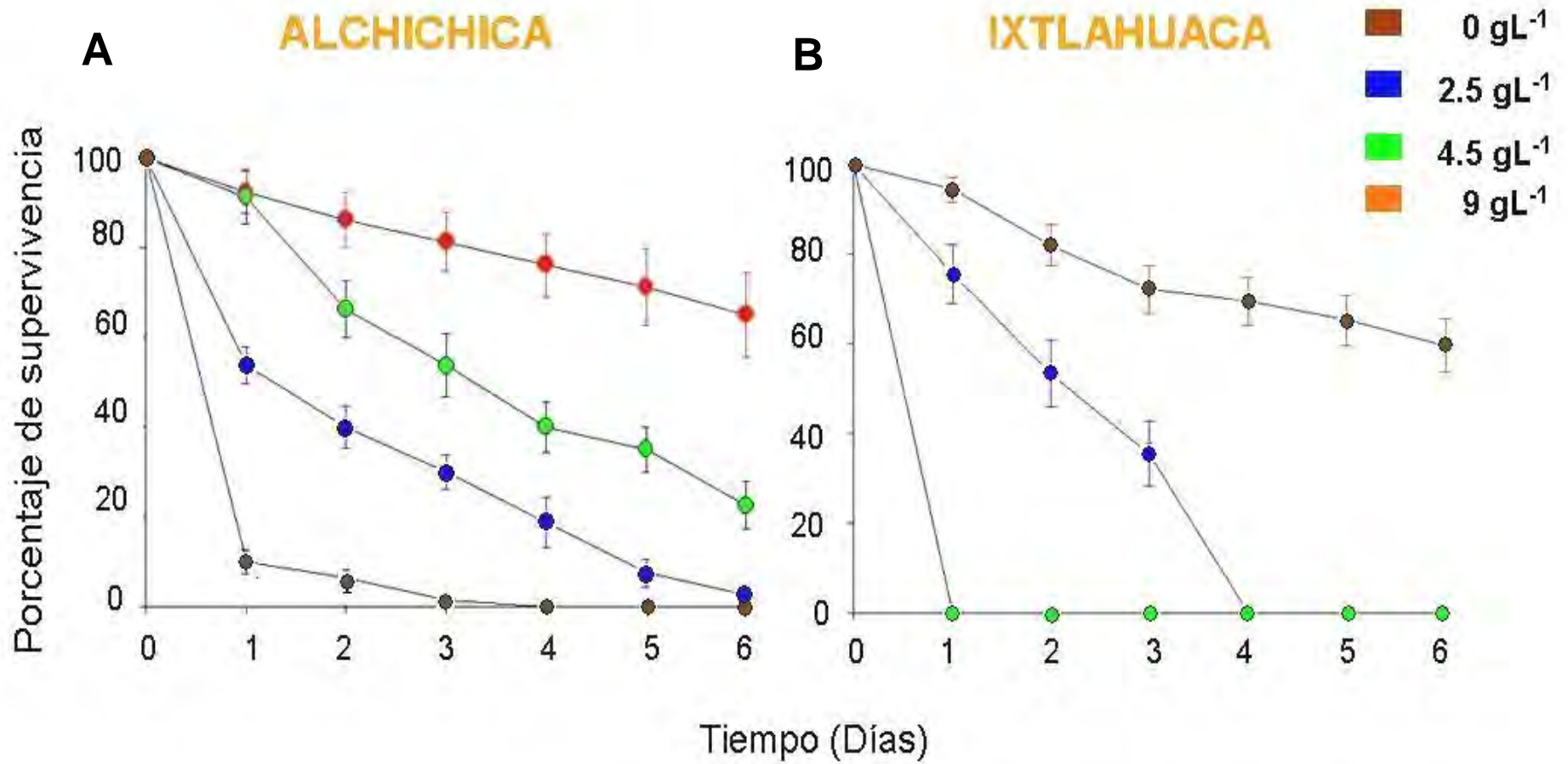


Fig. 1. Efecto de la salinidad sobre la supervivencia de la población de *L. novamexicanus* proveniente de **A)** Alchichica y **B)** Ixtlahuaca. Se muestran las medias \pm error estándar (SE). Existen diferencias significativas entre todos los tratamientos, según prueba *post hoc* de Tuckey, $P \leq 0.05$.

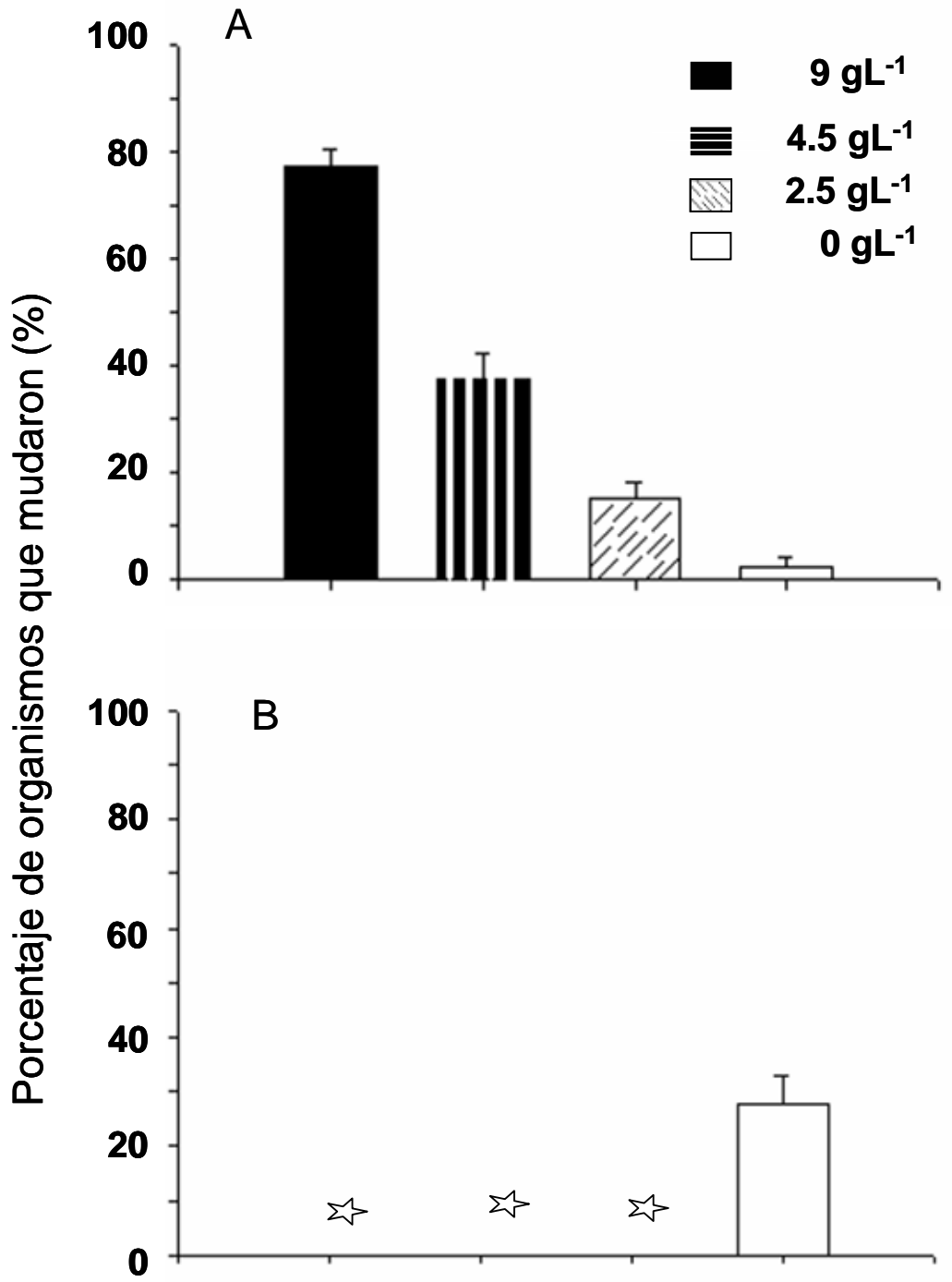


Fig. 2. Efecto de la salinidad sobre el desarrollo (porcentaje de organismos experimentales que mudaron) de *L. novamexicanus* **A)** provenientes del Lago Alchichica. Se muestran las medias + SE. Existen diferencias significativas entre todos los tratamientos, según un prueba *post hoc* de Tuckey; $P \leq 0.05$). **B)** provenientes del embalse Ixtlahuaca. Figuras iguales sobre las barras indican que no existe diferencias significativas entre tratamientos, según pruebas *post hoc* (Mann-Whitney, $P \leq 0.05$).

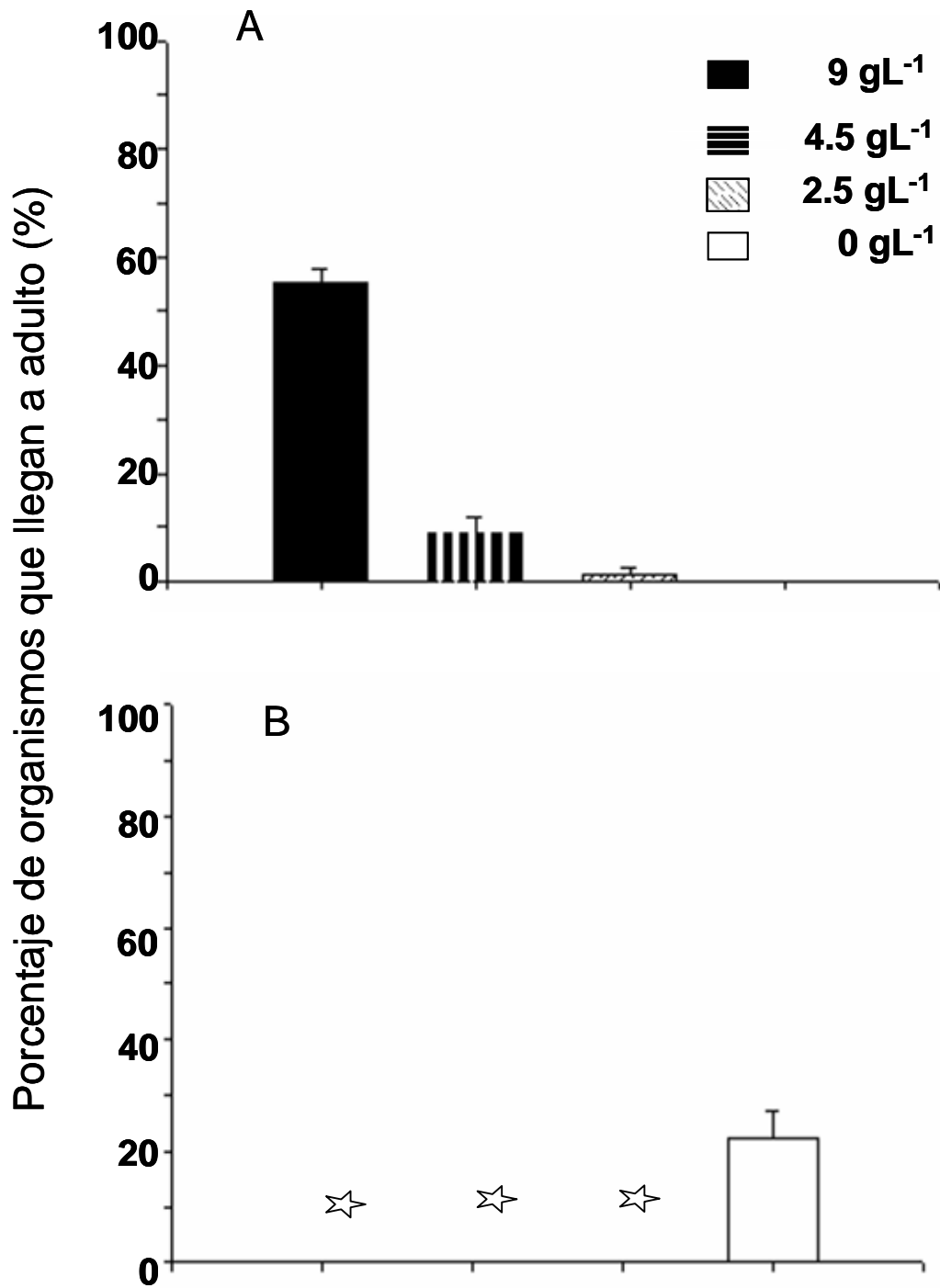


Fig. 3. Efecto de la salinidad sobre el desarrollo (porcentaje de organismos experimentales que llegan a estadio adultos) de *L. novamexicanus* **A)** provenientes del Lago Alchichica y **B)** provenientes del embalse Ixtlahuaca. Se muestran las medias + SE. Figuras iguales sobre las barras indican que no existe diferencias significativas entre tratamientos, según pruebas *post hoc* (Mann-Whitney, $P \leq 0.05$).

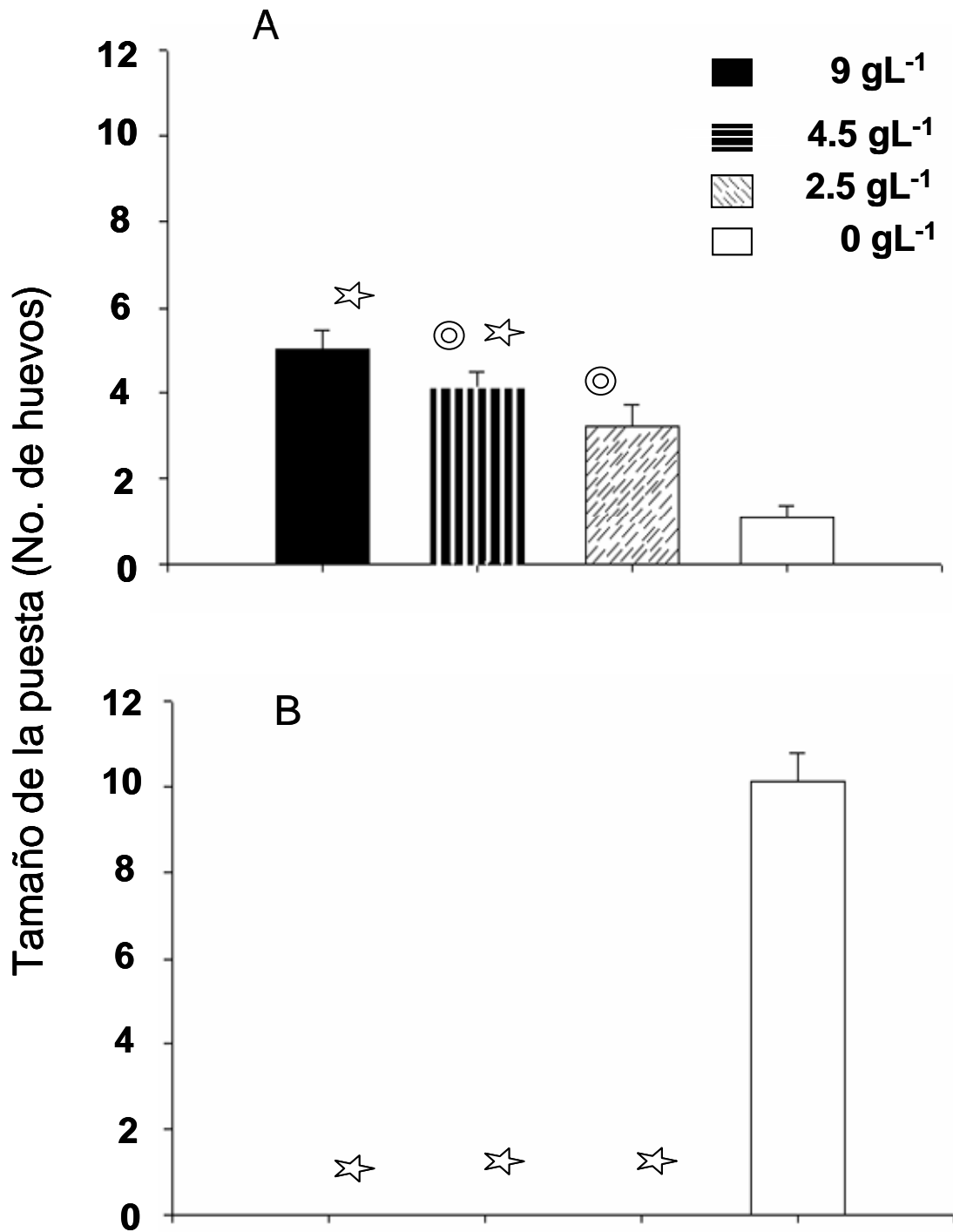


Fig. 4. Efecto de la salinidad sobre el tamaño de puesta (número de huevos puestos por hembra fecundadas) de *L. novamexicanus* **A)** provenientes del Lago Alchichica y **B)** provenientes del embalse Ixtlahuaca. Se muestran las medias + SE. Figuras iguales sobre las barras indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos, según pruebas *post hoc* de Tuckey, ($P \leq 0.05$).

