



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA
DE MÉXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
IZTACALA**

**Análisis del tamaño del genoma de
copéodos calanoides en lagos vecinos
en la Cuenca Oriental Puebla**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
BIÓLOGO**

P R E S E N T A

José Miguel Carreto Romero

DIRECTORA DE TESIS

Dra. Elizabeth Ortega Mayagoitia



Los Reyes Iztacala, Tlalnepantla de Baz, Estado de México, 2019



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.

Agradecimientos

A la Universidad Nacional Autónoma de México y a la Facultad de Estudios Superiores Iztacala por la oportunidad única que me brindaron y que gracias a ella pude adquirir innumerables conocimientos y una magnífica formación académica

Al proyecto PAPIIT IN222916 (DGAPA-UNAM) y al proyecto del CONACYT CB-255788, por todos los apoyos económicos brindados durante esta etapa.

A la Dra. Elizabeth Ortega Mayagoitia, por haber aceptado ser mi tutora, tenerme la paciencia y dedicación necesaria desde que empecé a trabajar con usted en los trabajos de LICyT, por todo el tiempo que invirtió resolviendo mis dudas, por todos los consejos y enseñanzas, ha sido un modelo para seguir y le tengo mucha admiración.

Al Dr. Jorge Ciro Pérez, sus clases despertaron mi interés hacia la ecología evolutiva y aprendí a analizar los problemas desde un enfoque más completo, por toda la confianza y apoyo brindados en esta etapa.

A los miembros del comité tutorial, Dr. Juan Alberto Ponciano Gómez, Dr. José Arturo Alcántara Rodríguez y M. en C. Santiago Cristóbal Sigríst Flores, por todo el apoyo brindado, los consejos, las observaciones y por compartir su conocimiento y hacer crecer este trabajo.

A todos mis compañeros del laboratorio que fueron y vinieron durante mi estancia y elaboración de esta tesis. En especial a mis amigos, Rosa por toda la ayuda y observaciones respecto a mis cultivos y mantenimiento de éstos, a Javi por todo el apoyo que me brindaste en cuestiones genéticas y moleculares y Ana por todos esos consejos y en especial regaños que fueron haciéndome más meticuloso y consciente, ustedes fueron un ejemplo a seguir y me ayudaron a crecer y a solventar mis errores.

A mis amigos de la carrera, siempre fueron personas en las que encontré apoyo y confianza, estuvieron en los momentos difíciles y en los divertidos, formaron parte de una etapa importante en mi desarrollo y siempre añoraré los momentos compartidos.

Con la ayuda de todos ustedes, desde profesores a compañeros y amigos, pude tener la fortaleza para culminar esta etapa, para encontrar el camino que muchas veces se enredaba y para poder mantenerme firme ante cualquier circunstancia.

¡Gracias!

Dedicatorias

A mi Abuelito Polo, siempre me has brindado apoyo desde pequeño, has sido una parte muy importante en mi vida y has estado pendiente de mi en cada etapa de mi desarrollo, me has acompañado en los momentos académicos importantes y siempre depositas tu confianza en mí.

A mis padres, que siempre han velado por mi bienestar, por ustedes he podido crecer y tener la formación académica que me ha ayudado a culminar este logro.

A mi familia, mis abuelitos, tíos y tías que me han brindado ayuda y siempre me han procurado en las distintas etapas de mi vida, siempre he sentido su apoyo y cariño.

A ti Diana por todos los años que has estado a mi lado, el amor que me has dado y toda la dedicación, esfuerzo y ayuda que me has brindado desde que nos conocimos. Eres el amor de mi vida y siempre te tengo presente en mi día a día. Te amo con toda mi alma.

A mi abuelita y a mi tío César, siempre los llevaré en mi corazón y pensamientos.

“Every man takes the limits of his own field of vision for the limits of the world.”

Arthur Schopenhauer

Índice

Resumen.....	6
Introducción.....	7
Objetivo general	13
Métodos.....	14
Descripción del área de estudio.....	14
Obtención de organismos.....	15
Estimación del tamaño del genoma por citometría de flujo.....	16
Aislamiento de las células.....	16
Lectura de muestras.....	16
Relación entre la talla y salinidad con el genoma.....	17
Evolución del tamaño del genoma en Copepoda.....	17
Base de datos	17
Reconstrucción filogenética.....	18
Señal filogenética y estado ancestral del genoma.....	18
Resultados.....	19
Poblaciones de Cuenca Oriental.....	19
Evolución del tamaño de genoma en Copepoda	22
Discusión.....	28
Tamaño de genoma de las poblaciones de la Cuenca Oriental.....	28
Tamaño del genoma y salinidad.....	29
Tamaño de genoma y talla.....	30
Señal filogenética del tamaño del genoma.....	31
Evolución del tamaño del genoma.....	31
Conclusiones.....	34
Literatura citada.....	35
Anexos.....	42

RESUMEN

La Subclase Copepoda presenta una de las variaciones de tamaño del genoma más grandes entre los crustáceos, lo que se ha tratado de explicar por la diversidad de ambientes ocupados y las características morfológicas de los organismos. La finalidad de este trabajo fue dilucidar si el tamaño del genoma de 7 linajes de la familia Diaptomidae que habitan lagos ecológicamente contrastantes (Cuenca Oriental, México), está relacionado con características morfológicas (talla), ambientales (salinidad) o filogenéticas. Se analizaron: *Leptodiaptomus garciai*, cuatro poblaciones de *L.* grupo *sicilis* que están en distintas fases de especiación y dos poblaciones de *Mastigodiaptomus* grupo *albuquerquensis*. El tamaño del genoma se estimó mediante citometría de flujo. Para el análisis de las tendencias filogenéticas del tamaño del genoma en Copepoda, se descargaron los valores de todas las especies disponibles de Calanoida y Cyclopoida (n = 56) de la base de datos Animal Genome Size (www.genomesize.com). Los datos se analizaron con métodos filogenéticos comparativos. Los valores del tamaño de genoma medidos en los *Leptodiaptomus* de la CO (0.25 y 0.41 pg) son mucho menores a los reportados en la literatura en otras especies del mismo género (1.77- 3.81 pg), mientras que de *Mastigodiaptomus* (0.35 a 0.44 pg) no se encontraron datos publicados, por lo que este sería el primer reporte. Se resalta el tamaño del genoma de la población de *Leptodiaptomus* de La Preciosa (0.25 pg) ya que es el genoma más pequeño reportado hasta la fecha para copépodos calanoides. La variación entre las cuatro poblaciones de *L.* grupo *sicilis* es estadísticamente significativa, lo cual se corresponde con la alta divergencia genómica (SNPs) que se ha detectado entre ellas. En las poblaciones de la Cuenca Oriental no se encontró relación entre el tamaño del genoma y la talla de los organismos, ni con la divergencia ecológica (salinidad); tampoco se detectó señal filogenética. En contraste, en el conjunto de datos de Calanoida + Cyclopoida sí se detectó una fuerte señal filogenética en el tamaño del genoma, observándose que a partir de su ancestro común, estos dos grupos siguieron tendencias opuestas, con genomas más grandes en Calanoida y más pequeños en Cyclopoida. Se observó también un patrón muy dinámico dentro de cada familia de Calanoida, lo que produce diferencias de hasta dos órdenes de magnitud en el tamaño del genoma dentro de este grupo. La dinámica y evolución del genoma dentro de la subclase Copepoda presenta aún distintas incógnitas, pero la información disponible sobre esta variable es escasa y está sesgada a ciertas familias y regiones geográficas, por lo que es necesario incrementar el esfuerzo de muestreo para tener una mejor comprensión de los patrones y procesos que modelan la evolución de estos organismos.

Palabras clave: Valor C, genoma, copépodos, citometría de flujo

INTRODUCCIÓN

El término genoma puede usarse para referirse, tanto al juego completo de genes, como a la cantidad total de ADN por juego de cromosoma haploide (Gregory, 2011) y hasta antes del descubrimiento del papel del epigenoma, se había considerado que en él se encontraban todas las instrucciones necesarias para la construcción y funcionamiento de un individuo (Carey, 2011). Esta información genética se guarda en la molécula del ADN, aunque también existen algunos genomas conformados por ARN (Holland *et al.*, 1982). En los organismos eucariotas el genoma se puede dividir en dos partes, el genoma nuclear y el genoma mitocondrial (Brown *et al.*, 2008).

Dependiendo del grupo de organismos, existen algunas diferencias entre genomas, como por ejemplo, el empaquetamiento en cromosomas lineales en lugar de circulares; la división entre porciones codificantes (exones) y no codificantes (intrones) y la presencia de altas cantidades de ADN repetitivo. Sin embargo, en eucariontes, uno de los factores clave que diferencia a los genomas es su tamaño (Eliot y Gregory, 2015).

El tamaño de genoma es una característica de los organismos que se estudió por primera vez alrededor de los años 40-50 del siglo XX. En estas primeras investigaciones se llegó a la conclusión de que al menos algunas especies contenían la misma cantidad de ADN por célula en tejidos somáticos y esta medida solo variaba en sus células germinales (Boivin *et al.*, 1948, Mirsky y Ris, 1951). En 1950, Swift realizó estudios meticulosos en un grupo más extenso de organismos (tejidos de ratón, rana y grillo) y así comprobó la hipótesis de la consistencia en tamaño genómico en células somáticas y germinales. Fue él quien nombró a esta medida del tamaño genómico como valor clase 1 (diploide) y valor clase 1 C (haploide). De aquí en adelante se usó el término valor C para referirse a la cantidad de ADN por genoma haploide (Gregory, 2005).

Posteriormente, a medida que aparecían más trabajos en donde se reportaba el tamaño del genoma de diferentes organismos, los investigadores se empezaron a dar cuenta de que esta medida era altamente variable de especie a especie y que además se sobreponía entre grupos distanciados filogenéticamente (Figura 1). Debido a lo anterior, algunos autores llegaron a la conclusión de que este valor no podía atribuirse a una característica concreta de los organismos.

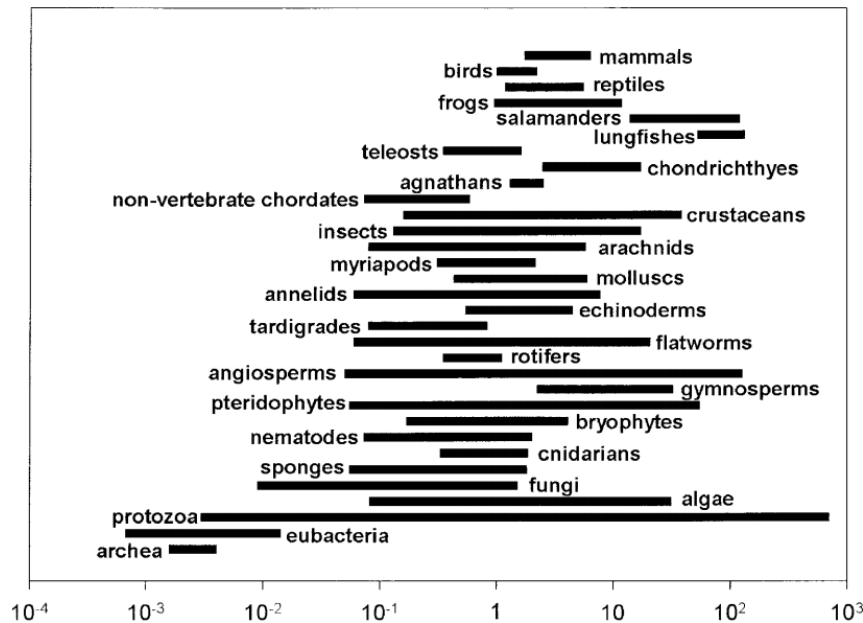


Figura 1. Tamaño del genoma (en pg) de diversos grupos de organismos (Gregory, 2004).

En ese tiempo (1950-1960) se pensaba que si los genes estaban compuestos por ADN, el tamaño del genoma de un organismo tendría que representar la totalidad de genes de la especie. No obstante, esta suposición se volvía paradójica al tratar de explicar la variación entre grupos filogenéticamente separados, ya que algunos taxones de organismos “simples” (p.ej. protozoos) contenían un tamaño de genoma mucho más grande que organismos considerados “complejos” (p. ej. mamíferos) (Eddy, 2012, Gregory, 2005). En 1971 Thomas aborda esta cuestión nombrándola “la paradoja del valor C”, y al tomar en cuenta que el ADN no corresponde a la totalidad de genes contenidos en un organismo, propone que la variabilidad del genoma podría atribuirse a poliploidismo o a características específicas del cariotipo de las especies.

