



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL



IPN-CICIMAR

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

**TAXONOMÍA Y ECOLOGÍA DE LOS PARÁSITOS HELMINTOS DE LOS
EUFÁUSIDOS Y DE SUS DEPREDADORES EN EL GOLFO DE CALIFORNIA
PARA INFERIR SUS CICLOS DE VIDA**

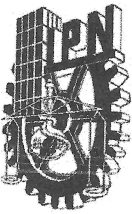
TESIS

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

PRESENTA:

JOSÉ RAÚL MORALES ÁVILA

LA PAZ, B.C.S., DICIEMBRE DE 2015



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., siendo las 12:00 horas del día 13 del mes de Noviembre del 2015 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CICIMAR para examinar la tesis titulada:

"TAXONOMÍA Y ECOLOGÍA DE LOS PARÁSITOS HELMINTOS DE LOS EUFÁSIDOS Y DE SUS DEPREDADORES EN EL GOLFO DE CALIFORNIA PARA INFERIR SUS CICLOS DE VIDA"

Presentada por el alumno:

MORALES

Apellido paterno

ÁVILA

materno

JOSÉ RAÚL

nombre(s)

Con registro:

A	1	2	0	3	9	7
---	---	---	---	---	---	---

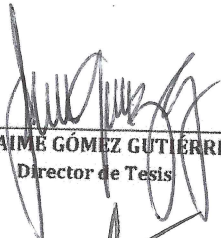
Aspirante de:


DOCTORADO EN CIENCIAS MARINAS


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


LA COMISION REVISORA


Directores de Tesis


DR. JAIME GÓMEZ GUTIÉRREZ
Director de Tesis


DRA. KARINA ACEVEDO WHITEHOUSE
2ª. Directora de Tesis


DR. FELIPE GALVÁN MAGAÑA


DRA. DIANE GENDRON LANIER

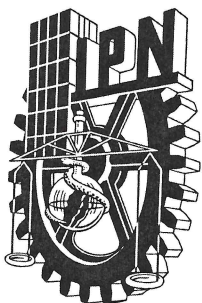

DRA. NORMA YOLANDA HERNÁNDEZ SAAVEDRA

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES


DRA. MARÍA MARGARITA CASAS VALDEZ



I.P.N.
CICIMAR
DIRECCIÓN



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de La Paz, B.C.S., el día 7 del mes de Diciembre del año 2015

El (la) que suscribe MC. JOSÉ RAÚL MORALES ÁVILA Alumno (a) del Programa

DOCTORADO EN CIENCIAS MARINAS

con número de registro A120397 adscrito al CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE CIENCIAS MARINAS

manifiesta que es autor(a) intelectual del presente trabajo de tesis, bajo la dirección de:

DR. JAIME GÓMEZ GUTIÉRREZ Y DRA. KARINA ACEVEDO WHITEHOUSE

y cede los derechos del trabajo titulado:

"TAXONOMÍA Y ECOLOGÍA DE LOS PARÁSITOS HELMINTOS DE LOS EUFÁUSIDOS


Y DE SUS DEPREDADORES EN EL GOLFO DE CALIFORNIA PARA INFERIR SUS CICLOS DE VIDA"

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

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Éste, puede ser obtenido escribiendo a la

siguiente dirección: jrmoralesa@gmail.com - jgomezgu@gmail.com - Karina.acevedo.whitehouse@uaq.mx

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


MC. JOSÉ RAÚL MORALES ÁVILA

Nombre y firma del alumno

Contenido

Dedicatoria.....	v
Agradecimientos	vi
Lista de tablas.....	xviii
Lista de anexos.....	xx
Resumen	xxiv
Abstract.....	xxvi
1. Introducción	1
2. Antecedentes.....	6
3. Justificación	9
4. Hipótesis.....	10
5. Objetivo general.....	12
6. Material y métodos.....	14
6.1. Muestreo de zooplancton en el Golfo de California	14
6.1.1. Procesamiento de muestras de zooplancton	15
6.1.2. Recolección de parásitos de tiburones	18
6.1.3. Análisis helmintológico e identificación morfológica de parásitos	18
6.2. Caracterización ecológica de la infección.....	19
6.2.1. Procesamiento de parásitos	20
6.2.2 Tinción y aclarado de parásitos (helmintos)	21
6.2.4. Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)	21
6.3. Identificación genética de helmintos.....	23
6.3.1. Extracción de ADN genómico (ADNg)	24
6.3.2. Reacción en cadena de la polimerasa –PCR (Helmintos)	26
6.3.3. Reacción en cadena de la polimerasa –PCR (cestodos y trematodos)	27
6.3.4. Reacción en cadena de la polimerasa –PCR (Nemátodos).....	28
6.3.5. Reacción en cadena de la polimerasa –PCR (Acantocefalos)	28
6.3.6. Purificación de productos de PCR	29
6.3.7. Alineamiento de secuencias	29
6.3.8. Edición y montaje de secuencias.....	30
6.3.9. Análisis filogenético	30
6.4. Identificación taxonómica de parásitos de eufáusidos del Golfo de California	31
6.5. Identificación molecular de parásitos de eufáusidos del Golfo de California	31
6.6. Identificación taxonómica y molecular de helmintos de heces de ballena	32
6.7. Efecto de la infección de parásitos helmintos en eufáusidos del Golfo de California ...	32
6.7.1. Función de eufáusidos en la transmisión de helmintos en organismos del neoton del Golfo de California.	33

6.8. Análisis de datos	33
6.8.1 Análisis de agrupamiento jerárquico de dos vías.....	34
6.8.2 Escalamiento No-Métrico Multidimensional de los eufáusidos sin y con parásitos.	35
7. Resultados.....	37
7.1. Condiciones ambientales.....	37
7.1.1 Temperatura del mar y Clorofila a (a 10 m de profundidad)	37
7.2. Descripción de la comunidad de eufáusidos	40
7.2.1 Composición específica y abundancia de eufáusidos en el Golfo de California	40
7.2.2. Distribución espacio-temporal de las tres especies numéricamente dominantes ..	41
7.2.3. Parásitos helmintos en krill del Golfo de California	45
7.4. Descripción taxonómica de larvas de Cestodos (Orden Trypanorhyncha)	47
7.4.1. <i>Hemionchos major</i> Campbell & Beveridge, 2006	47
7.4.1. <i>Mobulocestus nephritidis</i> Campbell & Beveridge 2006.....	50
7.4.3. <i>Paranybelinia otobothrioides</i> Dollfus, 1966.....	52
7.5. Descripción taxonómica de larvas de tremátodos (Familia Syncoeliidae)	58
7.5.1. <i>Paronatrema mantae</i> Manter, 1940	58
7.5.2. <i>Copiatestes</i> sp. Crowcroft, 1948.....	61
7.6. Descripción taxonómica de larvas de acantocéfalos (<i>Bolbosoma</i>).....	63
7.7. Descripción ecológica de la infección	66
7.7.1. Distribución espacio-temporal de <i>Nyctiphanes simplex</i> infectado por cestodos	66
7.8. Parasitismo de invierno (enero 2007) vs densidad de krill y variables ambientales	69
7.8.1. Parasitismo de verano (julio 2007) vs densidad de krill y variables ambientales...70	
7.8.2. Parasitismo de verano (agosto 2007) vs densidad de krill y variables ambientales	70
7.8.3. Estadio infectivo de cestodos en <i>N. simplex</i>	77
7.8.4. Infección de cestodos por sexo (enero-julio 2007 y agosto 2012)	77
7.8.5. Análisis histológico de la infección por céstodos de <i>Nyctiphanes simplex</i>	81
7.8.6. Descripción histológica de la infección de <i>Paranybelinia otobothrioides</i>	83
7.8.7. Descripción histológica de la infección de cestodos Tetraphyllidea.....	87
7.8.8. Intensidad de infección e infección múltiple.....	89
7.8.9. Microhabitats de los cestodos en <i>Nyctiphanes simplex</i>	91
7.9. Interacción parásito–hospedero evidenciada mediante análisis histológico	93
7.9.1. Índice hepatosomático/factor de condición	93
7.9.2. Parasitismo y factor de condición entre machos y hembras de krill.....	96
8 Análisis molecular de cestodos de krill	97
8.1 Extracción de ADN y amplificación de fragmentos de genes de parásitos	97
8.1.1. Caracterización molecular de helmintos de depredadores de krill	98
8.2. Filogenia de cestodos que parasitan a <i>Nyctiphanes simplex</i>	99
8.2.1 <i>Paranybelinia otobothrioides</i> Dollfus, 1966.....	99
8.2.2 <i>Hemionchos major</i> y <i>Mobulocestos nephritidis</i>	100
9. Parásitos de depredadores muestreo no cuantitativo	102
9.1. Parásitos helmintos de tiburones de Punta Lobos, B.C.S.	103
9.1.2. Parásitos de heces de <i>B. musculus</i> en el Golfo de California.	107
9.1.3. Caracterización morfológica de los huevos de parásitos <i>Bolbosoma</i> sp. 1 (Acantocefala, Polymorphidae).....	108
9.1.4. Huevos de <i>Floriceps saccatus</i> (s.s) (Cestoda, Trypanorhyncha).....	109

9.1.5. Identificación genética de helmintos de depredadores de krill: tiburones, ballena azul, calamar gigante, dorado, barrilete y lisa	109
9.2. Diversidad genética de helmintos parásitos de depredadores de krill	114
9.2.1. Análisis filogenético de <i>Bolbosoma turbinella</i> (hospedero <i>Balaenoptera musculus</i>)	114
10. Conceptualización de ciclos de vida (Acantocefalos del género <i>Bolbosoma</i>)	115
10.1. <i>Nyctiphanes simplex</i> – <i>Bolbosoma</i> spp. – <i>Balaenoptera</i> spp.	115
10.2. Conceptualización de ciclos de vida (cestodos del orden <i>Trypanorhyncha</i>).....	117
10.2.1. <i>Nyctiphanes simplex</i> – <i>Hemionchos</i> y <i>Mobulocestus</i> spp. – <i>Mobula</i> spp.	117
11. Discusión	119
11.1 Aspectos taxonómicos y genéticos	119
11.1.2. Trematodos.....	122
11.2. Patología	126
11.3. Factor de condición	129
11.4. Castración.....	132
11.5. Helmintos tróficamente transmitidos (interacción depredador–presa)	134
11.6. Conceptualización de ciclos de vida de los trematodos.....	142
12. Conclusiones	147
13. Recomendaciones	151
14. Bibliografía.....	152
Anexo.....	172

Dedicatoria

A ti padre, que siempre estás ahí para levantarme, consolarme y proveerme de la ayuda necesaria, bendito seas por siempre Señor.

A mis padres, Félix y Julieta.

Para mi hermano Toño y a su familia, Fabi, Carlitos y Fernanda.

Dedicada a mi esposa Norma y a mi hija Andrea, no tengo palabras ni manera de cómo agradecerles, pruebas difíciles que en algún momento llegué a creer que no podría con este reto. Cuatro años intensos de los tres, juntos muy juntos, las amo!!!

A mis familiares, amigos y a todos los que han contribuído para la realización de este trabajo.

Agradecimientos

A CONACyT por la beca de posgrado otorgada para realizar el doctorado durante el periodo de cuatro años (2012-2015) y a la Beca de Estímulo Institucional de Formación de Investigadores (BEIFI) asociados a los proyectos IPN-SIP 20120948, 20130224, 20140497, 20150113.

Al Instituto Politécnico Nacional (IPN) y al Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas (CICIMAR) por las facilidades prestadas para estudiar el doctorado en Ciencias Marinas del CICIMAR. En especial al Departamento de Servicios Escolares, Humberto Ceseña y César Casas, por su paciencia y ayuda en la realización de los trámites administrativos.

A los proyectos institucionales SIP-IPN 2012-2015 [Diversidad de parásitos en zooplancton y cetáceos en el Golfo de California (20120948), Ecología alimentaria y parasitismo de dos especies de cetáceos en el Golfo de California (20130224), Ecología alimentaria y parasitismo de dos especies de cetáceos en el Golfo de California (20140497) y Ecología alimentaria y parasitismo de dos especies de cetáceos en el Golfo de California (20150113)], Ciencia Básica CONACyT 2012 Interacciones parasíticas de los eufáusidos y sus depredadores en el Golfo de California para inferir sus ciclos de vida. Proyecto: CONACyT CB-2012-178615-01. A mis directores de tesis, Dr. Jaime Gómez Gutiérrez (CICIMAR) y Dra. Karina Acevedo Whitehouse (UdQ) por brindarme su apoyo para la realización de esta tesis. A los integrantes del comité tutorial, Dra. Diane Gendron Laniel (CICIMAR), Dra. Norma Yolanda Hernández Saavedra (CIBNOR) y al Dr. Felipe Galván Magaña (CICIMAR) por sus críticas y comentarios que fueron parte medular del trabajo, gracias por su tiempo y dedicación.

Agradezco a la Dra. Diane Gendron Laniel por su colaboración en la búsqueda y recolección de heces de ballena azul durante 2012-2015 como parte de los proyectos multidisciplinarios del IPN-SIP: Uso y desarrollo de software y tecnología bioacústica en el estudio de cetáceos (2013-2014) y Ecología alimentaria de la ballena azul y de aleta: conducta, bioacústica, presas y parásitos (2015-2016).

Agradezco al Dr. Felipe Galván Magaña por su ayuda para la recolección de parásitos de tiburones en Punta Lobos, B.C.S. como parte de los muestreos de los proyectos IPN-SIP: Proyecto multidisciplinario: Biología de las especies de rayas (Chondrichthyes: Batoidea) de importancia comercial en la costa occidental de Baja California Sur (SIP 20121500, 2012-2013) módulo Ecología trófica de las rayas de importancia comercial en la Costa Occidental de Baja California Sur (SIP 20120265, 2012- 2013).

Agradezco al Dr. Carlos J. Robinson por permitirnos recolectar krill en el Golfo de California, durante los cruceros CAPEGOLCA 2007-2013 y a la tripulación del B/O El Puma así como a los estudiantes graduados e investigadores del laboratorio de Ecología de Pesquerías (ICMyL-UNAM) y CICIMAR-IPN por su ayuda en la recolección de zooplancton y datos oceanográficos.

Especialmente agradezco a Delia I. Rojas-Posadas (Laboratorio de Genética Molecular del CIBNOR), Arturo P. Sierra Beltrán (Laboratorio de Especialidades Microbiológicas CIBNOR) Carmen Rodríguez-Jaramillo (Laboratorio de Histología e Histoquímica del CIBNOR), Biol. Ariel Cruz Villacorta (Laboratorio de Microscopía Electrónica de Barrido del CIBNOR) y Stefan Theisen (Laboratorio de Biología Molecular de la Universidad de Rostock) por su asistencia técnica. Agradezco a la Dra. María del Carmen Gómez del Prado Rosas (UABCS) por su asesoría en la identificación taxonómica de los parásitos helmintos.

Al profesor Dr. Harry W. Palm (Universidad de Rostock, Alemania) por haberme recibido en la estancia de investigación y por su asesoría y motivación a seguir independientemente de la adversidad.

Al profesor Ian Beveridge (Universidad de Melbourne, Australia) por la asesoría, discusión y motivación.

Agradecimientos personales

A todos mis compañeros y amigos con quienes hemos compartido amenas discusiones y siempre me demostraron su apoyo físico, moral o intelectual. Gracias por echarme la mano cuando más los necesitaba y a quienes estuvieron al pendiente de mi salud:

Miguel Angel Aguilar y su esposa Elvira, Arturo Sánchez Uvera, Diego Gámez, Francisco Barrón, Francisco Mendoza y Jazmin Vázquez, Javier Cruz Hernández, José Alfredo Ruiz Chavarría, Amaru Márquez e Isabel Valles, Lavinia Flores Cascante, María Moreno, Tamayo y Eduardo Anaya.

Compañeros de Laboratorio de Genética del CIBNOR: Arturo Sierra, Delia Rojas, Miguel Matus, Areli y Norma, gracias por compartir tantas alegrías y olvidarnos de ese duro y a veces frustrante trabajo de laboratorio.

A mis profesores: Ricardo J. Saldierna Martínez, Ricardo Palomares García, Gerardo Aceves Medina, Roxana de Silva Dávila, Paty Jiménez Rosemberg.

Lista de figuras

Figura 1. Modelo conceptual de principales depredadores conocidos de los eufáusidos en el Golfo de California, numéricamente dominados por la especie <i>Nyctiphanes simplex</i> (modificado de Del Ángel-Rodríguez, datos sin publicar).....	4
Figura 2. Número de especies de eufáusidos con reporte de parásitos y número de artículos publicados por grupo taxonómico de parásitos detectados en eufáusidos en el mundo. La diversidad de parásitos detectados en eufáusidos varía desde epibiontes relativamente inofensivos (azul) a parasitoides (barras color rojo) (Gómez-Gutiérrez & Morales-Ávila datos sin publicar).....	5
Figura 3. Estaciones oceanográficas donde se realizaron muestreos de zooplancton con red tipo Bongo (500 µm) durante cuatro cruceros oceanográficos a bordo del B/O El Puma. (A) enero 2007, (B) julio 2007, (C) agosto 2012 y (D) junio 2013. El número de estaciones de muestreo () son mostradas entre paréntesis en cada crucero.....	14
Figura 4. Fases de vida de <i>Nyctiphanes simplex</i> . Caliptopis (A), furcilia (B), juvenil (C) y adulto (D). Fotos cortesía de Jaime Gómez-Gutiérrez.....	16
Figura 5. Temperatura del mar (°C) a 10 m de profundidad y concentración de clorofila <i>a</i> registrada a 10 m de profundidad (mg m ⁻³) del Golfo de la California durante los cruceros oceanográficos de enero (A-B) y julio de 2007 (C-D), agosto 2012 (E-F) y junio 2013 (G-H).....	39
Figura 6. Distribución y abundancia de <i>Nyctiphanes simplex</i> en invierno (enero 2007) (A), verano (julio 2007, agosto 2012) (B, C) y periodo de transición (junio 2013) (D).....	42
Figura 7. Distribución y abundancia de <i>Nematoscelis difficilis</i> y <i>Euphausia lamelligera</i> en invierno (enero 2007) (A, B), verano (julio 2007, agosto 2012) (C-F) y periodo de transición (junio 2013) (G-H).....	44

- Figura 8.** Botrio de *Hemionchos major*. Botrio con margen posterior indentado y puentes internos (flecha) (A). Armadura basal distintiva (B). Microtriques del interior del botrio (C). Ganchos dorsoventralmente aplanados, lagunados y mucronados (D). Armadura basal en vista antibotrial. Vista botrial (Bv)..... 49
- Figura 9.** Vista del plerocercus de *Mobulocestus nephritidis*. Plerocercus, dentro del blastocisto (A). Parásito disectado, parcialmente desarrollado, semi envuelto por la capa interna del blastocisto (B). Armadura tentacular de *Mobulocestus nephritidis* que infecta a *Nyctiphanes simplex* (C-D). Esquema del tentáculo (tomado de [Campbell & Beveridge 2006](#)) (C) Vista externa del tentáculo con el número de ganchos (D). Vista antibotrial del tentáculo, la flecha indica la cavidad apical del gancho principal..... 51
- Figura 10.** *Mobulocestus nephritidis*. Preparación histológica corte longitudinal (A) (40X). Detalle del bulbo de *M. nephritidis* (60X). Músculo retractor (Mr). Órgano prebulbar (Op). Vainas tentaculares (Vat). Estructuras glandular subglobulares (Esg)..... 52
- Figura 11.** *Paranybelinia otobothrioides* parasitando el krill *Nyctiphanes simplex* recolectado en el Golfo de California, México. Foto de un *P. otobothrioides* vivo en el hemocele observado a bordo del buque de investigación B/O El Puma (A), corte histológico mostrando vista longitudinal de *P. otobothrioides* dentro de su blastocisto (B), blastocistos de misma muestra que contiene larvas (CD), es necesario tomar en cuenta el movimiento de contracción y expansión del blastocisto que modifica considerablemente la biometría del largo y el ancho. (E), plerocercos disectados, (M), ultraestructura del blastocisto, vista general. (G, H), detalle de aberturas, en forma de embudo en el extremo anterior y posterior. Barras de escala: A, C, 100 µm; D–H, 50 µm..... 55
- Figura 12.** Ultraestructura superficial del escólex y la armadura tentacular de *P. otobothrioides* que infectan el krill *Nyctiphanes simplex* recolectado en el Golfo de California, México. Vista dorso-ventral de escólex (689 µm longitud total de anterior a la parte posterior) final del escólex (A); pedúnculo del escólex mostrando dos botrios con márgenes laterales y posteriores libres (B), vista anterior frontal de la superficie del botrio (C); zoom mostrando los microtriques

(D), superficie externa del tentáculo, armadura metabasal con ganchos uncinados (E); (F) microtriques unciniformes, (G) detalle de microtriques unciniformes con bases extendidas y (H) cobertura distal botrial superficial. Barras de escala: A, C = 100 µm; D–H = 50 µm..... 56

Figura 13. Ultraestructura de la superficie del escólex y la armadura tentacular de *P. aranybellinia otobothrioides*. (A) microtriques capilliformes (cm) en el extremo anterior del escólex; (B–D) microtriques unciniformes (UM) en la superficie distal del botrio; (C) microtriques acerosados en la superficie distal del botrio; (E) microtriques capilliformes en la postbulbosa pars (también en pars vaginalis y bulbosa); (F) botrio en el extremo posterior; (F–G) apéndice, microtriques filiformes cortos (Fm); (H) apéndice final. Note la ausencia de microtriques capilliformes. Parte posterior del botrio con tegumento arbolado. Barras de escala: A, C = 100 µm; D–H, 50 µm..... 57

Figura 14. *Paronatrema mantae* Manter, 1940. (A–H) Trematodo mesocercaria (no enquistada) que infecta al krill *Nyctiphanes simplex* en el Golfo de California. (A, C, D, F) Fotografía con microscopio óptico y (B, E, G) dibujo de la mesocercaria. Detalle del útero enroscado (C), (D, E) ventosas accesorias de la ventosa oral, (F, G) ventosas accesorias del acetábulo y (H) dibujo de un adulto tomado de Manter (1940). VSu: ventosa ventral; aVSu: ventosas accesorias ventrales; OSu: ventosa oral; Ce: ciegos; Ph: faringe; Ut: útero; Ov: ovario; Gp: poro genital; Te: testículos; Sv: vesícula seminal; BT: cola bifurcada. Tomado de [Morales-Ávila et al. \(2015\)](#)..... 60

Figura 15. *Copiatestes* sp. Crowcroft, 1947. Trematodo en estadio de mesocercaria (no enquistada) que infecta al krill *Nematoscelis difficilis* en el Golfo de California. (A) fotografía con microscopio óptico, (B) dibujo de la mesocercaria y (C) ventosa oral. VSu: ventosa ventral; OSu: ventosa oral; Ce: ciegos; Pa: papila; Ph: faringe; Te: testículos; Ut: útero; BT: cola bifurcada. Tomado de [Morales-Ávila et al. \(2015\)](#)..... 62

Figura 16. Acantocéfalos que infectan a *Nyctiphanes simplex* en el Golfo de California. *N. simplex* infectado por *Bolbosoma balanae* (s.l) (A). *B. balanae* disectado del hemocele de *N. simplex* (B). *Bolbosoma* sp. 1, (C) y *Bolbosoma* sp. 2 (D). Figuras B–D (40X)..... 63

Figura 17. Distribución espacial de <i>Nyctiphanes simplex</i> (densidad) e infección de parásitos (prevalencia) en invierno y verano en el Golfo de California.....	68
Figura 18. Dendrograma del análisis de agrupamiento de dos vías de la matriz de los especímenes de las distintas especies de eufáusidos no parasitados y parasitados con helmintos utilizando el método de enlace de Ward y la medida de distancia de Sorensen (Bray-Curtis) para todas las estaciones del Golfo de California recolectadas durante distintas épocas del año [enero 2007 (época fría n=23), junio 2013 (época de transición fría-cálida n=19) y julio 2007 y agosto 2012 (época cálida n=389)]. La función objetivo mide la pérdida de información en cada paso en el análisis jerárquico de agrupamiento (McCune <i>et al.</i> , 2002). Los dendrogramas muestran las abreviaturas de los géneros en la primera letra mayúscula y 3-4 letras del nombre de la especie.....	73
Figura 19. NMDS mostrando las estaciones de muestreo en el espacio de las especies. Las estaciones fueron codificadas por la época del año (cruceros). Las posiciones de los puntos de especies de eufáusidos (grandes círculos azules) representan promedios ponderados de sus abundancias en el espacio de la ordenación. Los símbolos de triángulos son estaciones recolectadas en distintas épocas del año. La dirección de los vectores indica la dirección de la correlación con las estaciones y el porcentaje de varianza (%) en los datos de abundancia de las especies de eufáusidos sin y con parásitos helmintos, explicada por cada variable ambiental.....	75
Figura 20. Cestodos que infectan al krill en el Golfo de California. <i>Hemionchos major</i> (A-B). <i>Mobulocestus nephritidis</i> (C) y <i>Paranybelinia otobothrioides</i> (D). Procercoide (Pro), Plerocercoides (Ple), Blastocisto (Bl).....	77
Figura 21. Distribución de tallas de <i>N. simplex</i> infectados por cada tipo de cestodos detectados durante los cruceros de enero y julio de 2007 y agosto 2012. La flecha indica la talla mínima en la cual se ha observado a una hembra ovígera o macho con espermatóforo. <i>H. major</i> (A-C), <i>M. nephritidis</i> (D-F) y <i>P. otobothrioides</i> (G-I).....	78
Figura 22. Frecuencia de cestodos en hembras de <i>Nyctiphanes simplex</i> en función del estadio de desarrollo gonádico: I = inmaduro, II = previtelogénesis, III = vitelogénesis, IV = grávida (HI – HIV) y hembra ovígera (HOV). () indica la	

ocurrencia de hembras maduras y ovígeras infectadas con cestodos (datos no cuantitativos). Hembras no parasitadas () parasitadas ()..... 79