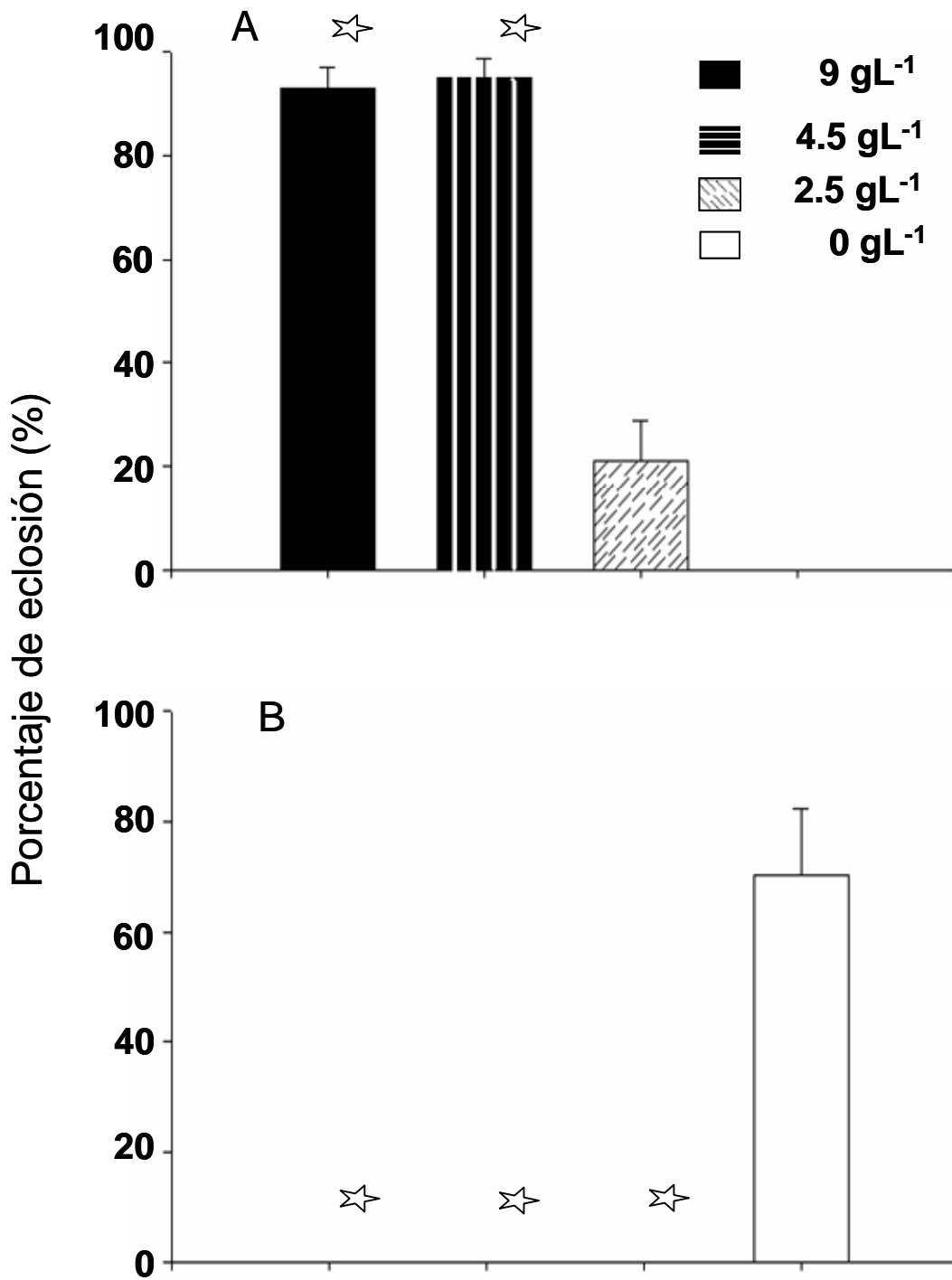


Fig. 5. Efecto de la salinidad sobre el porcentaje de eclosión de huevos de *L. novamexicanus* **A)** provenientes del Lago Alchichica. Se muestran las medias + SE. Figuras iguales sobre las barras indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos, según pruebas *post hoc* (Mann-Whitney, $P \leq 0.05$). **B)** Provenientes del embalse Ixtlahuaca. Figuras iguales sobre las barras indican que no hay diferencias significativas entre tratamientos, según pruebas *post hoc* de Tuckey, $P \leq 0.05$).

Tabla 3. Datos de reproducción intra e interpoblacional de *L. novamexicanus* de dos ambientes ecológicamente diferentes. Dos cruza no fueron realizadas debido al mal estado que presentaban los organismos sometidos a estrés por salinidad (NR). Parámetros medidos: M= Porcentaje de hembras maduras, F= Porcentaje de hembras fecundadas, H= Número de huevos y E= Porcentaje de eclosión, — = No observado.

		♀			
		Alchichica		Ixtlahuaca	
♂	Parámetros	9 ‰	2.5 ‰	2.5 ‰	0 ‰
		Alchichica			
	M	100 %	100 %	14.2 ± 14.2 %	NR
	F	100 %	100 %	0 %	NR
	H	5 ± 0.4	3.2 ± 0.5	—	NR
	E	92.9 ± 4.1 %	21 ± 7.9 %	—	NR
Ixtlahuaca					
	M	NR	100 %	33.3 ± 21%	100 %
	F	NR	0 %	0 %	100 %
	H	NR	—	—	10.11 ± 0.6
	E	NR	—	—	70 ± 12 %

DISCUSIÓN

1. Morfología comparada

Las diferencias morfológicas encontradas entre los machos y hembras de las diferentes poblaciones de estudio se localizan en estructuras involucradas en la reproducción, lo cual podría hacer que estas sutiles diferencias (a los ojos humanos) sean importantes en el proceso de reconocimiento de organismos coespecíficos.

Durante el encuentro sexual en copéodos, los machos se guían de señales químicas e hidromecánicas (Lonsdale *et al.*, 1998); estas últimas pueden ser producidas, en parte, por estructuras y/o procesos presentes en los márgenes terminales del cefalotórax (Ohtsuka y Huys, 2001) y/o procesos y lóbulos en el segmento genital y en el resto del urosoma (Defaye *et al.*, 2000). Es importante recordar que en las hembras de todas las poblaciones se presenta un proceso distal derecho, sin embargo, el tamaño varía entre los organismos de las diferentes poblaciones. En algunos casos, la morfología del segmento genital ha sido sugerida como una estructura importante para ser usada como carácter taxonómico diacrítico (*e.g.*, género *Pseudodiaptomus*; Water *et al.*, 2002).

Una vez que el macho localiza a la hembra, procede a sujetarla por el urosoma con la anténula geniculada (derecha). Acomoda a la hembra de forma tal que pueda sujetarla con la 5a pata derecha por la cauda –se sabe que las estructuras mencionadas cuentan con una enorme cantidad de glicoproteínas superficiales-, y con la pata izquierda, adhiere el espermatóforo, (previamente expulsado por la apertura genital) al segmento genital de la hembra (Lonsdale *et al.*, 1998; Ohtsuka y Huys, 2001). En algunas especies, antes de transferir y colocar el espermatóforo, el macho realiza una inspección táctil y la limpieza del área genital con la pata izquierda del 5o par (Blades y Youngbluth, 1979; Ohtsuka y Huys, 2001), por lo que estructuras como las sensilas y los poros glandulares pueden tener un importante papel en el reconocimiento de pareja, como ha sido sugerido por diversos autores (Blades y Youngbluth, 1979; Blades-Eckelbarger, 1991) para copéodos calanoides. De esta manera, la presencia de diferente ornamentación en el 5o par de patas

del macho de *L. novamexicanus*, puede ser de gran importancia para el reconocimiento de las parejas sexuales y por lo tanto para que exista éxito reproductivo.

Además de la probable importancia en la reproducción, la posición y arreglo de estructuras tales como, sensilas, espinas y poros (particularmente si se encuentran en estructuras sexuales) han sido empleadas como caracteres taxonómicos diacríticos (Blades y Youngbluth, 1979; Uchima y Murano, 1988). Tal es el caso de los taxa que componen el complejo de especies gemelas del género *Pontellina* (Hulsemann y Fleminger, 1990) y de *Thermocyclops oblongatus*, *T. neglectus*, *T. africae* y *T. emini* (Baribwegure *et al.*, 2001) entre otros.

No existe material tipo depositado del taxón *L. novamexicanus*, y la descripción original (véase Marsh, 1907; copia fiel de la descripción de Herrick, 1895) es fragmentada e incompleta considerando los estándares actuales. En el caso de la descripción de *L. garciai* (Osorio-Tafall, 1942; Tabla 2), aunque más precisa, subestima algunas estructuras de importancia sexual y sobreestima otras que podrían verse afectadas por plasticidad fenotípica. Esta ausencia de información, así como la posible variabilidad intra- e interpoblacional, hacen difícil realizar una conclusión definitiva sólo sobre la base de estructuras morfológicas (Paggi, 2001; Stoch, 2001).

En ocasiones, el hecho de no encontrar caracteres morfológicos evidentes que sean disímiles entre las diferentes poblaciones no está relacionado con la presencia de aislamiento reproductivo; tal es el caso de la estasis morfológica descrita en los complejos de especies gemelas de *Eurytemora affinis* (Lee y Frost, 2002) y de *Acanthocyclops vernalis* (Lee, 2000; Dodson *et al.*, 2003). En este último se comprobó aislamiento reproductivo entre diferentes poblaciones, sin embargo, no se encontró algún carácter morfológico suficiente para separar a los distintos grupos, por lo se sugirió el uso de diversas metodologías para discernir entre especies biológicas, y posteriormente especie taxonómicas.

2. Tolerancia a la salinidad

Los resultados de los diferentes experimentos muestran que la población de *Leptodiptomus* proveniente del Lago Alchichica no posee plasticidad fenotípica que le permita invadir ambientes dulceacuícolas (cuya salinidad sea $< 2.5 \text{ g L}^{-1}$). De la misma manera, los resultados de los experimentos de tolerancia a la salinidad realizados con la población de Ixtlahuaca indican que dicha población no posee plasticidad fenotípica para colonizar ambientes salobres (con una salinidad igual o por encima a 2.5 g L^{-1}), pues de acuerdo al presente estudio es poco probable que logren sobrevivir y mucho menos que muden o alcancen la madurez.

Estos resultados, son similares a lo descrito en otras especies de copépodos, por ejemplo *Acartia bifilosa*, *A. discaudata* (Lance, 1963), *A. tonsa* (Cervetto *et al.*, 1999), *Boeckella hamaca* (Hall y Burns, 2001) y *E. affinis*, siendo esta última un complejo de especies gemelas. Es importante considerar que los copépodos mencionados son de ambientes estuarinos, donde las fluctuaciones de salinidad son amplias y podría esperarse que las poblaciones presenten rangos amplios de tolerancia a este factor. Sin embargo, lo que se debe enfatizar es que existen topes fisiológicos para cada especie en particular, tanto para un incremento como para un decremento de salinidad.

La adecuación a diferentes fluctuaciones de la salinidad dependen de la capacidad de osmoregulación. Dentro de los mecanismos de osmoregulación para crustáceos se encuentra el transporte activo de solutos inorgánicos a través del epitelio de la pared del cuerpo, otro mecanismo es el ajuste de solutos inorgánicos intracelulares vía síntesis o eliminación de aminoácidos libres no esenciales (González y Bradley, 1994). Es así que la síntesis de proteínas juega un papel importante en la respuesta osmótica y en la maquinaria del transporte celular que regula la entrada y salida de solutos (Burton, 1991; Gonzalez y Bradley, 1994; Kimmel y Bradley, 2001). De esta manera, la respuesta al estrés por salinidad está determinada genéticamente.

Asimismo, existe una inversión de energía para poder activar mecanismos que enfrenten el choque osmótico. Goolish y Burton (1989) estimaron que la osmoregulación

representa el 11.6% de la energía diaria usada por el copépodo *Tigriopus californicus*, esta necesidad de inversión de energía puede ser manifestada en altas tasas de respiración (*e.g.*, *A. clausi* y *A. tonsa*, Gaudy *et al.*, 2000), y en casos más extremos, seguramente se afectarán procesos vitales como el desarrollo y la reproducción (Dybdahl, 1995; Devreker, 2005; Myron y Holste, 2005), lo que probablemente sucede con *L. novamexicanus*.

Es importante enfatizar que los estadios juveniles (estadios analizados en este trabajo) son menos sensibles al estrés por salinidad que estadios larvales (Cervetto *et al.*, 1999), por lo que posiblemente el porcentaje de larvas nauplio que mudarían en condiciones de estrés por salinidad sería considerablemente menor. De esta manera al tener un menor porcentaje de organismos que mudan y de organismos que lleguen a adulto a salinidades diferentes a las que están habituados, tendremos como consecuencia menos organismos maduros sexualmente y, por lo tanto, capaces de reproducirse, lo que se reflejará en menores densidades poblacionales y a la larga, en la extinción de la población.

Además, de acuerdo con los resultados obtenidos, en caso de que se lograra la reproducción, el tamaño de la puesta de huevos se vería disminuido, así como en el porcentaje de eclosión, por lo que es probable que aunque hubiera algún porcentaje de adultos que pudieran sobrevivir, crecer y reproducirse, posiblemente no habría eclosión de los huevos.

En el caso de *L. novamexicanus* proveniente de Ixtlahuaca, ni siquiera los estadios de copepodito más avanzado (C5) fueron capaces de mudar en salinidades mayores a 0 gL^{-1} , por lo que los experimentos de reproducción se llevaron a cabo con organismos adultos. Sin embargo, cuando se piensa en el establecimiento de una población en un ambiente dado, esto sólo es posible cuando los organismos pueden responder a las demandas del medio en cualquier momento de su ciclo de vida (Guilles y Pequeux, 1983). Aunado a los resultados observados cabe mencionar que en ambientes naturales, la salinidad tendrá un efecto mayor al estar asociada con otros factores (*e.g.*, temperatura; Gilles y Pequeux, 1983; Mauchline, 1998; Williams, 1998; Gaudy *et al.*, 2000; Hall y Burns, 2001; Devreker, 2005).

De esta manera, dado que la salinidad es un factor que limita la distribución de diversos organismos acuáticos (Gunter, 1961; Jeffries, 1967; Guilles y Pequeux, 1983; Tester y Turner, 1991; Mauchline, 1998; Williams, 1998; Cervetto *et al.*, 1999; Monchenko, 2000; Kimmel y Bradley, 2001), y que, de acuerdo con los resultados encontrados en esta investigación, ésta afecta la eficiencia biológica de las poblaciones provenientes de ambientes dulceacuícolas y salobres (Alchichica e Ixtlahuaca), también es altamente probable que limite su distribución geográfica.