En algunos casos, la complejidad del organismo es relevante al momento de explicar la variación existente entre el genoma de eucariontes y procariontes, por ejemplo, en el humano la cantidad de ADN asociada a 30 genes puede rebasar el tamaño del genoma promedio de algunos grupos procariontes. Sin embargo, el problema que planteaba la paradoja se resolvió en los años siguientes al darse cuenta de que la mayor parte del genoma en eucariontes no es codificante de proteínas. En cambio, la variación del genoma entre especies se genera debido a un conjunto de factores que no alteraban el fenotipo de las especies, por lo tanto, no

sometidos a selección natural, como por ejemplo el contenido de espaciadores intragénicos y la proliferación de elementos móviles (transposones) (Lynch y Conery, 2003).

Por otra parte, con el paso del tiempo se dejó de pensar en el genoma como una estructura estática, la cual era casi idéntica entre organismos filogenéticamente cercanos, y pasó a ser entendida como una estructura dinámica que puede variar dentro y entre especies (Parfrey *et al.*, 2008). Sin embargo, aún quedan diversas preguntas por responder, por ejemplo, ¿Qué tipo de secuencias no codificantes prevalecen en los genomas? ¿Por qué algunas especies mantienen genomas pequeños y otras tienden a incrementarlo? ¿Existe algún patrón en la variación del genoma? ¿La parte no codificante tendrá algún efecto en el fenotipo de las especies?, y de ser así, ¿Qué papel juega esta variación en la evolución de las especies? Es por esto que la diferencia del contenido de ADN en las especies pasó de ser una paradoja a un enigma.

Actualmente se discuten dos hipótesis para explicar la variación en general de la parte no codificante (de proteínas) del genoma. Una de ellas es la adaptativa, la cual considera que esta variación es ocasionada de manera secundaria por características fenotípicas de las especies (Cavalier-Smith, 1978), y la otra es la teoría del ADN “basura” o parásito, que explica que esta variación no está asociada a ningún rasgo fenotípico o carácter sujeto a selección y que simplemente se encuentra asociada a la filogenia (Orgel y Crick, 1980). Estas dos hipótesis han sido probadas y aceptadas para ciertos grupos de especies, pero si se quiere dar una explicación más completa a las tendencias evolutivas del tamaño del genoma, se necesita analizar diversos grupos de organismos para estimar la intensidad de las fuerzas evolutivas (selección natural, deriva génica, migración y mutación) y así poner en orden de importancia los factores causantes de dicha variación genómica (Petrov, 2001).

Algunos patrones en la evolución del genoma han sido vislumbrados bajo la hipótesis adaptativa, como por ejemplo, que el genoma puede influir, en algunas especies, en el tamaño y la división celular, teniendo efectos en cascada hacia parámetros directamente relacionados con la ecología y evolución del organismo como la talla, el metabolismo y la velocidad de desarrollo. Por ejemplo, en al menos 15 especies de peces se ha encontrado una correlación positiva entre el tamaño del genoma y la duración de su ciclo reproductivo; en salamandras un contenido elevado de ADN incrementa el tamaño celular, disminuyendo su tiempo de desarrollo; en las aves se piensa que un tamaño de genoma pequeño podría haber sido un prerrequisito para el vuelo; en poliquetos, se propone que un tamaño pequeño de genoma da una ventaja a organismos en ambientes adversos (Gregory, 2007); en crustáceos, de manera

general, el tamaño del genoma se encuentra correlacionado de manera positiva con la latitud al igual que con la talla (Hultgren, 2018).

En el caso de crustáceos, se ha investigado el tamaño del genoma en diversos órdenes (Decapoda, Cladocera, Amphipoda, Calanoida y Cyclopoida) y se ha reportado un intervalo de variación que va desde los 0.19 pg (Amphipoda) hasta los 64 pg (Cladocera) (Gregory, 2019). Hasta el momento, los datos parecen indicar una restricción filogenética a lo largo de estos órdenes, lo cual se encuentra ligado a múltiples relaciones entre el tamaño del genoma y caracteres fisiológicos y ecológicos (Hessen y Persson, 2009).

El grupo de los copépodos ha sido uno de los más estudiados desde hace ya algunos años. Hasta el momento, se ha publicado el tamaño de genoma de especies pertenecientes a cuatro órdenes de copépodos (Calanoida, Cyclopoida, Harpacticoida y Siphonostomatoida), con un sesgo importante hacia Calanoida y Cyclopoida (Gregory, 2005) (Figura 2). En general, los copépodos del orden Cyclopoida exhiben un tamaño de genoma menor en comparación al orden Calanoida. Wyngaard *et al.* (2005) encontraron que el valor C en copépodos ciclopoideos se puede relacionar, de manera positiva, con el tiempo de desarrollo de los organismos. Esto llevó a concluir que el valor C probablemente pudiera ejercer alguna ventaja ecológica en ambientes con una competencia alta. No obstante, el mecanismo más documentado en copépodos ciclopoideos, y por el cual se explica el tamaño de genoma en estos organismos, es la de disminución de cromatina (Cavalier-Smith, 1978). Este mecanismo genera una pérdida del tamaño de genoma y al mismo tiempo una pérdida en la cantidad de tejido somático durante la embriogénesis (Beerman, 1977).

Dentro de Calanoida, se ha documentado una correlación positiva entre el tamaño del genoma y la talla. Dicha relación se explica mediante un mecanismo conocido como control nucleotípico (McLaren *et al.*, 1988, McLaren *et al.*, 1989), relacionado con el hecho de que algunas especies dentro de este orden cuentan con un número celular predeterminado a lo largo de su desarrollo (eutelia) (McLaren y Marcogliese, 1983). Debido a esto el crecimiento de los organismos, y el consecuente aumento de su talla y el genoma, ocurre solamente por un aumento del tamaño celular. Sin embargo, hasta el momento ningún otro autor ha confirmado de manera independiente la existencia de la eutelia en copépodos calanoides. Gregory (2000) también encontró una relación entre talla y genoma en copépodos calanoides de aguas continentales, sin embargo, no da una explicación diferente a la del control nucleotípico (McLaren *et al.*, 1989).

Escribano *et al.* (1992) llevaron a cabo una serie de experimentos para conocer si la relación entre la talla y el tamaño del genoma de copépodos calanoides marinos podría relacionarse con factores ambientales. Al someter a copépodos *Pseudocalanus* a diferentes combinaciones de temperatura y disponibilidad de alimento, se observó que existe crecimiento o reducción en el tamaño del genoma de los organismos. En su investigación se concluye que el tamaño del genoma puede modificarse a lo largo de su desarrollo y que esta modificación se encuentra sujeta a variables ambientales.

Leinaas *et al.* en 2016, también investigaron los efectos de la temperatura en poblaciones de copépodos calanoides del Ártico, encontrando variación inter e intraespecífica del tamaño del genoma. La variación interespecífica la encontró en los copépodos *Calanus* y *Parauchaeta* que pertenecían a poblaciones de localidades diferentes. Estos autores encontraron una correlación positiva entre el tamaño del genoma y la talla de los copépodos, lo cual podría estar reflejando plasticidad fenotípica debido a los efectos de la temperatura sobre la talla de los organismos. Además, comentan que la depredación visual también podría ser un factor importante, ya que afectaría negativamente a los copépodos con tallas grandes y a su vez reduciría el valor del tamaño del genoma.

La relación talla-genoma en copépodos pareciera ser exclusiva del orden Calanoida, y que no ha sido observada en los ciclopoideos (Wyngaard, 2005).. Wyngaard y Rasch (2000) mencionan que el hecho de que el orden Calanoida sea el linaje más antiguo dentro de los copépodos podría explicar los valores tan elevados en su genoma y que posiblemente se hayan dado eventos de reducción genómica a lo largo de la evolución del clado (Calanoida).

En la Cuenca Oriental, en el estado de Puebla, se encuentra una serie de lagos caracterizados por ser de origen reciente desde un punto de vista geológico. Las poblaciones de calanoides diatómidos de esta región han estado sujetas a diversos estudios genéticos, morfológicos, ecofisiológicos y reproductivos (Barrera Moreno *et al.*, 2015; Barrera-Sánchez, 2017; Jiménez-Cruz, 2018, Montiel-Martínez *et al.*, 2008). En la región se encuentra el copépodo *Mastigodiptomus* grupo *albuquerqueensis*, del cual se conoce su fenología en el lago El Carmen (salinidad variable de 1.4 a 10 gL⁻¹), aunque también habita el lago Tecuitlapa (Jiménez-Cruz, 2018). En el lago Alchichica (8.9 gL⁻¹) habita *Leptodiptomus garciai*, especie microendémica de ese cuerpo de agua. En los lagos El Carmen, Atexcac (6.5 g L⁻¹), Quechulac (0.48 g L⁻¹) y La Preciosa (1.1 g L⁻¹), se encuentran poblaciones de *Leptodiptomus* del grupo *sicilis*. Aunque los organismos de estas poblaciones son similares morfológicamente, presentan variación en la talla y a pesar de que la divergencia en el gen mitocondrial COI entre ellas es

baja (< 0.5%), dicho marcador indica que existe un patrón de diversificación alopátrica y que el flujo génico es poco probable. Estas poblaciones se pueden diferenciar entre ellas debido a su adaptación local a la salinidad, y hay evidencia de procesos de especiación en distintas fases (Barrera-Moreno *et al.*, 2015). Una de las condiciones que se cree ha jugado un papel importante en la diversificación de los organismos, es la salinidad, la cual es contrastante entre lagos. Además, existen otros ejes de diferenciación ecológica entre los distintos lagos, ya que uno de ellos, El Carmen, es somero, turbio y temporal, mientras que La Preciosa, Atexcac y Quechulac son permanentes, profundos y transparentes. De manera complementaria, Barrera-Sánchez realizó estudios de cruzamiento interpoblacionales entre los copépodos *Leptodiptomus* de los lagos Atexcac y La Preciosa. En dichos estudios se observa que existe reconocimiento sexual y descendencia fértil entre estas dos poblaciones. Sin embargo, la viabilidad de la F2 es baja o nula, por lo que se podría considerar que estas poblaciones se encuentran en un proceso de especiación ecológica más avanzado. Dado que se ha observado que el genoma puede evolucionar rápidamente durante la especiación de complejos de invertebrados acuáticos (Stelzer *et al.*, 2011), este sistema biológico representa una oportunidad valiosa para dilucidar si las distintas presiones de selección a las que están sometidos estos organismos se relacionan con la evolución de esta variable.

Conocer el tamaño del genoma de estos organismos sentará las bases para llevar a cabo procedimientos más complejos como el armado del genoma o del transcriptoma de estos organismos, que en conjunto nos ayudarán a comprender los procesos adaptativos que operan en estos organismos (Wyngaard, 2000; Hare, 2011).

OBJETIVOS

Objetivo general

- Dilucidar si el tamaño del genoma de 7 poblaciones de copépodos de la familia Diaptomidae puede explicarse por la talla de los organismos, su ambiente o por su historia evolutiva.

Objetivos particulares

1. Conocer el tamaño del genoma de las 7 poblaciones de Cuenca Oriental.
2. Conocer si existe una relación estadística del tamaño del genoma con la talla de los organismos y de la salinidad ambiental.
3. Analizar la evolución del tamaño del genoma a nivel local (poblaciones de Cuenca Oriental) y a nivel global (órdenes Calanoida y Cyclopoida).