Figura 23. Hembras ovígeras de *Nyctiphanes simplex* infectadas por helmintos. A y B, cestodo Trypanorhyncha identificado como *Mobulocestus nephritidis* (flecha negra). Saco ovígero con tamaño de puesta considerable (flecha blanca). C, hembra ovígera de *N. simplex* infectada por *Bolbosoma* spp. (acantocéfalo). Hepatopáncreas (Hp) (flecha negra)..... 80

Figura 24. Infección de tres especies de cestodos del orden Thrypanorhyncha infectando machos y hembras maduros del krill *Nyctiphanes simplex*. A) hembra madura no infectada, la gónada muestra ovocitos en desarrollo. B) macho maduro no infectado con espermátforo extruído. C) hembra con gónada madura en estadio de reabsorción infectada con *H. major* en el hemocele. D) macho maduro infectado con *P. otophthrioides* embebido en el hepatopáncreas. E) macho con gónada madura y espermátforo en proceso de extrusión infectado con *M. nephritidis*. Parásito (P), saco ovígero (Sov), necrosis (ne), músculo (Msc), células foliculares (cf), núcleos (nu), hepatopáncreas (Hp), gónada (Go), espermátforo (Esp), cefalotórax (cfx), corazón (Co)..... 82

Fig. 25. Patología del hepatopáncreas del krill *Nyctiphanes simplex* causado por la infección del cestodo *Paranybelinia otophthrioides*. A) *N. simplex* recién colectado infectado con *P. otophthrioides*. B) corte longitudinal de *N. simplex* infectado con *P. otophthrioides*. C) hepatopáncreas de *N. simplex* no infectado, el recuadro indica la estructura saludable del lúmen del túbulo hepatopancreático. D) túbulo hepatopancreático hipertrofiado por la infección de *P. otophthrioides*. E) hepatopáncreas de *N. simplex* infectado con *P. otophthrioides*, núcleo apoptótico (→), ruptura del túbulo () y baja densidad de células B (CB). F) zona de contacto parásito-hepatopáncreas. Blastocisto (Bl), células B (CB), edema (Ed), hemal vessel (Hv), hemocito (Hm), hepatopáncreas (Hp), túbulo (Tu), lúmen (Lu), musculo (Msc), núcleo (Nu), parásito (P). Tinción hematoxilina-eosina..... 85

Figura 26. A) Área de acumulación de lipofuscinas en el hepatopáncreas de *Nyctiphanes simplex* infectado con *P. otophthrioides*. B) Áreas de lipofuscinas (), blastocisto (Bl), botrio (Bo), C) proceso inicial del desprendimiento de las paredes internas (→), desprendimiento celular y baja densidad de células epiteliales () y

D) ausencia de microvellosidades y pérdida de tejido () y descamación de las paredes internas del túbulo (), blastocisto (Bl). Flecha..... 87

Figura 27. *Nyctiphanes simplex* infectado con cestodos del orden Tetracystida (muestra recolectada con red no cuantitativa). A) *Nyctiphanes simplex*, hembra infectada con cestodos de la familia Tetracystidae. B-C) zona de melanización (→) y zona de necrosis (). D) cestodo Tetracystidae. E) vista apical que muestra las cuatro ventosas de los cestodos. F) descamación () y pérdida de epitelio (→), presencia de lipofuscinas (*) del hepatopáncreas (Hp). Parásito (P), ventosas (Ven), cromatóforo (Crm)..... 88

Figura 28. Distribución de frecuencia de la longitud total de hembras y machos de *Nyctiphanes simplex* parasitados por cestodos (las tres especies combinadas). (A) Enero 2007 (n=13), (B) Julio 2007 (n=417). El símbolo () representa el intervalo de longitud total donde se observaron especímenes infectados con dos cestodos de la misma especie por hospederos (máximo valor de intensidad)..... 89

Figura 29. Cestodos Trypanorhyncha infectando a *Nyctiphanes simplex*. A, *Hemionchos* mayor en fase pleroceroide. B, cefalotórax de una hembra *N. simplex* infectada por *H. mayor* (fase procercoide) y *Paranybelinia* otobothrioides envuelto en su blastocisto, insertado en la glándula digestiva (). C, *Paranybelinia* otobothrioides (pleroceroide) liberado del blastocisto..... 90

Figura 30. Sitios de infección (microhabitats) más frecuentes de los cestodos *H. mayor*, *M. nephritidis* y *P. otobothrioides*. Hepatopáncreas (Hp), blastocisto (Bl) y músculo (Msc)..... 91

Figura 31. Esquema conceptual de *N. simplex* que muestra los sitios de infección de los (microhábitat) de tres especies de cestodos: *Hemionchos mayor*, *Mobulocestus nephritidis* y *Paranybelinia otobothrioides*. Estómago (Est), corazón (Co), cefalotórax (Cfx), gónada (Go), segmento abdominal (Sa I-VI), intestino (Int), hepatopáncreas (HP)..... 92

Figura 32. *Paranybelinia otobothrioides*. Detectado en hepatopáncreas de *Nyctiphanes simplex*. (A) hepatopáncreas disectado in vivo la flecha señala al parásito. (B) corte histológico que muestra al parásito embebido en el hepatopáncreas. Parásito (→) y extremidad del blastocisto en forma de embudo

(⇔). Intestino (int.), hepatopáncreas (Hp.).....	93
Figura 33. Diagrama de dispersión del IHS entre machos y hembras. (A) Machos infectados (), machos no infectados (). (B) hembras infectadas (), hembras no infectadas (). En cada gráfica se muestra la línea de tendencia. Krill no infectado (—), infectado (- - -).....	95
Figura 34. Índice hepatoatómico (IHS) promedio de hembras inmaduras (GI) de krill de la estación E36 del crucero de julio de 2007. Hembras de <i>Nyctiphanes simplex</i> no parasitadas (- -) y Parasitadas por cestodos Trypanorhyncha (- -).....	95
Figura 35. Electroforesis en gel de agarosa teñidos con bromuro de etidio que muestra amplificaciones de PCR de fragmentos de genes de cestodos que infectan al krill <i>N. simplex</i> en el Golfo de California. A, <i>Paranybelinia otophthrioides</i> . B, <i>Hemionchos major</i> . C, <i>Mobulocestus nephritidis</i>	98
Figura 36. Filogenia de cestodos Trypanorhyncha <i>Paranybelinia otophthrioides</i> , <i>Hemionchos major</i> y <i>Mobulocestus nephritidis</i> que infectan a krill <i>Nyctiphanes simplex</i> (Máxima Parsimonia con el modelo TBR, bootstrap n=1000) gen 18S ADNr de 1989 pb de longitud. (Grupo externo: Diphyllidea).....	101
Figura 37. Distribución de frecuencia de longitud total (cm) de diversos peces analizados oportunísticamente para análisis de parásitos en el Golfo de California y Bahía Magdalena. A) Mictófido (<i>T. mexicanus</i>), B) lisa (<i>M. cephalus</i>), C) tiburón de profundidad (<i>C. cephalus</i>).....	103
Figura 38. Especies de tiburones analizados helmintológicamente (válvula espiral) recolectados en Punta Lobos, B.C.S.....	104
Figura 39. Diversidad de cestodos que parasitan a distintos depredadores comunes de krill en el Golfo de California. Cestodos del orden Trypanorhyncha (A-D). A) <i>Floriceps saccatus</i> ; B) <i>Heteronybelinia</i> sp. C) <i>Nybelinia</i> sp.; D) <i>Nybelinia surmenicola</i> . Tetrephyllidea (E-I) E) <i>Prosobothrium</i> sp. F) <i>Ceratobothrium</i> sp.; G) Tetrephyllidea sp. 1; H) cestodo no identificado; I) <i>Phyllobothrium</i> sp.....	106
Figura 40. Acantocéfalos adutos del género <i>Bolbosoma</i> que infectan a la ballena azul <i>Balaenoptera musculus</i> en el Golfo de California. <i>Bolbosoma</i> sp. 1 (A-D), <i>Bolbosoma turbinella</i> (s.l) (E) y <i>Bolbosoma</i> sp. 2 (F). Detalle de las espinas de la zona bulbar (B y C). Huevo (D).....	107

Figura 41. Huevos disectados del útero de un adulto de <i>Bolbosoma</i> sp. 1 (Familia Polymorphidae) adulto, recuperado de heces de ballena azul <i>Balaenoptera musculus</i> . A) embrión o acanthor dentro del huevo (→). B) huevo sin teñir. C) Cuatro capas que conforman al huevo de <i>Bolbosoma</i> sp. 1. A y D teñido con lugol. Escala=20 µm.....	108
Figura 42. Huevos disectados del útero de adultos del cestodo Trypanorhyncha <i>Floriceps saccatus</i> . A, teñido con lugol. B, huevo sin teñir. Opérculo (→). Escala 20 µm.....	109
Figura 43. Electroforesis en gel de agarosa teñidos con bromuro de etidio que muestra amplificaciones de PCR de helmintos de krill y de algunos predadores (trematodos, cestodos, acantocéfalos y nematodos). A) Trematodos (<i>Dinurus longisinus</i>) de Dorado; B) nematodos de barrilete (<i>Anisakis typica</i>); C) cestodos de krill <i>Paranybelinia otobothrioides</i> (carriles 2-4), <i>Hemionchos major</i> (carriles 5 y 6) y <i>Mobulocestus nephritidis</i> . D) Acantocefalos (<i>Bolbosoma turbinella</i>) obtenidos de heces de ballena azul (<i>B. musculus</i>). Nótese la diferencia en el tamaño de las regiones amplificadas para cada grupo de parásito. Control negativo (c.n.), marcador genético 1 Kb.....	110
Figura 44. <i>Contracaecum</i> sp. (hospedero: <i>Mugil curema</i>) A extremo anterior. B extremo posterior. <i>Anisakis</i> sp. (hospedero: <i>Katsuwonus pelamis</i> -Barrilete-). C-D extremo anterior. Escala= 400 µm.....	111
Figura 45. <i>Floriceps saccatus</i> (<i>sensu stricto</i>) que infecta al tiburón martillo <i>Sphyrna zygaena</i> (Localidad: Punta Lobos, B.C.S., México).....	112
Figura 46. <i>Nybelinia surmenicola</i> (<i>sensu stricto</i>). Parásito que infecta al calamar gigante (<i>Dosidicus gigas</i>) en el Golfo de California. A) vista general del parásito, mostrando sus cuatro tentáculos (40X). B) del pars bulbosa (cuatro bulbos alargados) curvados, apéndice y velo. C) Armadura metabasal, ganchos organizados en forma de espiral (→). Bo=Botridios; Pbo=Pars bulbosa; Vel=Velo; Ap=Apendice (estróbilo); Ten=Tentaculos; Hk=Ganchos (Hooks) (Vista tentacular metabasal).....	113
Figura 47. Trematodos que infectan al pez dorado (A-B) y barrilete (C). (A) <i>Tetrochetus</i> sp., (B) <i>Dinurus longisinus</i> (s.s) y (C) <i>Hirudinella ventricosa</i> (Barra = 2 mm).....	113

Figura 48. Análisis filogenético (gen 18S rDNA) de especies de acantocéfalos en el que se adiciona la secuencia de la especie <i>Bolbosoma turbinella</i> obtenido de heces de ballena azul recolectada en Loreto en marzo de 2015 (letras negritas y asterisco) inferido con el algoritmo de Evolución Mínima (ME). Se incluyeron 18 secuencias de nucleótidos con un total de 584 sitios comparables. Los números indican los valores de confianza (bootstrap) a 10,000 réplicas.....	115
Figura 49. Conceptualización del ciclo de vida para acantocéfalos del género <i>Bolbosoma</i> en el Golfo de California (este estudio). Ciclo de vida de <i>Bolbosoma</i> (líneas sólidas). Las líneas punteadas indican la participación de hospedero paraténico (i.e. pez o crustáceo).....	116
Figura 50. Conceptualización de ciclos de vida (cestodos del orden Trypanorhyncha).....	117

Lista de tablas

Tabla 1. Abundancia promedio (desviación estandar) y riqueza de especies de eufáusidos presentes en la región central y norte del Golfo de California (2007-2013) por época de muestreo.....	40
Tabla 2. Intervalo de prevalencia por especie de parásito que infecta a <i>Nyctiphanes simplex</i> y <i>Nematosceslis difficilis</i> (*). Cestodo (Ce), Trematodo (Tr) y Acantocefalo (Ac).....	45
Tabla 3. Intervalo de densidad de krill parasitado ind. 1000 m ⁻³ . Cestodo (Ce), Trematodos (Tr) y Acantocefalo (Ac).....	46
Tabla 4. Correlación R de Spearman ($\alpha=0.05$) prevalencia y densidad de parasitos vs. abundancia de krill y variables ambientales Invierno (enero 2007). Temperatura (T°C), Profundidad de la capa de minimo oxigeno (PCMO), porcentaje de oxigeno disuelto (%O ₂) y concentración total de clorofila (Cl a).....	69
Tabla 5. Correlación R de Spearman ($\alpha=0.05$) prevalencia de parasitos respecto a abundancia de krill y variables ambientales julio 2007. Temperatura (T°C), Profundidad de la capa de minimo oxigeno (PCMO), porcentaje de oxigeno disuelto (%O ₂) y concentración total de clorofila (Cl a). Los valores significativos se muestran en color rojo.....	70
Tabla 6. Correlación de parasitismo de cestodos para el crucero de verano (Agosto 2012) respecto a variables ambientales: Temperatura (T°C), Profundidad de la capa de minimo oxigeno (PCMO), porcentaje de oxigeno disuelto (%O ₂) y fluorescencia total de clorofila (Cl a). Los resultados significativos se muestran en negritas.....	71
Tabla 7. Resultados del Escalamiento No-Métrico Multidimensional para la abundancia total de eufáusidos sin y con parásitos (N=80) recolectados durante enero y julio 2007, agosto 2012 y junio 2013 en la región centro y norte del Golfo de California, mostrando el coeficiente de determinación entre paréntesis (r^2) y mostrando las correlaciones de Pearson y Kendall (r) de la asociación entre las distancias de ordenación y distancias originales n-espacial dimensionales para las variables ambientales analizadas. En negritas son las variables con mayores correlaciones de Pearson y Kendall en cada unos de los ejes (modos de variabilidad).....	76

Tabla 8. Análisis de varianza de dos factores del efecto de sexo y presencia o ausencia de cestodos en el índice hepato-somático de especímenes recolectados en la estación oceanográfica E36 de Julio 2007; donde tuvo una prevalencia suficientemente alta para comparar individuos de <i>N. simplex</i> infectados y no infectados en función del sexo (individuos del mismo enjambre) disminuyendo al máximo cualquier diferencia ocasionada por condiciones ambientales y alimento en el índice hepatosomático (IHS).....	96
Tabla 9. Prueba de Newman-Keuls de especímenes recolectados en la estación oceanográfica E36 de Julio 2007 donde tuvo una prevalencia suficientemente alta para comparar individuos de <i>N. simplex</i> con cestodos y sin cestodos en función de sexo (individuos del mismo enjambre) disminuyendo al máximo cualquier diferencia ocasionada por condiciones ambientales y alimento en el índice hepatosomático (IHS).....	97
Tabla 10. Hospederos analizados helmintológicamente. Cestodo (Ce), Nematodo (Ne), Acantocefalo (Ac) y Trematodo (Tr). El número de parásitos se muestra en la columna (N).....	105
Tabla 11. Parásitos de depredadores identificados genéticamente con los genes 18S, 28S y las regiones intergenicas ITS1, 5.8S e ITS2.....	111

Lista de anexos

1. Lista de parásitos de *Nyctiphanes simplex* (Ns) y *Nematoscelis difficilis* (Nd) y las principales características de los parásitos detectados hasta ahora en ambas costas de la península de Baja California, México.
2. Secuencias de parásitos obtenidas en este estudio (18, 28S e ITS)

Glosario

Abundancia: Número de organismos por unidad de área, volumen, distancia o tiempo durante el esfuerzo de observación o colecta.

Agregación: Agrupamiento de individuos conespecíficos promovido por la circulación marina donde no existe ninguna connotación social.

Biomasa: Cantidad de materia orgánica e inorgánica que compone un individuo, organismos de un nivel trófico, una población o un ecosistema. Se expresa en peso por unidad de área o volumen.

Comunidad: Unidad ecológica compuesta de un grupo de organismos de diferentes especies que ocupan un área o volumen en particular y que interactúan mediante relaciones tróficas y etológicas.

Diversidad: Número de especies de una comunidad o muestra; también conocido como riqueza específica.

Densidad: En parasitología es el número de individuos (parásitos) de una especie por unidad de área, volumen o peso del órgano o tejido infectado.

Depredación: Interacción biológica en la que un individuo de una especie heterótrofa (depredador) mata y se alimenta de varios individuos (la presas) durante su ciclo de vida para subsistir.

Dominancia: Influencia que una especie ejerce sobre una comunidad debido a su abundancia, cobertura territorial o tamaño.

Epizootia: Enfermedad que predomina transitoriamente en una región o localidad y que afecta simultáneamente a una gran cantidad de individuos de una o varias especies de animales.

Estacionalidad: Variación periódica de una variable con un periodo inferior a un año.

Factor de condición del hospedador: Relación de peso-volumen expresado como porcentaje. Este índice es comúnmente empleado para correlacionar el estado general del hospedador con la intensidad de parasitosis.

Genotipificación (caracterización genética): Proceso de determinación del genotipo o contenido genómico, en forma de ADN, específico de un organismo biológico, mediante un procedimiento de laboratorio. Es la técnica de laboratorio que se utiliza para determinar la información genética de un organismo, o genotipo, y poder diferenciarlo del resto.

Holoplancton: Organismos autótrofos y heterótrofos que durante todo su ciclo vital forman parte de la comunidad planctónica.

Interacción: Relaciones interespecíficas e intraespecíficas que ocurre entre organismos en un ecosistema.

Intensidad: Número de parásitos de una especie en un individuo hospedero.

Intensidad media: Número total de parásitos de una especie parásita dividido por el número de hospedadores parasitados.

Microhabitat: Hábitat en pequeña escala dentro de uno más grande; un área restringida donde las condiciones ambientales difieren de las del área circundante y donde existe una comunidad de organismos distintiva.

Nivel trófico: Conjuntos de especies u organismos de un ecosistema que coinciden en la posición relativa que ocupan en el flujo de energía y nutrientes; es decir, a los que ocupan un lugar equivalente en la trama alimentaria.

Necton: Organismos acuáticos capaces de desplazarse activamente mediante natación en cualquier dirección inclusive en contra de las corrientes marinas.

Parasitismo: Interacción biológica (tipo de simbiosis *sensu lato*), en la cual uno de los participantes (parásito) depende del otro (el hospedero) y obtiene algún beneficio y un parasito pasa uno o mas estadios de su vida en un solo individuo.

Pelágico: Organismos marinos que viven en la columna de agua, independientes del fondo oceánico.

Picnosis: Condensación y degeneración celular en que el protoplasma se hace más denso y el tamaño de la célula disminuye.

Prevalencia: Número de hospedadores infectados por una especie de parásito, dividido por el número total de hospedadores examinados expresado como porcentaje.

Riqueza de especies (S): Definida como el número total de especies presentes en cada muestra biológica y/o localidad (Whittaker, 1972).

Resumen

En esta tesis doctoral se identificaron taxonómicamente los parásitos helmintos de eufáusidos y de algunos de sus depredadores más comunes utilizando técnicas de morfología y genética molecular. El estudio comprendió el análisis helmintológico en 11 especies de eufáusidos (pertenecientes a cinco géneros) recolectados en 89 estaciones oceanográficas obtenidas en cuatro cruceros oceanográficos realizados en la región norte y centro del Golfo de California (enero y julio 2007, agosto 2010 y junio 2013). Los parásitos helmintos que infectan al krill fueron comparados genéticamente con los parásitos de algunos de sus depredadores más conspicuos que incluyó al calamar gigante (*Dosidicus gigas*), peces teleósteos (Myctophidae), elasmobranquios (*Cephalurus cephalus*, *Sphyrna zygaena*, *Sphyrna lewini*, *Isurus oxyrinchus*, *Pionace glauca*, *Squatina californica*) y ballena azul (*Balaenoptera musculus*) (n >240). La interacción párasito-hospedero fue investigada en términos ecológicos para describir los patrones de distribución espacio-temporal y abundancia de los parásitos y hospederos (krill). Asimismo, se describe la condición fisiológica (factor de condición, desarrollo gónadico, fecundidad, castración) del krill por efecto de estas interacciones parasíticas mediante análisis histológicos. Finalmente, se evalúa la función ecológica de los eufáusidos como fuente de infección por helmintos hacia niveles tróficos superiores en el Golfo de California. Los helmintos que infectan eufáusidos en el Golfo de California fueron numéricamente dominados por cuatro especies de Cestodos (98.8 %), mientras que los Acanthocephala (0.56 %), Nematoda (0.18 %) y Trematoda (0.37%) estuvieron presentes en considerable bajas proporciones. Las larvas de helmintos mostraron notables cambios ontogenéticos parasitando las especies de eufáusidos numéricamente dominantes *Nyctiphanes simplex*, *Nematoscelis difficilis* y *Euphausia lamelligera*, sugiriendo a estas especies zooplanctónicas son los primeros hospederos intermediarios de los cestodos Trypanorhyncha y acantocéfalos *Bolbosoma* y segundos hospederos intermediarios de trematodos Syncoeliidae. La distribución geográfica del krill infectado fue heterogénea y más agregada que la de sus hospederos. Se observó una relación directa entre la abundancia y densidad de las especies dominantes de krill respecto a la prevalencia de los parásitos (variabilidad interespecífica). Sin embargo, a nivel intraespecífico, la abundancia de *N. simplex* no se correlacionó significativamente con la densidad y prevalencia de los parásitos (variabilidad intraespecífica). La condición eco-

fisiológica del krill infectado se caracteriza por presentar hepatopáncreas de menor tamaño ($p < 0.05$) con paredes colapsadas y evidentemente menor tasa reproductiva respecto al krill no infectado. La integración de los atributos ecológicos de la población de *N. simplex* y de la comunidad de helmintos (sustentado por análisis molecular) evidencia que *N. simplex* es un vector relevante en la transmisión de los cestodos *Hemionchos major*, *Mobulocestus neprhitidis* y *Paranybelinia obothrioides* que posteriormente parasitan rayas *Mobula japonica* y *M. thurstoni* y otras especies de tiburones. Los cestodos Tetrphyllidea infectan a peces teleósteos, elasmobranquios y mamíferos marinos. Los acantocéfalos *Bolbosoma balanae*, *Bolbosoma* sp1. y *Bolbosoma* sp2. completan sus ciclos de vida en mamíferos marinos (misticetos, odontocetos y pinnípedos). El trematodo *Paronatrema mantae* parasita a *N. simplex* y posteriormente infecta a la mantarraya gigante *Manta birostris* y al tiburón ballena *Rhyncodon typus*. *Copiatestes* sp. infecta a *Nematoscelis difficilis* y posteriormente parasita el pez cinta *Regalecus*. La remarcable diversidad taxonómica de helmintos que infectan a *N. simplex* es resultado de múltiples interacciones interespecíficas con sus depredadores más conspicuos. El mecanismo trófico por depredación del krill es la principal vía de infección de estos depredadores. Se evidencia la relevancia de *N. simplex* como primer hospedero intermediario en el ciclo de vida de cestodos y acantocéfalos y segundo hospedero intermediario en el ciclo de vida de trematodos. Esta información se representó en modelos conceptuales de los ciclos de vida de los parásitos helmintos en el ecosistema pelágico del Golfo de California.

Palabras clave: Parásitos, eufáusidos, depredadores, genética, ciclos de vida, Golfo de California.

Abstract

In the present doctoral thesis we identified helminth parasites from both euphausiids and their most common predators through morphological and molecular techniques. Our study included helminthological examination of 11 euphausiid species (belonging to five genera) collected at 89 stations from four oceanographic cruises carried out in the north and center of the Gulf of California (January and July 2007, August 2010 and June 2013). Parasitic species infecting krill were genetically compared with those from its most conspicuous predators that included jumbo squid (*Dosidicus gigas*), teleost fish (Myctophidae), elasmobranchs (*Cephalurus cephalus*, *Sphyrna zygaena*, *Sphyrna lewini*, *Isurus oxyrinchus*, *Pionace glauca*, *Squatina californica*) and blue whale (*Balaenoptera musculus*) (n> 240). Parasite-host interaction was studied in ecological perspective to describe spatial and temporal distribution patterns as well as abundance of parasites and hosts (krill). Additionally, we described (by histological analysis) the physiological condition (condition factor, gonad development, fertility, and castration) of krill as a result of these parasitic interactions. Finally, the ecological relevance of euphausiids as a source of helminth infection to higher trophic levels in the Gulf of California is evaluated. Four cestodes species (98.8 %) dominated helminth community infecting krill in the Gulf of California, while acanthocephalans (0.56 %), nematodes (0.18 %) and trematodes (0.37%) occurred in considerably low proportions. The results showed that remarkable ontogenetic changes of helminth larvae occurred in the numerically dominant euphausiid species *Nyctiphanes simplex*, *Nematoscelis difficilis* and *Euphausia lamelligera*, suggesting these zooplanktonic species as first intermediate hosts for Trypanorhynch cestodes and the acanthocephalans *Bolbosoma*. Additionally krill is second intermediate host for Syncoeliid trematodes. Geographical distribution pattern of infected krill was heterogeneous, highly

aggregated. Evidence shows its density and prevalence not necessarily dependent on host density. Eco-physiological condition of infected krill showed small-sized digestive gland ($p < 0.05$), internal tubules collapsed, and presumably low reproductive rates respect to non-infected ones. Integrating ecological attributes of both *N. simplex* population and helminth community (supported by molecular analysis) support the krill *N. simplex* as conspicuous vector in the transmission of cestodes *Hemionchos major*, *Mobulocestus neprhitidis* and *Paranybelinia obothrioides* which infect *Mobula japonica* and *M. thurstoni* rays and other shark species. Tetraphyllidean cestodes infect teleost fishes, elasmobranchs and marine mammals. Acanthocephalans *Bolbosoma balanae*, *Bolbosoma* sp1. y *Bolbosoma* sp2. complete their life cycles in marine mammals (mysticetes, odontocetes and pinniped). Larval trematode *Paronatrema mantae* parasitizing *N. simplex* will complete its life cycle infecting the giant manta *Manta birostris* and the whale shark *Rhyncodon typus*. *Copiatestes* sp. infects *Nematoscelis difficilis* and it has been recorded infecting the oarfish *Regalecus glesne*. High taxonomic diversity of helminths infecting *N. simplex* highlight the multiple interspecific interactions between krill and its conspicuous predators. Trophic mechanism is suggested as the main route to infect predators. Our findings support the relevance of *N. simplex* as first intermediate host in life cycle of cestodes and acanthocephalans, and as second intermediate host in life cycle of trematodes. This information is integrated into conceptual models of the life cycles of helminths in the pelagic ecosystem of the Gulf of California.