3. Reproducción

En el caso de la población de Alchichica se observó que a pesar de verse afectada por el decremento de la salinidad, los organismos pudieron reproducirse intrapoblacionalmente a salinidades menores de 9 gL⁻¹; por el contrario, los copépodos de Ixtlahuaca no pudieron reproducirse intrapoblacionalmente en salinidades más altas del agua dulce (>0 gL⁻¹).

Debido a estos resultados, en los que a la salinidad de 2.5 gL⁻¹ (salinidad a la cual se realizaron los experimentos de reproducción interpoblacional) los organismos más afectados eran los de Ixtlahuaca, y considerando que los machos son quienes tiene el papel activo en la reproducción, era de esperarse que en caso de que se diera la reproducción interpoblacional, ésta fuera más probable en la pareja formada por machos de Alchichica y hembras de Ixtlahuaca; sin embargo, en ningún caso ocurrió reproducción interpoblacional.

La diferenciación de límites fisiológicos (tolerancia a la salinidad) como la observada en este estudio, han sido asociados con el aislamiento reproductivo (*Diacyclops bicuspidatus*, Monchenko, 2000; *E. affinis*, Winkler *et al.*, 2005) pues pueden contribuir a limitar el flujo génico. Debido a que el éxito reproductivo es esencial para la supervivencia de la población y finalmente de la especie (Buskey, 1998), al implicar la reproducción un gasto energético tan fuerte, además de los riesgos que conlleva (una pareja copulando es más visible y vulnerable a la depredación; Maier *et al.*, 2000), para una especie de reproducción sexual es importante el no desperdiciar energía y tiempo en un “comportamiento sexual infructífero” (Jacoby y Youngbluth, 1983; Lonsdale *et al.*, 1998),

más aún, si, como en el caso de *L. novamexicanus*, la hembra necesita ser fecundada por un macho por cada puesta de huevos.

De acuerdo a Dobzhanski (1937) y Mayr (1942), para evitar el cruzamiento de diferentes especies han evolucionado mecanismos de aislamiento o barreras específicas que pueden ser precopulatorias o postcopulatorias (Skelton, 1993). Entre las barreras precopulatorias, se encuentra la salinidad (barrera ecológica). La salinidad *per se* afecta a la reproducción, ya sea disminuyendo el número de huevos por saco (Guilles y Pequeux, 1983; Hall y Burns, 2001), incrementando la mortalidad de los nauplios eclosionados en salinidades no óptimas (Miliou y Moraitou-Apostolopoulou, 1991), o bien, disminuyendo la tasa de eclosión de huevos de resistencia (Bailey *et al.*, 2004), entre otros efectos.

Debido a que el aislamiento reproductivo es considerado como crítico en el proceso de especiación (Ting *et al.*, 2000), para muchos autores, la reproducción (elemento fundamental en los principales conceptos de especie utilizados en biología evolutiva: “Biological Species Concept”, Dobzhanski, 1937 y Mayr, 1942; “Recognition Species Concept”, Paterson, 1985) es la herramienta más factible y sensible para distinguir entre diferentes especies (*e.g.*, Lee, 2000; Monchenko, 2000; Lee y Frost, 2002; Dodson *et al.*, 2003; Lee, 2003), pues tiene límites más definidos que otros conceptos (véase Lee, 2003), además de que existe evidencia de que el aislamiento reproductivo puede evolucionar rápidamente entre poblaciones aisladas (Lee, 2000). Conjuntamente, al agrupar organismos en bioespecies, seguramente estaremos agrupando, además, características morfológicas y ecológicas (Dodson *et al.*, 2003; Lee, 2003; Suatoni *et al.*, 2006).

Asimismo, aunque la evaluación de la reproducción sigue siendo una herramienta criticada debido a que no es sencillo observarla, en ocasiones es necesario emplearla, sobre todo, cuándo se relaciona a otras herramientas complementarias (*e.g.*, diferentes marcadores moleculares, análisis morfológico, comparación fisiológica, etc.). De esta manera, experimentos de reproducción interpoblacional han revelado complejos de especies gemelas en copépodos (*e.g.*, *Diacyclops bicuspidatus*, Monchenko, 2000; *E. affinis*, Lee y Frost, 2002; *Acanthocyclops vernalis*, Dodson *et al.*, 2003; *Phyllognathopus viguieri*, Glatzel y Königshoff, 2005).

Además de la diferente tolerancia al estrés por salinidad de las poblaciones de Alchichica e Ixtlahuaca y de la ausencia de reproducción interpoblacional, están las ya antes mencionadas diferencias morfológicas en estructuras de carácter sexual. Cabe aclarar que los estímulos aportados por dichas estructuras no son sólo mecánicos sino que también suelen estar acompañados de factores químicos de reconocimiento. Las proteínas que permiten esta comunicación química son específicas de edad y de especie (Snell y Carmona, 1994; Kelly y Snell, 1998; Kelly *et al.*, 1998; Lonsdale *et al.*, 1996; Lonsdale *et al.*, 1998; Ohtsuka y Ruys, 2001; Ting *et al.*, 2000).

Dado que los estímulos químicos de reconocimiento de pareja sexual son tan específicos, no es extraño que en algunos casos (p. ej., *E. affinis*; Lee, 2000; Lee y Frost, 2002; *Acanthocyclops vernalis*, Dodson *et al.*, 2003) se presente estasis morfológica entre especies cercanas, pues es probable que la selección sexual se manifieste en la evolución de señales químicas más allá que en la evolución morfológica de caracteres sexuales secundarios, o bien, que las tasas de divergencia sean bajas, o que la especiación sea reciente (Lee, 2000). De acuerdo con lo anterior, es altamente probable que éste fenómeno de especiación críptica pueda explicar los resultados obtenidos con el taxon *L. novamexicanus*.

4. El caso de *Leptodiptomus novamexicanus*

Existen casos que por omisiones en las descripciones publicadas y/o dada la ausencia de material tipo, diferentes especies de copéodos han sido sinonimizadas erróneamente, tal como todas las especies del género *Phyllognathopus* que fueron asignadas a *P. viguieri* (Lang, 1948) y posteriormente separadas en especies distintas (Glatzel y Königshoff, 2005). *Longipedia corteziensis* había sido asignada erróneamente a *L. santacruzensis* para después ser separada en un taxón diferente (Gómez, 2001); *Diaptomus cuauhtemoci*, una especie que al igual que *L. novamexicanus* fue descrita por Osorio-Tafall, fue sinonimizada con *Leptodiptomus siciloides* (Wilson y Yeatma, 1959),

pero recientemente Suárez-Morales *et al.* (2000) redescubrieron a *L. cuauhtemoci* validándolo como taxón.

Osorio-Tafall (1942) al describir a *L. garciai* aceptó que mostraba gran afinidad con *L. novamexicanus*, aunque con ciertas diferencias entre ambas especies (Tabla 3). Sin embargo, algunas de las diferencias utilizadas por el autor son demasiado ambiguas y utilizando éstas para discernir entre poblaciones se puede incurrir en errores. Sin embargo, y de acuerdo con los resultados encontrados en este estudio, se puede concluir que el taxón *L. garciai* (Osorio-Tafall, 1942), es una especie válida endémica del Lago Alchichica.

Ciertos copépodos tienen distribuciones determinadas por las características iónicas del agua (Williams, 1998), la cual en el caso de Alchichica tiene una composición muy particular, que entre otras cosas alberga especies endémicas de los únicos dos vertebrados que lo habitan, el pez *Poblana alchichica* (Solórzano y López, 1965) y el ajolote *Ambistoma taylorii* (Brandon *et al.*, 1981); de invertebrados, con el isópodo *Caecidotea williamsi* (Escobar-Briones y Alcocer, 2002) y una especie de microalga, la diatomea *Cyclotella alchichicana* (Oliva *et al.*, 2006).

Con base en los resultados del presente estudio, se propone que las poblaciones analizadas, y registradas previamente como *L. novamexicanus*, representan a dos bioespecies diferentes, con baja plasticidad fenotípica y con características morfológicas distintas; tales diferencias permiten concluir que *L. garciai* es un taxón válido endémico del lago Alchichica, Puebla. Debido a que la descripción de esta especie por Osorio-Tafall (1942) es incompleta para los estándares actuales, en la presente tesis se presenta una redescubrición de *L. garciai* (véase el Apéndice).

LITERATURA CITADA

- Agrawal, A.A. 2001. Phenotypic plasticity in the Interactions and evolution of species. *Science* **294**: 321-326.
- Alcocer, J. and A. Lugo. 2003. Effects of El Niño on the dynamics of Lake Alchichica, central Mexico. *Geofis. Int.* **42**: 523-528.
- Alcocer, J., L.A. Oseguera, E. Escobar, L. Peralta and A. Lugo. 2004. Phytoplankton biomasa in two high mountain, tropical lakes in central Mexico. *AAAR*. **36**: 342-346.
- Alvarez-Silva, C. and R.J. González-Ortíz 2002. *Leptodiatomus novamexicanus* (Copepoda: Calanoida) en el Estado de Hidalgo, México. *Rev. Biol. Tropical* **50**: 355.
- Anónimo. 1985. Methods of measuring the acute toxicity of effluents to freshwater and marine organisms. *US Environment Protection Agency EPA/600/4-85/013*.
- Bailey, S., I.C. Duggan, C.D.A. van Overdijk, T.H. Johengen, D.F. Reid and H.J. Macisaac. 2004. Salinity tolerance of diapausing eggs of freshwater zooplankton. *Fresh. Biol.* **49**: 286-295.
- Baribwegure, D., C. Thirion and H.J. Dumont. 2001. The integumental pore signature of *Thermocyclops oblongatus* (Sars, 1927) and *Thermocyclops neglectus* (Sars, 1909), with the description of *Thermocyclops africae* new species, and a comparison with *Thermocyclops emini* (Mrazek, 1895). *Hydrobiologia*. **458**: 201-220.
- Begon, M., C.R. Townsend and J.L. Harper. 1996. *Ecology: Individuals, populations and communities*. Blackwell Oxford.
- Berger, I. and G. Maier. 2001. The mating and reproductive biology of the freshwater planktonic calanoid copepod *Eudiaptomus gracilis*. *Fresh. Biol.* **46**: 787-794.
- Bergmans, M and P.P.M. Janssens. 1988. Competition between the sibling species *Tisbe holothuriae* and *T. battagliai* (Harpacticoida). *Hydrobiologia*. **167-168**: 455-462.
- Beyrend, D., J. Bailleul, D. Devreker, J.C. Molinero, A. Bonnard, C.E. Lee, G. Winkler and S. Souissi. 2005. Comparison of life cycle traits and functional morphology of *Eurytemora affinis* (Copepoda: Calanoida) from two different clades (European and North American). 9 th International Conference on Copepoda. Abstract Book. Tunisia.
- Blades, P.I. and M.J. Youngbluth. 1979. Mating behavior of *Labidocera aestiva* (Copepoda: Calanoida). *Mar. Biol.* **51**: 339-355.
- Blades-Eckelbarger, P.I. 1991. Functional morphology of spermatophores and sperm transfer in calanoid copepods. In: Bauer, R.T. and J.W. Martin (eds.). *Crustacean Sexual Biology*. Columbia University Press. New York.
- Boraas, M.E. 1993. Semicontinuous culture methods, pp. 13-20. In: N. Walz (ed.). *Plankton regulation dynamics*. Ecological Studies 98. Springer-Verlag, Berlin.

- Brandon, R.A., E.J. Maruska y W.T. Rumph. 1981. A new species of neotenic *Ambystoma* (Amphibia, Caudata) endemic to Laguna Alchichica, Puebla, México. *Bull. Southern California Acad. Sci.* **80**: 112-125.
- Bucklin, A., A.M. Bentley and S.P. Franzen. 1998. Distribution and relative abundance of *Pseudocalanus moultoni* and *P. newmani* (Copepoda: Calanoida) on Georges Bank using molecular identification of sibling species. *Mar. Biol.* **132**: 97-106.
- Burton, R.S. 1991. Regulation of proline síntesis in osmotic response: effect of protein síntesis inhibitors. *J. Exp. Zool.* **259**: 272-277.
- Buskey, E.J. 1998. Components of mating behavior in planktonic copepods. *J. Marine Syst.* **15**: 13-21.
- Caballero, M., G. Vilaclara, A. Rodríguez and D. Juárez. 2003. Short-term climatic change in lake sediments from lake Alchichica, Oriental, Mexico. *Geofísica Internacional* **42**: 529-537
- Camacho, M. 1996. *Análisis de los órdenes Calanoidea y Cyclopoidea (Crustacea:Copepoda) en diversos reservorios naturales y artificiales del Estado de México*. Tesis de Licenciatura. UNAM, Campus Iztacala, Tlanepantla, México.
- Cervetto, G., R. Gaudy and M. Pagano. 1999. Influence of salinity on the distribution of *Acartia tonsa* (Copepoda, Calanoida). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **239**: 33-45.
- Ciros-Pérez, J., M. Silva-Briano and M. Elías-Gutiérrez. 1996. A new species of *Macrothrix* (Anomopoda: Macrothricidae) from central Mexico. *Hydrobiologia* **319**: 159-166.
- Ciros-Pérez, J., A. Gómez and M. Serra. 2001. On the taxonomy of three sympatric sibling species of the *Brachionus plicatilis* (Rotifera) complex from Spain, with the description of *B. Ibericus* n. sp. *J. Plankton Res.* **23**: 1311-1328.
- Ciros-Pérez, J., M.J. Carmona and M. Serra. 2004. Resource competition between sympatric sibling rotifers species. *Limnol. Oceanogr.* **46**: 1511-1523.
- Ciros-Pérez, J., M. J. Carmona, and M. Serra 2002. Resource competition and patterns of sexual reproduction in sympatric sibling rotifer species. *Oecologia* **131**: 35-42.
- Colbourne, J.K., P.D.N. Hebert and D.J. Taylor. 1997. Evolutionary origins of phenotypic diversity in *Daphnia*, p. 163-188. In: T.J. Givnish y K.J. Sytsma. *Molecular evolution and adaptative radiation*. Cambridge University Press.
- Cruz, F. 1989. *Estudio de algunos aspectos de la biología de los calanoideos del Embalse Danxhó, Edo. de México*. Tesis de Licenciatura. UNAM, Campus Iztacala, Tlanepantla, México.
- Defaye, D., C. Cuoc and M. Brunet. 2000. Genital structures and spermatophore placement in female Paradiaptominae (Copepoda: Calanoida: Diaptomidae). *J. Crustacean Biol.* **20**: 245-261.
- De Meester, L., A. Gómez, B. Okamura, and K. Schwenk 2002. The Monopolization Hypothesis and the dispersal-gene flow paradox in aquatic organisms. *Acta Oecologica* **23**: 121-135.

Devreker, D., A. Bonnard, J. Forget-Leray and S. Souissi. 2005. Effect of temperatura and salinity on the development, survival and reproduction of *Eurytemora affinis* from the Seine estuary (France): An individual based experimental approach. 9th International Conference on Copepoda. Abstract Book. Tunisia.

Dirzo, R. 1999. La biodiversidad como crisis ecológica actual ¿qué sabemos? p. 399-412. *En: Núñez-Farfán, J y Eguiarte, L.E. (eds). La Evolución Biológica*. UNAM. México.

Dybdahl, M.F. 1995. Selection on life-history traits across a wave exposure gradient in the tidepool copepod *Tigriopus californicus* (Baker). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **192**: 195-210.

Dytham, C. 2003. *Choosing and using statistics a biologist's guide*. 2da. Blackwell Publishing, USA.