MÉTODOS

Descripción del área de estudio

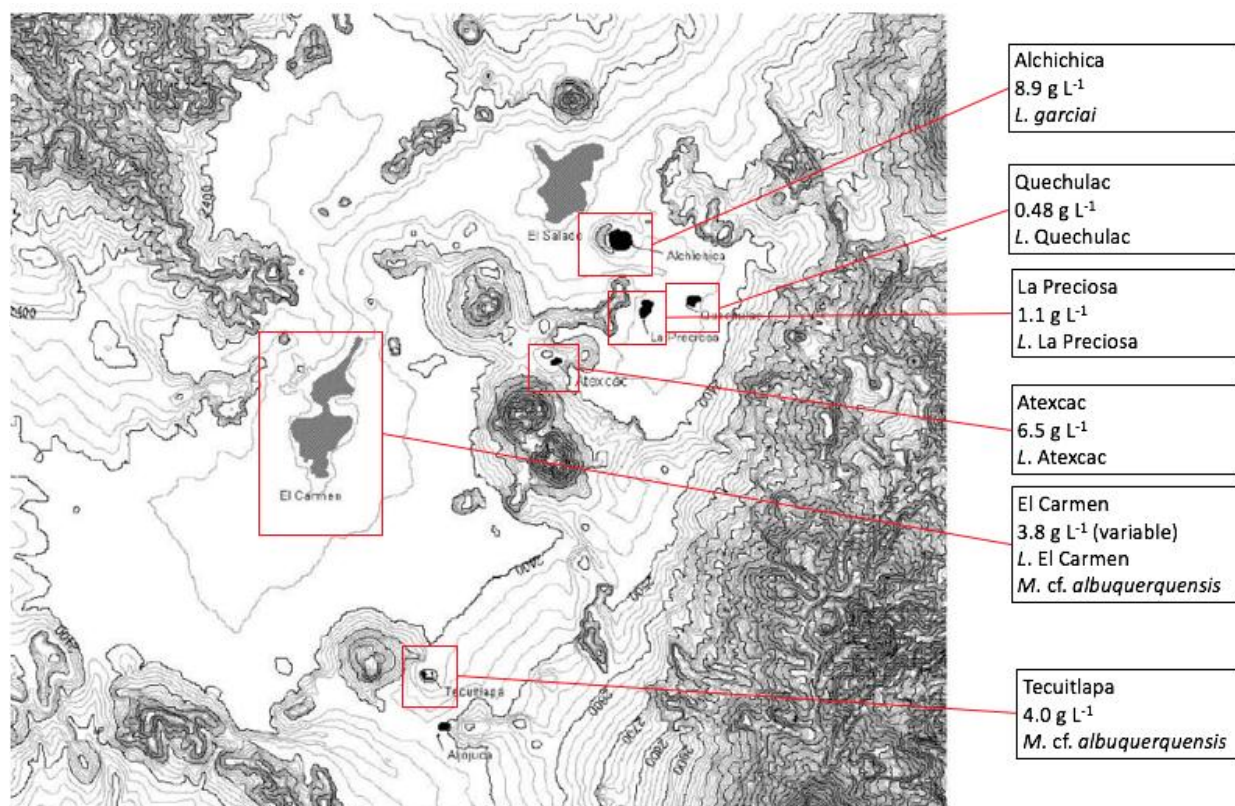


Figura 2. Mapa de la Cuenca Oriental en donde se destaca la ubicación de los lagos correspondientes a las poblaciones de copépodos estudiadas y la salinidad de colecta.

La Cuenca Oriental de Puebla se encuentra ubicada en la parte oriente del Eje Neovolcánico, es una cuenca endorreica delimitada por las coordenadas 18° 48' a 19° 43' de latitud y 97° 09' a 97° 03' de longitud, abarcando una superficie aproximada de 5250 km² y los estados de Puebla, Tlaxcala y Veracruz (Can *et al.*, 2011). La fisiografía volcánica dentro de la cuenca se produjo desde principios del Cenozoico hasta el Cuaternario, conformándose como Malpaís (Figuroa *et al.*, 1983). Dentro de ella se encuentra una serie de lagos de origen volcánico tipo maars: Alchichica, Quechulac, La Preciosa, San Luis Atexcac, Aljojuca y San Miguel

Tecuitlapa; y dos lagos intermitentes: El Carmen (Totolcingo) y El Salado (Tepeyahualco). Algunas características de los lagos pueden observarse en la Tabla 1.

Obtención de organismos

Se obtuvieron individuos de las siguientes poblaciones: *Leptodiptomus* grupo *sicilis* de El Carmen, Quechulac, Atexcac y La Preciosa, *Leptodiptomus garciai* de Alchichica y *Mastigodiptomus* grupo *albuquerqueensis* de El Carmen y Tecuitlapa. Para la colecta se utilizó una red de arrastre con una malla de 100 µm. Las colectas se llevaron a cabo entre el 15 y 16 de mayo y 16 de agosto del 2017. Los organismos se mantuvieron en cultivo en matraces Erlenmeyer de 1 L a la salinidad en la que fueron colectados. Las características de los lagos se presentan en la Tabla 1. Debido a que el estatus taxonómico de las poblaciones de *Leptodiptomus* grupo *sicilis* aún no se define, en lo que resta del trabajo se nombrarán de acuerdo al lago en el que fueron colectadas.

Tabla 1. Cuadro comparativo de los lagos ubicados en la Cuenca Oriental.

Lago	Coordenadas	Permanencia	Profundidad	Salinidad	Especie
Alchichica	19°24'22"N 97°23'52"W	Permanente	64.0 m	8.9 g L ⁻¹	<i>L. garciai</i>
Atexcac	19°20' N, 97°27' W	Permanente	39.1 m	6.5 g L ⁻¹	<i>L. Atexcac</i>
El Carmen	19°09' N, 97°33'W	Temporal	<0.3 m	1.4 - 10 gL ⁻¹	<i>L. El Carmen</i> <i>M. grupo albuquerqueensis</i>
La Preciosa	19°22' N, 97°23' W	Permanente	45.5 m	1.1 g L ⁻¹	<i>L. La Preciosa</i>
Quechulac	19°21'23"N 97°21'14" W	Permanente	40.0 m	0.48 g L ⁻¹	<i>L. Quechulac</i>
Tecuitlapa	19°07'09"N 97°34'00"W	Permanente	2.5 m	4.0 g L ⁻¹	<i>M. grupo albuquerqueensis</i>

Estimación del tamaño del genoma por citometría de flujo

Aislamiento de las células

Los métodos más comúnmente utilizados para la medición del genoma son el análisis por densitometría de Feulgen y la citometría de flujo (Hare y Johnston, 2011); en este proyecto se usó el segundo método porque se disponía del equipo adecuado. Sin embargo, no se tenía un protocolo estandarizado para aislar células de copépodos, y la presencia de un exoesqueleto quitinoso dificulta el procedimiento. Se utilizó colagenasa debido a que es una enzima capaz de romper los enlaces peptídicos del colágeno, que es el principal componente del tejido conectivo. De cada población se prepararon tres réplicas, cada una de las cuales consistió en 100 individuos adultos, incluyendo machos y hembras. Los organismos vivos se maceraron y se les adicionaron 50 μL de colagenasa con 50 μL de PBS (buffer fosfato salino), manteniéndolos a 37° C en un termoblock. Posteriormente se filtró el contenido a través de una red de 30 μm para eliminar residuos orgánicos, tras lo cual el contenido se centrifugó a 2500 rpm por cinco minutos en una centrífuga refrigerada. Se decantó el sobrenadante y la pastilla se resuspendió con 200 μL de PBS y posteriormente se agregaron por goteo 800 μL de alcohol etílico absoluto.

Las muestras fueron almacenadas a -20°C. Previo a la lectura en el citómetro de flujo se realizó la tinción con DAPI (1 μg / 1 μL) durante 20 minutos.

Lectura de muestras

Para la lectura de las muestras se utilizó un citómetro de flujo marca Cytotflex Beckman Coulter, que tiene un láser ultravioleta (355 nm) para excitar y un detector con un filtro de paso de banda de 488/10 para medir la emisión de la fluorescencia. El procedimiento se hizo a voltaje constante y a una velocidad de máximo 50 eventos por segundo. Como estándar se utilizaron células aisladas de larvas de *Drosophila melanogaster* y *Gallus gallus domesticus*. Se utilizó el programa Flowjo para la estimación del tamaño del genoma.

Relación entre la talla y salinidad con el genoma

Para establecer si existe relación entre el tamaño del genoma con la salinidad del ambiente o con la talla de los organismos, se midió la longitud total del cuerpo excluyendo las furcas de un total de 40 individuos adultos de ambos sexos de cada población de estudio. La salinidad de los lagos fue obtenida a través de la bibliografía (Armienta *et al.*, 2008). Se hicieron dos tipos de correlación, una simple de Pearson y otra mediante contrastes filogenéticos independientes. Para el primer caso se utilizó el programa estadístico R (R Core Team, 2008), mediante el paquete *ggpubr* (Alboukadel, 2017), con el cual también se comprobó la normalidad de los datos. A los datos de talla, salinidad y Valor C se les realizó la prueba de normalidad Shapiro-Wilk, obteniendo un resultado positivo, lo que indica una distribución normal de los datos.

El análisis de contrastes filogenéticos independientes es un método comparativo que hace la correlación entre dos o más variables de interés, tomando en cuenta las relaciones filogenéticas que existen entre las especies consideradas (Felsenstein, 1985). Este análisis tiene como base la idea de que en un análisis estadístico, no se puede considerar a las especies como un conjunto de datos independientes, debido a las relaciones ancestro-descendiente de los organismos estudiados. Por ello, este análisis toma en cuenta las diferencias (contrastos) entre los pares de especies hermanas o de nodos encontrados en la filogenia (Garland *et al.*, 1992). Las relaciones filogenéticas entre las especies de la Cuenca Oriental se establecieron de acuerdo con Barrera-Moreno *et al.* (2015), Jiménez-Cruz (2018) y Ortega-Mayagoitia *et al.* (en preparación). Este análisis se llevó a cabo con el paquete CAPER para R (Orme *et al.*, 2018).

Evolución del tamaño del genoma en Copepoda

Base de datos

Se hizo una recopilación de los tamaños de genoma de los órdenes Calanoida y Cyclopoida reportados en la base de datos Animal Genome Size versión 2.0 (www.genomesize.com), creada y administrada por T. Ryan Gregory (University of Guelph, Canada) (Ver Anexo 1). Se modificaron algunos nombres de familias y especies ya que la base de datos no se encontraba actualizada. Estas actualizaciones se realizaron consultando la página WoRMS (<http://www.marinespecies.org>).

Reconstrucción filogenética

Debido a que los datos de tamaño de genoma abarcaban dos órdenes de copépodos (Calanoida y Cyclopoida), se hizo una reconstrucción filogenética utilizando diversas fuentes. Las relaciones entre familias de cada Orden se establecieron siguiendo lo reportado por Khodami *et al.* (2017). Para las familias que presentaban más de dos especies se utilizaron las filogenias publicadas de Calanidae, Clausocalanidae (Bucklin *et al.*, 2003; Marszalek *et al.*, 2009; Hill *et al.*, 2001) y Cyclopidae (Krajíček *et al.*, 2016; Wyngaard *et al.*, 2010; Mayor *et al.*, 2017; Zagoskin *et al.*, 2014).

Señal filogenética y estado ancestral del genoma.

La señal filogenética determina en qué medida un grupo de especies se asemeja entre sí (basado en un carácter de interés), en comparación a cómo se asemejarían si se encontraran de manera azarosa en un árbol filogenético (Bloomberg y Garland, 2002). La señal filogenética es una medida que puede obtenerse mediante λ de Pagel y está dada en un parámetro de escalamiento (scaling parameter) el cual puede variar entre 0 (independencia filogenética) y 1 (dependencia del carácter a la historia evolutiva) (Pagel, 1999).

Se realizaron dos análisis, el primero utilizando exclusivamente las 7 poblaciones de la Cuenca Oriental y el segundo con la filogenia constituida por las 56 especies con tamaño de genoma conocido. Además, se hizo la reconstrucción del estado ancestral del genoma de copépodos de las dos filogenias. En ambos casos se utilizó el paquete phytools (Revell, 2012) para R.