Key words: Parasites, euphausiids, predators, genetic, life cycles, Gulf of California.

1. Introducción

Desde mediados del siglo XX se reconoce que el ecosistema pelágico del Golfo de California (GC) es una región con elevada biodiversidad que va desde los diminutos organismos planctónicos hasta los enormes cetáceos (Osorio-Tafall, 1946; Zeitzschel, 1969). Sin embargo, la biodiversidad es aún más elevada de lo que la mayoría de los investigadores reconocen debido a que cada especie interactúa con una compleja comunidad de simbioses, parásitos y parasitoides (Dobson *et al.*, 2008; Small, 2011). Aunque se conoce que el parasitismo puede afectar la salud, tasas de crecimiento y reproducción de los hospederos, incluso con efectos letales (Mauchline & Fisher, 1969; Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2003, 2009; 2010a; Walkusz & Rolbiecki, 2007), generalmente estas interacciones han sido poco exploradas o en algunos casos ignoradas en el campo de la ecología trófica y dinámica poblacional de las especies (Marcogliese, 1995; Studer *et al.*, 2010) o no incluídas en estudios de modelación de tramas tróficas en el GC (Rosas-Luis *et al.*, 2008) (Fig. 1).

En México, particularmente en el GC, existen contados estudios de parásitos de organismos zooplanctónicos como copépodos (Coats *et al.*, 2008), quetognatos, medusas (Gómez-Del Prado-Rosas *et al.*, 1999a, b, 2002; 2005; 2007, 2011; Lozano-Cobo, 2011) y eufáusidos (Shield & Gómez-Gutiérrez, 1996; Gómez-Gutiérrez & Castellanos-Osorio, 2010; Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2010a, b, 2012, 2015a, b). Heinz & Dailey (1974) posiblemente sea uno de los trabajos pioneros de parasitología en el GC en donde describieron nuevas especies de cestodos del orden Trypanorhyncha en elasmobranquios. Recientemente, Friggens & Duszynski (2005); Campbell & Beveridge, (2006, 2007) han descrito nuevas especies de cestodos del mismo orden en elasmobranquios del GC.

En el Golfo de California se han registrado once de las 86 especies de eufáusidos (krill) descritas a nivel mundial (Brinton & Townsend, 1980; Lavaniegos *et al.*, 1989). *Nyctiphanes simplex* es la especie de krill más abundante en las aguas neríticas templado-cálidas de la Corriente de California y el GC, seguida por las especies de afinidad oceánica *Nematoscelis difficilis* (afinidad zoogeográfica templada-subártica transicional) y *Euphausia eximia* (afinidad zoogeográfica tropical, endémica del Pacífico Oriental Tropical) (Brinton & Townsend, 1980; Gómez-Gutiérrez *et al.*, 1995). Debido a su elevada abundancia y su comportamiento de formar grandes enjambres éstos crustáceos son consumidos por una amplia variedad de depredadores de distintos niveles tróficos. Por lo tanto, los eufáusidos desempeñan una relevante función en el flujo de energía de meso y macroplancton a los niveles tróficos superiores en el GC (Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2010a, b, 2012b) siendo presa de múltiples especies como cefalópodos, peces pelágicos y demersales, ballenas y aves marinas (Notarbartolo-di-Sciara, 1988; Gendron, 1992; Bargu *et al.*, 2002; Beaugrand *et al.*, 2003; Baumgartner *et al.*, 2003; Karnovsky *et al.*, 2003; Rosas-Luis *et al.*, 2008) (**Fig. 1**). De esta forma, los eufáusidos pueden ser un vector relevante de múltiples parásitos (específicos y generalistas) transmitidos tróficamente a través de la trama trófica del ecosistema pelágico. Actualmente se han detectado numerosos grupos de parásitos y parasitoides en eufáusidos de diferentes partes del mundo (Sars, 1885; Mauchline & Fisher, 1969; Komaki, 1970; Marcogliese, 1995; Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2003; 2006, 2009, 2010a, 2012, 20015a, b). Gómez-Gutiérrez *et al.* (2010a) reportaron que las dos especies de eufáusidos más abundantes (*N. simplex* y *N. difficilis*) en el GC son afectados por al menos 16 distintos tipos de epibiontes y parásitos, pero su identidad taxonómica, biología, interacción biológica con sus hospederos y cómo estos parásitos completan su ciclo de vida son prácticamente desconocidos. Este desconocimiento podría tener un efecto negativo en la evaluación de la

composición faunística de las comunidades de parásitos y deficiente comprensión de cómo estos se transmiten a través de la trama trófica hasta los niveles superiores (incluyendo a los humanos) (Keesing *et al.*, 2010). Las rutas de transmisión de los helmintos desde sus hospederos intermediarios (invertebrados) hasta sus hospederos definitivos (vertebrados) ha sido ampliamente estudiado en diferentes regiones del mundo (Thompson *et al.*, 2005). Sin embargo, en el GC, aún está incipiente el estudio de los parásitos en zooplancton y necton. La conectividad y la relevancia del krill como vector de parásitos es totalmente desconocido; básicamente por que no se ha realizado esfuerzo de investigación taxonómica y ecológica de los parásitos en el ambiente pelágico. La transmisión de parásitos a través de nodos tróficos entre presas y depredadores en un ecosistema permitiría evaluar los principales vectores de parásitos hacia distintos niveles tróficos. De este modo, se aportaría información para inferir posibles rutas de infección de parásitos de krill y su transmisión a través de distintos huéspedes intermedios y/o definitivos para avanzar o completar el conocimiento de su ciclo biológico en esta región (**Fig. 1**) (Caira *et al.*, 2006). A nivel mundial la mayor parte de la taxonomía de parásitos se lleva a cabo en organismos que infectan a hospederos nectónicos de niveles tróficos altos presumiblemente con amplio espectro trófico o altas tasas de depredación, donde el efecto de bioacumulación hace que los parásitos infecten con alta intensidad. Sin embargo, los estadios larvales de los parásitos que infectan a hospederos zooplanctónicos, son menos conocidos por la relativamente baja prevalencia de infección en las abundantes poblaciones y comunidades zooplanctónicas (efecto de dilución de infección).

Considerando lo anterior es altamente probable aportar información de la parasitofauna de los eufáusidos y posiblemente descubrir nuevas especies ó describir fases larvianas de especies conocidas únicamente en su fase adulta (Chandra, 1986; Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2010a) y/o inferir extensiones de ámbito de parásitos previamente descritos en otras

regiones, pero aún no detectados en aguas mexicanas (**Fig. 2**) (Gómez-Gutiérrez & Shields, 1998; Gómez-Gutiérrez & Castellanos-Osorio, 2010).

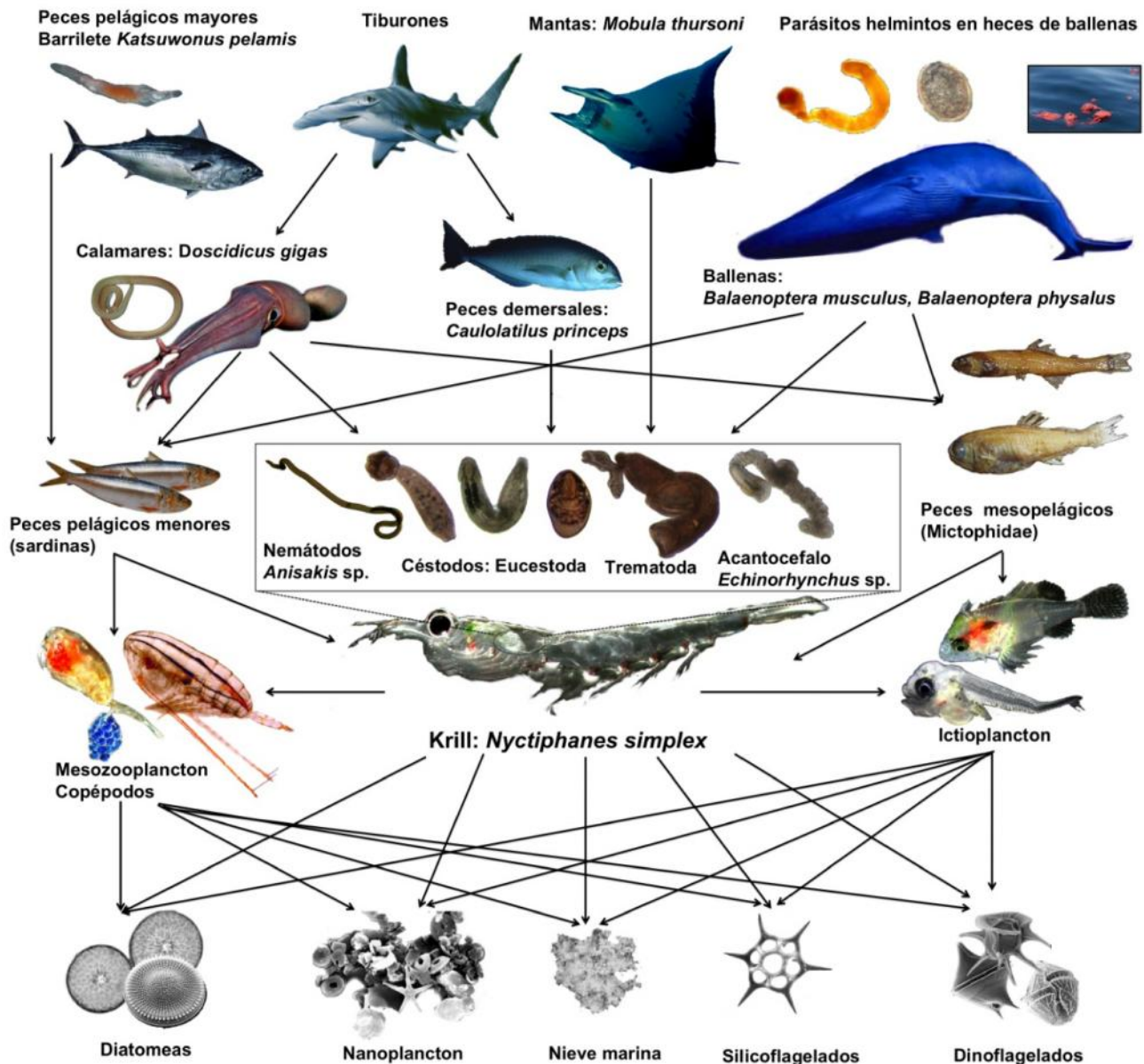


Figura 1. Modelo conceptual de principales depredadores conocidos de los eupáusidos en el Golfo de California, numéricamente dominados por la especie *Nyctiphanes simplex* (modificado de Del Ángel-Rodríguez, datos sin publicar).

También, es necesario evaluar el efecto de la parasitosis en eupáusidos mediante una aproximación histopatológica que permita caracterizar y evaluar la respuesta del hospedero a las infecciones parasíticas de cada tipo de helminto (Sparks *et al.*, 1973; Fontaine & Lightner,

1975). Para ello es indispensable utilizar técnicas histológicas o histoquímicas que permitan obtener una perspectiva morfológica y funcional de la transmisión de parásitos y de la patología de los eufáusidos, así como el impacto de las asociaciones ecológicas parásito-hospedero (Thompson *et al.*, 2005).

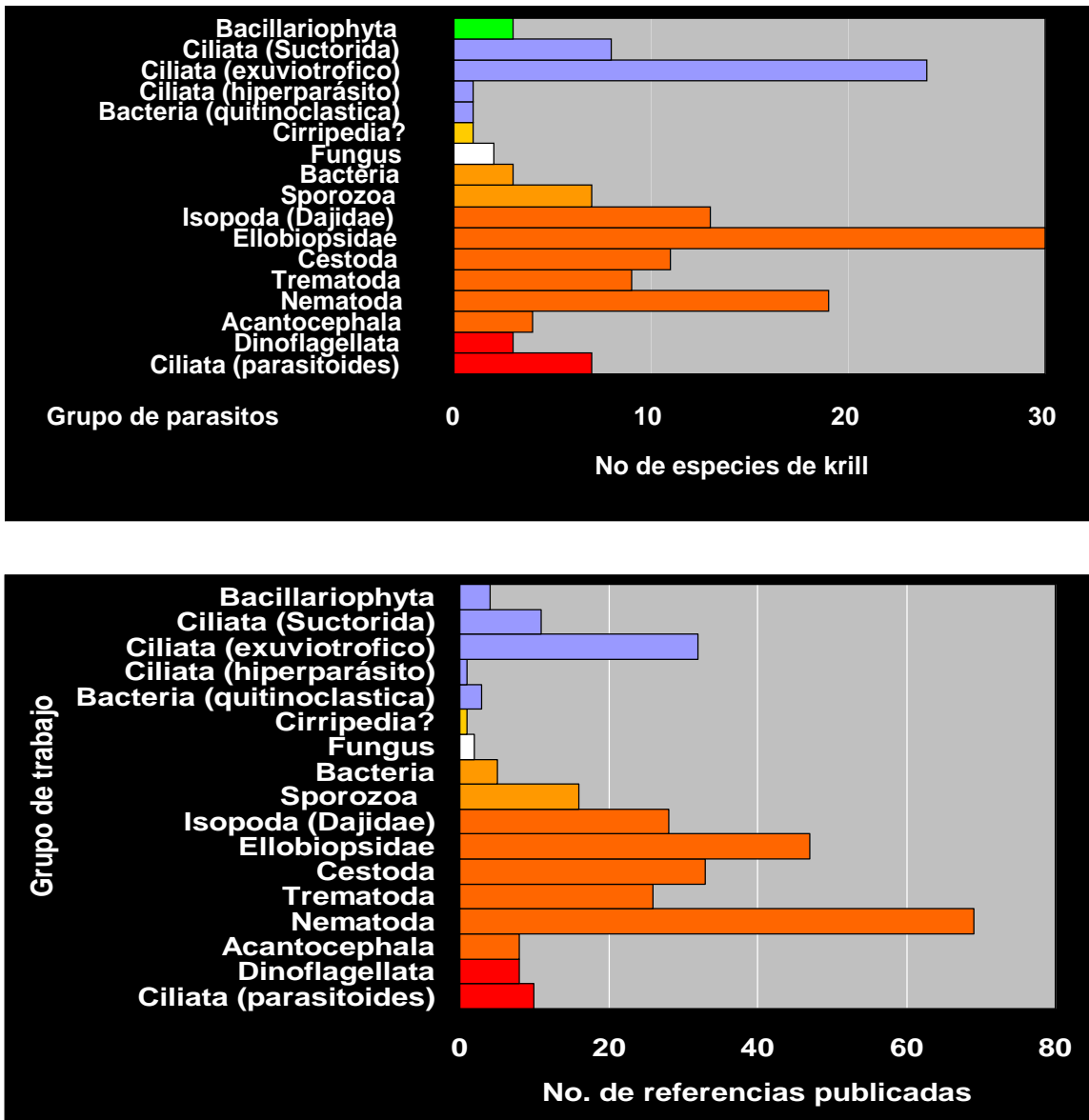


Figura 2. Número de especies de eufáusidos con reporte de parásitos y número de artículos publicados por grupo taxonómico de parásitos detectados en eufáusidos en el mundo. La diversidad de parásitos detectados en eufáusidos varía desde epibiontes relativamente inofensivos (azul) a parasitoides (barras color rojo) (Gómez-Gutiérrez & Morales-Ávila datos sin publicar).

2. Antecedentes

La mayor parte de los estudios de parásitos (principalmente en fase juvenil y adulta) en el GC han sido realizados en hospederos del macrobentos y necton ([Notarbartolo-di-Sciara, 1988](#); [Inohuye et al., 2004](#); [Tyler, 2001](#); [Tyler & Caira, 1999](#)). Es bien conocido que los primeros estadios de los parásitos (larvarios) típicamente infectan organismos zooplanctónicos, aunque se ha reportado que los valores de prevalencia en zooplancton son considerablemente menores que los observados en niveles tróficos superiores lo que sugiere un efecto de bioacumulación ([Marcogliese, 1995](#)). Esto contrasta con la perspectiva generalizada que la abundancia de larvas en cualquier especie, es típicamente más elevada que en la fase adulta. Los ciclos de vida de los parásitos, frecuentemente incluyen múltiples fases de desarrollo y amplia diversidad de hospederos intermediarios e infección generalista. Esto hace que la identificación de los parásitos en diferentes estadios de desarrollo (infectando distintos hospederos intermediarios, paraténicos o definitivos) sea una investigación multidisciplinaria sumamente compleja. Es por esto que se requiere esfuerzo de investigación sistemático y el uso combinado de métodos de identificación taxonómica morfológica, histológica y genética (marcadores moleculares) para realizar un avance significativo en la identidad taxonómica de los helmintos que infectan al krill y la conceptualización de sus ciclos de vida ([Bhadury et al., 2006](#); [Gregori et al., 2012, 2013, 2014](#)).

El primer registro de parásitos (acantocéfalos e isópodos) en eufáusidos fue descubierto en del krill del norte *Meganyctiphanes norvegica* ([Sars, 1885](#)). Los protozoarios parasitoides de huevos *M. norvegica* fueron descubiertos posteriormente en 1905 ([Dogiel, 1906](#)). En la década de 1960 aún se conocían relativamente pocos parásitos de eufáusidos

como los crustáceos Dajidae *Branchiophryxus nyctiphanae* (Caullery) y los ellobiópsidos del género *Thalassomyces* (Boschma) (familia Ellobiopsidae) (Mauchline & Fisher, 1969). Théodoridés (1989) realizó una revisión bibliográfica de los parásitos del zooplancton detectando una amplia gama de patógenos y parásitos (desde virus y bacterias hasta macroparásitos) pero no describe nuevos tipos de parásitos en eufáusidos conocidos hasta entonces. Actualmente, se conoce que los ellobiópsidos son los parásitos más comunes en las especies de eufáusidos debido a su relativamente gran tamaño en relación al tamaño del hospedero y por insertarse en el cefalotórax (mesoparásito) siendo fácilmente detectados (en al menos 30 especies de krill) (Fig. 2) (Mauchline & Fisher, 1969, Ramírez & Dato, 1989, Gómez-Gutiérrez, datos sin publicar). Sin embargo, la identidad y filogenia de este grupo de parásitos aún no está definida, aunque se conoce que están genéticamente cercanos a los dinoflagelados (incluyendo los Syndiniales/ Alveolados marinos Grupo II y los Dinokaryota) y Alveolados marinos Grupo I que a otros Alveolados marinos (Ciliophora, Perkinsozoa y Apicomplexa) (Silverman *et al.*, 2004, Gómez *et al.*, 2009).

Shimazu (2006) realizó la más reciente y extensiva revisión de los helmintos, trematodos y cestodos que infectan a los eufáusidos, principalmente recolectados en la región de Japón y Pacífico Norte. Recientes estudios de taxonomía y genética han permitido identificar a los acantocéfalos *Bolbosoma balanae* y *Rhadinorhynchus* sp. y los nematodos *A. simplex* sensu stricto y *A. pegrefii* infectando el eufáusido *Nyctiphanes couchii* en el Atlántico Norte (Gregory *et al.*, 2012, 2013, 2014).

Por otro lado, para el GC, actualmente se cuenta con un avance notable en la detección e identificación morfológica de parásitos de la ballena azul (*Balaenoptera musculus*) y de aleta (*Balaenoptera physalus*) mediante el análisis de heces y más recientemente cuantificación de huevos con la técnica McMaster (Rocha-Gosselin, 2009, Flores-Cascante,

2012; Flores-Cascantes & Gendron, 2012). Por lo que en la presente tesis doctoral, se pretende identificar los parásitos de los depredadores (principalmente cetáceos, elasmobranquios y peces teleósteos) y sus presas (eufáusidos) mediante análisis taxonómicos morfológicos y moleculares a través de observaciones directas recientes y/o registros bibliográficos acerca de hábitos alimentarios de los depredadores.

La infección de hospederos intermediarios por larvas de helmintos, provee una perspectiva del origen y estado actual de las interacciones tróficas en los ecosistemas (Marcogliese, 2001) y de cómo éstas dinámicamente modifican la estructura de la comunidad de parásitos en los hospederos definitivos (Poulin & Valtonen 2001; Vickery & Poulin 2002; Luque & Poulin, 2004). Estudios recientes se han enfocado a estudiar cómo la transmisión de parásitos se relaciona con la estructura de la trama trófica y si la infección de ciertos hospederos intermediarios específicos favorece la transmisión de helmintos parásitos hacia niveles tróficos superiores (Marcogliese, 2001, 2002; Luque & Poulin, 2004).

Se ha propuesto que la prevalencia de los parásitos y su capacidad de localizar e infectar nuevos hospederos es inversamente proporcional a la distancia entre individuos o grupos de individuos que pueden ser infectados (comportamiento social agregaciones, enjambres y/o cardúmenes) y directamente proporcional a su densidad poblacional (Kuris *et al.*, 1974; Kabata, 1981; Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2010a). En ecosistemas oceánicos oligotróficos, los hospederos generalmente tienen poblaciones poco densas y ampliamente distribuidas mientras que en ecosistemas costeros (mesotróficos y eutróficos) existen especies que tienen elevadas densidades poblacionales. Por lo tanto, las condiciones oceanográficas que propician elevadas tasas de producción secundaria o concentran el zooplancton tienden a atraer depredadores que puede facilitar o acelerar las tasas de transmisión de parásitos tróficamente transmitidos. Sin embargo, la función de los eufáusidos

en la transmisión de parásitos tróficamente transmitidos, no ha sido evaluada en el GC. Por lo que, identificaciones taxonómicas de parásitos, a partir de muestreos sistematicos permitirá cuantificar la prevalencia, intensidad, distribución y densidad de los parásitos helmintos de los eufáusidos e inferir rutas de infección a través de la trama trófica en el GC e incluso inferir extensiones de ámbitos o nuevas especies.

3. Justificación

El zooplancton marino está compuesto por una enorme diversidad de organismos que incluye organismos holoplanctónicos o meroplanctónicos de la mayoría de los fila conocidos en el ecosistema marino. Sus interacciones tróficas son complejas y regulan en gran medida el flujo de energía y biomasa desde la producción primaria y secundaria hacia los niveles tróficos superiores. Convencionalmente, se ha conceptualizado que la estructuración de las tramas tróficas está principalmente enlazada mediante interacciones de depredadores y presas. Sin embargo, las interacciones parasíticas también son relevantes en la estructuración y funcionamiento del ecosistema marino debido a que: 1) todas las especies del planeta interactúan con múltiples especies de parásitos ([Dobson et al., 2008](#)); 2) estos afectan la salud, en algunos casos la fecundidad y sobrevivencia de los hospederos influenciando en sus tasas de adecuación que típicamente disminuyen sus tasas de producción de biomasa ([Gómez-Gutiérrez et al., 2003](#)); 3) en algunos ecosistemas la biomasa de parásitos puede tener una biomasa considerable a nivel de ecosistema y 4) la pérdida de la biodiversidad de especies hospederas en un ecosistema afecta la transmisión de enfermedades infecciosas en organismos marinos e incluso en humanos ([Keesing et al., 2010](#); [Small, 2012](#)).

La composición específica de los parásitos, prevalencia, intensidad y evaluación del efecto patológico de los parásitos a los hospederos son información relevante para comprender y conceptualizar las interacciones parásito-hospedero y los factores que influyen en sus hábitos alimenticios y ciclos de vida (Lamothe-Argumedo, 1994). En el GC la mayor parte de la investigación parasitológica ha sido dirigida a estudios de helmintos juveniles y adultos que infectan hospederos nectónicos de niveles tróficos superiores. En el presente trabajo, se investigó la composición específica de los parásitos helmintos de krill con un nivel trófico relativamente bajo (*N. simplex* tiene un nivel trófico estimado de 2.1) (Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2012). Los eufáusidos son adecuados modelos biológicos para inferir asociaciones parásito-hospedero en el zooplancton debido a que: 1) son organismos holoplanctónicos cuyos adultos son de tallas relativamente grandes (macrozooplancton), 2) algunas especies, como *N. simplex* y *N. difficilis*, forman densas agregaciones, enjambres y cardúmenes mostrando un comportamiento social complejo, 3) estos tienen amplia migración vertical y horizontal dentro del Golfo de California y 4) los eufáusidos son presas de múltiples especies del necton y bentos (**Fig. 1**).