Dodson, S.I., A.K. Grishanin, K. Gross, and G.A.Wyngaard. 2003. Morphological analysis of some cryptic species in the *Acanthocyclops vernalis* species complex from North America. *Hydrobiologia* **500**: 131-143.

Dussart, B. and D. Defaye. 2001. *Introduction to Copepoda*, 2nd. ed. Backhuys Publisher. Leiden.

Elías-Gutiérrez, M, J. Ciros-Pérez, E. Suárez-Morales and M. Silva-Briano. 1999a. The freshwater Cladocera (Orders Ctenopoda and Anomopoda) of Mexico, with comments on selected taxa. *Crustaceana* **72**: 171-186.

Elías-Gutiérrez, M., E. Suárez-Morales and B. Romano-Márquez. 1999b. A new species of *Leptodiatomus* (Copepoda, Diaptomidae) from Northwestern Mexico with comments on the distribution of the genus. *J. Plankton Res.* **21**: 603-614.

Ehrlich, P.R. y A. Ehrlich. 1981. *Extinctions*. Random House, New York.

Escobar-Briones, E., and J. Alcocer 2002. *Caecidotea williamsi* (Crustacea: Isopoda: Asellidae), a new species from a saline crater-lake in the eastern Mexican Plateau. *Hidrobiología*. **477**: 93-105.

Frost, B.W. 1974. *Calanus marshallae*, a new species of calanoid copepod closely allied to the sibling species *C. finmarchicus* and *C. glacialis*. *Mar. Biol.* **26**: 77-99.

Gaudy, R., G. Cervetto and M. Pagano. 2000. Comparison of the metabolism of *Acartia clausi* and *A. tonsa*: influence of temperature and salinity. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **247**: 51-65.

Glatzel, T. and D. Königshoff. 2005. Cross-breeding experiments among different populations of the "cosmopolitan" species *Phyllognathopus viguieri* (Copepoda: Harpacticoida). *Hydrobiologia*. **534**: 141-149.

Gómez, A. 1996. *Ecología genética y sistemas de reconocimiento de pareja en poblaciones simpátricas de rotíferos*. Tesis de Doctorado. Universitat de València.

Gómez, A., M. Serra, G.R. Carvalho and D.H. Lunt. 2002. Speciation in ancient cryptic species complexes: evidence from the molecular phylogeny of *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *Evolution* **56**: 1431-1444.

- Gómez, S. 2001. *Longipedia corteziensis* sp. Nov. (Copepoda: Harpacticoida, Longipediidae) from a coastal lagoon in northwestern Mexico, with the definition of the helgolandica species-group of the genus *Longipedia* Claus, 1963. *Hydrobiologia*. **453/454**: 483-496.
- González, C.R. and B.P. Bradley. 1994. Salinity stress proteins in *Eurytemora affinis*. *Hydrobiologia*. **293**: 461-468.
- González, M. 1991. *Contribución al conocimiento biológico y ecológico de los copépodos: Calanoidea en la Presa Trinidad Fabela, Edo. de México*. Tesis de Licenciatura. UNAM, Campus Iztacala, Tlanepantla, México.
- Goolish, R. and R. Burton. 1989. Energetics of osmoregulation in an intertidal copepod: effects of anoxia and lipid reserves on the pattern of free amino acid accumulation. *Funct. Ecol.* **3**: 81-89.
- Granados-Ramírez, J.G. and E. Suárez-Morales. 2003. A new *Hesperodiptomus* Light (Copepoda, Calanoidea, Diaptomidae) from Mexico with comments on the distribution of the genus. *J. Plankton Res.* **25**: 1383-1395.
- Grimaldo-Ortega, D. 1996. *Copépodos (Crustacea: Calanoidea, Cyclopoida) en algunos cuerpos de nxhó, Edo. de México*. Tesis de Licenciatura. UNAM, Campus Iztacala, Tlanepantla, México.
- Grimaldo-Ortega, D., M. Elías-Gutiérrez, M. Camacho-Lemus and J. Ciro-Pérez. 1998. Additions to Mexican freshwater copepods with the description of the female *Leptodiptomus mexicanus* (Marsh). *J. Marine Syst.* **15**: 381-390.
- Guilles, R. and A. Pequeux. 1983. Interactions of chemical and osmotic regulation with the environment. In: Vernberg, J. and W. B. Vernberg (eds). *The biology of crustacea*, Vol. 8. Academic Press, USA.
- Gunter, G. 1961. Some relations of estuarine organisms to salinity. *Limnol. Oceanogr.* **6**: 182-190.
- Hall, C.J and C. W. Burns. 2001. Effects of salinity and temperature on survival and reproduction of *Boeckella hamata* (Copepoda: Calanoidea) from a periodically brackish lake. *J. Plankton Res.*, **23**: 97-103.
- Hall, M. 1993. Species, speciation and extinction. In: Skelton, P (ed). *Evolution*. The Open University, London, 370-444.
- Hudec, I. 1991. A comparison of populations from the *Daphnia similis* group (Cladocera : Daphniidae). *Hydrobiologia* . **225**: 9-22.
- Hulsemann, K. and A. Fleminger. 1990. Taxonomic value of minute structures on the genital segment of *Pontellina* females (Copepoda:Calanoidea). *Mar. Biol.* **105**: 99-108.
- Ianora, A., B. Scotto di Carlo and P. Mascellaro. 1989. Reproductive biology of the planktonic copepod *Temora stylifera*. *Mar. Biol.* **101**: 187-194.
- Jacoby, C.A. and M.J. Youngbluth. 1983. Mating behavior in three species of *Pseudodiptomus* (Copepoda:Calanoidea). *Mar. Biol.* **76**: 77-86.
- Katona, S.K. 1975. Copulation in the copepod *Eurytemora affinis* (Poppe, 1880). *Crustaceana* **28**:

89-95.

Kelly, L.S and T.W. Snell. 1998. Role of surface glycoproteins in mate-guarding of the marine harpacticoid *Tigriopus japonicus*. *Mar. Biol.* **130**: 605-612.

Kelly, L.S., T.W. Snell and D.J. Lonsdale. 1998. Chemical communication during mating of the harpacticoid *Tigriopus japonicus*. *Phil.Trans. R.Soc. Lond. B.* **353**: 737-744.

Kingsolver, J.G., D.W. Pfenning and M.R. Servedio. 2002. Migration, local adaptation and the evolution of plasticity. *TREE* **17**: 540-541.

Knowlton, N. 1993. Sibling species in the sea. *Ann. Rev.. Ecol. Syst.* **24**: 189-216.

Lance, J. 1963. The salinity tolerance of some estuarine planktonic copepods. *Limnol. Oceanogr.* **8**: 440-449.

Larsenk, K. 2001. Morphological and molecular investigation of polymorphism and cryptic species in tanaid crustaceans: implications for tanaid systematics and biodiversity estimates . *Zool. J. Linn. Soc.* **131**: 353-379.

Lee, C.E. 2000. Global phylogeography of a cryptic copepod species complex and reproductive isolation between genetically proximate "populations". *Evolution.* **54**: 2014-2027.

Lee, C.E. and B.W. Frost. 2002. Morphological stasis in the *Eurytemora affinis* species complex (Copepoda:Temoridae). *Hydrobiologia.* **480**: 111-128.

Lee, C.E. and C.H. Petersen. 2003. Effects of developmental acclimation on adult salinity tolerance in the freshwater-invading copepod *Eurytemora affinis*. *Phis.Bioch Zool.* **76**: 296-301.

Lee, M.S.Y. 2003. Species concepts and species reality: salvaging a Linnaean rank. *J. Evol. Biol.* **16**: 179-188.

Lee, W. and R. Huys. 1999. New Normanellidae (Copepoda:Harpacticoida) from western Pacific cold seeps including a review of the genus *Normanella*. *Cah. Biol. Mar.* **40**: 203-262.

Lonsdale, D.J., T.W. Snell and M.A. Frey. 1996. Lectin binding to surface glycoproteins on *Coullana* sp. (Copepoda: Harpacticoida) can inhibit mate guarding. *Mar. Freshwat. Behav. Physiol.* **27**: 153-162.

Lonsdale, D.J., M.A. Frey y T.W. Snell. 1998. The role of chemical signals in copepod reproduction. *J. Marine Syst.* **15**: 1-12.

Lugo, A., M.E. González, M.R. Sánchez y J. Alcocer. 1999. Distribution of *Leptodiaotomus novamexicanus* (Copepoda: Calanoidea) in Mexican hyposaline lake. *Rev. Biol.Trop.* **17**:145-152.

Lynch, M. 2002. Gene duplication and evolution. *Science* **297**: 945-947.

Maier, G., I. Berger, W. Burghard and B. Nassal. 2000. Is mating of copepods associated with increased risk of predation?. *J. Plankton Res.* **22**: 1977-1987.

Marsh, C.D. 1907. A revision of the North American species of Diaptomidae. *Transaction of the*

- Winsconsin Academy of Sciences, Arts and Letters. **15**: 381-516.
- Martens, K. and M. Hamer. 1999. Taxonomy and biodiversity. *Hydrobiologia* **397**: 1-3.
- Mauchline, J. 1998. The biology of calanoid copepods, Vol 33. Academic Press, USA.
- Mayr, E. 1970. *Population species and evolution*. Harvard Univ. Press, Cambridge.
- Miliou, H. and M. Moraitou-Apotolopoulou. 1991. Combined effects of temperature and salinity on the population dynamics of *Tisbe holothuriae* Humes (Copepoda: Harpacticoida). *Arch. Hydrobiol.* **121**: 431-448.
- Myron, A.P. and L. Holste. 2005. Optimizing intensive cultures of *Acartia tonsa* (Calanoida: Copepoda): Effects of temperature, salinity, photoperiod and adult stocking density on egg production and hatching succes. 9 th International Conference on Copepoda. Abstract Book. Tunisia.
- Monchenko, V.I. 2000. Cryptic species in *Diacyclops bicuspidatus* (Copepoda: Cyclopoida): evidence from crossbreeding studies. *Hydrobiologia.* **417**: 101-107.
- Noguera, F., J. Vega Rivera, A. García Alderete, M. Quesada. 2002. *Historia Natural de Chamela*, Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, DF, México.
- Ocampo, L.M. 1996. *Dinámica del zooplancton en un estanque temporal utilizado para el cultivo de carpa en el Edo. de México*. Tesis de Licenciatura. UNAM, Campus Iztacala, Tlanepantla, México.
- Ohtsuka, S and R. Huys. 2001. Sexual dimorphism in calanoid copepods: morphology and function. *Hydrobiologia.* **453/454**: 441-466.
- Oiishi, S. 2002. Redescription of *Botryllophilus inaequipes* Hansen, 1923 (Crustacea: Copepoda: Cyclopoida: Ascidicolidae) *Proc. Biol. Soc. Wash.* **115**: 636-649.
- Oliva, M.G., A. Lugo, J. Alcocer, L. Peralta and M.R. Sánchez. 2001. Phytoplankton dynamics in a deep, tropical, hyposaline lake. *Hydrobiologia.* **406**: 299-306.
- Ortells, R., T.W. Snell, A. Gómez and M. Serra. 2000. Patterns of genetic differentiation in resting egg banks of a rotifer species complex in Spain. *Arch. Hydrobiol.* **149**: 529-551.
- Ortells, B.R. 2002. *Diversidad genética y ecológica en especies crípticas de rotíferos: patrones y procesos*. Tesis de Doctorado. Universitat de València. 193 pp.
- Osorio-Tafall, B.F. 1942. Un nuevo "Diaptomus" del México central (Copepoda: Diaptomidae). *Rev. Brasil. Bio.* **2**: 147-154.
- Paggi, J.C. 2001. Clarification of the taxonomic status of *Notodiaptomus anisitsi* (Daday, 1905) and related species, with description of a new species from Argentina (Crustacea: Copepoda: Diaptomidae). *Hydrobiologia.* **453/454**: 549-564.
- Reid, J.W. 1990. Continental and coastal freeliving Copepoda (Crustacea) of Mexico, Central America and the Caribbean region. *En*: Navarro, D y J.G. Robinson (eds). *Diversidad Biológica en*

la Reserva de la Biosfera de Sian Ka'an, Quintana Roo, México. CIQRO/ Univ. of Florida.

Reid, J.W. 1998. How "cosmopolitan" are the continental cyclopoid copepods? Comparison of the North American and Eurasian faunas, with description of *Acanthocyclops parasensitivus* sp. n. (Copepoda:Cyclopoida) from the U.S.A. *Zool. Anz.* **236**: 109-118.

Rico-Martínez, R and T.W. Snell. 1995. Male discrimination of female *Brachionus plicatilis* Mueller and *Brachionus rotundiformis* Tschugunoff (Rotifera). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **190**: 39-49.

Santer, B. 1996. Nutritional suitability of the dinoflagellate *Ceratium furcoides* for four copepod species. *J. Plankton Res.* **18**: 323-333.

Sarma, S.S.S. and M. Elías-Gutiérrez 1998. Rotifer diversity in a central Mexican pond. *Hydrobiologia* **387/388**: 47-54.

Shaw, K.L. 2002. Do we need species concepts? *Science* **295**: 1238-1239.

Skelton, P. 1993. *Evolution*. The Open University, London.

Snell T.W and M.J. Carmona. 1994. Surface glycoproteins in copepods: potential signals for mate recognition. *Hydrobiologia*. **292/293**: 255-264.

Sokal, R. R., and F. J. Rohlf. 1969. *Biometry*. W. H. Freeman, San Francisco.

Solórzano, A. y Y. López. 1965. Nueva especie de Poblana capturada en la laguna de Almoloya o Chignauapan, Estado de Puebla (México). *Ciencia*. **23**: 209-213.

Stoch, F. 2001. How many species of *Diacyclops*? New taxonomic characters and species richness in freshwater cyclopoid genus (Copepoda:Cyclopoida). *Hydrobiologia*. **453/454**: 525-531.

Suárez-Morales, E. and J. W. Reid. 1998. An updated list of the free living freshwater copepods (Crustacea) of Mexico. *Southwest. Nat.* **43**: 256-265.

Suárez-Morales, E. and J. W. Reid. 2003. An updated checklist of the continental copepod fauna of the Yucatan Peninsula, Mexico, with notes on its regional associations. *Crustaceana*. **76**: 977-991.

Suárez-Morales, E., J.W. Reid, T.M. Ilife y F. Fiers. 1996. *Catálogo de los copépodos (Crustacea) continentales de la Península de Yucatán, México*. El Colegio de la Frontera Sur, México.

Suárez-Morales y M. Elías-Gutiérrez. 2003. Estado actual del conocimiento de los copépodos de aguas continentales de México. En: Barreiro-Gúemes, M.T., M.E. Meave del Castillo, M. Signoret-Poillon y M.G. Figueroa-Torres (eds.). *Planctología Mexicana*. Sociedad Mexicana de Planctología, A.C., México.

Suárez-Morales, E., M. Silva-Briano, and M. Elías-Gutiérrez. 2000. Redescription and taxonomic validity of *Leptodiptomus cuauhtemoci* (Osorio-Tafall, 1941) (Copepoda, Calanoida), with notes on its known distribution. *J. Limnology* **59**: 5-14.

Suatoni, E., S. Vicario, S. Rice, T. Snell, A. Caccone. 2006. An analysis of species boundaries and biogeographic patterns in a cryptic species complex: The rotifer —*Brachionus plicatilis*. *Mol. Phyl. Evol.* (en prensa).

Thompson, R.M. and C.R. Townsend. 2000. Is resolution the solution?: the effect of taxonomic resolution on the calculated properties of three streams food webs. *Freshwater Biol.* **44**: 413-422.