RESULTADOS

Poblaciones de Cuenca Oriental

El tamaño del genoma de las poblaciones de copépodos calanoides de la Cuenca Oriental varió entre 0.25 pg y 0.44 pg, observados en la población de *Leptodiptomus* La Preciosa y en la población de *Mastigodiptomus* El Carmen, respectivamente. Los datos del tamaño de genoma se analizaron mediante un ANOVA de una vía y mostraron la existencia de diferencias significativas entre las poblaciones ($p < 0.0001$). El análisis de Tukey HSD mostró que *L. garciai* y *L. El Carmen* formaron un grupo homogéneo (a) al igual que *L. Quechulac* con *M. Tecuitlapa* (d), mientras que el resto de las poblaciones fueron significativamente diferentes entre sí (Tabla 2). El valor del tamaño de genoma en las poblaciones de la CO, en orden de magnitud, sería el siguiente:

Leptodiptomus: *L. La Preciosa* < *L. Quechulac* < *L. Atexcac* < *L. garciai* < *L. El Carmen*

Mastigodiptomus: *M. Tecuitlapa* < *M. El Carmen*

En cuanto a la talla, las poblaciones de *Mastigodiptomus* presentaron los promedios más altos, con un promedio de 1396.5 μm , en contraste con las poblaciones de *Leptodiptomus*, con una talla promedio de $948 \pm 99 \mu\text{m}$.

Respecto a la correlación entre talla y tamaño de genoma, los organismos de la población *L. El Carmen* fueron los que presentaron el promedio de la talla y de valor C más alto ($1120 \pm 43.13 \mu\text{m}$ y $0.41 \pm 2.19 \text{ E-}05 \text{ pg}$), mientras que la población de La Preciosa exhibió el promedio de talla y de valor C más pequeño ($932 \pm 54 \mu\text{m}$ y $0.25 \pm 0.003 \text{ pg}$), lo cual en un principio parecía indicar una correlación positiva entre el tamaño del genoma y la talla de los copépodos.

La dispersión de datos del tamaño del genoma y las variables salinidad y talla mostraron una tendencia lineal positiva (Figura 4), sin embargo, ninguna de las correlaciones fue significativa.

Tabla 2. Promedio del tamaño de genoma y longitud de los adultos, por sexo y por especie. Las letras en superíndice indican los grupos homogéneos de acuerdo con el análisis de Tukey HSD.

Especie	Valor C (pg)	Talla (μm)		
		♂	♀	♂ + ♀
<i>L. garciai</i>	0.4 ± 0.007^a	906 ± 49	10001 ± 53	954 ± 70
<i>L. "El Carmen"</i>	$0.41 \pm 2.19\text{E-}05^a$	1154 ± 46	1227 ± 40	1120 ± 56.37
<i>L. "Atexcac"</i>	0.37 ± 0.011^b	885 ± 25	982 ± 44	938 ± 61
<i>L. "La Preciosa"</i>	0.25 ± 0.003^c	884 ± 24	980 ± 33	932 ± 54
<i>L. "Quechulac"</i>	0.33 ± 0.003^d	947 ± 69	1127 ± 85	1082 ± 107
<i>M. "El Carmen"</i>	0.44 ± 0.006^e	1161 ± 181	1556 ± 127	1358 ± 217.14
<i>M. "Tecuítlapa"</i>	0.35 ± 0.002^d	1304 ± 21	1566 ± 293	1435 ± 280

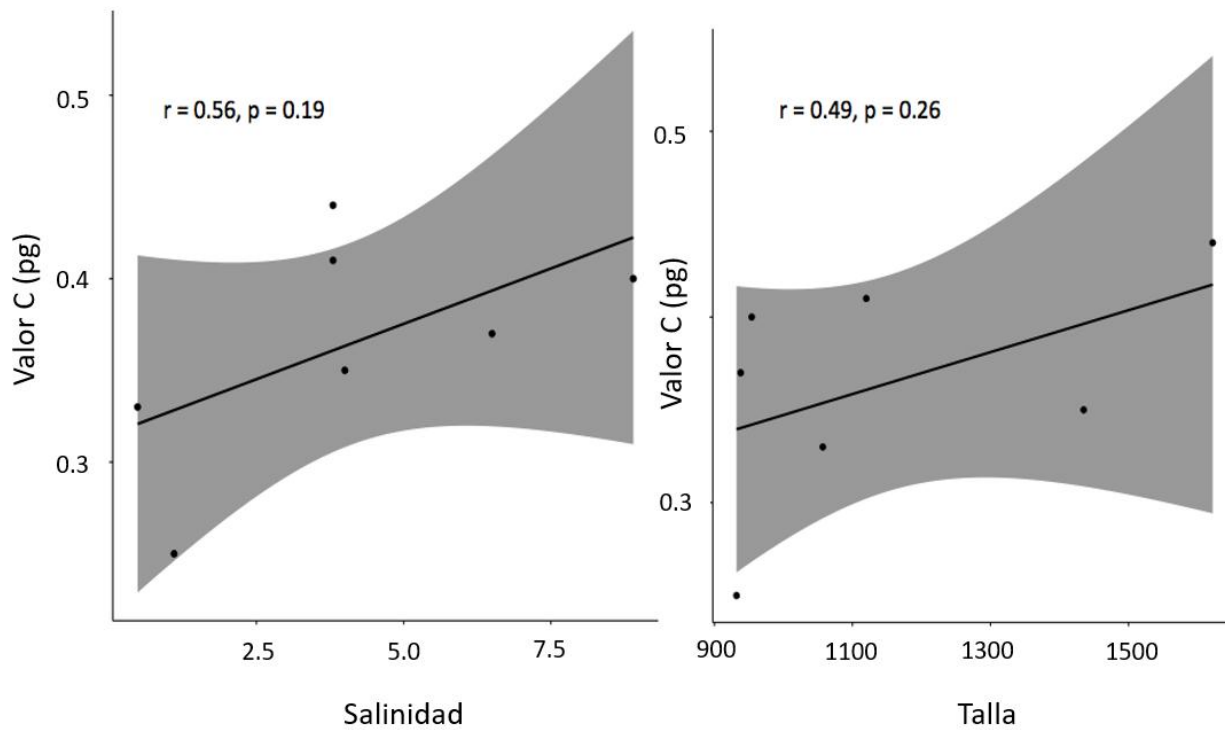


Figura 4. Correlación entre el tamaño del genoma de las poblaciones y las variables salinidad (g L^{-1}) y tamaño de cuerpo (μm), la sombra representa los intervalos de confianza.

El análisis de contrastes filogenéticos independientes no indicó la existencia de una correlación del tamaño del genoma contra las variables mencionadas anteriormente (Tabla 3).

Tabla 3. Contrastes filogenéticos de las poblaciones de copépodos de la CO.

Contrastes filogenéticos independientes			
	Número de contrastes válidos	R^2 ajustada	Valor-P
Valor C vs tamaño de cuerpo	6	-0.01433	0.3827
Valor C vs Salinidad	6	-0.08833	0.5059

Evolución del tamaño de genoma en Copepoda

Si se observa el tamaño de genoma promedio (pg) de los distintos órdenes de Copepoda se hace evidente la variabilidad existente dentro de esta subclase (Figura 3). En la página Animal Genome Size (Gregory, 2019) la mayoría de los datos pertenecientes corresponde a los órdenes Calanoida y Cyclopoida, lo que hace evidente que hay un sesgo en cuanto a los grupos que han sido más estudiados y la poca información correspondiente a los Órdenes Harpacticoida y Siphonostomatoida. El tamaño de genoma promedio en Calanoida es mayor y más variable que en Cyclopoida.

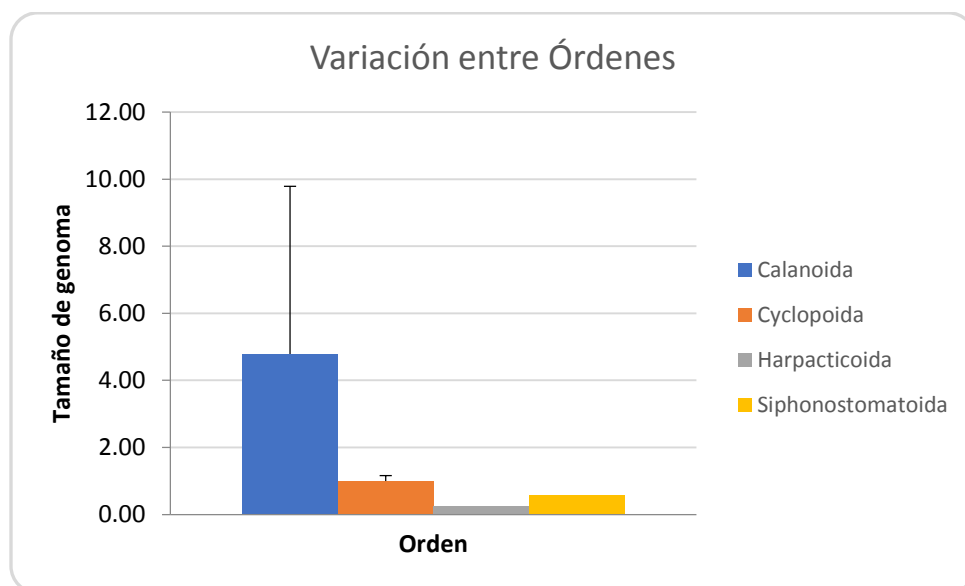


Figura 3. Tamaño del genoma promedio de cuatro órdenes de copéodos: Calanoida (43 especies) Cyclopoida (24), Harpacticoida (1) y Siphonostomatoida (1). Las barras de error muestran la desviación estándar.

Dentro de Calanoida, las familias con un promedio de tamaño de genoma más grande son *Calanidae* y *Euchaetidae*, en esta última existe el reporte con el genoma más grande hasta ahora medido, correspondiente a una población de *Parauchaeta* con 32.75 pg (Leinaas, 2016). Sin embargo este dato no se encuentra dentro de la base de datos y por lo tanto no se incorporó al análisis. Como todas las poblaciones de la CO pertenecen a familia Diaptomidae, se muestran separadas de las especies de Diaptomidae descargadas de la Animal Genome

Size Database (Figura 4). Se puede observar la gran diferencia existente entre las poblaciones de Diaptomidae de la CO con los registros previos de la familia.

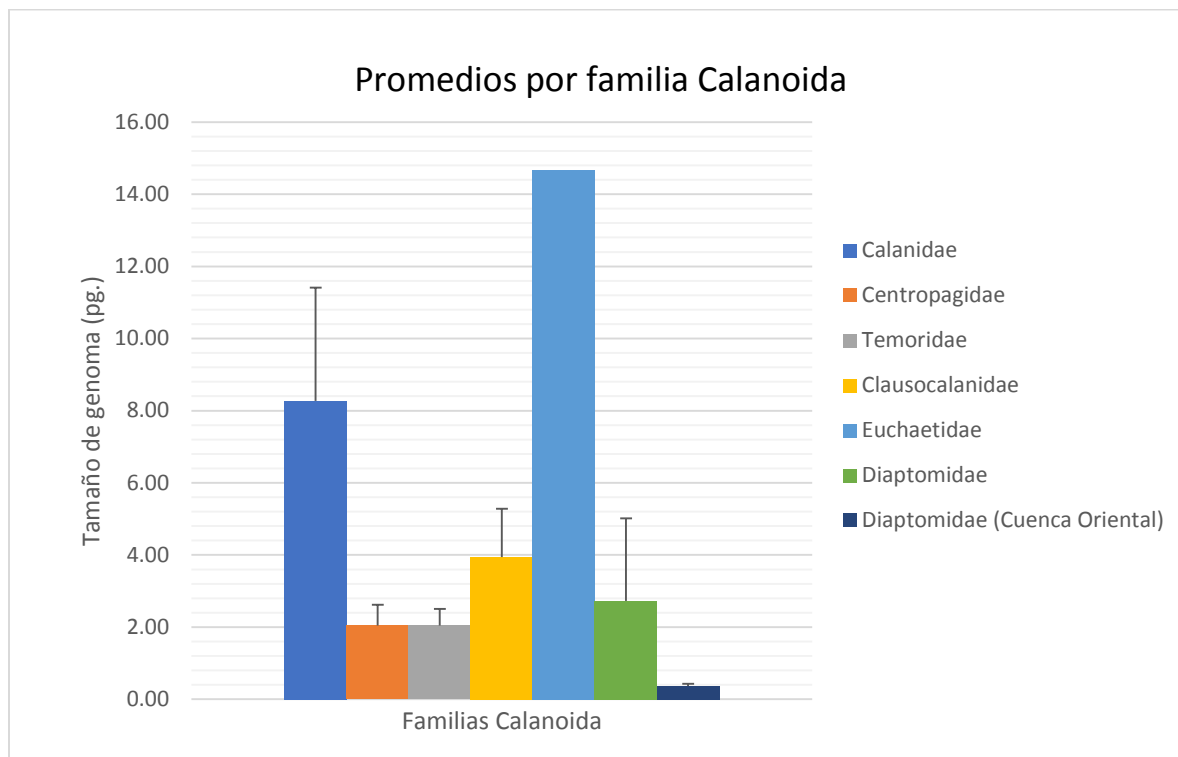


Figura 4. Tamaño de genoma promedio de las familias de Calanoida. Las barras de error muestran la desviación estándar.