Finalmente, mediante la integración de la información obtenida en este trabajo (identificación taxonómica, morfológica y genética, prevalencia, intensidad, densidad y distribución de los parásitos) se pretende evidenciar patrones de transmisión para cada grupo taxonómico de helmintos distinto (Cestoda, Trematoda Acantocefala y Nematoda) conceptualizando la relevancia del krill como vector de transmisión de parásitos hacia niveles tróficos superiores en el Golfo de California.

4. Hipótesis

1) Gómez-Gutiérrez *et al.* (2010a) propusieron la hipótesis de que las especies de eufáusidos con mayor densidad poblacional, mayor grado de agregación y más amplia

distribución geográfica tienen mayor diversidad y prevalencia de parásitos que aquellas especies con menor densidad poblacional, menor grado de agregación y con distribución espacial más heterogénea (comparación interespecífica). Esta tesis doctoral se enfocó en probar esta hipótesis cuantificando sistemáticamente la densidad y diversidad de parásitos que infectan especies de eufáusidos numéricamente dominantes y poco abundantes del Golfo de California. Así mismo, se investigó también esta hipótesis en términos de variación intraespecífica de la especie de hospedero numéricamente dominante correlacionando la abundancia estandarizada de la especie hospedera (krill) y la prevalencia del parásito.

2) Investigaciones realizadas bajo condiciones de laboratorio muestran que los helmintos pueden incrementar las tasas de mortalidad, modificar el comportamiento (como estrategia de transmisión hacia el hospedero definitivo), disminuir las tasas de reproducción e incrementar el periodo de intermudas de los crustáceos hospederos ([Ferreira et al., 2005](#)). En general, se conceptualiza que cuando un parásito infecta al hospedero y no existe un cambio morfológico-ontogenético evidente del parásito dentro del hospedero éste es un hospedero paraténico, por lo que se asume que el flujo energético del hospedero al parásito es mínimo. En contraste, si el parásito experimenta cambio ontogenético en el hospedero, el organismo infectado es un hospedador intermediario; por ende es probable que el parásito obtenga mayor energía del hospedero. Estudios previos de parásitos en eufáusidos indican que algunos helmintos pueden castrar a los hospederos invertebrados ([Marcogliese, 1995](#); [Shimazu, 2006](#)). Se plantea la hipótesis que el krill es hospedero intermediario de helmintos, por lo que se espera encontrar distintos estadios ontogenéticos de la misma especie de parásito en la especie de hospedero y la infección tendrá un efecto fisiológico negativo que podrá observarse en la condición general del hospedero en relación al índice hepato-

somático, tasas de desarrollo gonádico, producción de huevos y crecimiento somático de los eufáusidos en el Golfo de California.

3) Los eufáusidos son omnívoros y a su vez son presa de múltiples especies de depredadores nectónicos y demersales (cefalópodos, peces teleosteos y elasmobranquios y cetáceos (**Fig. 1**). Esto implica que en las interacciones tróficas, los eufáusidos posiblemente sean un vector de transmisión de parásitos para continuar y completar sus ciclos de vida en hospederos de niveles tróficos superiores. Con base en lo anterior, se espera que la diversidad taxonómica de helmintos que parasitan krill del Golfo de California reflejará las relaciones tróficas entre el krill y sus depredadores más conspicuos. La identificación taxonómica (mediante técnicas morfológicas y moleculares) y descripción ecológica de la población e infección por helmintos en eufáusidos, contrastados con los parásitos de sus depredadores, permitirá conceptualizar los ciclos de vida de los helmintos en el ecosistema pelágico del Golfo de California.

5. Objetivo general

1. Estimar la diversidad taxonómica de los parásitos helmintos que infectan a los eufáusidos y sus depredadores comunes mediante técnicas morfológicas y moleculares, así como caracterizar la interacción parasítica en términos de prevalencia, intensidad y densidad de las especies de helmintos que infectan a los eufáusidos para conceptualizar sus ciclos de vida en el Golfo de California.

5.1 Objetivos específicos

1. Identificar las especies (*sensu stricto*) y sus distintas fases de vida de los parásitos de eufáusidos y sus depredadores mediante técnicas morfológicas y genéticas.
2. Caracterizar (cuantitativamente) la relación parásito–hospedero (densidad, distribución, prevalencia, intensidad y daño histopatológico) de las distintas especies de parásitos helmintos y los eufáusidos en distintas fases de vida mediante análisis de muestras preservadas y observaciones *in vivo* realizadas a bordo del B/O El Puma.
3. Determinar el tipo de asociación espacio-temporal de la diversidad, prevalencia e intensidad de infección de helmintos en función de las condiciones ambientales durante cuatro cruceros oceanográficos enero 2007 (época fría), julio 2007, agosto 2012 (época cálida) y junio 2013 (periodo de transición) en el Golfo de California.
4. Conceptualizar los ciclos de vida de los parásitos de eufáusidos mediante información bibliográfica y prospecciones de parásitos en muestreos de oportunidad en depredadores de eufáusidos.

6. Material y métodos

6.1. Muestreo de zooplancton en el Golfo de California

Esta tesis fue realizada mediante el análisis de eufáusidos obtenidos de 89 muestras de zooplancton recolectadas en cuatro cruceros oceanográficos en el Golfo de California a bordo del B/O El Puma (UNAM) durante enero (n=31) y julio 2007 (n=16), agosto 2010 (n=22) y junio 2012 (n=20) (**Fig. 3**).

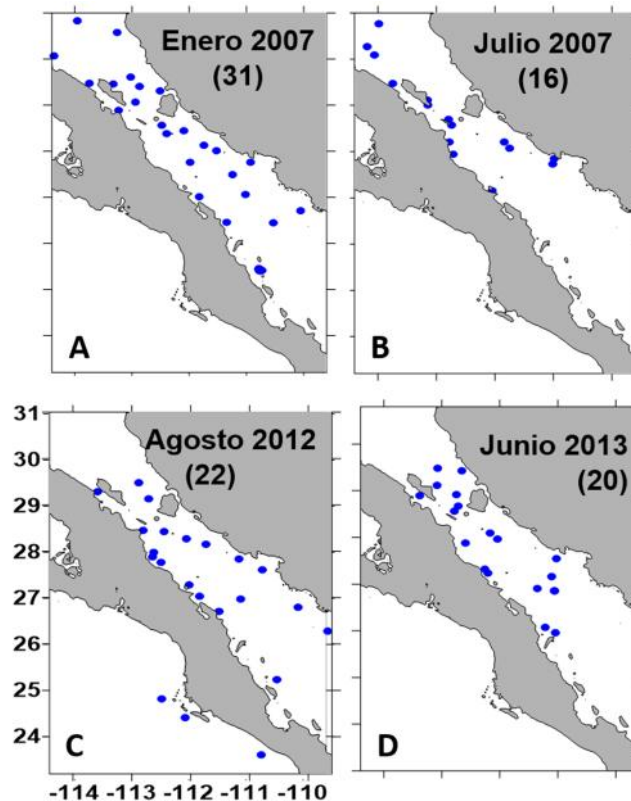


Figura 3. Estaciones oceanográficas donde se realizaron muestreos de zooplancton con red tipo Bongo (500 μm) durante cuatro cruceros oceanográficos a bordo del B/O El Puma. (A) enero 2007, (B) julio 2007, (C) agosto 2012 y (D) junio 2013. El número de estaciones de muestreo () son mostradas entre paréntesis en cada crucero.

En cada crucero oceanográfico se realizaron muestreos de zooplancton mediante arrastres oblicuos con una red tipo Bongo de 500 μm y 300 μm de luz de malla (longitud de 3 m y diámetro de la boca de 0.60 m) siguiendo el método estándar de [Smith & Richardson \(1979\)](#). Cada red se equipó con un flujómetro digital (General Oceanics) para estimar el volumen de agua filtrada. Las muestras obtenidas de 300 μm fueron fijadas con formaldehído al 4% neutralizado con una solución saturada de borato de sodio y aforadas a un volumen de 1 L y las muestras de 500 μm fueron fijadas con alcohol al 70% con un recambio completo de alcohol al término de cada crucero. Cada muestra fue etiquetada y registrada en bitácoras. Los perfiles de temperatura, densidad, salinidad y concentraciones del oxígeno disuelto (hasta 250 m de profundidad) fueron registrados mediante un CTD general Oceanic Mark III durante enero 2007 y un CTD Seabird SB09 equipado con un oxímetro SB43 en los otros tres cruceros oceanográficos posteriores.

6.1.1. Procesamiento de muestras de zooplancton

En el laboratorio, se midió el volumen de biomasa zooplanctónica por el método de volumen desplazado ([Beers, 1979](#)) y los datos obtenidos se estandarizaron a mililitros de biovolumen de zooplancton por 1000 m^3 ([Kramer et al., 1972](#); [Smith & Richardson, 1979](#)). Posteriormente, los eufáusidos fueron separados de la muestra madre, cuantificados, identificados hasta especie y por fase de vida (caliopsis, furcilia, juveniles y adultos) con claves taxonómicas ([Baker et al., 1990](#); [Brinton et al., 2000](#)). A cada espécimen se midió la longitud total de cada organismo (desde la parte posterior del ojo excluyendo el rostro hasta el telson) (**Fig. 4**).

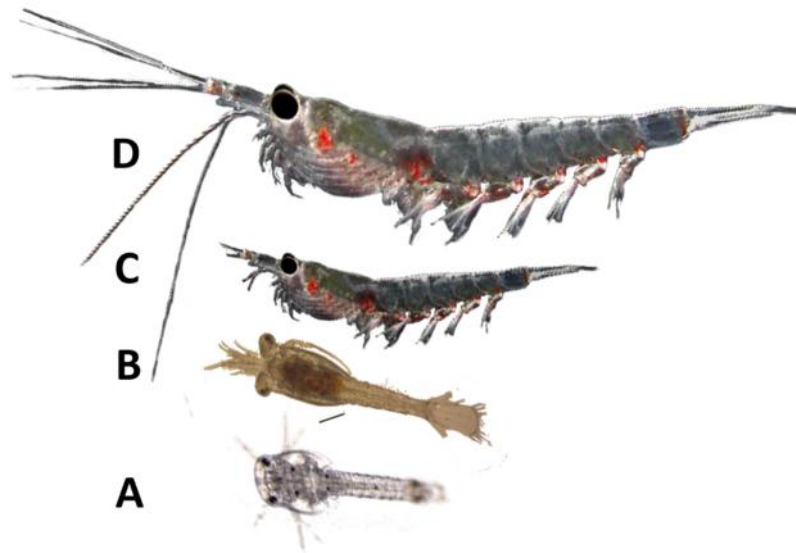


Figura 4. Fases de vida de *Nyctiphanes simplex*. Calyptopis (A), furcilia (B), juvenil (C) y adulto (D). Fotos cortesía de Jaime Gómez-Gutiérrez.

Todas las muestras de zooplancton fueron analizadas en su totalidad (es decir la muestra no fue fraccionada) y todos los eupáusidos fueron disectados y analizados para buscar endoparásitos. Esto permitió estandarizar los valores de la abundancia de krill (no parasitado) y krill parasitado a ind/1000 m⁻³ permitiendo comparar valores de densidad y prevalencia entre estaciones oceanográficas y épocas del año. La estimación de la abundancia estandarizada de los animales infectados y no infectados por unidad de volumen es una variable complementaria a la prevalencia (proporción de una población parasitada por una especie de parásito, ampliamente utilizada en la parasitología) y en el caso de la primera, permite cuantificar la infección en krill por unidad de volumen para cada especie de parásito en la columna de agua muestreada (Morales-Ávila *et al.*, 2015).

$$PA = \left(\frac{a}{fv} \right) \times 1000$$

Donde a es el número total de especímenes de krill no infectados en cada muestra para estimar la abundancia total de krill (excluyendo etapa calyptopis) o es el número total de una especie de parásito que infecta ejemplares de krill en cada muestra zooplancton (o sea krill parasitado) para estimar la abundancia estandarizada del parásito en cada localidad de muestreo; y FV es el volumen de agua de mar filtrada expresado en metros cúbicos (m^3), calculado según el método descrito por [Smith & Richardson \(1979\)](#).

6.2. Recolección de heces en áreas de alimentación de ballena azul

Desde el 2012 al 2015 se realizaron muestreos biológicos en Marzo o Abril de cada año en la región del Parque Nacional Marino Bahía de Loreto y Bahía de La Paz para recolectar muestras de heces y zooplancton en áreas de alimentación de la ballena azul (*Balaenoptera musculus*) durante su migración invernal al Golfo de California. Dependiendo de las condiciones marítimas, cada día se siguió a un solo individuo de ballena azul el mayor tiempo posible entre las 06:00 y 18:00 h para registrar su comportamiento de buceo así como actividades generales lo que favoreció la recolección de heces (ver [Flores-Cascante & Gendron 2012](#)). Cuando se detectó que la ballena defecó se recolectaron las heces para observarlas en fresco para buscar parásitos adultos y posteriormente preservarlas en etanol. Cuando se observó que la ballena se alimentaba en superficie se realizaron muestreos de zooplancton con una red cónica de 60 cm de diámetro y 333 μm de luz de malla equipada con un flujómetro para estimar volumen filtrado ([Smith & Richardson, 1979](#)) (**Fig. 3**).

6.1.2. Recolección de parásitos de tiburones

Se realizaron muestreos durante 2014 en el campo pesquero Punta Lobos BCS, México para recolectar parásitos (huevos y adultos) de elasmobranquios (tiburones y rayas). Los parásitos se extrajeron de las válvulas espirales de los elasmobranquios y se preservaron en etanol al 96%.

Las especies de helmintos (adultos y huevos) detectadas en las heces de ballena azul y/o en algunos organismos depredadores (tiburones, rayas, calamares y peces óseos) fueron caracterizados morfológica y genéticamente para contrastar las secuencias homólogas (búsqueda de identidad genética) de las secuencias de los parásitos helmintos que infectaron a los eufáusidos (NCBI BLAST –BLAST Sequence Analysis Tool–) ([Madden, 2002](#)).

6.1.3. Análisis helmintológico e identificación morfológica de parásitos

Los parásitos de eufáusidos fueron obtenidos de organismos vivos o de la disección de eufáusidos preservados para realizar su posterior identificación, descripción morfológica y análisis genético. Se seleccionaron los ejemplares mejor preservados para realizar descripciones del estadio de desarrollo de los parásitos (tipo y forma de de microtriques, presencia/ausencia de surcos botriales y tamaño) mediante microscopía óptica y microscopía electrónica de barrido (MEB) ([Chervy, 2000](#); [Palm, 2004](#)).

6.2. Caracterización ecológica de la infección

La caracterización ecológica y densidad (ind. 1000 m⁻³) de parásitos en hospederos y de los hospederos se estimó en cada muestra de zooplancton de los cuatro cruceros. Estas variables se representaron cuantitativamente de forma espacio-temporal mediante mapas de distribución realizados con el programa Surfer versión 10 10 con el método de interpolación Kridding.

La prevalencia (P), intensidad (I), abundancia media (A) (si los datos se ajustan) fueron estimadas de acuerdo a [Margolis et al. \(1982\)](#) y [Bush et al. \(1997\)](#). Asimismo, se comparó la prevalencia geográficamente en las regiones del centro y norte del GC.

Prevalencia: número de hospedadores infectados por una especie de parásito, dividido por el número total de hospedadores examinados expresado como porcentaje.

$$P = \frac{\text{Hospederos infectados}}{\text{Hospederos examinados}} \times 100$$

Intensidad: número de parásitos de una especie en un individuo hospedador.

Intensidad media: número total de parásitos de una especie parásita dividido por el número de hospedadores parasitados.

Abundancia media: número promedio de parásitos por especie hospedera examinado en una muestra (incluyendo a los individuos no infectados de la misma especie). Se calcula con la media aritmética dividiendo el número total de parásitos presentes en una muestra de hospedadores examinados positivos entre el número total de hospedadores examinados.

Densidad: número de individuos de una especie de parásito en particular por unidad de área, volumen o peso del órgano o tejido del hospedero infectado.

Índice hepatosomático (IHS): proporción de la longitud del eje más largo del hepatopáncreas y la longitud del cefalotórax expresada en porcentaje. Este índice es comúnmente empleado para correlacionar el estado general de salud del hospedero (factor de condición) (Nicol et al., 2000, Shin, 2000, Virtue et al, 2010). Se asume que mientras más grande es el IHS el eufáusido tiene mejor condición de salud. Se espera que los eufáusidos infectados por helmintos tengan valores del IHS significativamente menores que los organismos saludables de su misma longitud total. En este caso, se usará como variable para detectar cambio entre krill parasitado vs. no parasitado (pareo) de la misma estación de muestreo para evitar que otras variables afecten la comparación de el IHS entre individuos de la misma talla (las variables como talla, sexo, estadio de desarrollo gonádico, fueron controladas). Esto fue estadísticamente comparado mediante un ANOVA ($\alpha = 0.05$).

$$\text{IHS} = \frac{\text{Longitud del hepatopáncreas}}{\text{Longitud del cefalotórax}} \times 100$$

6.2.1. Procesamiento de parásitos

Los parásitos recolectados y analizados del krill a bordo del B/O El Puma durante el período 2012 a 2014 fueron fijados en alcohol 70-90% para realizar posteriores análisis genéticos (típicamente especímenes recolectados con la red de deriva) y formol 4% (conservación de la morfología y el patrón de coloración). Los especímenes helmintos disectados de los eufáusidos seleccionados para análisis taxonómicos se fijaron en las mismas soluciones calientes (a punto de hervir). Algunos otros se preservaron en solución Karnovsky y/o Davidson para realizar análisis histológicos. Los nematodos obtenidos de depredadores de krill, fueron fijados en alcohol o formol y posteriormente, se trasladaron en

una solución compuesta de glicerina-alcohol caliente (nueve partes de alcohol 70% a una parte de glicerina). Después éstos fueron aclarados mediante la evaporación del alcohol. Los parásitos (montados en glicerina sobre un portaobjetos) se describieron y midieron morfológicamente mediante el uso de microscopio compuesto y fotos digitales tomadas con una cámara Canon G11 ([Pippy & Van Banning, 1975](#); [Beverley-Burton *et al.*, 1977](#)).

6.2.2 Tinción y aclarado de parásitos (helminetos)

Los ejemplares de acantocéfalos mejor preservados fueron sumergidos en una mezcla de glicerina y etanol al 70% (1:1 =v/v) para aclararlos. Posteriormente, fueron montados temporalmente para observarlos con un estereomicroscopio para su identificación basada en la clave de familias y subfamilias de acantocéfalos ([Amin, 1987](#); [Shih *et al.*, 2010](#)). Todas las mediciones se reportaron en milímetros (mm). Los nematodos fueron aclarados directamente con solución de ácido láctico, mientras que los cestodos y trematodos se montaron con la técnica de lavados y deshidratados por sucesión de una serie de soluciones graduales de alcohol de diferentes concentraciones (concentraciones de 70 -100 %). Posteriormente, fueron teñidos con Carmín acético hematoxilina y/o solución de tricómica de Gomori alcohólica ([Palm, 2000, 2009](#)).

6.2.4. Microscopía Electrónica de Barrido (MEB)

Los helmintos disectados de los eufáusidos fueron deshidratados en series de etanol de concentración de 70–100% hasta el punto crítico de secado (Polaron E3000). Se

recubrieron con oro-paladio al 60% (Polaron E5100) y se observaron con un microscopio electrónico de barrido (MEB) marca Hitachi modelo S-3000N en el laboratorio MEB del Centro de Investigaciones Biológicas del Noroeste (CIBNOR, La Paz, B.C.S.). Para los cestodos que infectan al krill, se observó la superficie del cuerpo particularmente enfocado a observar los tentáculos, escólex y botrios (cabeza).

6.2.5. Histología (Anatomía interna)

Durante los muestreos a bordo del B/O El Puma después de la observación de eufáusidos en vivo, se separaron eufáusidos parasitados y no parasitados de las mismas estaciones de muestreo y se fijaron en solución de Karnovsky durante 48 h. Posteriormente, se transfirieron en una solución de alcohol al 70% y se mantuvieron en refrigeración o a temperatura ambiente y en condiciones de oscuridad para su traslado al laboratorio de histología e histoquímica del CIBNOR, La Paz, B.C.S.

Los eufáusidos fueron deshidratados en una serie progresiva de etanol desde 80 hasta 100% (cambios progresivos de 10%) durante una hora en cada cambio. Posteriormente, los organismos fueron aclarados en xileno e incluidos en Paraplast X-Tra con punto de fusión de 54–56° C. De las inclusiones de eufáusidos en parafina se obtuvieron cortes longitudinales de 4 µm de grosor con un microtomo de rotación Leica RM 2155. Para el análisis cualitativo y cuantitativo de la morfología interna de los eufáusidos se empleó la técnica Hematoxilina-Eosina (H-E) (Sheehan & Hrapchak, 1973; Humanson, 1979). Los cortes histológicos teñidos fueron observados y fotografiados individualmente (2–6 cortes por espécimen) con una cámara digital Cool SNAP-Pro adaptado a un microscopio compuesto marca Olympus BX41 y con el programa Image Pro Plus (v 5.1.0.20). Con los cortes

histológicos de eufáusidos no parasitados se identificó la morfología interna para ambos sexos y se compararon con estudios del desarrollo gonádico previos en las especies de *Nyctiphanes simplex*, *Nematoscelis difficilis* y *Euphausia eximia* (Zavala-Hernández, 2007, Gómez-Gutiérrez et al., 2010b). La descripción de la morfología interna y desarrollo gonádico de machos y hembras (sin presencia de parásitos), se usó como marco de referencia para compararla con respecto a la morfología de órganos y células de krill parasitados con helmintos.

6.3. Identificación genética de helmintos

Algunos de los parásitos helmintos de los eufáusidos fueron lavados en solución salina (cloruro de sodio al 0.9%) para posteriormente fijarlos y conservarlos con alcohol etílico al 70-100 % para análisis genéticos. Los especímenes fijados en alcohol 90–100% fueron usados para obtener secuencias de genes o regiones espaciadoras diferentes (18S, 28S, ITS) dependiendo del polimorfismo genético de la región objetivo para definir la identidad de un determinado grupo de parásito [trematodo (solo para depredadores, no disponibles para los dos trematodos encontrados en krill), cestodo, nematodo o acantocéfalo] incluyendo réplicas de 1 a 8 individuos por cada taxón (dependiendo de su abundancia total). Los oligonucleótidos (cebadores), la región blanco (fragmento a secuenciar), así como su longitud (pares de bases –pb–) dependió de la resolución necesaria del fragmento blanco para discriminar dentro y entre grupos taxonómico operacionales (OTUs) de cada taxón analizado. Otro factor considerado para elegir la región blanca, fue la disponibilidad de secuencias depositadas en la base de datos de Genbank. Para la amplificación de genes se emplearon iniciadores (en inglés “primers”) preferentemente universales para metazoarios y para cada

grupo de parásito (i.e. platelmintos) ([Loreille et al., 2001](#); [Yuryev, 2004](#); [Suzuki et al., 2006, 2008](#) [Gregori et al., 2012, 2013, 2014](#)).

Los fragmentos “pequeños” (SSU ribosomal DNA –rDNA–) y “grandes” (LSU ribosomal DNA –rDNA–) de ADN ribosomal proporcionan una combinación de porciones del genoma que contienen sitios constantes que favorecen alineaciones múltiples entre secuencias homólogas y sitios variables que proporcionan información para interpretar aspectos de taxonomía y filogenia de cada grupo taxonómico de parásito. Además, la región SSU proporciona una perspectiva filogenética robusta de los platelmintos en las relaciones del método de reconstrucción y suficiente secuencia de bases de ácidos nucleicos bajo el escrutinio del análisis bootstrap ([Littlewood & Olson, 2001](#)).

6.3.1. Extracción de ADN genómico (ADNg)

En este trabajo se emplearon cinco técnicas de extracción de ADN genómico total (ADNg) de parásitos, dependiendo de: 1) la procedencia (krill o depredadores), 2) estadio de desarrollo (larva o adulto) y 3) grupo taxonómico de los parásitos (trematodo, cestodo, nematodo o acantocéfalo). Algunas de estas técnicas fueron estandarizadas en su totalidad (técnica 1), las técnicas 2 – 4 fueron adaptadas mediante modificaciones de volúmenes, concentraciones y/o tiempo de reacción en cada paso. La técnica 5, se llevó a cabo de acuerdo a las recomendaciones proporcionadas por el fabricante QIAGEN.

1) **Chelex® 100 al 5%**. Se realizó la extracción de ADN genómico total de especímenes parásitos enteros (blastocisto ~ 460 µm de diámetro) fijados y conservados en etanol 100%. Los parásitos se colocaron individualmente en tubos Eppendorf de 0.6 ml y se

presionaron contra la pared del tubo para romper el parásito con una pipeta fina que contenía 45-60 µl de Chelex® 100 al 5%. Posteriormente, se añadió proteinasa K (15 mg / ml) seguido de incubación a 60° C durante 45 min, baño en agua a temperatura de ebullición durante 8 min y se centrifugó a 10 000 rpm a 25° C durante 5 minutos. El sobrenadante se usó como molde en reacciones de PCR posteriores ([Morales-Avila et al., en preparación](#)).