Ting, J.H., L.S. Nelly and T.W. Snell. 2000. Identification of sex, age and specie-specific proteins on the surface of the harpacticoid copepod *Tigriopus japonicus*. *Mar. Biol.* **137**: 31-37.

Toledo, V.M. 1988. La diversidad biológica de México. *Ciencia y Desarrollo* **81**: 17-30.

Uchima, M. and M. Murano. 1988. Mating behavior of the marine copepod *Oithona davisae*. *Mar. Biol.* **99**: 39-45.

Volkman-Rocco, B. 1973. Study of four sibling species of the group *Tisbe reticulata* Bocquet (Copepoda:Harpacticoida). *Arch. Zool. Exp. Gen.* **114**: 317-348.

von Ende, C.N. 1993. Repeated-measures analysis: growth and other time-dependent measures. In: Scheider, S.M. and J. Gurevitch (eds.). *Design and analysis of ecological experiments*. Chapman and Hall, New York.

Walter, T.C., S. Ohtsuka, S. Putchakarn, K. Pinkaew and S. Chullasorn. 2002. Redescription of two species of *Pseudodiaptomus* from Asia and Australia (Crustacea: Copepoda: Calanoida: Pseudodiaptomidae) with discussion of the female genital structure and zoogeography of Indo-West Pacific species. *Proc. Biol. Soc. Wash.* **115**: 650-669.

Williams, W.D. 1998. Salinity as a determinant of the structure of biological communities in salt lakes. *Hydrobiologia.* **381**: 191-201.

Williamson, C.E. and J.W. Reid. 2001. Copepoda. In: Thorp, J.H. and A.P. Covich (eds.). *Ecology and classification of North American freshwater invertebrates*. 2nd. Ed. Academic Press, San Diego, 915-954.

Winkler, G., C.E. Lee and J. Dodson. 2005. Patterns of genetic diversity of *Eurytemora affinis* along environmental gradients of the St Lawrence estuarine transition zone. 9th International Conference on Copepoda. Abstract Book. Tunisia.

Wilson, M.S. and H.C. Yeatman. 1959. Free-living Copepoda. In: Edmonson, W.T. (ed). *Freshwater Biology*. 2nd. John Wiley & Sons, INC, New York.

Apéndice

Familia Diaptomidae Baird, 1850
Género *Leptodiaptomus* Light, 1938

Leptodiaptomus garciai (Osorio-Tafall, 1942)

Diaptomus novamexicanus Herrick, 1895: XX.- Marsh, 1907: 483–485.

Diaptomus garciai Osorio-Tafall, 1942.- M. S. Wilson en Wilson y Yeatman, 1959:789
(nueva sinonimia).

Leptodiaptomus novamexicanus.- Reid, 1990: 179.

Redescripción

Material examinado: 6 ♀ y 6 ♂ colectados y fijados con formol al 4% provenientes del Lago Alchichica.

Hembra. (Fig. 6 A). Prosoma reduciéndose hacia la parte anterior, simétrico, con una pequeña constricción posterior a la región cefálica. Alas torácicas ligeramente asimétricas, más corta la derecha que la izquierda. Cada ala con dos procesos posteriores, ambos con una espina en posición distal. Urosoma trisegmentado (Fig. 6 D). Segmento genital más largo que el resto del abdomen, fuertemente asimétrico, posee dos procesos laterales con una espina terminal cada uno de ellos. En el lado derecho, el proceso lateral relativamente más acusado; en la parte posterior del mismo somita se presenta un proceso “digitiforme” distal de aproximadamente 1/3 de la longitud del siguiente segmento. En el lado izquierdo, el proceso lateral relativamente más ancho en su base. Segmento 2 del urosoma corto, aproximadamente 1/8 de la longitud del segmento genital. Segmento anal casi 1/3 de la longitud del segmento genital. Furcas más de dos veces más largas que anchas; con tres setas terminales, dos laterales y una dorsal todas las setas plumosas bilateralmente.

Antena (Fig. 6 C): Coxa con una seta. Basis más ancho que largo con dos setas cortas en el margen distal externo. Endópodo reducido a dos segmentos, segmento 1 casi tres veces más largo que ancho con dos setas en posición media; la porción distal del segmento 2 con dos lóbulos, lóbulo proximal con 9 setas y lóbulo distal con 7 setas. Exópodo con 7 segmentos, segmentos 1, 3-6 con una seta, segmento 2 con tres setas, segmento distal con una seta en posición media del margen interno y tres setas terminales.

Mandíbula (Fig. 7 F): Gnatobase con 8 dientes a lo largo del margen distomedial, el más ancho y grande en posición ventral con un pequeño proceso espiniforme en la punta; extremo dorsal con una seta corta. Basis más de tres veces largo que ancho con cuatro setas en posición media en el margen externo. Endópodo bisegmentado, segmento 1 con cuatro setas y segmento 2, más largo que ancho con 9 setas y dos procesos espiniformes en posición media del margen interno. Exópodo tetrsegmentado, segmentos 1-3 con una seta; segmento distal con tres setas terminales.

Maxílula (Fig. 7 E): Precoxa con 14 setas espiniformes, epipodito coxal con 9 setas y endito coxal con 4 setas. Basis presenta un lóbulo interno con una seta; dos enditos, ambos, (proximal y distal) con 4 setas cada uno. Endópodo trisegmentado, segmento 1 con una seta; segmento 2 con tres setas apicales y una en el margen externo; segmento 3 con tres setas apicales. Exópodo unisegmentado con 6 setas, presenta sensilas en el margen interno.

Maxila (Fig. 6 E): Precoxa y coxa sin separación aparente; la precoxa con dos enditos, el más proximal con 5 setas, el segundo con tres setas. Coxa con dos enditos, los dos con tres setas cada uno. Basis con cuatro setas. Endópodo tetrsegmentado, segmento 1, 2 y 3 con una seta, el segmento 1 parcialmente fusionado al basis; segmento distal con tres setas apicales.

Maxilípodo (Fig. 6 B): Coxa fusionada con precoxa (sincoxa). Precoxa con una seta plumosa en el margen interno. Coxa con tres enditos, el primero y el segundo con 2 y 3 setas similares en talla, respectivamente; el tercero con cuatro setas de tamaños diferentes. Basis con tres setas en el margen interno de la porción distal. Endópodo con seis

segmentos; segmentos 1, 3, 4 y 5 con dos setas; segmento 2 con tres setas y segmento distal con cuatro setas.

Pata torácica 1 (Fig. 7 A): Coxa con una seta plumosa en el margen interno, alcanzando el margen proximal del segundo segmento del endópodo. Basis más ancho que largo con pelillos en la región proximal del margen externo. Exópodo trisegmentado y endópodo bisegmentado. Patas 2-4 (Figs. 7 B-D) con exópodos y endópodos trisegmentados. Órgano de Schmeil con forma de U localizado en el segundo segmento del endópodo de la pata 2. Fórmula espinal para las patas torácicas 1-4 se muestran en la Tabla 4.

Pata 5 (Fig. 8 A): Coxa con una espina robusta y corta sobre insertada en un proceso distal. Margen interno del basis igual de largo que el ancho del segmento, con una seta fina insertada en el margen externo que sobrepasa la mitad del primer segmento del exópodo. Segmento 1 del exópodo aproximadamente dos veces más largo que ancho. Segmento 2 del exópodo conformado por una garra terminal curva con la punta dirigida hacia el interior, ornamentada en los dos tercios distales del margen interno por una hilera de espínulas cortas y de base ancha. Segmento 3 del exópodo fusionado al segundo, con dos setas espiniformes. Endópodo unisegmentado, aproximadamente del mismo tamaño que el primer segmento del exópodo, el cuarto distal ahusándose para finalizar en punta, con numerosas setas piliformes y ornamentado con dos setas subterminales insertadas en la borde externo.

Macho. Anténula derecha con 21 segmentos (Fig. 8 D). Segmentos 1, 3-8, 10-13, 15-18 con un seta; segmentos 9, 14 y 20 con dos setas; segmento 2 y 19 con tres setas; segmento 21 con cuatro setas; segmentos 15-17 con una seta y una seta con punta bífida; segmentos 8 y 12 con una seta y una espina pequeña; segmento 9 con dos setas y una espina pequeña. Procesos espiniformes en los segmentos 17, el cual se inserta en la región proximal y abarca casi la totalidad del segmento, y 18, donde se inserta en el tercio proximal y es aproximadamente un tercio de la longitud del segmento; adicionalmente, el segmento 17 con una seta bífida y el 18 con una seta larga que llega al borde proximal del segmento 20. Estetascos en los segmentos 1-3, 5, 12-16 y 21. Espinas en los segmentos 10, 11 y 13, siendo la del segmento 13 la de mayor tamaño. Antepenúltimo segmento (19) con un

proceso lateral que inicia desde la pared media del segmento y se prolonga hasta formar un gancho curvado hacia fuera, que alcanza aproximadamente a un tercio del penúltimo segmento (Fig. 8 C).

Pata 5 (Fig. 8 B): Derecha con coxa aproximadamente más ancha que larga, con una espina en un proceso distal. Basis más largo que ancho, proceso proximal en la parte interna, una seta fina insertada en el margen externo que sobrepasa la mitad del primer segmento del exópodo. Segmento 1 del exópodo relativamente igual de ancho que largo y más corto que el basis. Segmento 2 del exópodo aproximadamente 3 veces más largo que ancho, superficie interna cóncava y externa convexa; espina en posición medial insertada en un plano diferente al segmento, de aproximadamente 1/3 la longitud del mismo. Garra terminal más larga que el primer y segundo segmentos juntos, curva y ahusándose desde la base hacia la punta. Endópodo unisegmentado, más largo que el primer segmento del exópodo, el tercio terminal ahusándose para finalizar en punta, setas finas (piliformes) en el mismo.

La pata 5 izquierda alcanza el primer segmento del exópodo de la pata derecha. Coxa con espina en proceso distal. Basis más largo que ancho, seta insertada en el margen externo. Segmento 1 del exópodo más largo que ancho, estrechándose distalmente y con pelillos largos en la parte distal interna. Segmento 2 del exópodo casi de la misma longitud que el primero con pelillos largos en parte interna cercana a la base, con dos procesos digitiformes distales, uno apical y otro lateral que tiene a su vez pelillos cortos; existe una almohadilla entre los procesos en la cual se encuentran numerosas espínulas cortas. Endópodo unisegmentado con numerosos pelillos en el extremo distal, rebasa la mitad del segmento 2 del exópodo.

Diagnos diferencial

L. novamexicanus sensu lato (Herrick, 1895)

Material examinado: 6 ♀ y 6 ♂ colectados (09/2002) y donados por el Dr. C. Goldman y el Dr. S. Park (Universidad de California-Davis, Los Angeles) provenientes del Lago Castle (California, E.U.); 6 ♀ y 6 ♂ colectados (03/03 y 02/04) y fijados con formol al 4% provenientes del Embalse Ixtlahuaca; 6 ♀ y 6 ♂ colectados (11/1994) y donados por el Dr. M. Elías-Gutiérrez (ECOSUR- Chetumal).

Las hembras de las tres poblaciones comparten similitudes en la estructura general del cuerpo (Figs. 9 A, 12 A y 15 A), antenas (9 C, 13 F y 16 F), mandíbulas (10 F, 12 C y 15 B), maxilas (9 B, 12 B y 15 E), maxilípedos (9 E, 12 E y 15 C) y patas 1-5 (Figs 10 A-D, 11 A, 13 A-D, 14 A, 16 A-D y 17 C) exceptuando las maxílulas (Figs 10 E y 16 E) de los organismos provenientes de Castle y El Sol, las cuales presentan 13 y 15 setas respectivamente en la precox, a diferencia de las 14 setas que hay en los organismos provenientes de Ixtlahuaca. En cuanto al urosoma, la diferencia observada radica en la longitud del proceso distal derecho del segmento genital; así, para las poblaciones provenientes de Ixtlahuaca (Fig. 12 D) y El Sol (Fig. 15 D), dicho proceso es de aproximadamente el mismo tamaño que el segmento 2 del abdomen, mientras que para la población de Castle (Fig. 9 D), la longitud del proceso es de aproximadamente dos tercios en relación con el mismo segmento.

Con respecto al macho, la anténula de los organismos de las tres poblaciones es semejante, sin embargo, existe disimilitud en la longitud del proceso lateral del antepenúltimo segmento pues mientras en los machos de la población proveniente de Alchichica este proceso alcanza aproximadamente a $1/3$ del penúltimo segmento (Fig. 8 C), para el resto de las poblaciones de estudio la longitud llega a la mitad del siguiente segmento (Figs. 11 C, 14 C y 17 D). La P5 también es extremadamente semejante, la mayor diferencia es la cantidad de setas piliformes presentes en ambos endópodos y en los segmentos 1 y 2 del exópodo de la pata izquierda. De esta manera, en la P5 de los machos provenientes de las poblaciones de Castle (Fig. 11 B) y El Sol (Fig. 17 B) existe una mayor cantidad de pelillos en los endópodos, en comparación con la P5 de los machos de Alchichica (Fig. 8 B) e Ixtlahuaca (Fig. 14 B).

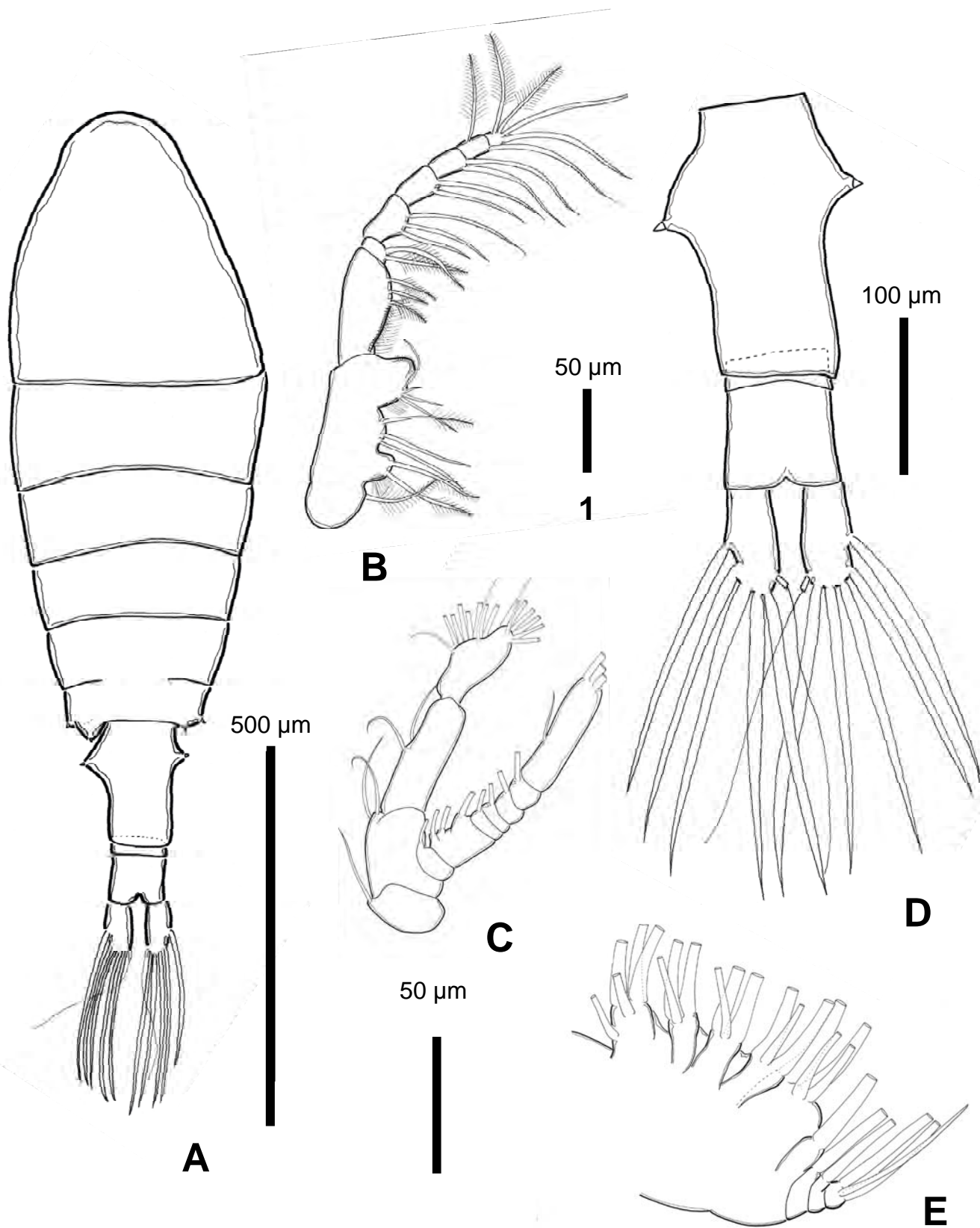


Fig. 6. *Leptodiptomus garciai* antes *L. novamexicanus* proveniente de Alchichica, hembra: **A.** Cuerpo, vista dorsal. **B.** Maxilípido. **C.** Antena. **D.** Urosoma, vista dorsal. **E.** Maxila. Barra 1: Figs B-C.