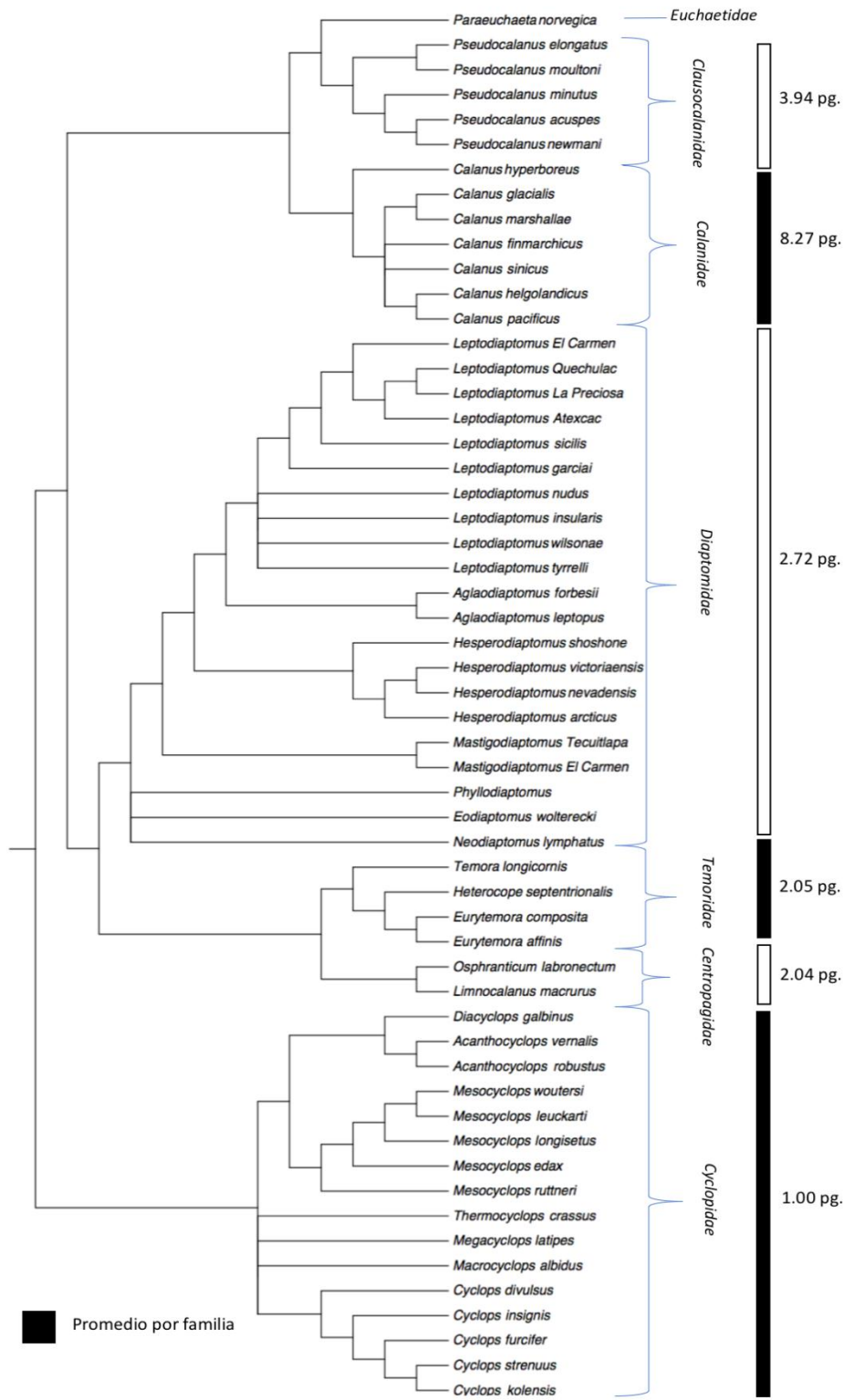


Figura 5. Filogenia de las especies con las que se hizo el análisis comparativo Calanoida y Cyclopoida. Los números de la derecha son el promedio del tamaño del genoma por familia.

La figura 5 muestra el árbol filogenético construido con las especies de las que se recopiló el tamaño del genoma. Consta de organismos marinos y lacustres y presenta dos órdenes de copépodos (Calanoida y Cyclopoida), el primero conformado por 6 familias con 15 géneros y el segundo por una familia con 7 géneros. En el árbol se observan politomías dentro de los géneros *Calanus*, *Leptodiaptomus* y dentro de la familia *Cyclopidae*, ya que no se cuenta con suficiente información para resolver esas relaciones filogenéticas. Esta filogenia es inédita porque incluye las poblaciones de la Cuenca Oriental en conjunto con especies de copépodos con tamaño de genoma publicado.

Tabla 4. Resultados de la señal filogenética y estado ancestral del genoma de las poblaciones de copépodos a nivel local y global.

Señal filogenética y estado ancestral del tamaño de genoma					
	Especies	Familias	λ	Valor-P	Estado Ancestral del genoma (pg)
Orden Calanoida y Cyclopoida	56	7	0.99	9.99E-10	2.59 ± 1.9
Diaptomidae de Cuenca Oriental	7	2	6.61E-05	1	0.39 ± 0.001

El valor lambda (λ) en la filogenia de los dos órdenes de copépodos fue casi 1, lo que prueba la existencia de una fuerte señal filogenética. Por otro lado, la señal filogenética obtenida de copépodos de la Cuenca Oriental no fue significativa. Los valores del estado ancestral del genoma que se muestran en la Tabla 4 fueron tomados del nodo más antiguo de la filogenia correspondiente.

En las Figuras 6 y 7 se muestran las filogenias constituidas por las poblaciones locales y globales, respectivamente. Se denotan los cambios ocurridos en el tamaño de genoma a través de la historia de estos linajes, mostrándose en colores cálidos las especies con un genoma más pequeño y en colores fríos las especies con un genoma más grande.

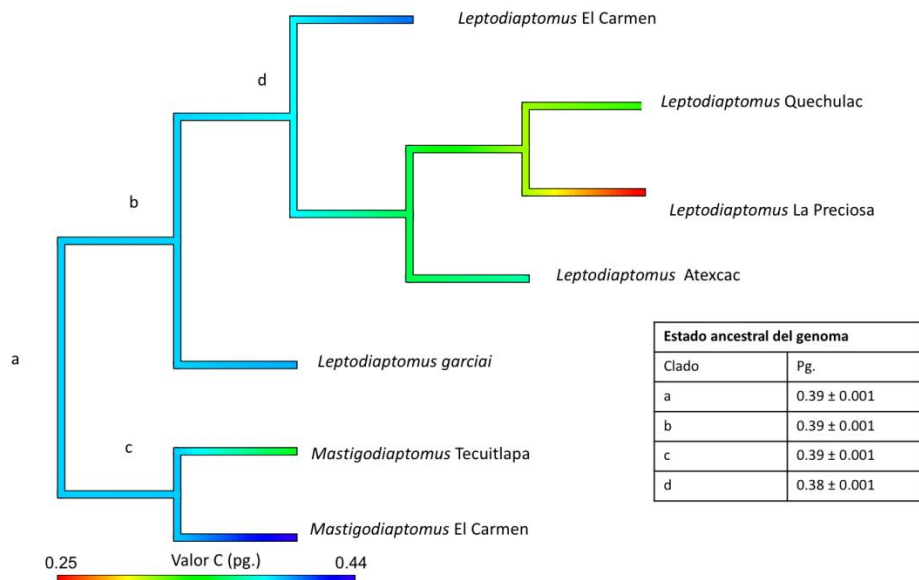


Figura 6. Mapeo del tamaño del genoma en la filogenia de las poblaciones de la Cuenca Oriental.

Respecto a las especies de la CO, Se observa que a lo largo de su historia evolutiva algunos linajes se han encontrado con aumentos (las dos poblaciones de El Carmen) y otros con reducciones en su tamaño del genoma (L. La Preciosa). El estado ancestral del genoma es de 0.39 pg. La población que presentó la ganancia más evidente es la de *Mastigodiptomus* El Carmen, se observa que el tamaño de genoma de esta población difiere de *Mastigodiptomus* Tecuitlapa, siendo estas dos poblaciones consideradas una sola especie de acuerdo con su morfología. En cuanto a las poblaciones de *Leptodiptomus* de la CO podemos observar que el estado ancestral del genoma no mostró cambios tan drásticos en los diferentes clados (b y d), pero aún con esto, podemos observar la divergencia del valor del tamaño de genoma en el complejo de especiación de *Leptodiptomus* grupo *sicilis* (d) siendo la población de La Preciosa la que presentó la reducción más evidente mientras que la población de El Carmen muestra el aumento más conspicuo dentro de este clado.

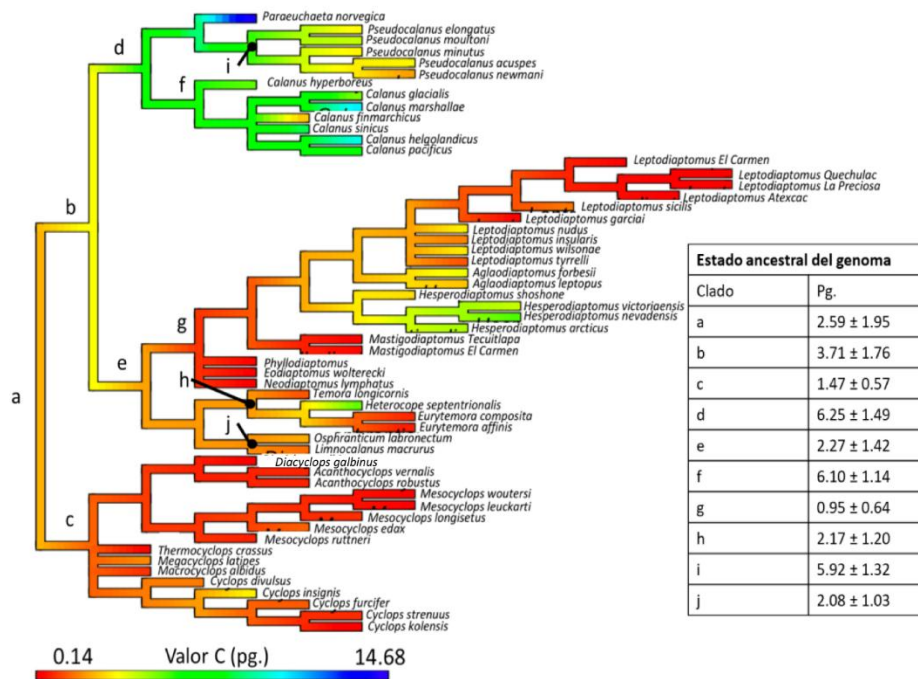


Figura 7. Reconstrucción del estado ancestral y evolución del tamaño del genoma en los órdenes Calanoida y Cyclopoida.

A lo largo de la historia evolutiva de Copepoda se pueden identificar algunas tendencias de aumento o reducción en el tamaño de genoma de las especies. Tenemos que a partir de un tamaño de genoma común de 2.59 pg, se presentó un aumento en los calanoides (b, amarillo) con muchas fluctuaciones posteriores, y una reducción en los cyclopoides (c, naranja), en los cuales no hubo cambios significativos posteriores. Dentro del clado Calanoida (b) se observa la divergencia en los clados d (verde) y e (naranja), el primero de los cuales se encuentra conformado por especies marinas que tuvieron un evento de aumento del genoma. El clado e está conformado en su mayoría por copépodos continentales a excepción de las especies que integran los clados h y j, que son marinas. Dentro del clado Diaptomidae (g) se pueden identificar eventos de aumento en el género *Hesperodiaptomus* pero también de reducción, especialmente en las poblaciones de la CO.