2) **Hot-shot.** El espécimen (parásito), se colocó dentro de un tubo Eppendorf y se añadió 30µL de buffer de lisis alcalino (NaOH 25mM, disodium EDTA 0.2mM, pH 8.0) se realizó la disgregación del parásito mediante incubación a 95° C durante 15 min. Se dejó enfriar en hielo de 3-4 minutos y se adicionó 30µL de solución buffer neutralizante (Tris-HCl 40mM, pH 5.0). La muestra fue agitada en un vórtex y se centrifugó (pocos segundos – pulso). Posteriormente, la muestra se conservó a 4° C para usarse como templado en reacciones de PCR o se guardaron a -20° C para almacenarlas por tiempo prolongado ([Montero-Pau et al., 2008](#)).

3) Extracción con el método de lisis (Worm Lysis). Se adicionó 15 µL de solución de lisis directamente en el parásito y se sometió a congelamiento a -70° durante 15 min. Se descongeló a temperatura ambiente y se adicionó aceite mineral para posteriormente incubarlo a 60° C por 1 h. Se calentamiento a 95° C por 15 min seguido por enfriamiento a 4° C. La preparación fue mezclada antes de tomar 2.5 µL en reacciones de PCR ([Williams et al., 1992](#)).

4) **Doyle y Doyle.** Esta técnica requiere la incubación del buffer de lisis a 60° durante 15 min y la muestra debe incubarse en esta solución durante 5 min. Se agregó 500 µL del

buffer precalentado y 0.2 mL de perlas de vidrio y 5 μ L de proteinasa K (10mg/mL). La muestra fue agitada por 40 s. Se centrifugó 10-15 s a 10 000 rpm. La muestra fue incubada durante 1 h en total, por lapsos de 20 min seguida por agitación y centrifugación. Se adicionaron 500 μ L de cloroformo-isoamil alcohol (24:1) y se mezcló gentilmente por inversión. La muestra se centrifugó a 13 500 rpm por 10 min a 4° C, después se recuperó el sobrenadante acuoso y se depositó en un tubo Eppendorf nuevo en donde se agregaron dos volúmenes de alcohol absoluto frio (-20° C) por cada volumen recuperado. Se adicionó 2 μ L de acetato de amonio (4M) y se dejó precipitar toda la noche a -20° C (Doyle & Doyle, 1987).

5) **Kit de extracción.** Se utilizó el kit de extracción DNeasy Tissue Kit TM (QIAGEN) siguiendo el protocolo estándar recomendado por el fabricante. En este caso, se utilizó 2-5 μ L de ADNg (medidos en un NanoDrop 1000; Thermo Scientific) como molde en reacciones 25 μ L.

6.3.2. Reacción en cadena de la polimerasa –PCR (Helmintos)

Las mezclas de PCR comprendieron 0.5 μ l dNTPs (10 mM), 2.5 μ l de buffer (15 mM MgCl₂), 0.75 μ l de MgCl₂ (50 mM), 2.5 μ l de DMSO 5%, 2 μ l de cada iniciadores (10 pmol/mL⁻¹) y 1U de Taq polimerasa de (Invitrogen 5U/ μ l). La concentración de ADN genómico final varió desde 150-300 ng/ μ l. Se añadió agua estéril para llevar la mezcla al volumen final (25 μ l). Tanto el ADNg como los productos de PCR se cuantificaron con un espectrofotómetro Nanodrop (ND2000 Thermo científica, BIO-RAD). 3 μ l de los productos de PCR se sometieron a electroforesis (buffer TBE 1X durante 45 min a 80 V) en gel de agarosa

en 1% (teñido con bromuro de etidio) para comprobar la calidad del ADN. Los geles se fotografiaron bajo un Sistema de Documentación XRS Gel Chemi (Multi-Imager, BIO-RAD).

6.3.3. Reacción en cadena de la polimerasa –PCR (cestodos y trematodos)

La amplificación por PCR (T100TM Thermal Cycler BIO-RAD) de fragmentos ssrDNA (~1989 bp) se llevó a cabo durante al menos 8 muestras. Se utilizaron los cebadores universales 1F 5'-AACCTGGTTGATCCTGCCAG-3' y 1528R 5'-TGATCCTTCTGCAGGTTACCTAC-3' (Medlin *et al.*, 1988). Adicionalmente y para fines comparativos, se utilizaron los cebadores WormA 5'-GCGAATGGCTCATTAAATCAG-3'; WormB 5'-TTGTTACGACTTTTACTTCC-3' y los cebadores internos para la cobertura total de doble hebra 1270F 5'-ACTTAAAGGAATTGACGG-3' y 1270R 5'-CCG TCAATTCCTTTAAGT-3' (Littlewood & Olson, 2001). La región parcial del lsrDNA se obtuvo con los cebadores universales D1RF 5'-ACCCGCTGAATTTAAGCATA-3' y D1CR 5'-CTCTCTTTTCAAAGTCCTT-3' (Elwood *et al.*, 1985; Scholin *et al.* 1994) y los primers ZX-1 (van der Auwera *et al.*, 1994, modificados por Littlewood *et al.*, 2008) y 1500R 5'-GCTATCCTGAGGGAACTTCG-3' (Olson *et al.*, 2003). El protocolo de ciclado para la región parcial del ssDNA con los cebadores 1F y 1528R fueron las siguientes: desnaturalización durante 5 min a 95° C, seguido por 35 ciclos de 1 min a 95° C, 1 min a 55° C, 2 min a 72° C; y 10 min de extensión a 72° C. Protocolo de ciclado para obtener la región parcial del ssDNA con los cebadores WormA y WormB así como con los cebadores 1270F y 1270R fueron las siguientes: desnaturalización durante 2 minutos a 94° C, seguido por 40 ciclos de 30 s a 94° C, 30 s a 54° C, 2 min a 72° C y 10 min de extensión a 72° C. Protocolo de ciclado para la amplificación parcial del lsrDNA (~ 800 pb con los cebadores D1RF y

D1CR) fueron las siguientes: desnaturalización durante 5 min a 95° C, seguido por 35 ciclos de 1 min a 95° C, 1 min a 45° C, 2 min a 72° C y completada por 7 min a 72° C. Protocolo de ciclado para la amplificación parcial del *lsrDNA* (~ 800 pb con los cebadores ZX-1 y 1500R) fueron las siguientes: desnaturalización durante 5 min a 95° C, seguido por 40 ciclos de 30 s a 95° C, 30 s a 55° C, 2 min a 72° C y terminado por 7 min a 72° C ([Littlewood et al., 2008](#)).

6.3.4. Reacción en cadena de la polimerasa –PCR (Nemátodos)

En el caso particular de los nematodos, éste fue identificado genéticamente a nivel especie con el marcador genético ribosomal que comprende la región ITS1-5.8S-ITS2 y la secuencia flanco (= ITS+) (internal transcribed spacer). Esta región se amplificó usando los primers NC2 (5'-TTAGTTTCTTTTCCTCCGCT-3') y TK1 (5'-GGCAAAGTCGTAACAAGGT-3'); ([Zhu et al., 2000, 2002](#); [Kuhn et al., 2011](#)).

6.3.5. Reacción en cadena de la polimerasa –PCR (Acantocefalos)

Los cebadores universales 18SU467F 5'-ATCCAAGGAAGGCAGCAGGC-3' y 18SL1310R 5'-CTCCACCAACTAAGAACGGC-3' fueron diseñados por [Suzuki et al. \(2006\)](#) para amplificar el dominio central del gen 18S rDNA. El ciclado para la PCR se conformó por desnaturalización inicial a 94°C por 2 min, seguido por 35 ciclos de amplificación, desnaturalización a 94°C por 30 s, alineación a 55°C por 1 min y extensión a 72°C por 2 min, con una extensión final a 72°C por 7 min.

6.3.6. Purificación de productos de PCR

Los productos de PCR amplificados fueron purificados utilizando el kit de purificación ExoSap (ExoSap-it, GE Healthcare, Piscataway, NJ, EE.UU.) de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Las reacciones de secuenciación se realizaron en un termociclador MJ Research PTC-225 Peltier usando un ABI PRISM® BigDye™ Terminator Cycle Sequencing Kits con ADN polimerasa AmpliTaq® (enzima FS) (Applied Biosystems), siguiendo los protocolos suministrados por el fabricante. La secuenciación de una sola pasada se realizó en cada templado usando los dos cebadores de PCR así como los cebadores internos de ambas cadenas (Elwood *et al.*, 1985; Medlin *et al.*, 1988; Scholin *et al.*, 1994; Littlewood & Olson, 2000; Littlewood *et al.*, 2008). Los fragmentos marcados con fluorescencia se purificaron a partir de los terminadores no incorporados con protocolo de purificación BigDye® Xterminator™. Las muestras se resuspendieron en agua destilada y se sometieron a electroforesis en un secuenciador ABI 3730xl (Applied Biosystems).

6.3.7. Alineamiento de secuencias

El fragmento del *ssrDNA* recién generado y las secuencias parciales *lsrDNA* se alinearon con secuencias homólogas (disponibles en el genbank) para corroborar la identidad del taxón caracterizado en este trabajo.

La conformación de los taxones para el análisis filogenético dependió de cada uno de los especímenes (trematodo, cestodo, acantocéfalo o nematodo), o en su caso, las secuencias solo fueron usadas para corroborar la identidad.

Para el caso particular de los cestodos que infectan al krill (primera caracterización), el

análisis filogenético se realizó incluyendo 97 taxones del orden Trypanorhyncha, pertenecientes a 13 de las 15 familias conocidas y cinco taxones Diphyllidea seleccionados como grupos externos (Palm, 2009).

6.3.8. Edición y montaje de secuencias

La edición, alineación y montaje de secuencias contiguas se hicieron con Bioedit versión 7.2.5 (Hall, 2005). La identidad de secuencia se comprobó mediante BLAST (www.ncbi.nih.gov/BLAST/).

Se realizó una búsqueda de secuencias homólogas mediante el programa BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) del banco genético del NCBI (Genebank), para comparar con las secuencias obtenidas en este trabajo. Posteriormente, las secuencias fueron editadas, alineadas y comparadas manualmente con el programa Clustal W. Las secuencias de los genes ribosomales (18S, 28S o ITS) de los helmintos, se realizó el análisis filogenético por cada grupo (nematodos, cestodos, acantocéfalos y trematodos). Se pretende ingresar secuencias parciales de ambos genes en el banco genético y dar a conocer el estatus taxonómico y/o filogenético del grupo de parásitos detectados en eufáusidos a través del GenBank (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>; el número de acceso que en su momento le sea asignado).

6.3.9. Análisis filogenético

Las alineaciones múltiples de secuencias obtenidas en este trabajo fueron alineadas con secuencias homólogas (análisis de alineación múltiple –MSA-) utilizando ClustalX

(Thompson *et al.*, 1997). El análisis filogenético se realizó con el programa MEGA 6 (Tamura *et al.*, 2013). Las regiones que no pudieron ser alineadas (ambiguas) fueron excluidas del análisis.

6.4. Identificación taxonómica de parásitos de eufáusidos del Golfo de California

Los helmintos parásitos de los eufáusidos recolectados en los cruceros del Golfo de California (2007, 2012 y 2013) fueron identificados morfológicamente mediante mediciones merísticos al nivel taxonómico más preciso posible con las claves de identificación disponibles para cada grupo (Campbell & Beveridge, 1994; Palm, 1997, Gibson *et al.*, 2002; Anderson, 2000). Especímenes seleccionados fueron observados en el microscopio electrónico de barrido (MEB) en el CIBNOR siguiendo los protocolos descritos en Boström (1989), Boström & Gydemo (1983) y Shimomura & Ohtsuka (2008). La nomenclatura de estructuras morfológicas de los cestodos se basó en los criterios de Chervy (2002), Jones *et al.* (2004) y Conn & widerski (2008). Finalmente, se realizaron descripciones morfológicas de estadios larvales de parásitos conocidos descritos sólo en fase (Campbell & Beveridge, 1994; Palm, 1997).

6.5. Identificación molecular de parásitos de eufáusidos del Golfo de California

Los parásitos detectados en eufáusidos y en sus depredadores fueron comparados mediante la amplificación de fragmentos de los genes 18S ó 28S. Los detalles de las técnicas moleculares se describen en el apartado: Análisis genético por grupo de parásito (este documento).

6.6. Identificación taxonómica y molecular de helmintos de heces de ballena

Posterior a la caracterización morfológica, histológica y molecular de los helmintos detectados en eufáusidos, se procedió a la identificación de los helmintos (adultos) de heces de ballena azul y de aleta.

6.7. Efecto de la infección de parásitos helmintos en eufáusidos del Golfo de California

Se conformó una base de datos con información derivada de la observación de las especies de krill infectados por helmintos. Dicha base, contiene información de las mediciones de los hospederos parasitados y no parasitados (de la misma estación), sexo, desarrollo gonádico (estadios I–IV), ([Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2010b](#)), fase de desarrollo (caliplotis, furcilia, juvenil y adultos), longitud total, longitud del cefalotórax y mediciones de longitud de hepatopáncreas para obtener el factor de condición (índice hepatosomático) el cual es una relación longitud/hepatopáncreas ([Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2012b](#)).

Los cestodos recolectados fueron teñidos y aclarados mediante técnicas convencionales para su posterior identificación morfológica (complementada con la información de secuencias de genes) y la descripción (diagnóstico) del estado de desarrollo del parásito. Se documentó el daño provocado al hospedero mediante técnicas de histología y observaciones del desarrollo gonádico (*in vivo*). Se identificó qué tipo de helminto puede afectar el desarrollo de las gónadas o si tienen efecto en la condición del hospedero.

6.7.1. Función de eufáusidos en la transmisión de helmintos en organismos del necton del Golfo de California.

Se realizaron prospecciones de parásitos en muestreos de oportunidad y/o bibliográficamente en diferentes especies de necton ($n > 240$) (depredadores de eufáusidos como calamares, peces, elasmobranquios y ballena azul, en estos últimos a partir de heces) para compararlos con los parásitos detectados en eufáusidos de muestreos cuantitativos. El análisis no cuantitativo de las heces se llevó a cabo por medio del análisis copro-parasitológico (Rocha-Gosselin, 2009; Flores-Cascante, 2012; Flores-Cascante & Gendron, 2012). Para este trabajo se usaron sólo muestras fijadas en alcohol al 100%.

Finalmente, mediante la integración de la información obtenida en este trabajo (identificación taxonómica, morfológica y genética, prevalencia, intensidad, abundancia y distribución de los parásitos) se conceptualizan rutas de transmisión/infección para cada grupo de helminto que evidencie al krill como vector relevante en la transmisión de parásitos hacia niveles tróficos superiores en el GC.

6.8. Análisis de datos

En cada crucero, se realizaron comparaciones múltiples por el coeficiente no paramétrico de correlación de rangos de Spearman ($\alpha = 0.05$), entre las variables ambientales: temperatura ($T^{\circ}\text{C}$) profundidad de la capa de mínimo oxígeno (PCMO, $< 1.5 \text{ mL L}^{-1}$), porcentaje de saturación de oxígeno disuelto ($\% \text{O}_2$, expresado en porcentaje), profundidad de la estación (PE, m) y concentración total de clorofila (Cl a, mg Cl a m^{-3}).

Dependiendo de la naturaleza de los datos (homogeneidad, homocedasticidad y normalidad) se realizaron pruebas estadísticas de hipótesis (*t* de Student, ANOVA de una y dos vías, U de Mann Witney, Kruskal-Wallis), modelos de regresión lineal simple y regresión lineal múltiple, así como correlación de Spearman, con el programa Statistica version 10.

6.8.1 Análisis de agrupamiento jerárquico de dos vías

Se realizó un análisis de agrupamiento de dos vías con la finalidad de conceptualizar las agrupaciones de las unidades de muestreo a lo largo de los gradientes espacio-temporales de la abundancia de las especies de eufáusidos (con y sin parásitos) en el Golfo de California durante tres épocas del año (época fría, transición fría-cálida y cálida). Esto permitió inferir qué unidades de muestreo fueron semejantes en composición y abundancia de los eufáusidos y de los especímenes infectados con helmintos. Se utilizaron dos variables categóricas en función de la: 1) profundidad de fondo marino [región costera (<200 m, N=22 estaciones) vs. región oceánica (>200 m, n=58 estaciones) y 2) época del año considerando enero (época fría n=23), junio (época de transición fría-cálida n=19) y julio y agosto (época cálida n=38). En el análisis de agrupamiento se utilizó el método de enlace de Ward y la medida de distancia de Sorensen (Bray-Curtis). En el análisis de agrupamiento se mostraron los valores relativos de las especies en cada una de las unidades de muestreo. El análisis de agrupamiento se realizó con el programa PCORD ver. 6 de acuerdo a la metodología propuesta por McCunne & Mefford (1999) y McCunne *et al.* (2002).

6.8.2 Escalamiento No-Métrico Multidimensional de los eufáusidos sin y con parásitos.

Se realizó un análisis de Escalamiento No-Métrico Multidimensional con medida de distancia de Sorensen con la finalidad de explorar la relación multidimensional de la abundancia total de cada una de las once especies de eufáusidos y la abundancia de cada una de las tres especies de eufáusidos parasitados con helmintos recolectados durante enero y julio 2007, agosto 2012 y junio 2013 en función de las condiciones ambientales. Se analizaron dos matrices: 1) una matriz de especies (19 especies x 80 estaciones de muestreo) incluyó la suma de la abundancia total de los eufáusidos (incluyendo los estadios de vida calítopis, furcilia, juveniles y adultos) de las once especies de eufáusidos y la abundancia de los juveniles y adultos de las tres especies de eufáusidos parasitados. *Nyctiphanes simplex* fue parasitada con cuatro especies de cestodos *Hemionchos major*, *Mobulocestus nephritidis*, *Paranibellinia otobothroides*, Tetraphyllidae, el trematodos *Paronatrema mantae* y los acantocéfalos *Bolbosoma balanae* y *Bolbosoma* sp.; *H. major* infectó a la especie *Euphausia lamelligera* y el trematodo *Copiatestes* sp. infectó al eufáusido *Nematoscelis difficilis*. La matriz ambiental (12 variables x 80 estaciones) incluyó la temperatura (°C), salinidad, concentración de clorofila a (mg m^{-3}), concentración de oxígeno disuelto (mg L^{-1}), porcentaje de saturación de oxígeno ($<1 \text{ mg L}^{-1}$) registrados a 10 m de profundidad, profundidad del máximo de clorofila (m), profundidad del fondo marino (m), profundidad de la capa de mezcla (m), profundidad del estrato superior de la capa del mínimo de oxígeno (m) y biomasa de zooplancton ($\text{ml } 1000 \text{ m}^{-3}$). Además, se consideraron dos variables categóricas una representativa de las épocas del año: fría (enero 2007), transición (junio 2013) y cálida (julio 2007 y agosto 2012) y la otra representativa del hábitat costero (estaciones con $<200 \text{ m}$ de profundidad) y oceánico (estaciones con $>200 \text{ m}$ de profundidad).

Los datos de la matriz de especies se transformaron a $\text{Log}(x+1)$ para disminuir la variancia de las abundancias entre especies. Los datos de las variables cuantitativas de las condiciones ambientales se transformaron por relativización general (excluyendo las dos variables cualitativas que no fueron transformadas) para hacer comparables los rangos de variación y magnitud (distintas escalas) de cada variable ambiental permitiendo que sean comparables en términos relativos. El análisis de Escalamiento No-Métrico Multidimensional se realizó con el programa PCORD ver. 6 de acuerdo a la metodología propuesta por McCunne & Mefford (1999) y McCunne *et al.* (2002).

7. Resultados

7.1. Condiciones ambientales

7.1.1 Temperatura del mar y Clorofila a (a 10 m de profundidad)

La comparación de la temperatura promedio a 10 m de profundidad (T_{10m}) en el Golfo de California durante invierno (enero 2007), verano (julio 2007 y agosto 2012) y transición frío a cálido (junio 2013) evidenció notables cambios estacionales. Durante enero se registraron las T_{10m} más frías (promedio 16.6 °C) y menor concentración de clorofila a (Cl_{a10m}) a 10 m de profundidad ($<0.12 \text{ mg m}^{-3}$). La variación en T_{10m} fue notablemente homogénea (15.2-18.5 °C) con un rango de únicamente 3.3 °C. La zona más fría y menos productiva ocurrió en la región central del GC al sur de las Grandes Islas (**Figs. 5 A-B**).

De manera contrastante, los cruceros de julio 2007 y agosto 2012 fueron cálidos y con relativamente mayor concentración de clorofila a ($Cl_a \text{ mg m}^{-3}$). Durante julio de 2007 se observó un promedio de T_{10m} de 27.7 °C con un intervalo de 24.1-29.4 °C (rango = 5.3 °C) (**Figs. 5 C-D**). Sin embargo, durante agosto 2012 se registraron las temperaturas más elevadas (promedio = 28.7 °C, rango 26.4-30.6 °C) coherente con el patrón de incremento de temperatura durante el verano (inicio julio finalizando en septiembre que es cuando usualmente se registran las mayores temperaturas del GC). Las mayores T_{10m} se observaron en la costa este del GC, pero, las mayores biomásas de fitoplancton ($Cl_a \text{ } 1.9 \text{ mg m}^{-3}$) se registraron en la región de las Grandes Islas y en la región centro sur del área de estudio (**Fig. 5 E-F**). Durante junio 2013, se observaron condiciones de T_{10m} (24.7 °C, rango =21.9-26.9 °C) intermedias entre el periodo frío (típicamente de diciembre a mayo) y el periodo cálido (julio-septiembre) y concentraciones de Cl_a registrada a 10 m de hasta 2.8 mg m^{-3} Cl_{a10m} particularmente al sur de Isla Tiburón (**Figs. 5 J-L**). Independientemente de la época

del año la zona sur de Isla Ángel de la Guarda y Oeste de Isla Tiburón tuvo las menores temperaturas y elevada concentración de Cla del área de estudio (**Figs. 5 G-H**).

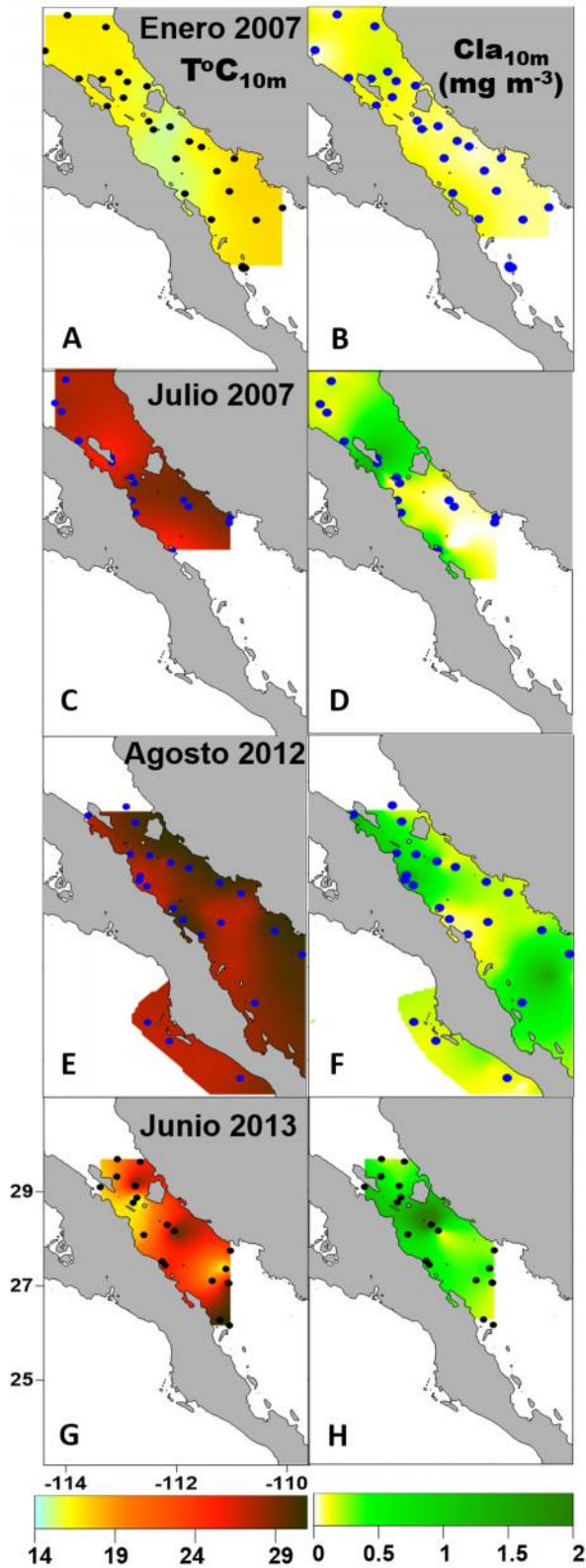


Figura 5. Temperatura del mar ($^{\circ}\text{C}$) a 10 m de profundidad y concentración de clorofila *a* registrada a 10 m de profundidad (mg m^{-3}) del Golfo de la California durante los cruceros oceanográficos de enero (A-B) y julio de 2007 (C-D), agosto 2012 (E-F) y junio 2013 (G-H).

7.2. Descripción de la comunidad de eufáusidos

7.2.1 Composición específica y abundancia de eufáusidos en el Golfo de California

Durante el periodo de estudio se registró una estructura de la comunidad de eufáusidos de 11 especies (diversidad Gamma) pertenecientes a cinco géneros con mayor riqueza de especies durante enero 2007 y junio 2013 con 10 especies (Tabla 1). En general, la desviación estándar de la abundancia fue mayor que el promedio indicando una amplia dispersión y variabilidad espacial de la abundancia entre estaciones del mismo crucero (Tabla 1).

Tabla 1. Abundancia promedio (desviación estándar) y riqueza de especies de eufáusidos presentes en la región central y norte del Golfo de California (2007-2013) por época de muestreo.