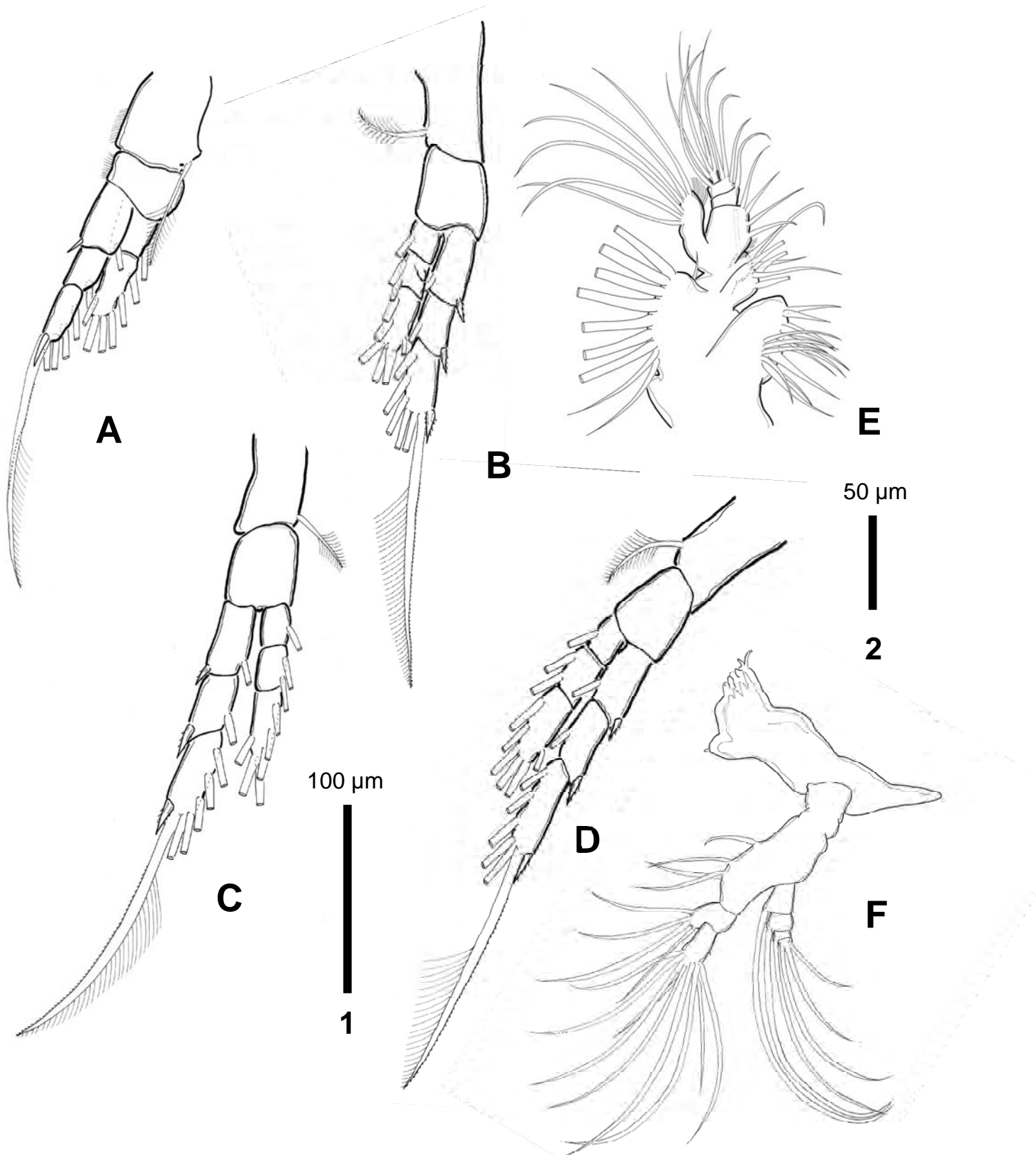


Fig. 7. *Leptodiaptomus garciai* antes *L. novamexicanus* proveniente de Alchichica, hembra: **A.** Pata 1 derecha. **B.** Pata 2 izquierda. **C.** Pata 3 izquierda. **D.** Pata 4 derecha. **E.** Maxilula. **F.** Mandíbula. Barra 1: Figs A-D. Barra 2: Figs E-F.

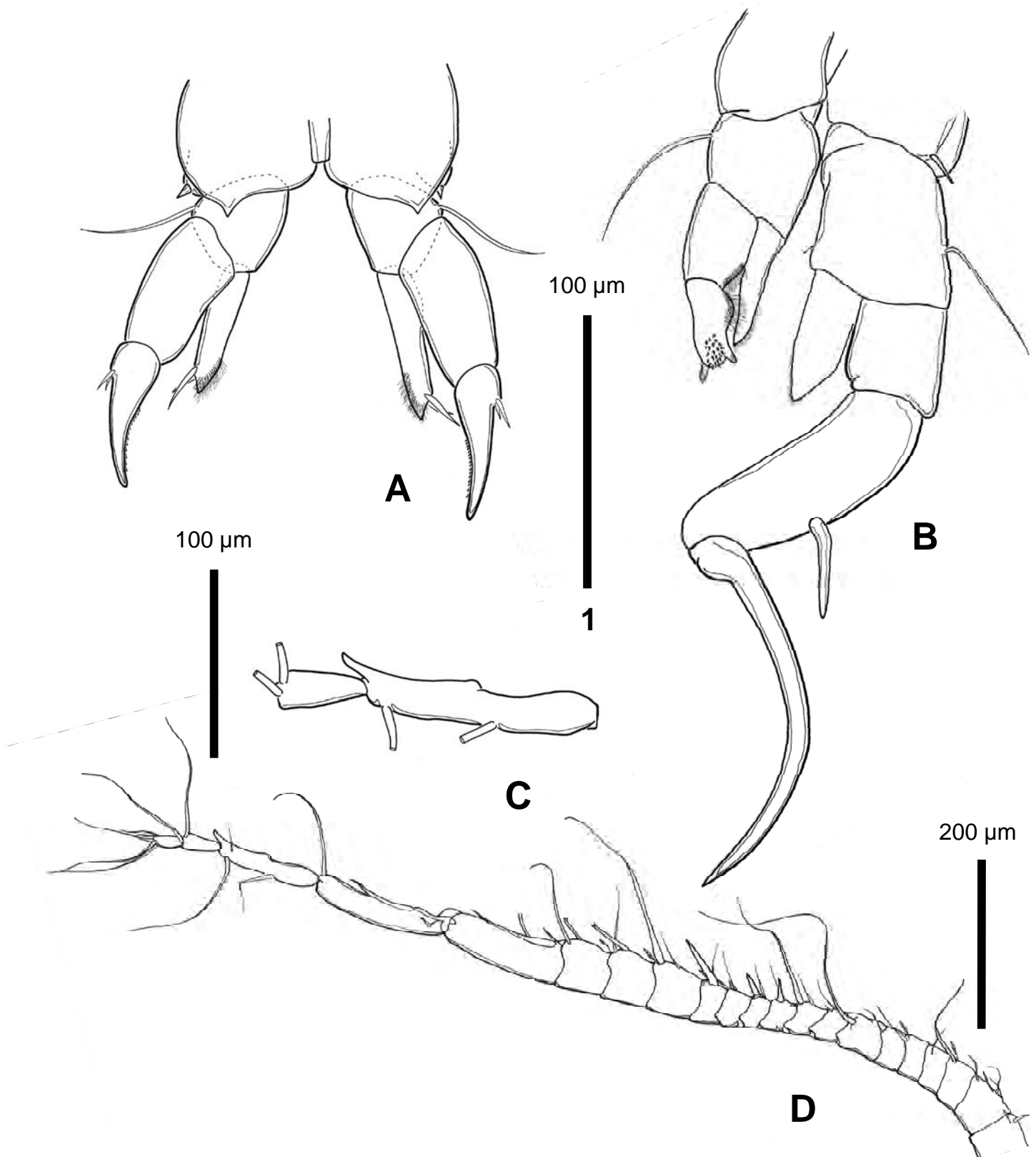


Fig. 8. *Leptodiaptomus garciai* antes *L. novamexicanus* proveniente de Alchichica: **A.** Pata 5, hembra. **B.** Pata 5, macho. **C.** Anténula derecha, detalle del proceso en forma de gancho del antepenúltimo segmento, macho. **D.** Anténula derecha, macho. Barra 1: Figs A-B.

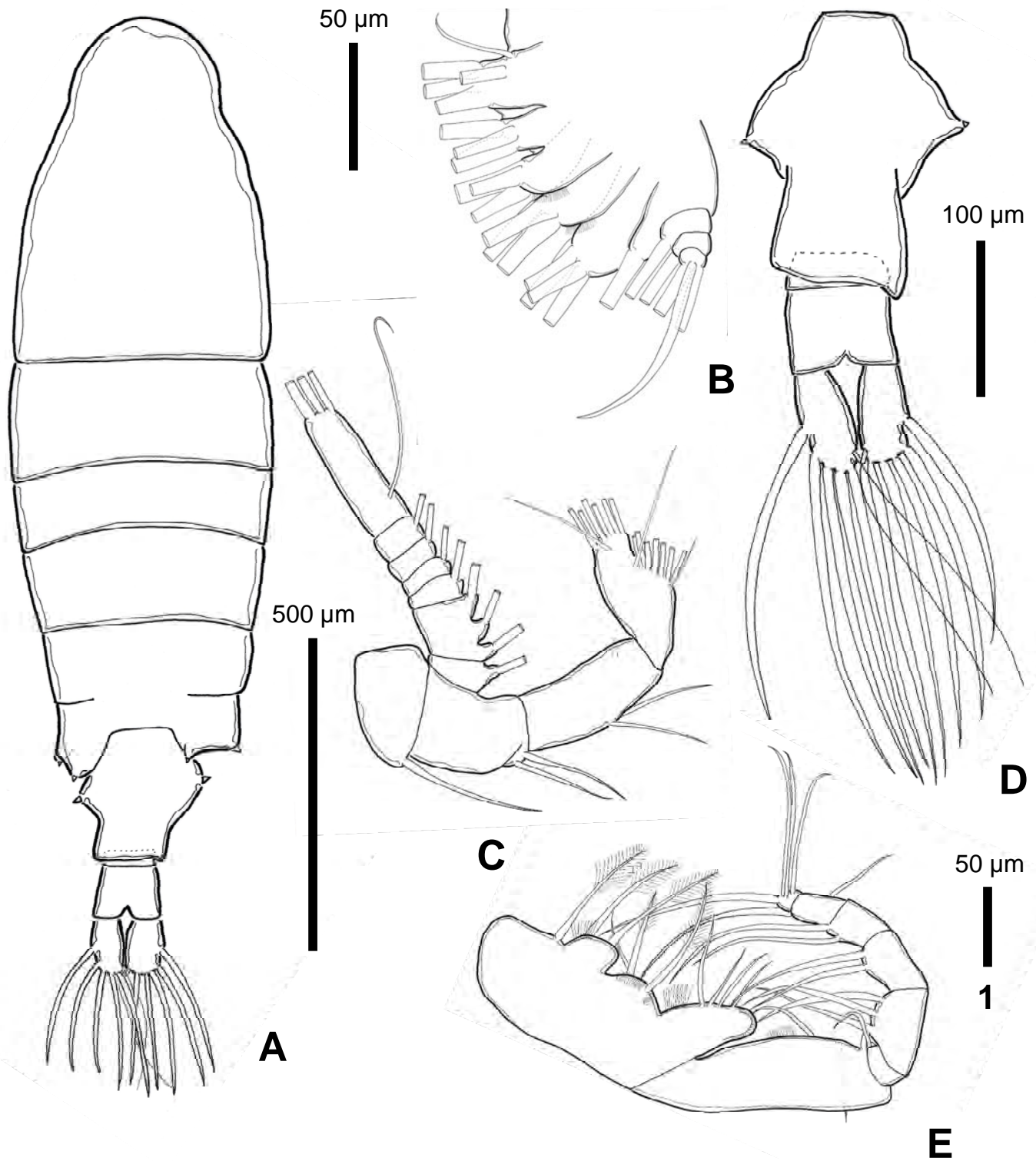


Fig. 9. *Leptodiaptomus novamexicanus* proveniente de Castle, hembra: **A.** Cuerpo, vista dorsal. **B.** Maxila. **C.** Antena. **D.** Urosoma, vista dorsal. **E.** Maxilípodo. Barra 1: Figs C y E.