DISCUSIÓN

Tamaño de genoma de las poblaciones de la Cuenca Oriental

Todas las poblaciones de Cuenca Oriental reportadas en este trabajo son registros nuevos de copépodos calanoides, por lo cual no es posible hacer comparaciones a nivel de especie, sin embargo, sí se pueden realizar a nivel de género o con especies filogenéticamente cercanas. El tamaño de genoma de los copépodos *Mastigodiatomus* El Carmen y *Mastigodiatomus* Tecuitlapa es de especial importancia ya que estos datos representan el primer registro de esta variable en este género.

Las poblaciones de copépodos *Leptodiatomus* de Cuenca Oriental tienen un rango de tamaño de genoma de 0.25 a 0.41 picogramos, esto contrasta con los valores previamente reportados para este género, que van de 1.33 a 3.81 picogramos (Gregory *et al.*, 2000). Se puede destacar el valor C de la población de *Leptodiatomus* La Preciosa (0.25 pg.) ya que es genoma más pequeño reportado hasta la fecha en copépodos calanoides, el valor más pequeño que aparece en Animal Genome Size es de 0.34 pg, correspondiente a *Neodiatomus lymphatus*.

Aunque estas poblaciones de copépodos de la Cuenca Oriental son filogenéticamente cercanas entre sí y presentan baja divergencia en el gen mitocondrial COI (<0.5%), se sabe que se encuentran sometidas a un proceso de especiación ecológica, pudiendo diferenciarse tres fenotipos de acuerdo a la salinidad a la que se encuentran sometidas (Barrera-Moreno *et al.*, 2015). Esto es coherente con lo obtenido en este trabajo, ya que el tamaño del genoma de las poblaciones de copépodos es significativamente diferente entre sí. Por otra parte, la diferencia en el tamaño del genoma en estos linajes podría volverse taxonómicamente importante al momento de diferenciar entre especies (Murray, 2005).

Vailant *et al.* (2013) son los únicos autores que han publicado tamaño de genoma en copépodos calanoides de aguas continentales sometidos a un proceso de especiación, reportando valores en un rango de 0.37 - 0.41 pg. (*Phyllodiatomus*, *Neodiatomus*, *Eodiatomus*) existiendo un solapamiento con el rango observado en este trabajo (0.25-0.44 pg.). Sin embargo, esos datos no son analizados de ninguna manera. La variación del tamaño de genoma en las poblaciones de la CO es similar a lo reportado por Stelzer *et al.* (2011), que

encuentran variación en el tamaño de genoma en el complejo de especies crípticas *Brachionus plicatilis*, aun cuando las especies exhiben reconocimiento sexual y formación de la F1. Esto es muy similar a lo que ocurre en el complejo de especiación de *Leptodiptomus* de la CO ya que aún existen reconocimiento sexual, pero por lo menos entre la población de Atexcac y La Preciosa, la F2 ya no es viable (Barrera-Sánchez, 2016). Por lo tanto, la divergencia en el tamaño de genoma pudiera ser una de las primeras características que se forman en las poblaciones en vías de especiación.

También es importante resaltar que en algunos casos la variación del valor C, como la encontrada en la CO, se puede formar mucho antes que una variación en el fenotipo de las especies, modificándose primero la longitud de cromosomas, la cantidad de cromatina o la asimetría cariotípica, siendo estas variaciones características adicionales de poblaciones en especiación (Murray, 2005). Las poblaciones de *Leptodiptomus* no han sido estudiadas en este aspecto, por lo que sería importante conocer su arquitectura genética y hacer comparaciones con cariotipos publicados de otros copépodos (Libertini y Lazzaretto, 1993) con tamaños de genoma de diferente magnitud. El comprender la dinámica del genoma es esencial para conocer la relación que pudiera tener con el fenotipo de las poblaciones, el efecto de las alteraciones genéticas en los parámetros poblacionales y los tiempos de evolución molecular (Parfrey, 2008).

Tamaño del genoma y salinidad

No se encontró una relación significativa entre la talla y la salinidad con el tamaño del genoma de los copépodos de la Cuenca Oriental. Aunque no se ha demostrado que la salinidad ejerza una relación directa en el tamaño de genoma de las especies, existe evidencia que indica que el contenido de ADN en crustáceos muchas veces se puede modificar debido a la relación que presentan los organismos con su medio ambiente (Alfsnes *et al.*, 2017). La salinidad es un factor importante que puede acelerar las tasas de evolución molecular (Derry *et al.*, 2003) y en el caso de las especies de *Leptodiptomus*, que habitan los diversos lagos de la Cuenca Oriental, la salinidad ha jugado un papel importante en la diversificación de las especies favoreciendo su aislamiento reproductivo (Barrera-Moreno *et al.*, 2015, Montiel-Martínez *et al.*, 2008). Sin embargo, es probable que el tamaño de genoma de estas poblaciones haya divergido por otras características ambientales adicionales a la salinidad, ya que los lagos

divergen también en profundidad, grado trófico, transparencia, etc. y por otra parte no se puede descartar la influencia de procesos aleatorios.

Tamaño de genoma y talla

En diversas especies de crustáceos (Hessen y Persson, 2009) y de copépodos calanoides y ciclopoideos se ha documentado una correlación positiva entre la talla y el tamaño del genoma de los organismos, encontrándose en poblaciones de copépodos calanoides marinos (McLaren *et al.*, 1988 y 1989, Leinaas *et al.*, 2016), de aguas continentales (Gregory *et al.*, 2000) y copépodos ciclopoideos de aguas continentales (Wyngaard y Rasch, 2000). Sin embargo, esta correlación no se corroboró en los copépodos de la CO.

La correlación entre tamaño de genoma y talla se ha documentado principalmente en copépodos calanoides marinos, sin embargo, el único mecanismo por el cual se explica esta relación es el control nucleotípico propuesto por McLaren *et al.* (1988). Este mecanismo podría estar limitado a dos características, probablemente exclusivas, de las poblaciones con las que McLaren *et al.* trabajaron (*Pseudocalanus* y *Calanus*); la primera es que estos organismos presentan un desarrollo eutélico, haciendo que el crecimiento posterior a copepodito I sea exclusivamente por aumento del volumen celular (McLaren y Marcogliese, 1983). La segunda característica importante es que son organismos ectotérmicos, por lo que la temperatura ejerce un efecto plástico sobre la talla de los organismos (Walters y Hassall, 2006); esto último pudo llevar a los autores a sobrestimar el efecto de este mecanismo (Leinaas *et al.*, 2016).

En cuanto a la relación entre el tamaño del genoma y la talla de copépodos de aguas continentales, Gregory *et al.* (2000) son los únicos autores que han estudiado esta relación en calanoides lacustres y aunque encuentran una correlación significativa entre el tamaño del genoma y la talla de los organismos, la única explicación que se da es la del control nucleotípico, sin embargo, no presentan evidencias de este mecanismo.

Cabe mencionar que, aunque el control nucleotípico suele citarse como un mecanismo común en copépodos (Hessen y Persson, 2009), hasta el momento no existen estudios adicionales a los de McLaren (McLaren *et al.*, 1982, 1988, 1989) sobre la presencia de eutelia en estos organismos (Canfield, 2003) y como esta característica va de la mano con el mecanismo del control nucleotípico, se tiene que tomar con precaución esta explicación. Como observación personal, se ha comprobado que al menos la población de *Leptodiptomus* Atexcac no presenta eutelia, por lo que existe la probabilidad de que ninguna población de *Leptodiptomus* de la CO presente esta condición.

Señal filogenética del tamaño del genoma

El valor obtenido de la reconstrucción del estado ancestral del genoma de las poblaciones de copépodos de la CO, el cual se calculó con base a los datos de la filogenia fue de $0.39 \pm .001$, por lo tanto, se puede inferir que a lo largo de su historia evolutiva, han ocurrido algunos eventos de reducción y de incremento de genoma. Sin embargo, la señal filogenética entre las poblaciones de copépodos de la CO no fue significativa. Probablemente el tamaño de genoma de estas poblaciones es un valor que se fijó en ellas anterior al aislamiento reproductivo producido por la adaptación a la salinidad, pero no podemos descartar que la selección natural o la deriva génica hayan modelado el tamaño del genoma de estas poblaciones.

Evolución del tamaño del genoma en Calanoida y Cyclopoida

Por otra parte, la señal filogenética del tamaño del genoma en la filogenia de Calanoida y Cyclopoida (Figura 7) sí fue significativa, por lo que el valor C en las especies actuales depende en gran medida de la historia evolutiva de su linaje. En la subclase Copepoda se encontró que el tamaño del genoma del ancestro común, en la reconstrucción del estado ancestral, fue relativamente pequeño (2.59 ± 1.95), sin embargo, se puede observar el incremento en el genoma de algunas especies.

Si tomamos en cuenta que el orden Calanoida es un linaje que precede al de Cyclopoida (Ho, 1994), podemos observar que existen diferentes patrones en la variación de su genoma. Por un lado, el orden Calanoida se distingue por su alta variabilidad y cantidades altas de genoma, prevaleciendo algunas explicaciones como eventos de duplicación del genoma, mientras que el orden Cyclopoida tiende a presentar genomas más reducidos (Einsle, 1996; Grishanin et al., 1994, 1996). Hasta el momento no se puede decir si esta ganancia o pérdida de genoma corresponda a genes funcionales. Sin embargo, en el caso de ciclopoideos, se ha documentado procesos de endoreplicación como un proceso común, en el cual los embriones ganan de 5 a 10 veces su tamaño de genoma y posteriormente se elimina la mayor parte de la heterocomatina repetitiva, después de esto el núcleo somático diploide contienen la misma cantidad de ADN que las células espermáticas haploides, esto sin afectar de ninguna manera genes estructurales o funcionales (Parfrey, 2008).

La tendencia evolutiva en los copépodos ciclopoideos a presentar tamaños de genoma pequeños inclusive se puede considerar como una característica sinapomórfica del linaje

(Rasch y Wyngaard, 2006), del mismo modo los tamaños de genoma reducidos de Harpaticoida (*T. californicus*: 0.25 pg.) y Siphonostomatoida (*Lepeophtheirus salmonis*: 0.58 pg) son consistentes con la tendencia a un decremento en el tamaño de genoma de grupos recientes o derivados de Calanoida (Wyngaard y Rasch, 2000).

La acumulación de grandes cantidades de ADN es algo que puede ser explicado por algunas hipótesis, una de ellas bajo el ADN parasítico o egoísta (Gregory, 2007), ya que si bien, algunas porciones del genoma contribuyen de manera positiva a la adecuación biológica de los organismos, también existe una porción de ADN que no tiene efecto alguno sobre el fenotipo y no se encuentra bajo presión de selección. Algunas de las secuencias de ADN repetido podrían brindar algunas ventajas a las especies como facilitar arreglos genéticos novedosos que puedan incrementar la versatilidad evolutiva o ser un repositorio donde se puedan reclutar nuevas secuencias funcionales (Doolittle y Sapienza, 1980). Esto podría explicar la causa de esta acumulación de ADN que se encuentra en la historia evolutiva de copépodos calanoides, y más aún porque la selección natural no tiene un efecto directo hacia estas secuencias neutras por lo que la herencia de secuencias de ADN repetido puede mantenerse a lo largo de algunos linajes.

Por otro lado, las especies que presentan un tamaño de genoma reducido, como en el caso de ciclopoideas y algunos calanoides, pudieron haber encontrado un límite en la replicación de su ADN debido a que el costo de mantenimiento y replicación pudiera perjudicar el desarrollo en el ciclo de vida de los organismos (Orgel y Crick, 1980). La disminución de cromatina se ha documentado en 23 especies de copépodos ciclopoideas de aguas continentales (Grishanin, 2014). La aparición de este mecanismo pudo haber jugado un papel importante en la aparición de especies crípticas en ciclopoideas y es una herramienta para la adaptación de especies en ambientes adversos así como un control de la carga de elementos del ADN repetidos (Sun *et al.*, 2014). Un mecanismo similar podría estar presente en poblaciones de copépodos calanoides de aguas continentales ya que algunas de estas especies presentan un tamaño de genoma similar a los ciclopoideas y un mecanismo semejante podría explicar la variación existente en especies con genomas pequeños como las poblaciones de la CO.