Eufáusidos	Enero 2007 Invierno	Julio 2007 Verano	Agosto 2012 Verano	Junio 2013 Transición
<i>Euphausia diomedae</i>	0.6 (2.0)		3.5 (13.5)	
<i>Euphausia distinguenda</i>	72.9 (148.2)	3.1 (7.5)	68.5 (82.2)	0.1 (0.6)
<i>Euphausia eximia</i>	39.3 (101.4)	1.7 (3.9)	39.7 (121.6)	0.5 (1.2)
<i>Euphausia lameligera</i>	38.1 (70.4)	38.0 (151.6)	208.8 (277.5)	52.7 (161.0)
<i>Euphausia tenera</i>	0.7 (2.4)		26.0 (120.4)	0.8 (2.1)
<i>Nematoscelis difficilis</i>	1023.7 (2799.6)	27.5 (48.6)	72.3 (79.4)	481.4 (668.7)
<i>Nematoscelis gracilis</i>	71.1 (377.8)		1.1 (3.9)	1.0 (4.2)
<i>Nematobrachion flexipes</i>	0.2 (0.9)			0.1 (0.6)
<i>Nyctiphanes simplex</i>	1925.5 (4565.8)	394.1 (1016.2)	2186.0 (5516.0)	1503.2 (3115.7)
<i>Stylocheiron affine</i>	11.8 (25.4)	0.4 (1.3)	16.7 (39.0)	1.6 (3.9)
<i>Stylocheiron carinatum</i>				0.8 (2.6)
Riqueza específica	10	6	9	10

La estructura de la comunidad de eufáusidos fue numéricamente dominada por las especies *N. simplex* (la más abundante en todos los cruceros), *Nematoscelis difficilis* (la

segunda más abundante durante el crucero de enero 2007) y *Euphausia lamelligera* (la segunda más abundante durante los cruceros de transición frío-cálido y verano). Estas tres especies llegaron a sumar 96% de la abundancia total relativa en cada crucero (**Tabla 1**). *N. simplex* contribuyó con abundancia de 63% en invierno (enero 2007) y hasta 84% en verano (julio 2007) siendo por mucho la especie de eufúsido con mayor densidad poblacional y biomasa en el Golfo de California (**Tabla 1**). Estas tres especies fueron las únicas en las que se detectaron parásitos helmintos por lo que el análisis de patrones de distribución espacio-temporal se enfocará en estas tres especies de krill.

7.2.2. Distribución espacio-temporal de las tres especies numéricamente dominantes

Nyctiphanes simplex fue la especie más ampliamente distribuida en el área de estudio que cubrió la parte central y norte del Golfo de California. Este patrón de dominancia numérica y amplia distribución geográfica se observó en todos los cruceros oceanográficos (**Fig. 6 A-D**). Esta especie subtropical presentó su mayor densidad durante enero de 2007 (abundancia promedio > 2000 ind. 1000 m⁻³) (**Fig. 6 A**). La abundancia de la población de *N. simplex* disminuyó pronunciadamente durante el verano (julio 2007) (M-W, U = 145, $p=0.01$).

La comparación de abundancia de *N. simplex* entre julio 2007, agosto 2012 (verano) y junio 2013 (transición frío-cálido) indicó diferencias significativas entre abundancia de *N. simplex* entre los cruceros de julio 2007 y junio 2013 sugiriendo una disminución considerable de la abundancia de *N. simplex* del periodo de transición a inicios de verano (Kruskal-Wallis, 8.3, $p=0.01$) (**Fig. 6B, D**).

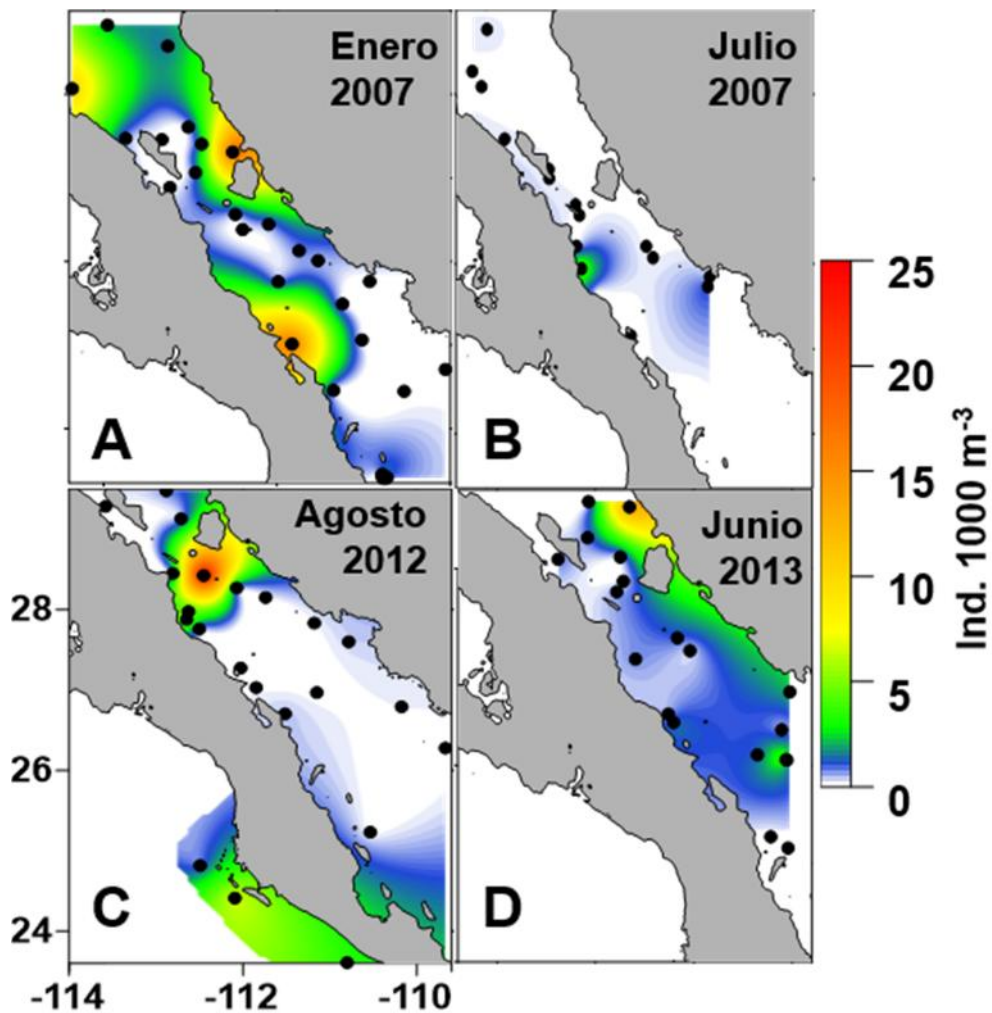


Figura 6. Distribución y abundancia de *Nyctiphanes simplex* en invierno (enero 2007) (A), verano (julio 2007, agosto 2012) (B, C) y periodo de transición (junio 2013) (D).

Aunque las especies *Nematoscelis difficilis* y *Euphausia lamelligera* co-dominaron en abundancia en los cruceros, estas especies tuvieron densidades considerablemente más bajas que *N. simplex* (de afinidad biogeográfica subtropical) las cuales tuvieron un patrón de distribución considerablemente más agregada (heterogénea) en el Golfo de California acorde a su afinidad biogeográfica (*N. difficilis* es templada y *E. lamelligera* es tropical) (Fig. 7).

Las tres especies más abundantes *N. simplex*, *N. difficilis* y *E. lamelligera* mostraron una considerable baja abundancia durante julio 2007 (Fig. 7 A-B). Las especies *N. difficilis* y *E.*

lamelligera tuvieron menores abundancias y su distribución fue más heterogénea en el Golfo de California estando típicamente más abundante *E. lamelligera* en el sur del área de estudio (**Fig. 7 A-H**). Durante Junio 2013 se registraron densidades relativamente más elevadas para estas dos especies (**Fig. 7 G-H**).

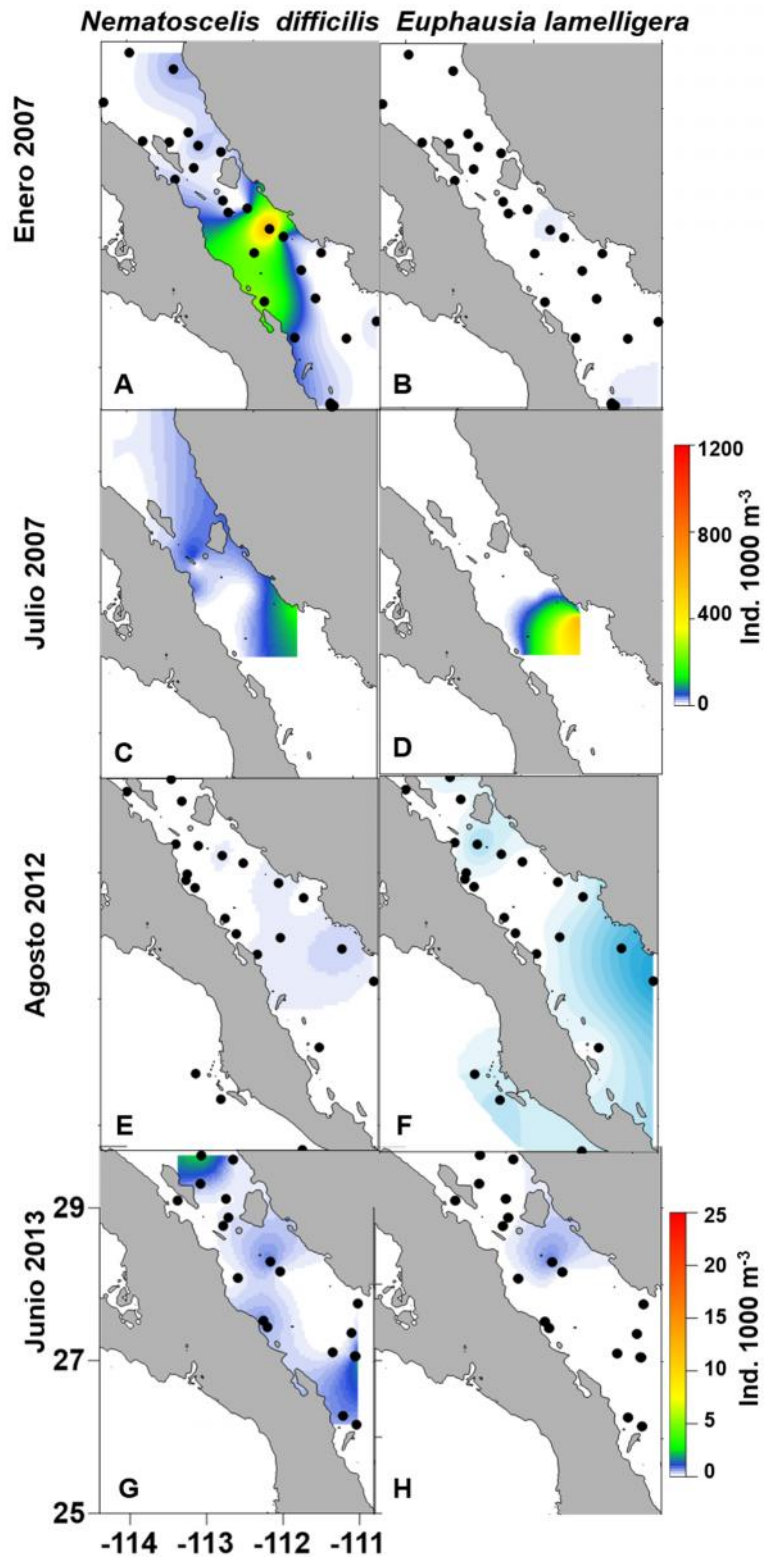


Figura 7. Distribución y abundancia de *Nematoscelis difficilis* y *Euphausia lamelligera* en invierno (enero 2007) (A, B), verano (julio 2007, agosto 2012) (C-F) y periodo de transición (junio 2013) (G-H).

7.2.3. Parásitos helmintos en krill del Golfo de California

Las especies numéricamente dominantes en la comunidad de eufáusidos del Golfo de California (*Nyctiphanes simplex*, *Nematosceslis difficilis* y *Euphausia lamelligera*) fueron las únicas especies de eufáusidos parasitadas por helmintos. Se observó una concordancia entre la riqueza específica de parásitos y la abundancia-dominancia de las especies de krill (comparación interespecífica de los hospederos). De esta forma, la especie de krill numéricamente más dominante *N. simplex* fue infectada por 8 especies de parásitos helmintos, *N. difficilis* (infectado por trematodo *Copiatestes* sp.) y *E. lamelligera* (infectado por cestodo *Hemionchos major*) solo se encontró con una especie de helminto cada una de ellas (Tabla 2).

Tabla 2. Intervalo de prevalencia por especie de parásito que infecta a *Nyctiphanes simplex* y *Nematosceslis difficilis* (*). Cestodo (Ce), Trematodo (Tr) y Acantocefalo (Ac)

Parásito	Enero 2007	Julio 2007	Agosto 2012	Junio 2013
<i>Hemionchos major</i> (Ce)	0.003 - 8.8	0.23 - 10.1	1 - 14	2
<i>Mobuloscestus nephritidis</i> (Ce)	0.4	0.7 - 5.8	5	
<i>Paranybelinia otobothrioides</i> (Ce)	0.4	1.4 - 14.2	1 - 14	
Tetraphyllidea (Ce)				
<i>Paronatrema mantae</i> (Tr)		0.03		
* <i>Copiatestes</i> sp. (Tr)	0.16			
<i>Bolbosoma</i> sp. 1 (Ac)		0.03		
<i>Bolbosoma</i> sp. 2 (Ac)				
<i>Bolbosoma balanae</i> s. l. (Ac)		0.06 - 1.4		

De los nueve taxones de parásitos que infectan a las tres especies de krill, los cestodos del orden Trypanorhyncha (tres especies) fueron los parásitos numéricamente dominantes (98,8%) y con más amplio patrón de distribución (N=519). La infección por este

tipo de cestodos se observó en los cuatro cruceros (invierno, transición frío-cálido y verano) aunque con diferente intervalo de densidad (Tabla 2-3).

Tabla 3. Intervalo de densidad de krill parasitado ind. 1000 m⁻³. Cestodo (Ce), Trematodos (Tr) y Acantocefalo (Ac)

	Enero 2007	Julio 2007	Agosto 2012	Junio 2013
<i>Hemionchos major</i> (Ce)	2 - 73	2 - 288	3 - 126	10.1
<i>Mobuloscestus nephritidis</i> (Ce)	2	1 - 106	5	
<i>Paranybelinia otobothrioides</i> (Ce)	2	2 - 58	3 - 7	
*Tetraphyllidea (Ce)				
<i>Paronatrema mantae</i> (Tr)		1		
<i>Copiatestes</i> sp. (Tr)	23			
<i>Bolbosoma</i> sp. 1 (Ac)		1	1	
<i>Bolbosoma</i> sp. 2 (Ac)				
<i>Bolbosoma balanae</i> s. l. (Ac)		1 - 2		

* Este parásito fue registrado en un individuo hembra de *Nyctiphanes simplex*.

El grupo de parásitos acantocéfalos (0,56%) y trematodos (0,37%) estuvieron presentes en prevalencias y densidades considerablemente bajas. Los acantocéfalos infectaron a *N. simplex* con baja prevalencia < 1.5% y la infección ocurrió únicamente durante los cruceros de verano (julio 2007 y agosto 2012) (Tabla 2-3). La ocurrencia de acantocéfalos en verano es distinta al periodo de avistamiento y abundancia máxima de la ballena azul con pico máximo en invierno (depredador muestreado en este estudio, ver sección de parásitos de depredadores) en el GC.

Los nematodos fueron el único grupo de parásitos helmintos que no se detectó en el krill del GC durante el periodo de estudio (Tabla 2-3), aunque si existen registros previos de *N. simplex* infectado por *A. simplex* sensu lato (Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2010a). Esta información proporciona una perspectiva cuantitativa acerca de la baja frecuencia y

abundancia relativa de acantocefalos, trematodos y nematodos (grupo ausente) que parasitan al krill en el Golfo de California.

Debido a que la frecuencia de ocurrencia y abundancia (dentro y entre cruceros) de los trematodos y acantocefalos fue considerablemente baja, los análisis taxonómicos y ecológicos se enfocan principalmente en los cestodos del Orden Trypanorhyncha que fueron los helmintos mas frecuentes y con mayor prevalencia y abundancia (Tabla 3).

7.4. Descripción taxonómica de larvas de Cestodos (Orden Trypanorhyncha)

7.4.1. *Hemionchos major* Campbell & Beveridge, 2006

Esta es la primera descripción de las larvas de *Hemionchos major* conocida previamente únicamente en su fase adulta ([Campbell & Beveridge, 2006](#)). La descripción morfológica de las larvas *Hemionchos major* se realizó con la observación de 11 especímenes encontrados infectando el hemocele del krill *Nyctiphanes simplex* y *Euphausia lamelligera* (todas las mediciones morfométricas están expresadas en milímetros, mm) (**Fig. 8 A-E**).

Blastocisto en organismos vivos es sumamente flexible y la larva se mueve energéticamente teniendo en general una morfología variada. Longitud promedio fue 1.4 ± 0.2 de largo y 0.36 ± 0.1 de ancho con doble pared del blastocisto y con aspecto granuloso (**Fig. 8A**). El plerocercario mide 1.14 ± 0.3 de largo y 0.22 ± 0.04 de ancho en la región de la pars bulbosa. Scolex acraspedote, sin cuello, dibotriado. Botridios ovalados, márgenes gruesos y libres en forma circular, provistos de microtriques (**Fig. 8 C**), indentado en la parte posterior

(**Fig. 8 A**). Dos puentes internos prominentes cubren la parte media desde el margen posterior hasta la proximidad de los orificios tentaculares. Tentáculos largos (**Fig. 8A**).

Pars botrialis 0.18 ± 0.03 , botrios 0.16 ± 0.02 largo por 0.105 ± 0.01 de ancho. Pars vaginalis mas largo que pars botrialis 0.41 ± 0.1 largo; vainas sinuosas. Bulbos $338 \pm 27 \mu\text{m}$ 0.18 largo, $30 \pm 1 \mu\text{m}$ ancho; músculo retractor originado en la base del bulbo; células glandulares ausentes dentro del bulbo; órgano prebulbar presente; pars post bulbosa ausente. Tentáculos sin ensanchamiento basal. Armadura heteroacanta, heteromorfa con ganchos sólidos. Presenta armadura basal distintiva, compuesta de ganchos uncinados, sin cavidad en la punta, aplanados dorsoventralmente, con laguna y con puntas mucronadas (**Figs. 8 B, D–E**).

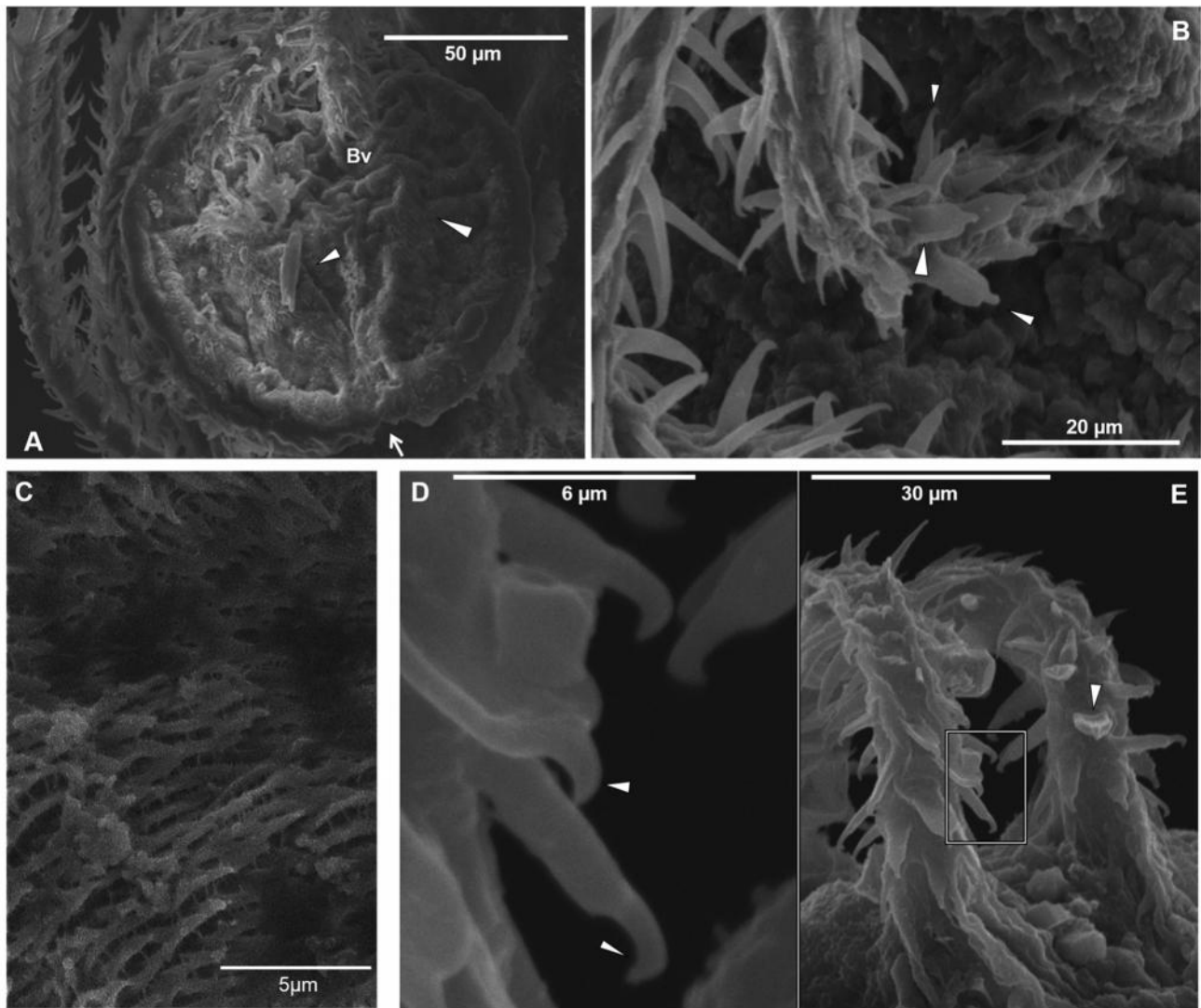


Figura 8. Botrio de *Hemionchos major*. Botrio con margen posterior indentado y puentes internos (flecha) (A). Armadura basal distintiva (B). Microtriques del interior del botrio (C). Ganchos dorsoventralmente aplanados, lagunados y mucronados (D). Armadura basal en vista antibotrial. Vista botrial (Bv).

7.4.1. *Mobulocestus nephritidis* Campbell & Beveridge 2006

Se describe por primera vez la morfología de las larvas de *Mobulocestus nephritidis* conocidas previamente sólo en su fase adulta (Campbell & Beveridge, 2006). La descripción y diagnóstico de *Mobulocestus nephritidis* fue realizada con 6 especímenes y las medidas morfométricas están expresadas en milímetros (**Figs. 9 A- E**).

Los especímenes ocurrieron dentro de su blastocisto ovoide 1.4 ± 0.2 de largo y 0.7 ± 0.1 de ancho con doble pared espaciadas por $15.7 \mu\text{m}$., hacia uno de los extremos del blastocisto. El espacio entre capas varía ($118 \mu\text{m}$) en especímenes dependiendo del tamaño o por artefacto de la fijación del parásito (**Fig. 9A**).

M. nephritidis tiene scolex acraspedote; dos botrios; pars botrialis más corto que el pars vaginalis. Armadura metabasal heteroacantha. Ganchos heteromorfos, sólidos, con cavidad apical (**Fig. 9 D-E**). Una fila central de ganchos en la superficie botrial del tentáculo. Las filas de ganchos ascienden desde la parte central, que termina en la en la reflexión de la superficie antibotrial en el plano reflejante de la superficie botrial. Armadura basal no ensanchada y la armadura distintiva ausente. Vainas del tentáculo sinuosas; bulbos alargados; órgano prebulbar presente; el músculo retractor se origina en la base de los bulbos (**Fig. 10**).

Cestodo inmaduro (fase larval) de 1.28 ± 0.3 mm de largo y 0.3 ± 0.05 ancho máximo. Escolex acraspedote. Dos botrios ovalados; márgenes de los botrios enteros, pars botrialis 0.31 ± 0.05 . Pars vaginalis más largo que pars botrialis 0.69 ± 0.18 largo; vainas a menudo rectas al inicio, después se vuelven sinuosas; pars vaginalis con numerosas estructuras subglobulares glandular entre las vainas y el tegumento ligeramente iniciando posterior al pars botrialis, terminando en la región anterior del pars bulbosa (**Fig. 10**). Bulbos con longitud promedio de 0.47 ± 0.07 ; el musculo retractor se origina en la base del bulbo; células

glandulares ausentes dentro del bulbo; órgano prebulbar presente; pars post bulbosa algunas veces ausente o corta 0.2 ± 0.1 de largo. Pedúnculo escolescis 1.5 ± 0.2 de largo.