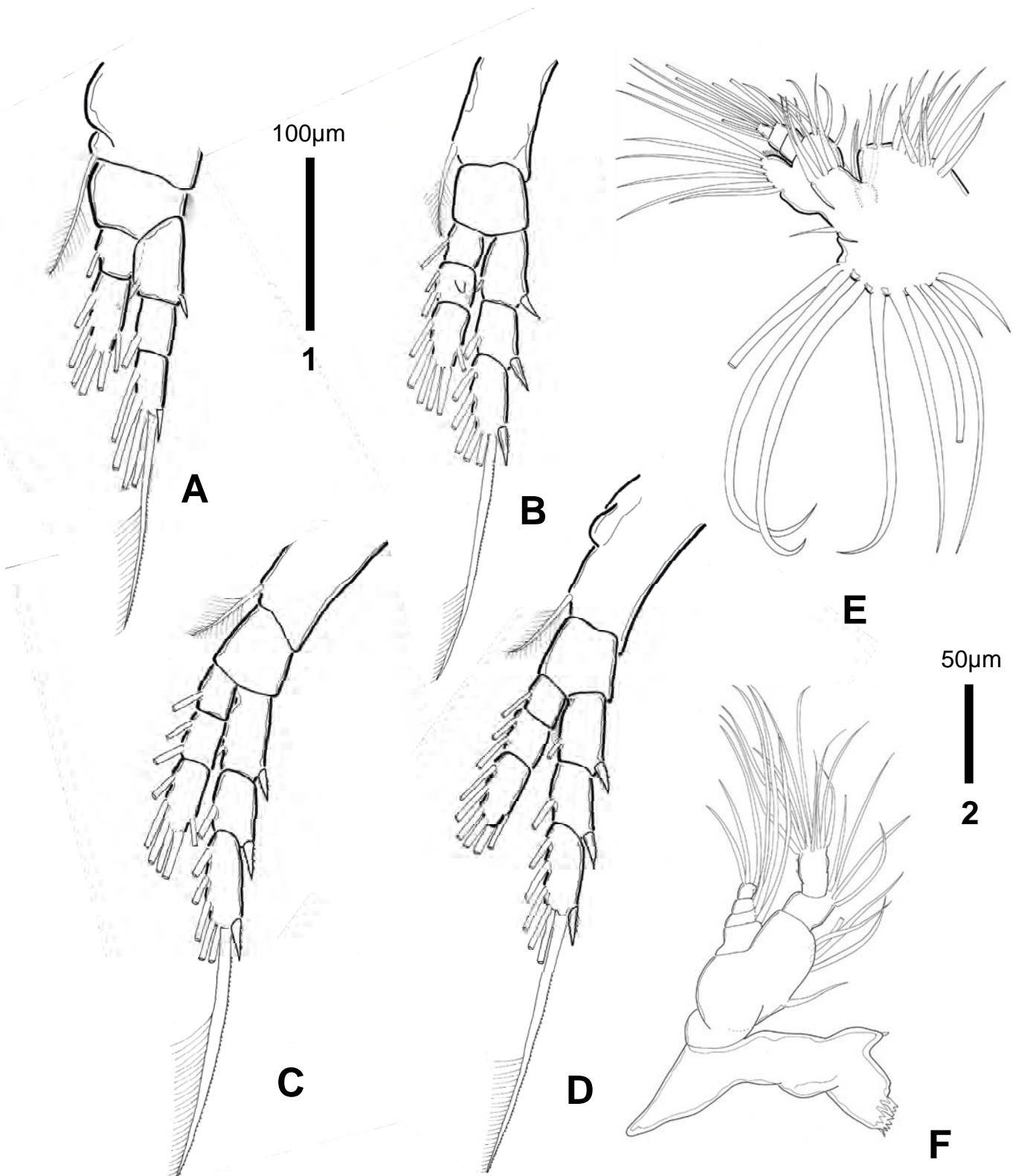


Fig. 10. *Leptodiptomus novamexicanus* proveniente de Castle, hembra: **A.** Pata 1 izquierda. **B.** Pata 2 izquierda. **C.** Pata 3 izquierda. **D.** Pata 4 izquierda. **E.** Maxilula. **F.** Mandíbula. Barra 1: Figs A-D. Barra 2: Figs E-F.

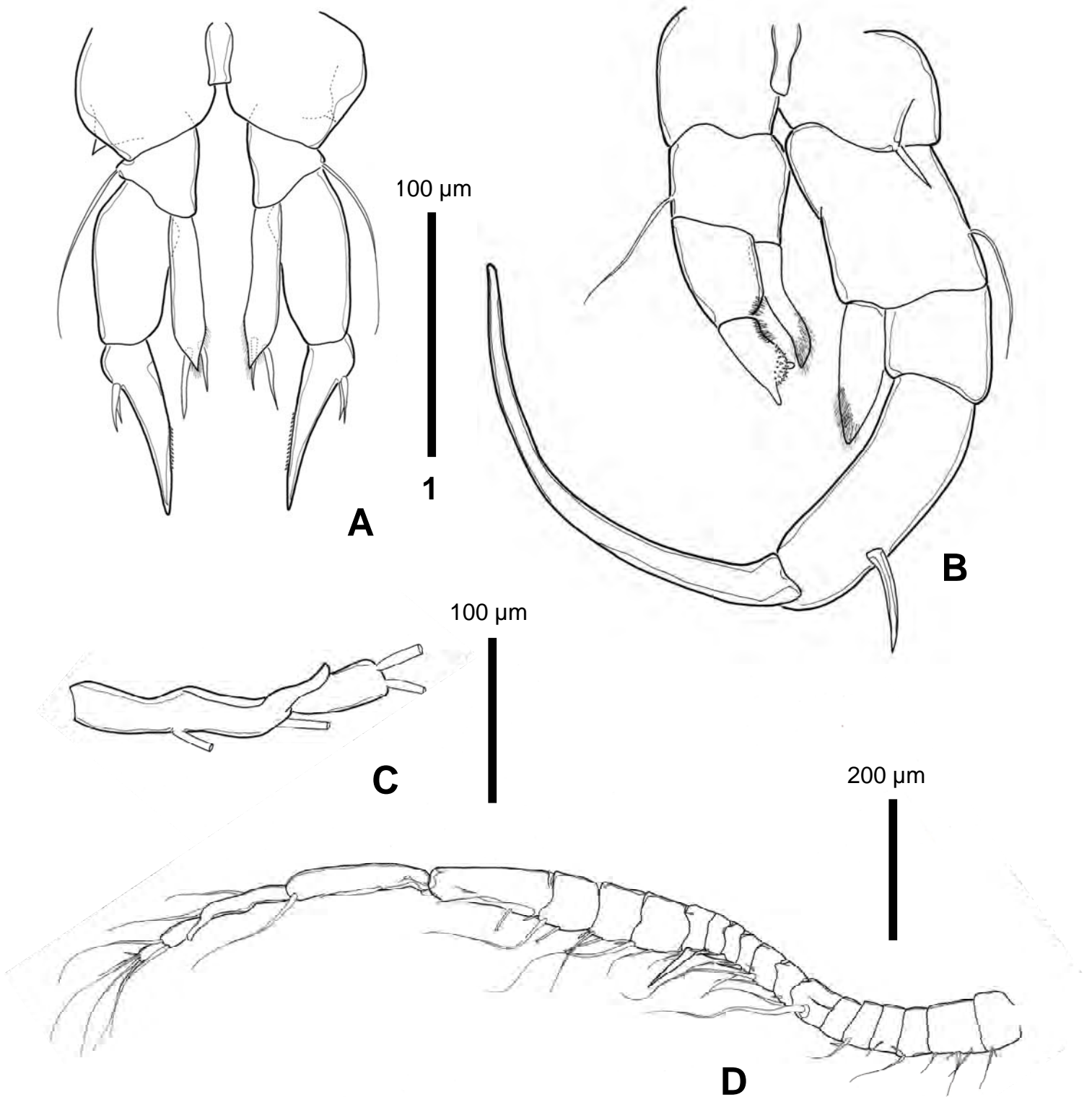


Fig. 11. *Leptodiptomus novamexicanus* proveniente de Castle: **A.** Pata 5, hembra. **B.** Pata 5, macho. **C.** Anténula derecha, detalle del proceso en forma de gancho del antepenúltimo segmento, macho. **D.** Anténula derecha, macho. Barra 1: Figs A-B.

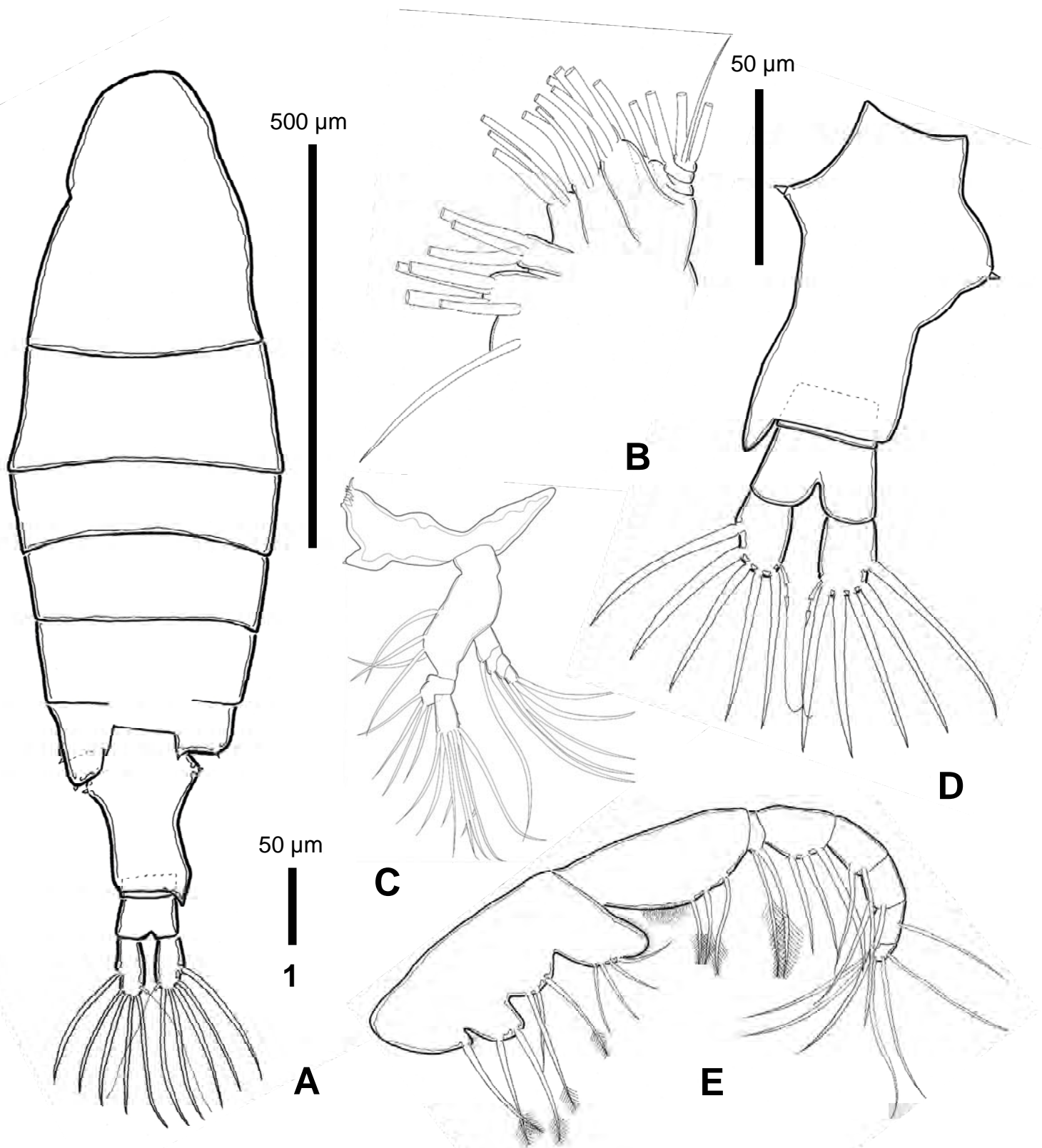


Fig. 12. *Leptodiptomus novamexicanus* proveniente de Ixtlahuaca, hembra: **A.** Cuerpo, vista dorsal. **B.** Maxila. **C.** Mandíbula. **D.** Urosoma, vista ventral. **E.** Maxilípido. Barra 1: Figs C y E.

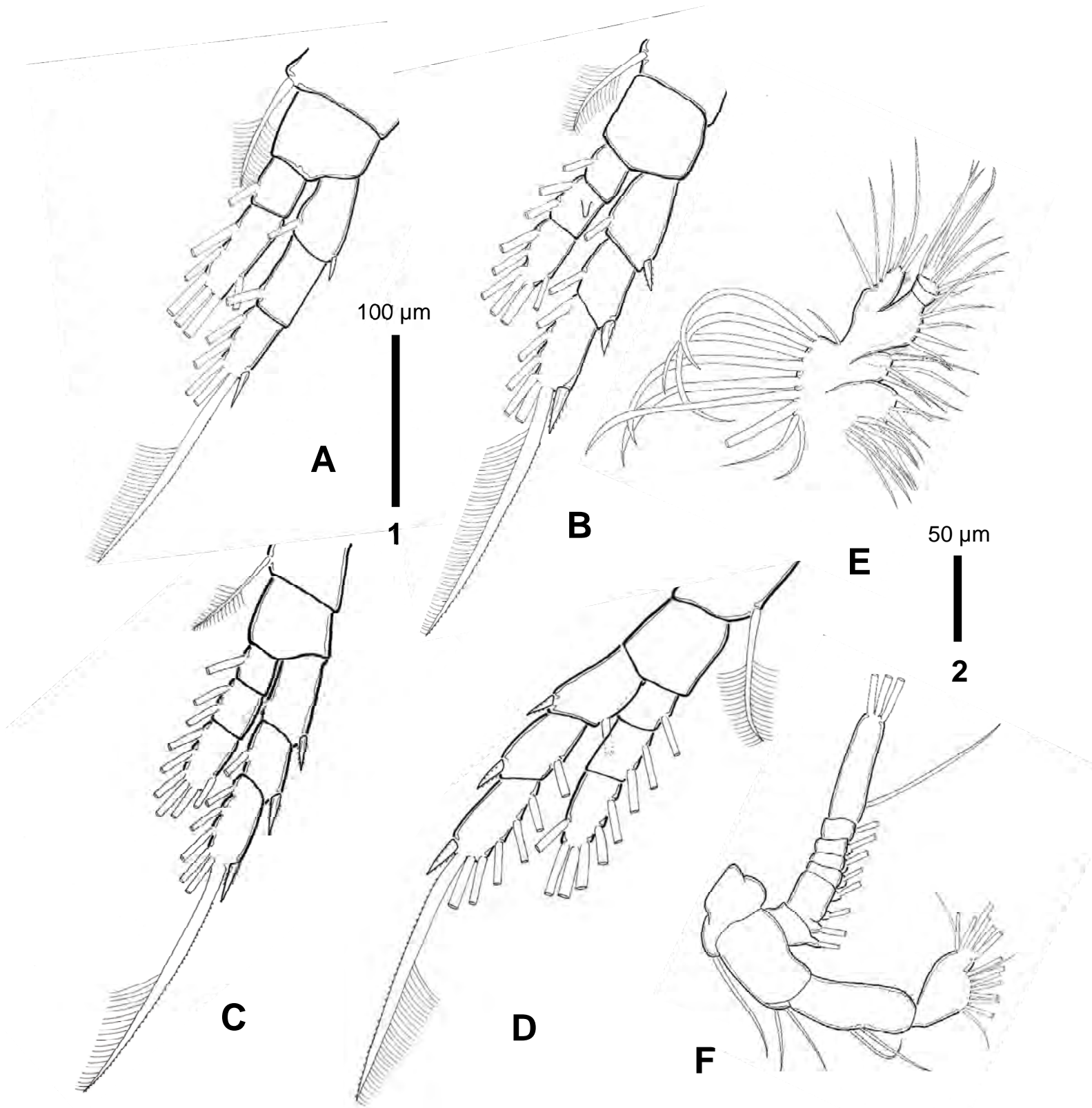


Fig. 13. *Leptodiptomus novamexicanus* proveniente de Ixtlahuaca, hembra: **A.** Pata 1 izquierda. **B.** Pata 2 izquierda. **C.** Pata 3 izquierda. **D.** Pata 4 derecha. **E.** Maxilula. **F.** Antena. Barra 1: Figs A-D. Barra 2: Figs E-F.