A nivel de Orden, no se ha explorado el mecanismo por el cual se genera la variación en el tamaño del genoma en calanoides y es necesario incrementar la investigación en especies de aguas continentales para tener un mejor entendimiento de su evolución dentro del orden. La tendencia encontrada, tomando en cuenta el trabajo de Vailant *et al.* (2013), Gregory *et al.* (2000) y la información aquí presentada, pareciera indicar que existe una separación entre los

copépodos calanoides marinos y de aguas continentales. Los primeros se caracterizan por tener un tamaño de genoma grande y flexible a factores ecológicos (temperatura y disponibilidad de recursos) (McLaren *et al.*, 1985, Escribano *et al.*, 1995, Leinaas *et al.*, 2011), mientras que los segundos parecieran presentar tamaños de genoma relativamente más pequeños y hasta el momento sin relación alguna con factores ecológicos (Vailant *et al.*, 2013, Gregory *et al.*, 2000).

Posiblemente el mecanismo de variación del valor C en especies de aguas continentales sea diferente de los marinos, y aunque el genoma de las especies marinas podría tener mayor susceptibilidad a responder hacia la temperatura (Leinaas *et al.*, 2015), el control nucleotípico de copépodos explorado por McLaren no ha sido puesto a prueba en otras especies, por lo tanto, la relación entre la talla con el genoma pudiera estar siendo sobre interpretada por algunos autores.

Cabe resaltar que aún existe un gran vacío de información de los órdenes Harpacticoida, Siphonostomatoida, Misophrioida, Canuelloida, Gelyelloida, Mormoniloida y Monstrilloida ya que los reportes parecen reflejar el grado de interés de los investigadores hacia Calanoida y Cyclopoida, por lo que este análisis no contiene una muestra representativa de la subclase Copepoda. Aunado a esto, la mayoría de las investigaciones que reportan el tamaño del genoma de copépodos no tienen como fin dilucidar los factores que generan variación en esta característica.

Como se mencionó arriba, sería de especial interés conocer si las poblaciones de *Leptodiatomus* de la CO, que tienen genomas muy pequeños dentro del orden Calanoida, presentan procesos de endoreplicación en los primeros estadios de su ciclo de vida y si posteriormente presentan algún mecanismo de eliminación genómica. Asimismo, sería útil investigar si el tamaño del genoma puede alterarse experimentalmente al manipularse algunas variables como el alimento o gradientes de salinidad y temperatura, tal como ha sido observado en algunas especies marinas.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos en este trabajo sugieren que el tamaño del genoma de las siete poblaciones de la CO no está relacionado con la talla de los organismos ni con la salinidad de los lagos que habitan. No se observó una relación entre el genoma con la filogenia de las poblaciones de la CO, sin embargo, al analizar este carácter a lo largo de la historia evolutiva de Calanoida y Cyclopoida se puede observar cómo el genoma ha evolucionado y divergido de la mano con estos linajes. Esta dinámica en el tamaño del genoma es importante explicarla si se quieren conocer los efectos evolutivos que tiene el tamaño del genoma en la subclase Copepoda.

LITERATURA CITADA

- Alfsnes, K., Leinaas, H. P., & Hessen, D. O. (2017). Genome size in arthropods; different roles of phylogeny, habitat and life history in insects and crustaceans. *Ecology and Evolution*, 7(15), 5939-5947.
- Armienta, M. A., Vilaclara, G., De la Cruz-Reyna, S., Ramos, S., Ceniceros, N., Cruz, O. & Arcega Cabrera, F. (2008). Water chemistry of lakes related to active and inactive Mexican volcanoes. *Journal of Volcanology and Geothermal Research*, 178(2), 249-258.
- Barrera-Moreno, O. A., Ciro-Pérez, J., Ortega-Mayagoitia, E., Alcántara-Rodríguez, J. A., & Piedra-Ibarra, E. (2015). From local adaptation to ecological speciation in copepod populations from neighboring lakes. *PLoS ONE*, 10(4), e0125524.
- Barrera-Sanchez, E. (2016). Diversificación críptica en ambientes ecológicos contrastantes: análisis de la posible especiación ecológica en poblaciones del copépodo *Leptodiaptomus* cf. *sicilis*. Tesis de Licenciatura. Carrera de Biología. FES Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Beermann, S. (1977). The diminution of heterochromatic chromosomal segments in *Cyclops* (Crustacea, Copepoda). *Chromosoma*, 60(4), 297-344.
- Blomberg, S. P., & Garland, T. (2002) Tempo and model in evolution: Phylogenetic inertia, adaptation and comparative methods. *Journal of Evolutionary Biology*, 15(8), 99-910.
- Boivin, A., Vendrely, R., & Vendrely, C. (1948). Biochemie de L'acide desoxyribonucleique du noyau cellulaire depositaire des caracteres hereditaires, arguments d'ordre analytique. *Comptes Rendus de l'Academie des Sciences* 226(13), 1061–1063.
- Brown, T. (2008). *Genomes 3*. Garland Science, Nueva York y Londres.
- Bucklin, A., Frost, B., Bradford-Grieve, J., Allen, L., & Copley, N. (2003). Molecular systematic and phylogenetic assessment of 34 calanoid copepod species of the Calanidae and Clausocalanidae. *Marine Biology*, 142(2), 333-343.

- Can-Chulim, Á., Ortega-Escobar, H. M., García-Calderón, N. E., Reyes-Ortigoza, A. L., González-Hernández, V., & Flores-Román, D. (2011). Origen y calidad del agua subterránea en la cuenca oriental de México. *Terra Latinoamericana*, 29(2), 189-200.
- Carey, N. (2011). *La revolución epigenética*. Ediciones de Intervención Cultural, Biblioteca Buridán, Barcelona.
- Cavalier-Smith, T. (1978). Nuclear volume control by nucleoskeletal DNA, selection for cell volume and cell growth rate, and the solution of the DNA C-value paradox. *Journal of Cell Science*, 34(1), 247-278.
- Derry, A. M., Hebert, P. D., & Prepas, E. E. (2003). Evolution of rotifers in saline and subsaline lakes: a molecular phylogenetic approach. *Limnology and Oceanography*, 48(2), 675-685.
- Doolittle, W. F., & Sapienza, C. (1980). Selfish genes, the phenotype paradigm and genome evolution. *Nature*, 284(5757), 601-603.
- Drouin, G. (2006). Chromatin diminution in the copepod *Mesocyclops edax*: diminution of tandemly repeated DNA families from somatic cells. *Genome*, 49(6), 657-665.
- Eddy, S. R. (2012). The C-value paradox, junk DNA and ENCODE. *Current Biology*, 22(21), 898-899.
- Einsle, U. (1996). Copepoda: Cyclopoida: Genera *Cyclops*, *Megacyclops*, *Acanthocyclops*. Amsterdam. SPB Academic Publishing.
- Elliott, T. A., & Gregory, T. R. (2015). What's in a genome? The C-value enigma and the evolution of eukaryotic genome content. *Philosophical Transactions of the Royal Society: Biological Sciences*, 370(1678), 20140331.
- Escribano, R., McLaren, I. A., & Breteler, W. K. (1992). Innate and acquired variation of nuclear DNA contents of marine copepods. *Genome*, 35(4), 602-610.
- Felsenstein, J. (1985). Phylogenies and the comparative method. *The American Naturalist*, 125(1), 1-15.
- Figueroa, J. L., Borrego-Enriquez, L. E., Castillo-Domingues, R. M., & Valladolid-Laredo, M. A. (1983). Batimetria y morfometria de los lagos "maars" de la Cuenca Oriental, Puebla, México. *Biotica*, 8(1), 3-47.

- Garland Jr, T., Harvey, P. H., & Ives, A. R. (1992). Procedures for the analysis of comparative data using phylogenetically independent contrasts. *Systematic Biology*, 41(1), 18-32.
- Gregory, T. R., Hebert, P. D., & Kolasa, J. (2000). Evolutionary implications of the relationship between genome size and body size in flatworms and copepods. *Heredity*, 84(2), 201.
- Gregory, T. R. (2004). Macroevolution, hierarchy theory, and the C-value enigma. *Paleobiology*, 30(2), 179-202.
- Gregory, T. R. (2005). The C-value enigma in plants and animals: a review of parallels and an appeal for partnership. *Annals of Botany*, 95(1), 133-146.
- Gregory, T. R., (2011). *The evolution of the genome*. Academic Press.
- Gregory, T.R. (2019). Animal Genome Size Database. <http://www.genomesize.com>.
- Grishanin, A. K., Brodskii, V. Y., & Akifev, A. P. (1994). Somatic cells of *Cyclops strenuus* (Copepoda, Crustacea) lose about 90% of the genome during chromatin diminution. *Doklady Biological Sciences*, 338(1), 505-506.
- Grishanin, A. K., Khudolii, G. A., Shaikhaev, G. O., Brodskii, V. Y., Makarov, V. B., & Akifev, A. P. (1996). Chromatin diminution in *Cyclops kolensis* (Copepoda, Crustacea) is a unique example of genetic engineering in nature. *Russian Journal of Genetics*, 32(4), 424-430.
- Grishanin, A. (2014). Chromatin diminution in Copepoda (Crustacea): pattern, biological role and evolutionary aspects. *Comparative Cytogenetics*, 8(1), 1-10.
- Hare, E. E., & Johnston, J. S. (2011). Genome size determination using flow cytometry of propidium iodide-stained nuclei. *Molecular Methods for Evolutionary Genetics*, 3-12.
- Hessen, D. O., & Persson, J. (2009). Genome size as a determinant of growth and life-history traits in crustaceans. *Biological Journal of the Linnean Society*, 98(2), 393-399.
- Hill, R., Allen, L., & Bucklin, A. (2001). Multiplexed species-specific PCR protocol to discriminate four N. Atlantic Calanus species, with an mtCOI gene tree for ten Calanus species. *Marine Biology*, 139(2), 279-287.
- Holland, J., Spindler, K., Horodyski, F., Grabau, E., Nichol, S., & VandePol, S. (1982). Rapid evolution of RNA genomes. *Science*, 215(4540), 1577-1585.
- Hultgren, K. M., Jeffery, N. W., Moran, A., & Gregory, T. R. (2018). Latitudinal variation in genome size in crustaceans. *Biological Journal of the Linnean Society*, 123(2), 348-359.

- Jiménez-Cruz, J. A. (2018). Estructura y dinámica poblacional de los copépodos calanoides en un lago altamente variable en la cuenca oriental mexicana. Tesis de licenciatura. Carrera de Biología. FES Iztacala. Universidad Nacional Autónoma de México.
- Kassambara, A. (2017). ggpubr: 'ggplot2' Based Publication Ready Plots. R package version 0.1.6. <https://CRAN.R-project.org/package=ggpubr>.
- Khodami, S., McArthur, J. V., Blanco-Bercial, L., & Arbizu, P. M. (2017). Molecular phylogeny and revision of copepod orders (Crustacea: Copepoda). *Scientific Reports*, 7(1), 9164.
- Krajíček, M., Fott, J., Miracle, M. R., Ventura, M., Sommaruga, R., Kirschner, P., & Černý, M. (2016). The genus Cyclops (Copepoda, Cyclopoida) in Europe. *Zoologica Scripta*, 45(6), 671-682.
- Leinaas, H. P., Jalal, M., Gabrielsen, T. M., & Hessen, D. O. (2016). Inter and intraspecific variation in body and genome size in calanoid copepods from temperate and arctic waters. *Ecology and Evolution*, 6(16), 5585-5595.
- Libertini, A., & Lazzaretto, I. (1993). The karyotype in an antarctic harpacticoid copepod: *Dactylopodia* sp. *Polar Biology*, 13(2), 97-99.
- Lynch, M., & Conery, J. S. (2003). The origins of genome complexity. *Science*, 302(5649), 1401-1404.
- Marszalek, M. A., Dayanandan, S., & Maly, E. J. (2009). Phylogeny of the genus *Hesperodiptomus* (Copepoda) based on nucleotide sequence data of the nuclear ribosomal gene. *Hydrobiologia*, 624(1), 61.
- Mayor, T. Y., Galimova, Y. A., Sheveleva, N. G., Sukhanova, L. V., & Kirilchik, S. V. (2017). Molecular phylogenetic analysis of *Diacyclops* and *Acanthocyclops* (Copepoda: Cyclopoida) from Lake Baikal based on COI gene. *Russian Journal of Genetics*, 53(2), 252-258.
- McLaren, I. A., & Marcogliese, D. J. (1983). Similar nucleus numbers among copepods. *Canadian Journal of Zoology*, 61(4), 721-724.
- McLaren, I. A., Sevigny, J. M., & Corkett, C. J. (1988). Body sizes, development rates, and genome sizes among *Calanus* species. *Biology of Copepods*, 167(168), 275-284.