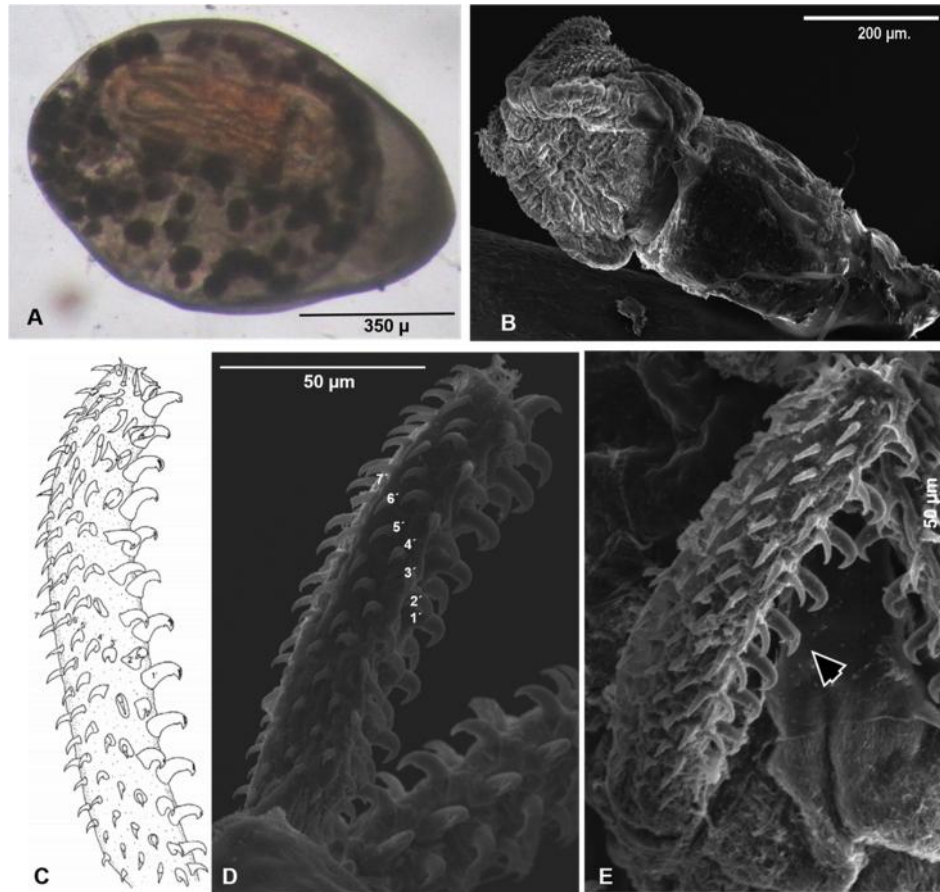


Figura 9. Vista del plerocercus de *Mobulocestus nephritidis*. Plerocercus, dentro del blastocisto (A). Parásito disectado, parcialmente desarrollado, semi envuelto por la capa interna del blastocisto (B). Armadura tentacular de *Mobulocestus nephritidis* que infecta a *Nyctiphanes simplex* (C-D). Esquema del tentáculo (tomado de [Campbell & Beveridge 2006](#)) (C) Vista externa del tentáculo con el número de ganchos (D). Vista antibotrial del tentáculo, la flecha indica la cavidad apical del gancho principal.

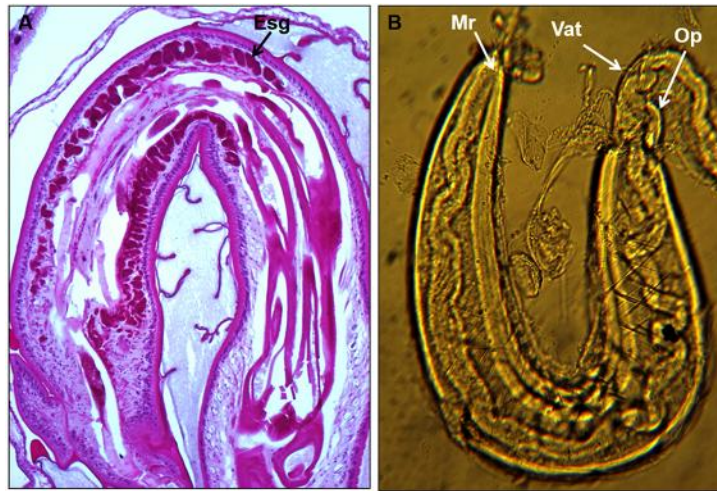


Figura 10. *Mobulocestus nephritidis*. Preparación histológica corte longitudinal (A) (40X). Detalle del bulbo de *M. nephritidis* (60X). Músculo retractor (Mr). Órgano prebulbar (Op). Vainas tentaculares (Vat). Estructuras glandular sub-globulares (Esg).

7.4.3. *Paranybelinia otophthioides* Dollfus, 1966

Paranybelinia otophthioides ocurrió dentro del blastocisto principalmente embebido dentro del hepatopáncreas (n = 47; el metacestodo nunca se observó vivo libre de su blastocisto dentro del hospedero), raramente observado en el hemocele (n = 2) y no encapsulado. En el interior del apéndice de *P. otophthioides* existen numerosas estructuras redondeadas parecidas a glóbulos de aceites de diferentes tamaños (26–48 μm) que imitan la apariencia de las células de la glándula digestiva del krill. La observación de especímenes vivos mostró movimientos rotatorios lentos de las gotas de aceite que contrastaba con el hepatopáncreas de especímenes infectados haciendo relativamente más fácil detectarlos que cuando se buscan, analizan y disectan de especímenes de krill preservados en etanol o formol (**Fig. 11 A**).

El metacestodo tenía un blastocisto poroso, de una sola pared delgada que rodea el escólex craspedote con un velo prominente, los márgenes posteriores libres del botro y un largo apéndice (**Fig. 11 B**). El metacestodo disectado y aislado de hepatopáncreas del huésped mostró movimientos peristálticos constantes. Este metacestodo tuvo en la parte anterior una única distintiva protuberancia orientada centralmente con un extremo terminal poroso (**Figs. 11 C-D, F, H**). La ampliación en la parte principal del blastocisto incluyendo el escólex larval, la parte posterior tenía 2 laterales y 1 protuberancias terminales de cono centrales (**Fig. 11 C, D, F**). Estas proyecciones se terminan con una estructura porosa como proyectable ($10,4 \pm 1,4 \mu\text{m}$) (**Figs. 11 C, D, G**).

El escólex de *Paranybelinia otobothrioides* Dollfus, 1966 mostró detalles de la armadura tentacular y su ultra-estructura superficial. Las larvas tenían un tamaño pequeño, escólex craspedote (**Fig. 12 A-C**). Dos grandes botrios cubrieron más de la mitad de la longitud escólex y se extendieron en la pars bulbosa scolecis. El metacestodo en vista lateral mostró un solo botrio grande con márgenes laterales y posterior libres (**Fig. 12 A**). En el centro de la superficie distal botrial, el botrio forma dos protuberancias laterales que muestran una clara separación del botrio en dos botridios. Sin embargo, la parte media y anterior fue cubierto con las microtrichos típicamente unciniformes, lo que demuestra que la separación de los dos botrios en cuatro es incompleta (**Figs. 12 A, F**). El lateral (lado izquierdo) y la vista frontal de los botrios mostraron una clara separación de los dos botrios y las superficies ventrales/dorsales (**Figs. 12 B, C**). La armadura tentacular es homeomorfa (ganchos de misma forma y tamaño de una fila) y homeoacanta (ganchos homeomorfos en espirales o en tresbolillo en los tentáculos) con ganchos uncinados ($7,2 \pm 1,6$ longitud total, $4,6 \pm 1,9$ de ancho en la base, y $4,8 \pm 1,4$ altura) (**Fig. 12 E**). Una armadura basal característica ausente.

La ultraestructura de la superficie del escólex tuvo 4 tipos de microtrichos: capilliforme, unciniforme, acerosado y filiformes. Los microtriches capilliformes cubrieron el escólex (longitud = 1.1–2.8, con una media de ancho = 0.22) en la región apical (**Fig. 13 D**). Los microtrichos unciniformes tuvieron bases extendidas que cubrían la totalidad de la superficie distal botrial (rango de longitud = 1.5–2.5, con un ancho promedio = 0.7), incluyendo los márgenes laterales de los botrios (**Figs. 13 A-C, F-H**). Estos microtriches uncinados aparecieron acerosados en los márgenes posteriores del botrio (**Fig. 13 D**). El pedúnculo escólex esta cubierto de microtrichos capiliformes (longitud rango = 22.4, ancho promedio = 0.2) (**Fig. 13 D, E, G**) y cortos microtrichos filiformes adornaban todo el apéndice (**Fig. 13 H**). Hendiduras tegumentales (tegumental grooves) (2 ± 0.5 de diámetro), anteriormente conocidos como fosas botriales ([Palm, 2008](#)), fueron evidentes en los márgenes botrial posterior, dos en cada botrio (**Fig. 13 E, F**). No se observaron distintos microtriques (spinitriques) que cubre esta estructura escólex y mostraron similares microtrichos acerosados o unciniformes en la superficie botrial circundante.

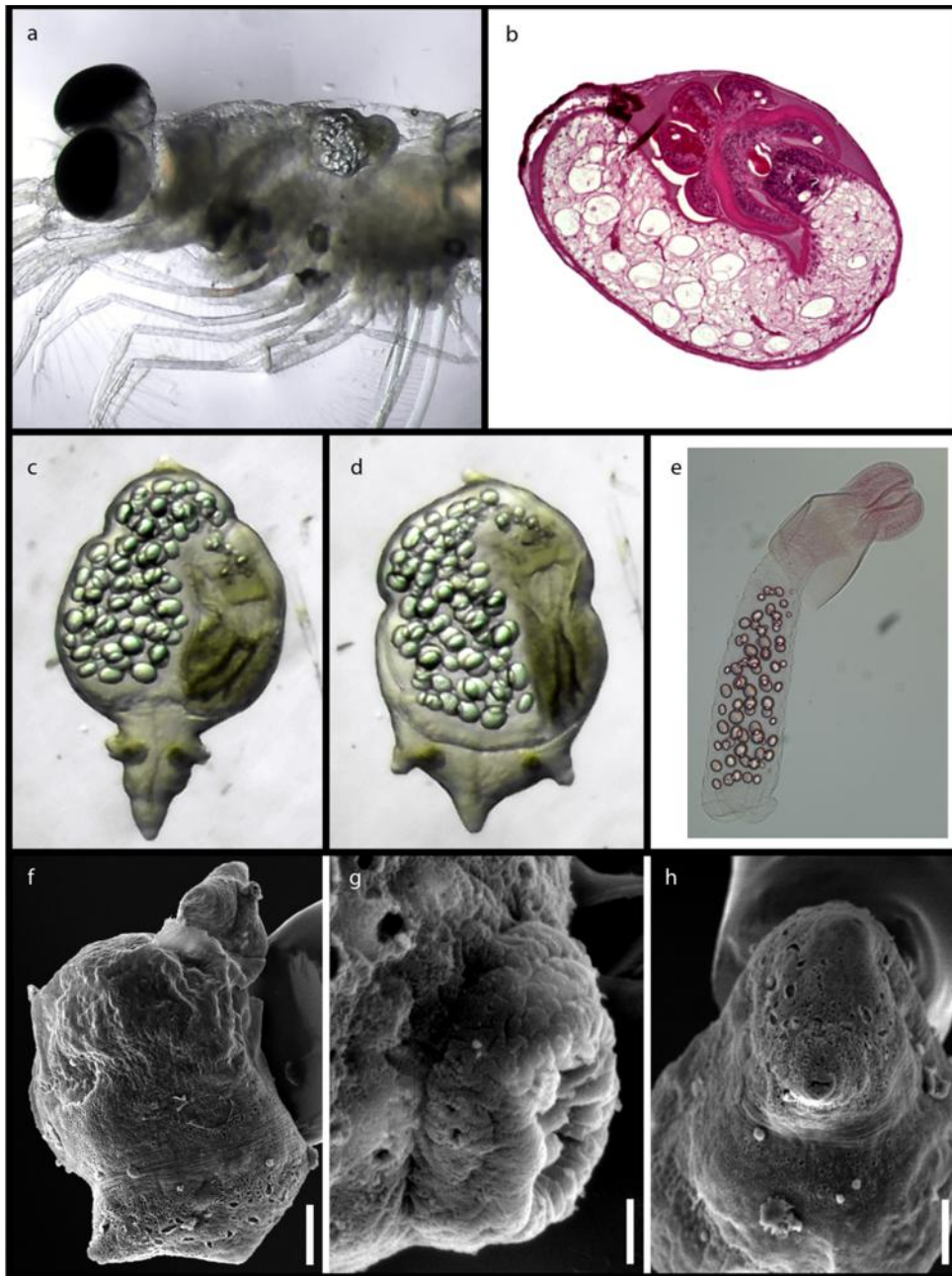


Figura 11. *Paranybelinia otobothrioides* parasitando el krill *Nyctiphanes simplex* recolectado en el Golfo de California, México. Foto de un *P. otobothrioides* vivo en el hemocele observado a bordo del buque de investigación B/O El Puma (A), corte histológico mostrando vista longitudinal de *P. otobothrioides* dentro de su blastocisto (B), blastocistos de misma muestra que contiene larvas (CD), es necesario tomar en cuenta el movimiento de contracción y expansión del blastocisto que modifica considerablemente la biometría del largo y el ancho. (E), plerocercoides disectado, (M), ultraestructura del blastocisto, vista general. (G, H), detalle de aberturas, en forma de embudo en el extremo anterior y posterior. Barras de escala: A, C, 100 μm ; D–H, 50 μm .

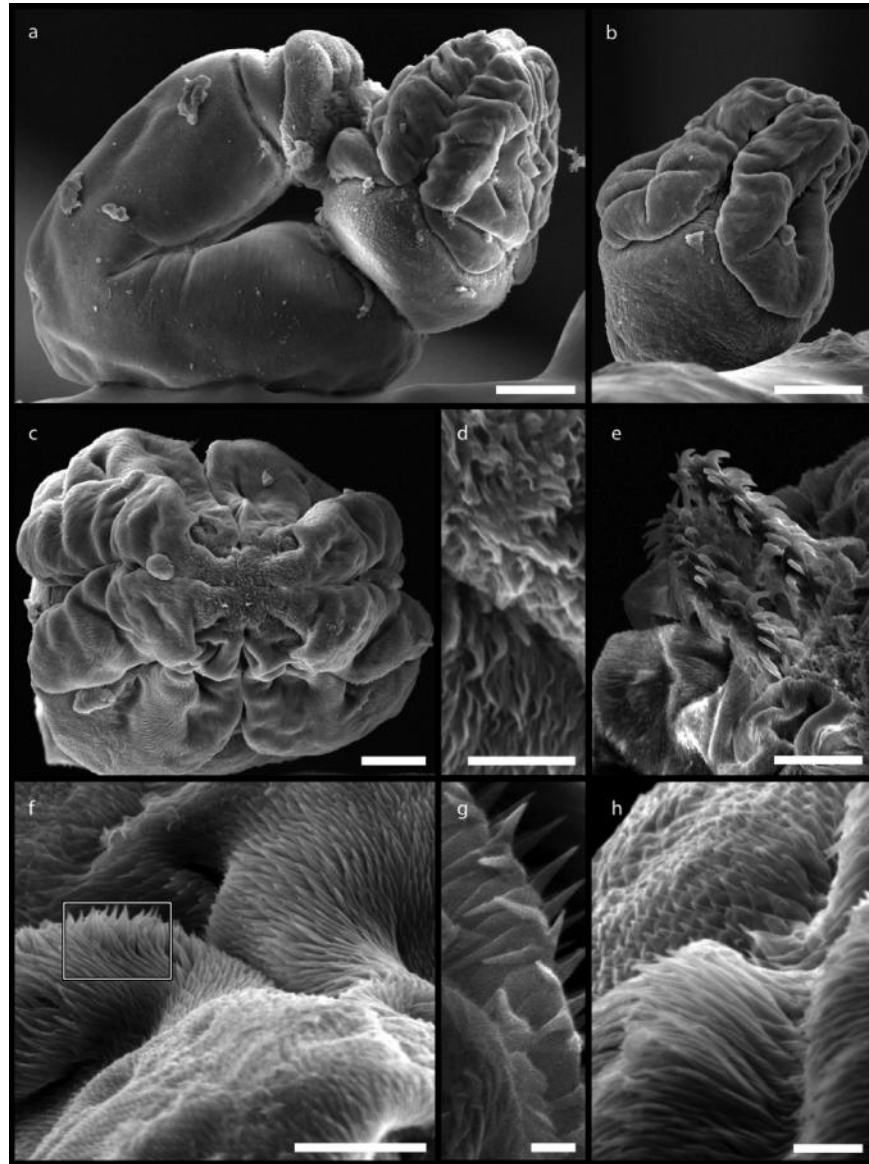


Figura 12. Ultraestructura superficial del escólex y la armadura tentacular de *P. otobothrioides* que infectan el krill *Nyctiphanes simplex* recolectado en el Golfo de California, México. Vista dorso-ventral de escólex (689 μm longitud total de anterior a la parte posterior) final del escólex (A); pedúnculo del escólex mostrando dos botrios con márgenes laterales y posteriores libres (B), vista anterior frontal de la superficie del botrio (C); zoom mostrando los microtriques (D), superficie externa del tentáculo, armadura metabasal con ganchos uncinados (E); (F) microtriques unciniformes, (G) detalle de microtriques unciniformes con bases extendidas y (H) cobertura distal botrial superficial. Barras de escala: A, C = 100 μm ; D–H = 50 μm .

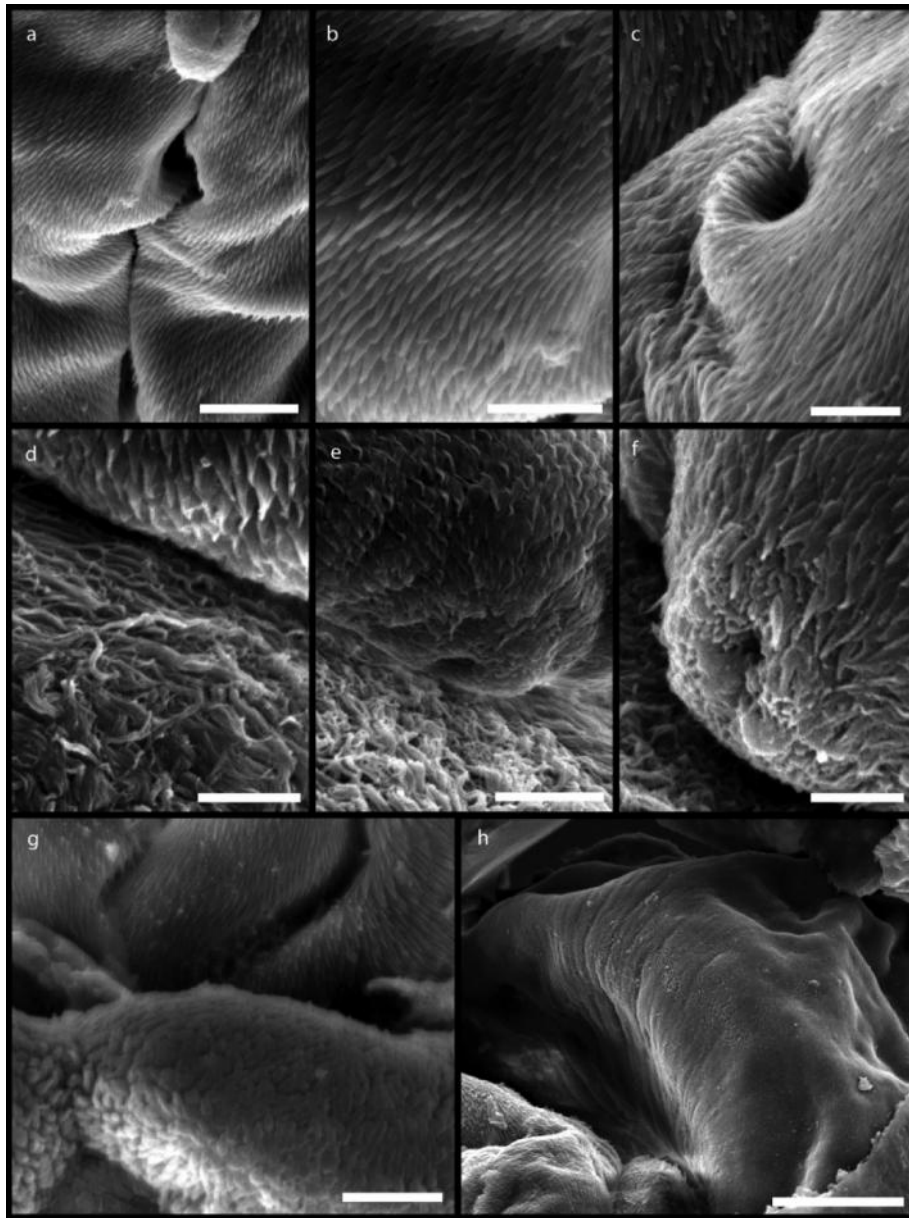


Figura 13. Ultraestructura de la superficie del escólex y la armadura tentacular de *P aranybellinia otobothrioides*. (A) microtriques capilliformes (cm) en el extremo anterior del escólex; (B–D) microtriques unciniformes (UM) en la superficie distal del botrio; (C) microtriques acerosados en la superficie distal del botrio; (E) microtriques capilliformes en la postbulbosa pars (también en pars vaginalis y bulbosa); (F) botrio en el extremo posterior; (F–G) apéndice, microtriques filiformes cortos (Fm); (H) apéndice final. Note la ausencia de microtriques capilliformes. Parte posterior del botrio con tegumento arbolado. Barras de escala: A, C = 100 μ m; D–H, 50 μ m.

7.5. Descripción taxonómica de larvas de tremátodos (Familia Syncoeliidae)

En el presente trabajo, disectamos 26751 *Nyctiphanes simplex* y 5885 ejemplares *Nematoscelis difficilis* colectados de 99 muestras de plancton. El krill fue parasitado por sólo tres ejemplares de trematodos pertenecientes a dos especies de la familia Syncoeliidae Looss 1899.

Dos ejemplares del trematodo *Paronatrema mantae* Manter 1940 se encontraron con el cuerpo doblado lateralmente y la ventosa ventral comprimida. Un trematodo se encontró parasitando un juvenil de *N. simplex* (6.8 mm de longitud total) de la red bongo y otro fue encontrado infectando un macho adulto de *N. simplex* (10 mm de longitud total), ambos hospederos infectados, fueron colectados en la misma estación, pero con la red de zooplancton no cuantitativa durante el verano (julio de 2007). Las tres muestras de krill parasitadas con trematodos tenían aspecto externo normal (sin cefalotórax hinchado o deformación del cuerpo) y los parásitos fueron descubiertos sólo después de que se disectó el cefalotórax. El macho de *N. simplex* parasitado tenía el espermatóforo extruído pero sin desarrollo gonádico evidente en el cefalotórax. La hembra juvenil de *Nematoscelis difficilis* tenía gónada inmadura (estadio I) y sin espermatóforo unido al télico que indicaría actividad reproductiva reciente.

7.5.1. *Paronatrema mantae* Manter, 1940

Se detectaron 2 especímenes de *P. mantae* (Fig. 14 A-H) en la etapa de mesocercaria, colectados en 1 de 16 muestras de zooplancton del crucero de julio de 2007 (27° 56.77'N, 112° 42.86'W). Aunque en esta muestra, *N. simplex* tuvo una abundancia total de 4077 ind.

1000 m⁻³, se observó una abundancia de krill infectado por trematodos de 1.2 ind. 1000 m⁻³ y con prevalencia baja (0.03%). Este es el primer informe de *P. mantae* en fase larval; por lo tanto, se describe su morfología de uno de nuestros ejemplares disponibles para futuros estudios morfológicos comparativos. Las medidas dadas en micras (µm). *P. mantae* mide 3160 de largo y 800 de ancho (justo posterior del acetábulo); cuerpo dorso-ventralmente aplanado; parte anterior estrecho, 1550 de largo; parte posterior 1000 de largo, con una cola bifurcada con aspecto granular, 390 de largo y 860 de ancho (**Fig. 14 A**). Ventosa oral terminal, 450 de largo y 520 de ancho, con un anillo interno armado con ~40 ventosas accesorias. Ventosa ventral 930 de largo con 36 pequeñas ventosas accesorias, sobresale 590 micras en una base muscular; ventosa oral/ventral con una relación de longitud de 1: 2. Boca sin prefaringe, faringe 240 de largo y 130 de ancho. Ciegos sinuosos en la parte anterior al nivel medio de la faringe (aparentemente una bolsa cecal está presente). No es claro si el ciego intestinal sinuoso se abre en la vesícula excretora. El útero está bien desarrollado en muchos dobleces transversales llena la mayoría de la parte posterior del cuerpo (que abarca otros órganos) y se extiende hasta el extremo posterior cerca del cuerpo; el poro genital se encuentra enfrente de la faringe. La morfología general del adulto de *P. mantae* se muestra en la **Fig. 14 H** (tomado de Manter, 1940). Las etapas larvales mesocercaria y metacercaria de *Paronatrema* descrito en krill tienen ligeras diferencias entre ellos y en comparación con el adulto. Uno de los cambios ontogenéticos más notables de la fase larvaria a adulto es la parte anterior del cuerpo, proporción de la parte anterior y posterior del cuerpo. En estadios larvarios, la parte anterior del cuerpo es mayor que la parte posterior y esto se invierte en la etapa adulta, lo que sugiere un patrón de crecimiento alométrico.