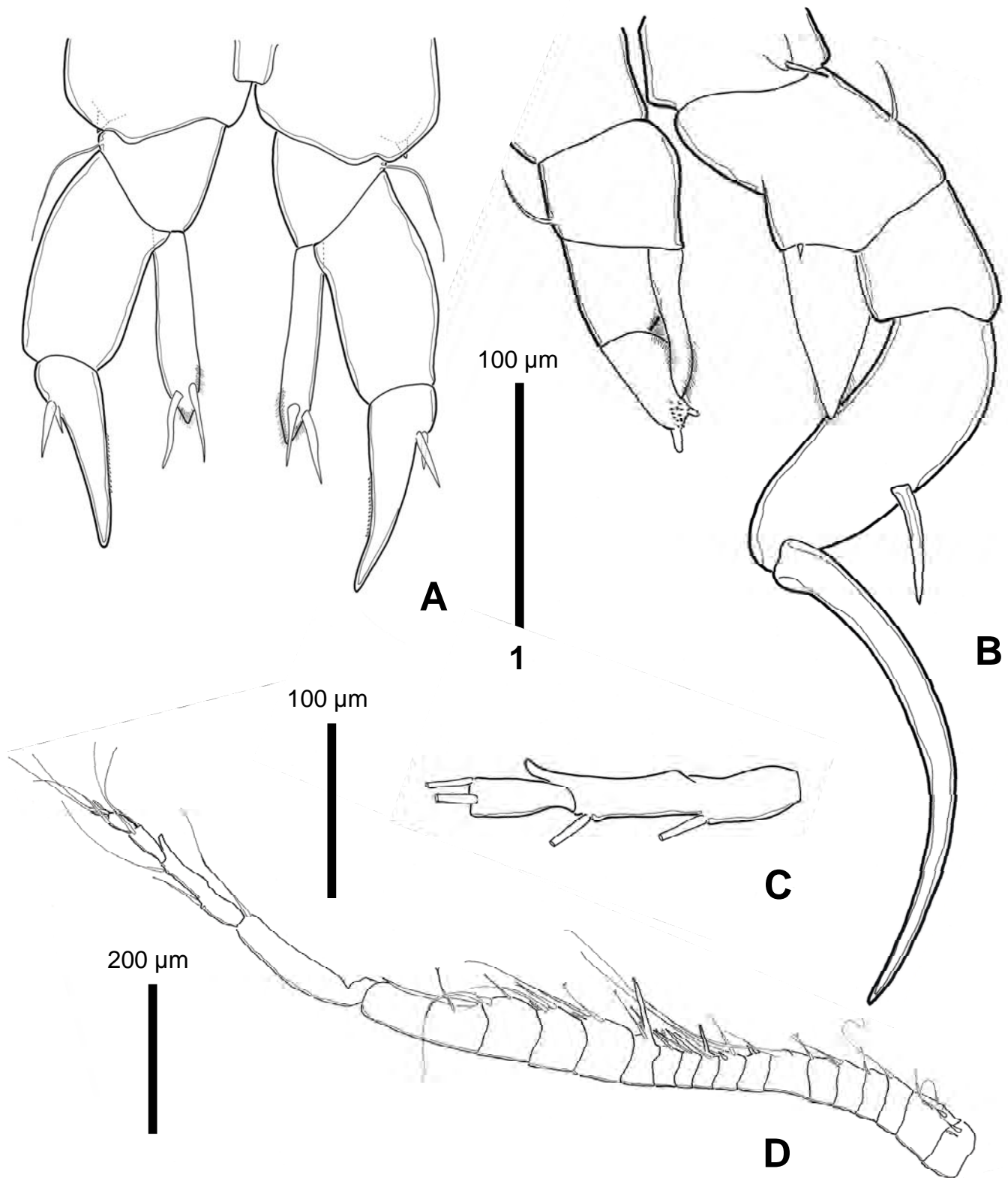


Fig. 14. *Leptodiptomus novamexicanus* proveniente de Ixtlahuaca: **A.** Pata 5, hembra. **B.** Pata 5, macho. **C.** Anténula derecha, detalle del proceso en forma de gancho del antepenúltimo segmento, macho. **D.** Anténula derecha, macho. Barra 1: Figs A-B.

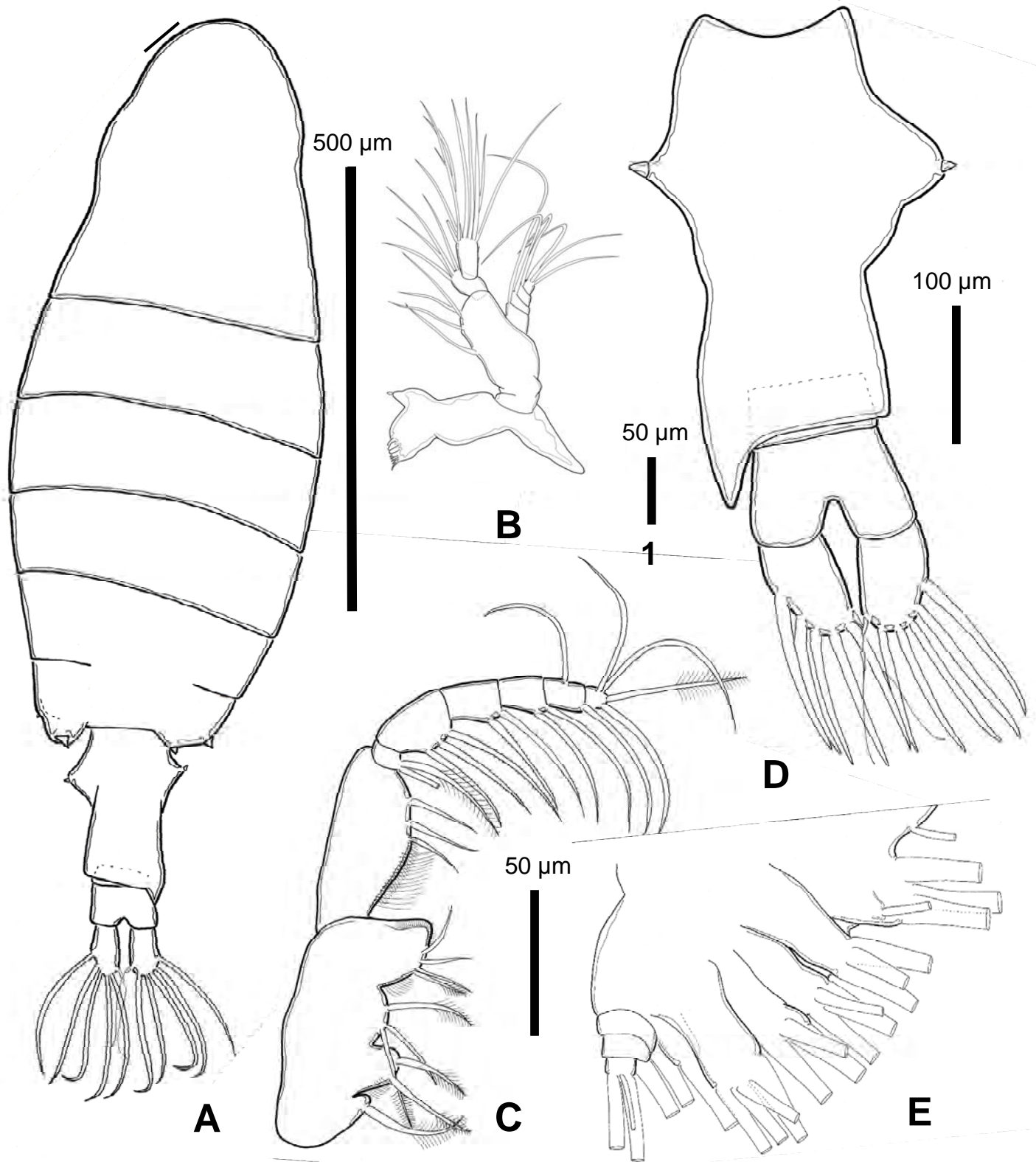


Fig. 15. *Leptodiptomus novamexicanus* proveniente del Sol, hembra: **A.** Cuerpo, vista dorsal. **B.** Mandíbula. **C.** Maxilípodo. **D.** Urosoma, vista ventral. **E.** Maxila. Barra 1: Figs B-C.

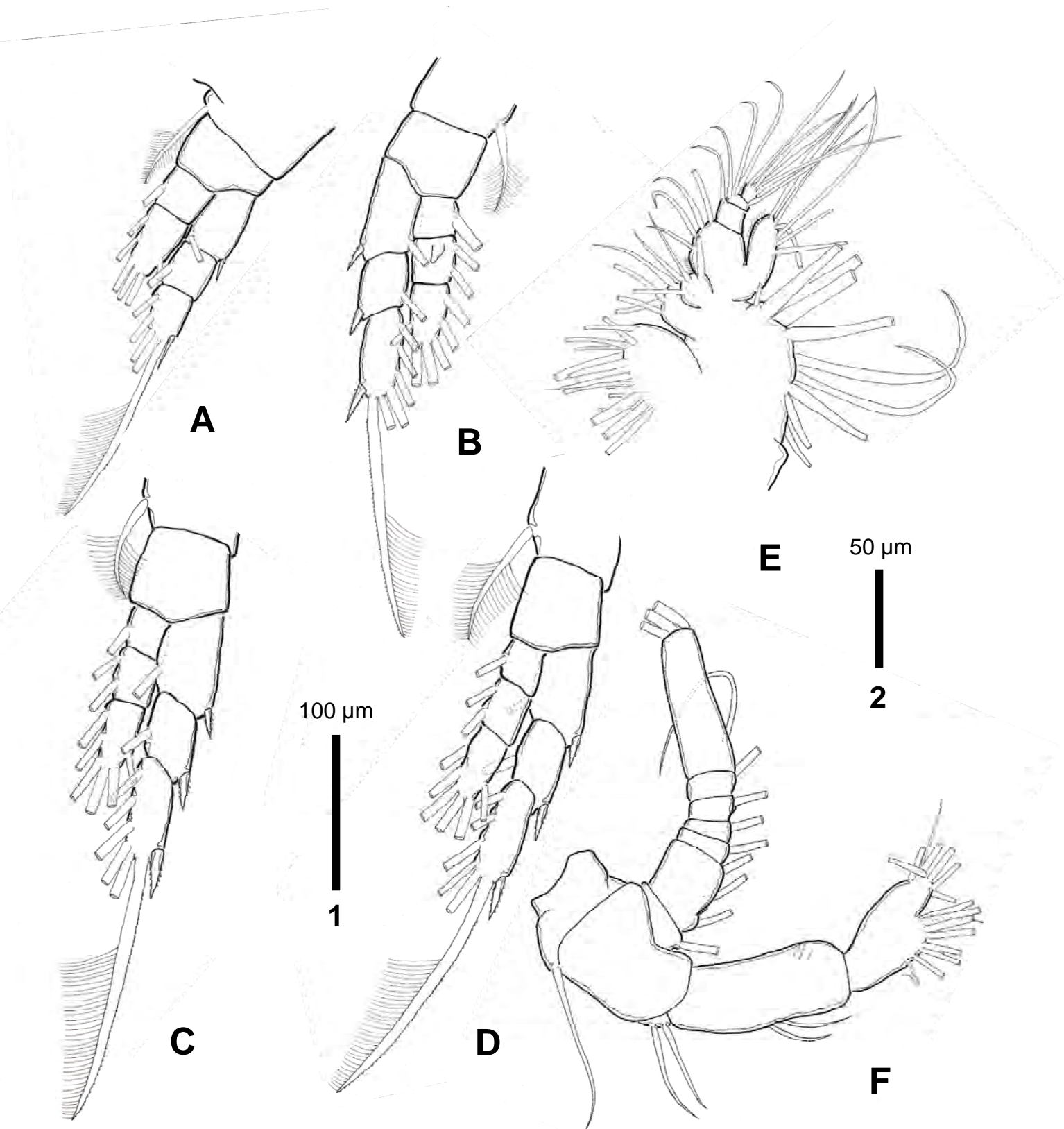


Fig. 16. *Leptodiptomus novamexicanus* proveniente del Sol, hembra: **A.** Pata 1 izquierda. **B.** Pata 2 derecha. **C.** Pata 3 izquierda. **D.** Pata 4 izquierda. **E.** Maxilula. **F.** Antena. Barra 1: Figs A-D. Barra 2: Figs E-F.

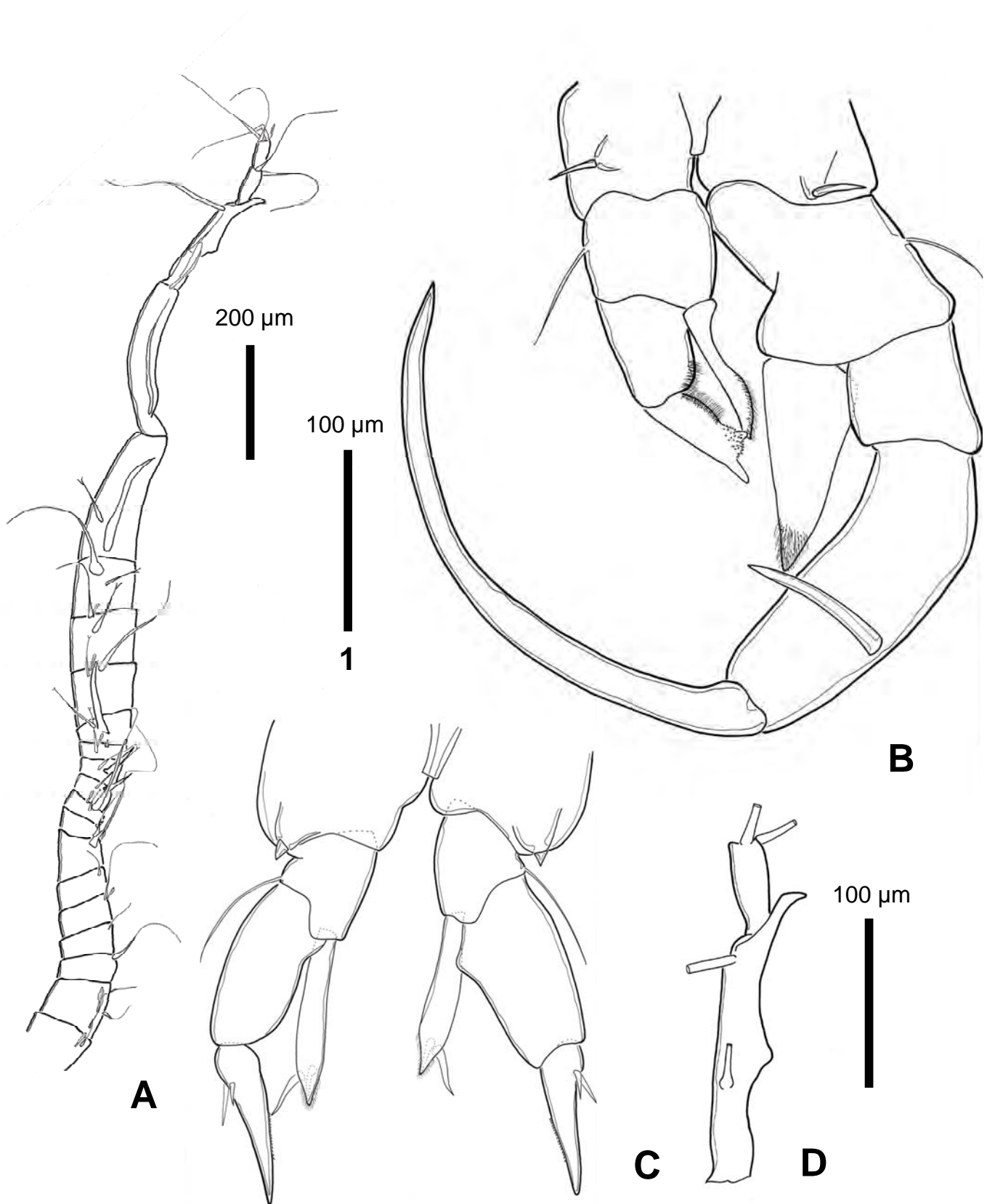


Fig. 17. *Leptodiptomus novamexicanus* proveniente del Sol: **A.** Anténula derecha, macho. **B.** Pata 5, macho. **C.** Pata 5, hembra. **D.** Anténula derecha, detalle del proceso en forma de gancho del antepenúltimo segmento, macho.. Barra 1: Figs B-C.

Tabla 4. Fórmula espinal para las patas torácicas 1-4 de las cuatro poblaciones del grupo *L. novamexicanus* analizadas.

	Coxa	Basis	Endópodo	Exópodo
Pata				
1	0 - 1	0 - 0	I - 1; 0 - 1; 1 - 3, 2	0 - 1; 0 - 3, 2, 1
2 - 4	0 - 1	0 - 0	I - 1; I - 1; I - 3, 3	0 - 1; 0 - 2; 0 - 2, 3, 1