- McLaren, I. A., Sévigny, J. M., & Frost, B. W. (1989). Evolutionary and ecological significance of genome sizes in the copepod genus *Pseudocalanus*. *Canadian Journal of Zoology*, 67(3), 565-569.
- Mirsky, A. E., & Ris, H. (1951). The desoxyribonucleic acid content of animal cells and its evolutionary significance. *The Journal of General Physiology*, 34(4), 451.
- Montiel-Martínez, A., Ciroso-Pérez, J., Ortega-Mayagoitia, E., & Elías-Gutiérrez, M. (2008). Morphological, ecological, reproductive and molecular evidence for *Leptodiaptomus garciai* (Osorio-Tafall, 1942) as a valid endemic species. *Journal of Plankton Research*, 30(10), 1079-1093.
- Murray, B. (2005) When does intraspecific C-value variation become taxonomically significant?. *Annals of Botany*, 95(1), 119-125.
- Ohno, S. (1972). So much 'junk' DNA in our genome. *Evolution of Genetic Systems, Brookhaven Symposia in Biology*. 23, 366-370.
- Orgel, L. E., & Crick, F. H. (1980). Selfish DNA: the ultimate parasite. *Nature*, 284(5757), 604-607.
- Orme, D., Freckleton, R., Thomas, G., Petzold, T., Fritz, S., Isaac, N., & Pearse, W. (2018). caper: Comparative Analyses of Phylogenetics and Evolution in R. R package version 1.0.1. <https://CRAN.R-project.org/package=caper>.
- Pagel, M. (1999). Inferring the historical patterns of biological evolution. *Nature*, 401(6756), 877.
- Parfrey, L. W., Lahr, D. J., & Katz, L. A. (2008). The dynamic nature of eukaryotic genomes. *Molecular Biology and Evolution*, 25(4), 787-794.
- Petrov, D. A. (2001). Evolution of genome size: new approaches to an old problem. *Trends in Genetics*, 17(1), 23-28.
- Pianka, E. R. (1970). On r-and K-selection. *The American Naturalist*, 104(940), 592-597.
- R Development Core Team (2008). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL <http://www.R-project.org>.

- Rasch, E. M., & Wyngaard, G. A. (2006). Genome sizes of cyclopoid copepods (Crustacea): evidence of evolutionary constraint. *Biological Journal of the Linnean Society*, 87(4), 625-635.
- Rasch, E. M., & Wyngaard, G. A. (2006). Genome sizes of cyclopoid copepods (Crustacea): evidence of evolutionary constraint. *Biological Journal of the Linnean Society*, 87(4), 625-635.
- Revell, L. J. (2012) phytools: An R package for phylogenetic comparative biology (and other things). *Methods in Ecology and Evolution*, 3(2), 217-223.
- Robins, J. H., & McLaren, I. A. (1982). Unusual variations in nuclear DNA contents in the marine copepod *Pseudocalanus*. *Canadian Journal of Genetics and Cytology*, 24(5), 529-540.
- Southward, A., Tyler, P., Fuiman, L., & Young, C. (2003). *Advances in marine biology* (Vol. 44). Great Britain, Elsevier.
- Stelzer, C. P., Riss, S., & Stadler, P. (2011). Genome size evolution at the speciation level: the cryptic species complex *Brachionus plicatilis* (Rotifera). *BMC Evolutionary Biology*, 11(1), e1003547.
- Suárez-Morales, E., Reid, J. W., & Elías-Gutiérrez, M. (2005). Diversity and distributional patterns of Neotropical freshwater copepods (Calanoida: Diaptomidae). *International Review of Hydrobiology*, 90(1), 71-83.
- Sun, C., Wyngaard, G., Walton, D. B., Wichman, H. A., & Mueller, R. L. (2014). Billions of basepairs of recently expanded, repetitive sequences are eliminated from the somatic genome during copepod development. *BMC Genomics*, 15(1), 186.
- Swift, H. H. (1950). The desoxyribose nucleic acid content of animal nuclei. *Physiological Zoology*, 23(3), 169-198.
- Thomas Jr, C. A. (1971). The genetic organization of chromosomes. *Annual Review of Genetics*, 5(1), 237-256.
- Vaillant, J. J., Bock, D. G., Haffner, G. D., & Cristescu, M. E. (2013). Speciation patterns and processes in the zooplankton of the ancient lakes of Sulawesi Island, Indonesia. *Ecology and Evolution*, 3(9), 3083-3094.

- Vergilino, R., Belzile, C., & Dufresne, F. (2009). Genome size evolution and polyploidy in the *Daphnia pulex* complex (Cladocera: Daphniidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 97(1), 68-79
- Walters, R. J., & Hassall, M. (2006). The temperature-size rule in ectotherms: may a general explanation exist after all. *The American Naturalist*, 167(4), 510-523.
- White, M. M., & McLaren, I. A. (2000). Copepod development rates in relation to genome size and 18S rDNA copy number. *Genome*, 43(5), 750-755.
- Williams, W. D. (1998). Salinity as a determinant of the structure of biological communities in salt lakes. *Hydrobiologia*, 381(1-3), 191-201.
- Woodcock, C. L., & Dimitrov, S. (2001). Higher-order structure of chromatin and chromosomes. *Current Opinion in Genetics & Development*, 11(2), 130-135.
- Wyngaard, G. A., McLaren, I. A., White, M. M., & Sévigny, J. M. (1995). Unusually high numbers of ribosomal RNA genes in copepods (Arthropoda: Crustacea) and their relationship to genome size. *Genome*, 38(1), 97-104.
- Wyngaard, G. A., & Rasch, E. M. (2000). Patterns of genome size in the copepoda. *Hydrobiologia*, 417(1), 43-56.
- Wyngaard, G. A., Rasch, E. M., Manning, N. M., Gasser, K., & Domangue, R. (2005). The relationship between genome size, development rate, and body size in copepods. *Hydrobiologia*, 532(1-3), 123-137.
- Wyngaard, G. A., Hołyńska, M., & Schulte II, J. A. (2010). Phylogeny of the freshwater copepod *Mesocyclops* (Crustacea: Cyclopidae) based on combined molecular and morphological data, with notes on biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 55(3), 753-764.
- Zagoskin, M. V., Lazareva, V. I., Grishanin, A. K., & Mukha, D. V. (2014). Phylogenetic information content of Copepoda ribosomal DNA repeat units: ITS1 and ITS2 impact. *BioMed Research International*, 2014.

ANEXO 1.

Base de datos de tamaño de genoma de Calanoida y Cyclopoida obtenidas de Animal Genome Size (consultada el día 15/10/2018).

Orden	Familia	Especie	Valor C
Cyclopoida	Cyclopidae	<i>Cyclops kolensis</i>	0.14
Cyclopoida	Cyclopidae	<i>Cyclops strenuous</i>	0.86
Cyclopoida	Cyclopidae	<i>Cyclops furcifer</i>	1.4
Cyclopoida	Cyclopidae	<i>Cyclops insignis</i>	3.41
Cyclopoida	Cyclopidae	<i>Cyclops divulsus</i>	1.8
Cyclopoida	Cyclopidae	<i>Macrocyclops albidus</i>	0.94
Cyclopoida	Cyclopidae	<i>Megacyclops latipes</i>	2.01
Cyclopoida	Cyclopidae	<i>Thermocyclops crassus</i>	0.42
Cyclopoida	Cyclopidae	<i>Mesocyclops ruttneri</i>	0.73
Cyclopoida	Cyclopidae	<i>Mesocyclops edax</i>	1.49
Cyclopoida	Cyclopidae	<i>Mesocyclops longisetus</i>	0.89
Cyclopoida	Cyclopidae	<i>Mesocyclops leuckarti</i>	0.38
Cyclopoida	Cyclopidae	<i>Mesocyclops woutersi</i>	0.38
Cyclopoida	Cyclopidae	<i>Acanthocyclops robustus</i>	0.75
Cyclopoida	Cyclopidae	<i>Acanthocyclops vernalis</i>	0.75
Cyclopoida	Cyclopidae	<i>Diacyclops galbinus</i>	0.32
Calanoida	Diaptomidae	<i>Aglaodiaptomus forbesii</i>	3.81
Calanoida	Diaptomidae	<i>Leptodiaptomus tyrrelli</i>	1.33
Calanoida	Diaptomidae	<i>Leptodiaptomus wilsonae</i>	3.25
Calanoida	Diaptomidae	<i>Leptodiaptomus insularis</i>	1.91
Calanoida	Diaptomidae	<i>Leptodiaptomus nudus</i>	3.33
Calanoida	Diaptomidae	<i>Leptodiaptomus garciai*</i>	0.4
Calanoida	Diaptomidae	<i>Leptodiaptomus sicilis</i>	1.77
Calanoida	Diaptomidae	<i>Leptodiaptomus Atexcac*</i>	0.37
Calanoida	Diaptomidae	<i>Leptodiaptomus La Preciosa*</i>	0.25
Calanoida	Diaptomidae	<i>Leptodiaptomus Quechulac*</i>	0.33
Calanoida	Diaptomidae	<i>Leptodiaptomus El Carmen*</i>	0.41
Calanoida	Calanidae	<i>Calanus pacificus</i>	6.81

Orden	Familia	Especie	Valor C
Calanoida	Calanidae	<i>Limnocalanus macrurus</i>	1.63
Calanoida	Centropagidae	<i>Osphranticum labronectum</i>	2.45
Calanoida	Temoridae	<i>Eurytemora affinis</i>	0.63
Calanoida	Temoridae	<i>Eurytemora composite</i>	0.79
Calanoida	Temoridae	<i>Hetercope septentrionalis</i>	5.45
Calanoida	Temoridae	<i>Temora longicornis</i>	1.31
Calanoida	Diaptomidae	<i>Neodiaptomus lymphatus</i>	0.34
Calanoida	Diaptomidae	<i>Eodiaptomus wolterecki</i>	0.37
Calanoida	Diaptomidae	<i>Phyllodiaptomus</i>	0.41
Calanoida	Diaptomidae	<i>Mastigodiaptomus</i> El Carmen*	0.44
Calanoida	Diaptomidae	<i>Mastigodiaptomus</i> Tecuitlapa*	0.35
Calanoida	Diaptomidae	<i>Hesperodiaptomus arcticus</i>	4.67
Calanoida	Diaptomidae	<i>Hesperodiaptomus nevadensis</i>	5.71
Calanoida	Diaptomidae	<i>Hesperodiaptomus victoriaensis</i>	4.37
Calanoida	Diaptomidae	<i>Hesperodiaptomus shoshone</i>	3.11
Calanoida	Diaptomidae	<i>Aglaodiaptomus leptopus</i>	2.77
Calanoida	Calanidae	<i>Calanus helgolandicus</i>	10.17
Calanoida	Calanidae	<i>Calanus sinicus</i>	8.53
Calanoida	Calanidae	<i>Calanus finmarchicus</i>	2.74
Calanoida	Calanidae	<i>Calanus marshallae</i>	10.74
Calanoida	Calanidae	<i>Calanus glacialis</i>	5.22
Calanoida	Calanidae	<i>Calanus hyperboreus</i>	5.51
Calanoida	Calanidae	<i>Pseudocalanus newmani</i>	2.25
Calanoida	Calanidae	<i>Pseudocalanus acuspes</i>	3.43
Calanoida	Calanidae	<i>Pseudocalanus minutus</i>	3.43
Calanoida	Calanidae	<i>Pseudocalanus moultoni</i>	4.37
Calanoida	Calanidae	<i>Pseudocalanus elongatus</i>	3.5
Calanoida	Calanidae	<i>Paraeuchaeta norvegica</i>	14.68