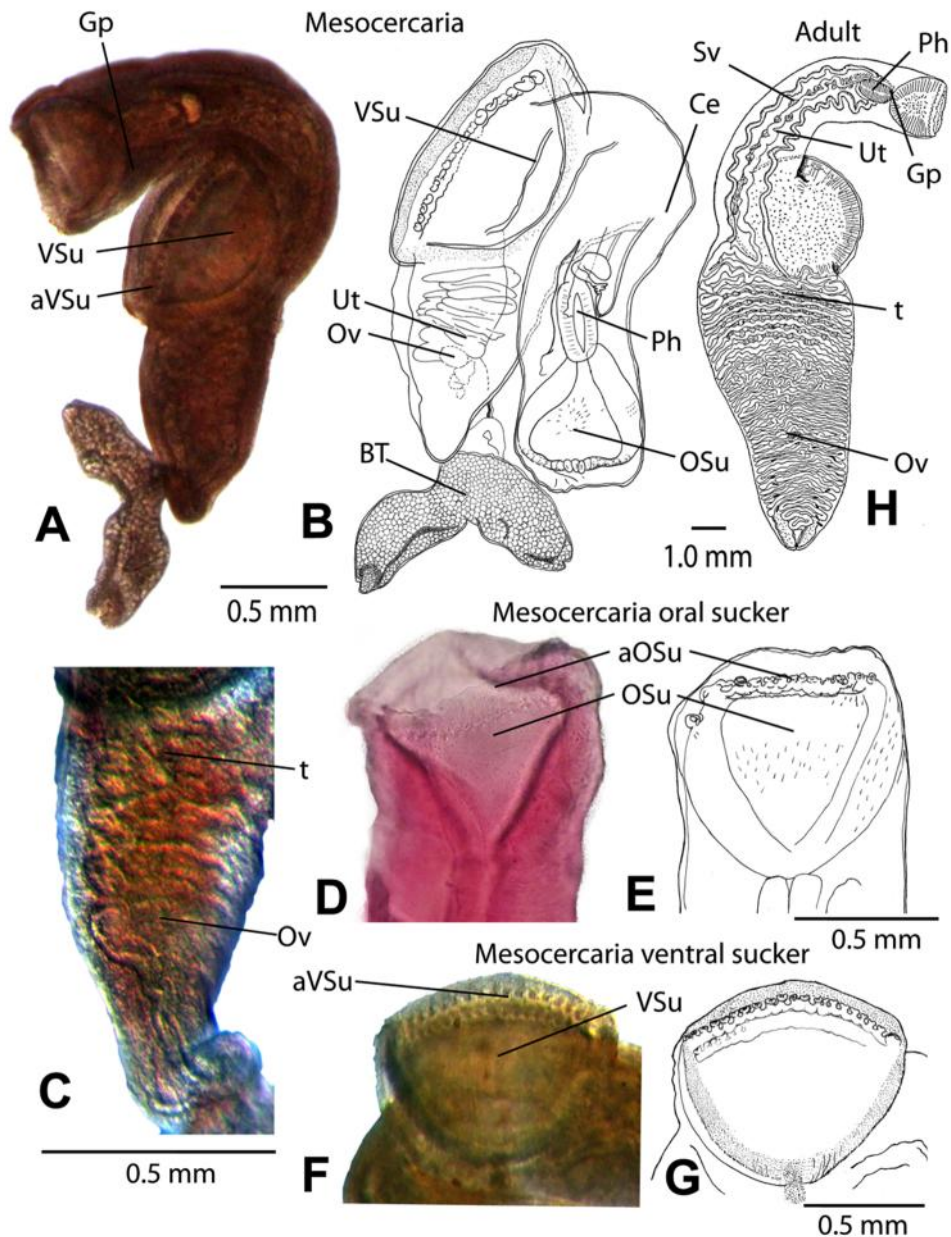


Figura 14. *Paronatrema mantae* Manter, 1940. (A-H) Trematodo mesocercaria (no enquistada) que infecta al krill *Nyctiphanes simplex* en el Golfo de California. (A, C, D, F) Fotografía con microscopio óptico y (B, E, G) dibujo de la mesocercaria. Detalle del útero enrollado (C), (D, E) ventosas accesorias de la ventosa oral, (F, G) ventosas accesorias del acetábulo y (H) dibujo de un adulto tomado de Manter (1940). VSu: ventosa ventral; aVSu: ventosas accesorias ventrales; OSu: ventosa oral; Ce: ciegos; Ph: faringe; Ut: útero; Ov: ovario; Gp: poro genital; Te: testículos; Sv: vesícula seminal; BT: cola bifurcada. Tomado de [Morales-Ávila et al. \(2015\)](#).

7.5.2. *Copiatestes* sp. Crowcroft, 1948

Una larva de trematodo del genero *Copiatestes* sp. Crowcroft, 1948 fue encontrado parasitando una hembra juvenil de *N. difficilis* (longitud de 8.1 mm en total) durante el invierno (enero 2007).

La etapa mesocercaria del trematodo *Copiatestes* sp. infectó a *Nematoscelis difficilis* en 1 de 30 estaciones de muestreo del crucero de enero de 2007 (28°08.47'N, 111°44.65'W). En esta estación, *N. difficilis* tuvo una densidad de 745 ind. 1000 m⁻³ y la abundancia de *N. difficilis* parasitado por el trematodo fue 1.2 ind. 1000 m⁻³.

Se describe la morfología de las larvas en estadio de mesocercaria (n=1), las medidas están dadas en micras. Cuerpo cilíndrico y alargado 2970 de largo y 360 de ancho (en la mitad posterior del cuerpo), cutícula lisa y gruesa (los órganos internos fueron difíciles de observar); parte anterior del cuerpo 1490 de largo (aproximadamente 50% de la longitud total del cuerpo), con pequeñas papilas fácilmente detectada en la faringe que se extienden desde la ventosa oral hasta el acetábulo; parte posterior del cuerpo 1140 de largo; cola bifurcada situada en la parte posterior del cuerpo, 300 de largo y 820 de ancho. Ventosa oral y acetábulo sin ventosas accesorias; ventosa oral 330 de largo y 390 de ancho; acetábulo 560 de largo y 360 de ancho; acetábulo con un tallo 170 m de largo, situados cerca de la parte media del cuerpo y con la musculatura extrínseca bien desarrollada; la proporción de longitud entre la ventosa oral/ventral 1:1.6. Boca sin prefaringe; faringe situada inmediatamente detrás de la ventosa oral, 120 de largo y 100 de ancho; esófago extremadamente corto y se divide casi de inmediato en dos ciegos que siguen una forma sinuosa a la zona de la ventosa ventral, donde divergen hacia los lados de la parte posterior del cuerpo; testículos ovals > 35 (23 micras en diámetro promedio) alineados a lo largo de más o menos 5 filas; la papila

genital pequeña se proyecta en posterior-lateral de la ventosa oral (**Fig. 15**), la vesícula seminal mostró una forma sinuosa hasta un punto próximo a la faringe donde se une con el útero para formar un seno genital común que se abre en la punta de la pequeña papila genital; ovario de 60 de largo ubicada posterior de los testículos en el primer tercio de la parte posterior del cuerpo (600 desde la cola proximal).

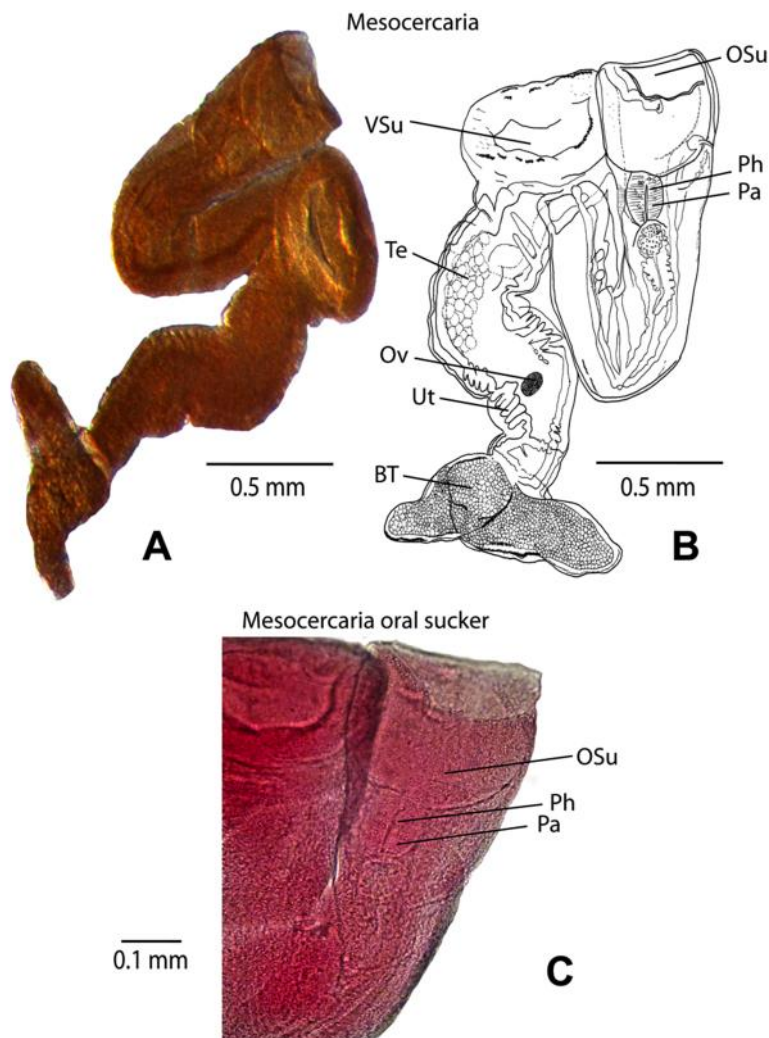


Figura 15. *Copiatestes* sp. Crowcroft, 1947. Trematodo en estadio de mesocercaria (no enquistada) que infecta al krill *Nematoscelis difficilis* en el Golfo de California. (A) fotografía con microscopio óptico, (B) dibujo de la mesocercaria y (C) ventosa oral. VSu: ventosa ventral; OSu: ventosa oral; Ce: ciegos; Pa: papila; Ph: faringe; Te: testículos; Ut: útero; BT: cola bifurcada. Tomado de [Morales-Ávila et al. \(2015\)](#).

7.6. Descripción taxonómica de larvas de acantocéfalos (*Bolbosoma*)

Bolbosoma balane (*sensu lato*) (hospedero: *Nyctiphanes simplex*)

El cistacanto (forma larvaria de acantocéfalos) identificado como *Bolbosoma balanae* (*Sensu lato*) (**Fig. 16**) presenta cuerpo cilíndrico corrugado y alargado (longitud total: 4.86 mm, ancho máximo a la mitad del cuerpo: 0.4 mm). En la parte anterior del cuerpo, posee un bulbo en forma de embudo, no provisto de espinas (**Fig. 16 A-B**), pero estas son evidentes en el interior del bulbo (en este espécimen el cuello está invaginado). La parte anterior del bulbo es ancha (0.64 mm) y 0.63 mm de largo y se angosta hacia su base (**Fig. 16 A**) (n = 1). La proboscis 0.45 mm de largo (se presentó invaginada), es de forma cilíndrica y su receptáculo tiene de doble pared.

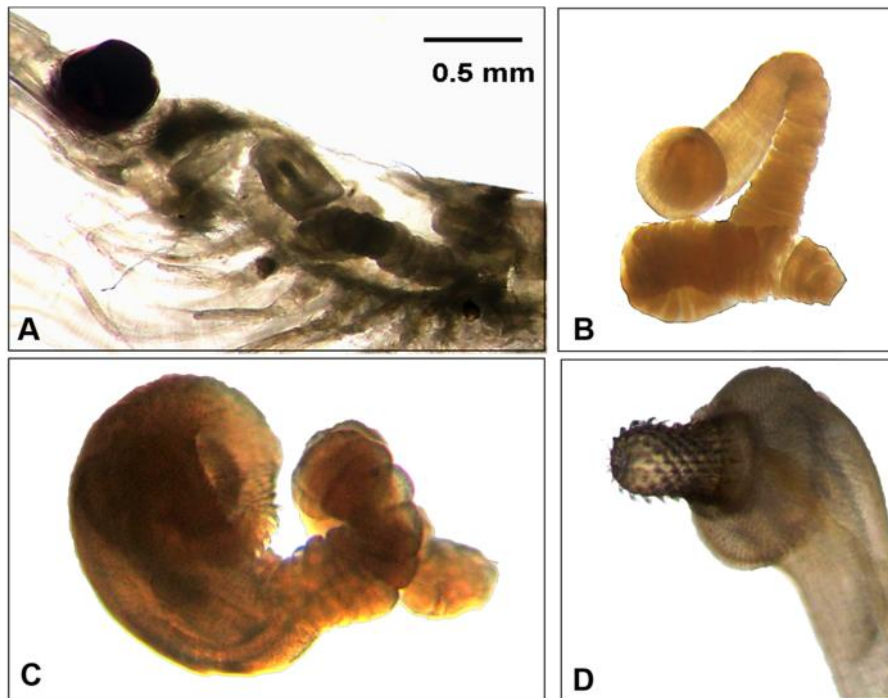


Figura 16. Acantocéfalos que infectan a *Nyctiphanes simplex* en el Golfo de California. *N. simplex* infectado por *Bolbosoma balanae* (s.l) (A). *B. balanae* disectado del hemocele de *N. simplex* (B). *Bolbosoma* sp. 1, (C) y *Bolbosoma* sp. 2 (D). Figuras B-D (40X).

Comentarios *Bolbosoma balanae* del krill *Nyctiphanes simplex*

Debido a que este espécimen se recuperó de krill (fijado en formol), el acantocéfalo presentó la proboscis invaginada, por lo que no fue posible contar el número de filas ni el número de ganchos por fila. Asimismo, debido al estadio de desarrollo (cistacanto) y a la escasez de ejemplares de este parásito (n=1), no fue posible describir ni medir el aparato reproductor. Sin embargo, las medidas y características de éste espécimen, se asemeja al cistacanto de la especie *Bolbosoma balanae* reportada en [Gregori et al. \(2012\)](#). Además, dentro de las especies válidas del género *Bolbosoma*, la especie *B. balanae* es la única que presenta el bulbo no armado (sin espinas cuticulares). En consideración, nuestro espécimen es tentativamente asignado a la especie *Bolbosoma balanae* (*sensu lato*) hasta que nueva evidencia permita confirmar o asignar su identidad taxonómica con mayor precisión (*sensu stricto*).

***Bolbosoma* sp. 1 (hospedero: *Nyctiphanes simplex*)**

El cistacanto (forma larvaria de acantocéfalos) identificado como *Bolbosoma* sp. 1 (**Fig. 16 C**) presenta cuerpo cilíndrico corrugado y alargado (longitud total: 3 mm, ancho máximo a la mitad del cuerpo: 0.37 mm). En la parte anterior del cuerpo, posee un bulbo (1.25 mm) en forma de embudo, provisto de espinas (0.8 mm de ancho) (**Fig. 16 C**). La parte anterior del bulbo es ancha y se angosta hacia su base (**Fig. 16 A**) (n = 1). La proboscis (se presentó invaginada), es de forma cilíndrica y su receptáculo tiene doble pared. Los lemniscos llegan hasta la parte media-anterior del cuerpo.

Comentarios *Bolbosoma* sp.1 del krill *Nyctiphanes simplex*

Este espécimen se recuperó de krill en las mismas condiciones que *Bolbosoma balanae*, con las características taxonómicas determinantes a nivel de especie, no visibles (proboscis y ganchos). Asimismo, debido al estadio de desarrollo (cistacanto) y a la escasez de ejemplares este tipo de parásito (n=1), no fue posible describir ni medir el aparato reproductor. Por lo que, las medidas y características obtenidas de nuestro espécimen no permiten asignarlo a ninguna especie del género *Bolbosoma*.

***Bolbosoma* sp. 2 (hospedero: *Nyctiphanes simplex*)**

Cistacanto (forma larvaria de acantocéfalos) identificado como *Bolbosoma* sp. 2 presenta cuerpo cilíndrico y alargado (longitud total: 6.65 mm, ancho máximo a la mitad del cuerpo: 0.44 mm) y abultado en la parte terminal posterior del cuerpo (0.54 mm) (n = 1) (**Fig. 16 D**). La parte anterior del cuerpo presenta un bulbo en forma de embudo (longitud total 1.63 mm y 1.26 mm de ancho), provisto de espinas en un campo completo hasta la base del cuello (este espécimen presentó el cuello invaginado) (**Fig. 16 D**). La proboscis es de forma cilíndrica (0.6 mm de largo y 0.4 de ancho), ligeramente comprimida en la parte central (0.38 de ancho) y presenta >14 filas longitudinales provistas con 8-9 ganchos, el tercer gancho es el más prominente y los ganchos basales los más pequeños. El receptáculo es de doble pared 1.23 mm de largo por 0.4 mm de ancho. Se observan esbozos de testículos en el tercio posterior del cuerpo (0.18 mm largo por 0.1 mm de ancho).

El número de ganchos de este espécimen, se traslapan con *Bolbosoma caenoforme*; sin embargo, la evidencia morfológica y el limitado número de especímenes no permitieron asignarlo contundentemente a alguna especie de *Bolbosoma* previamente descrita.

7.7. Descripción ecológica de la infección

7.7.1. Distribución espacio-temporal de *Nyctiphanes simplex* infectado por cestodos

El patrón de infección por cestodos entre temporadas (invierno-verano) en el krill fue en forma de “núcleos” de prevalencia. Si bien la mayores frecuencias y prevalencias de cestodos infectando krill ocurrió en temporadas cálidas, en una comparación intraespecífica se observó que los cestodos estuvieron distribuidos de forma heterogénea y geográficamente. No se observó una correlación directa significativa entre la prevalencia y la densidad de los hospederos (krill) (**Fig. 17**). Esta alta heterogeneidad de la distribución de cestodos se observó en todos los cruceros, independientemente de la estacionalidad. Por ejemplo, para el crucero de invierno (más frío), los “núcleos” de infección se concentraron en la zona de las grandes islas (**Fig. 17**) mientras que en los cruceros de verano se observaron en la parte central del Golfo de California. De las tres especies de cestodos que infectaron a *N. simplex*, *Hemionchos major* fue el parásito más prevalente (rango de prevalencia máxima 2-14%) y ampliamente disperso. Este parásito ocurrió en todos los cruceros oceanográficos que comprende este estudio (invierno, transición y verano) y los “núcleos de infección” se observaron desde el norte de las grandes islas a la boca del Golfo de California (Cabo Corrientes) y parte de la costa occidental de la península (**Fig. 17**). *H. major* presentó un

patrón estacional de infección con mayores prevalencias durante los meses más cálidos (julio 2007 y agosto 2013).

Con base a la prevalencia, frecuencia y amplia distribución (dispersión) de *H. major*, sugiere que este parásito, es la especie dominante en la comunidad de parásitos que infecta al krill en el GC. De hecho, esta especie (*H. major*) infectó a dos especies de krill de género distinto: *Nyctiphanes simplex* y *Euphausia lamelligera* (**Tabla 2**).

Por otro lado, la infección de *Paranybelinia otobothrioides*, es similar al de *H. major* en cuanto a la prevalencia (0.4-14%) e infección por “núcleos”. Sin embargo, este parásito fue mayormente distribuido del centro hacia el sur del GC con registros en junio de 2013 hasta la costa occidental del GC.

El cestodo *Mobuloscestus nephritidis* fue menos prevalente y con menor dispersión en la población del krill *Nyctiphanes simplex* en tres de los cuatro cruceros (**Fig. 17**). Su máxima prevalencia observada (5.8%) ocurrió en julio de 2007.

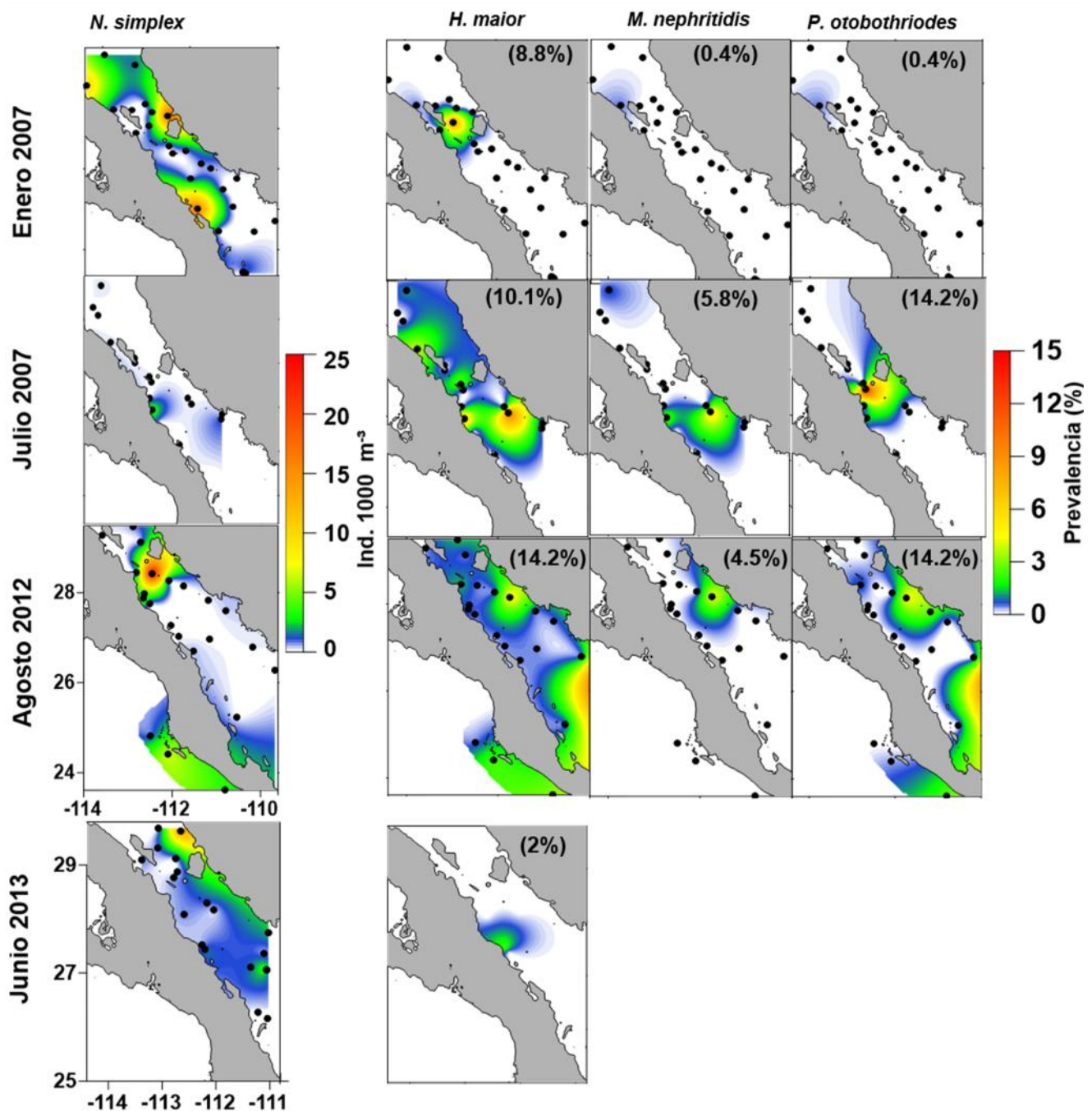


Figura 17. Distribución espacial de *Nyctyphanes simplex* (densidad) e infección de parásitos (prevalencia) en invierno y verano en el Golfo de California.

La densidad promedio de krill parasitado por cestodos fue mayor en verano (n=7 estaciones, promedio = 48 ind. 1000 m⁻³) que en invierno (n=3 estaciones, promedio = 19 ind 1000 m⁻³) pero con prevalencias que fluctuaron entre 0.03 y 8.8% en invierno y 0.03 y 14.3 %

en verano. La heterogeneidad en la distribución, indirectamente indica que la infección por cestodos es mayor entre individuos del mismo enjambre (infección de intra enjambre) que entre individuos de distintos enjambres (**Fig. 17**).

7.8. Parasitismo de invierno (enero 2007) vs densidad de krill y variables ambientales

La comparación por correlaciones de Spearman para el crucero de invierno (enero 2007) demostró que la densidad de *Nyctiphanes simplex* se correlacionó negativamente con la profundidad de la capa del mínimo de oxígeno (PCMO). Esto sugiere que las mayores densidades de *Nyctiphanes simplex* se concentran en aguas más oxigenadas. Aunque la densidad de *N. simplex* se correlacionó positivamente con la prevalencia y abundancia de los diferentes tipos de cestodos, estas correlaciones no fueron significativas (**Tabla 5, Fig. 17**).

Tabla 4. Correlación de Spearman ($\alpha=0.05$) prevalencia y densidad de parasitos vs. abundancia de krill y variables ambientales en invierno (enero 2007). Temperatura (T°C), profundidad de la capa de mínimo oxígeno (PCMO), porcentaje de oxígeno disuelto (%O₂) y concentración total de clorofila (Cl a).

	<i>N. simplex</i>	<i>H. major</i>	<i>M. nephritidis</i>	<i>P. otobothrioides</i>	T°C	PCMO	%O ₂	Cl a
<i>N. simplex</i>								
<i>H. major</i>	0.219566							
<i>M. nephritidis</i>	-0.129099	0.541959						
<i>P. otobothrioides</i>	-0.129099	0.541959	1.000000					
T°C	0.231579	-0.022095	-0.387298	-0.387298				
PCMO	-0.604946	-0.274244	-0.401648	-0.401648	0.281			
%O₂	0.150943	-0.314988	-0.387468	-0.387468	0.557	0.176		
Cl a	-0.156140	-0.069046	-0.387298	-0.387298	0.036	0.413	-0.26	

7.8.1. Parasitismo de verano (julio 2007) vs densidad de krill y variables ambientales

Para la temporada de verano (julio 2007) la prevalencia del cestodo *Hemionchos major*, se correlacionó positivamente con la densidad del krill *Nyctiphanes simplex*, mientras que el cestodo *Paranybelinia otobothrioides* se correlacionó negativamente con el porcentaje de saturación de O₂ disuelto (%O₂). Sugiriendo que la infección de *H. major* podría ser densodependiente del hospedero (**Tabla 5, Fig. 17**).

Tabla 5. Correlación de Spearman ($\alpha=0.05$) prevalencia de parásitos respecto a abundancia de krill y variables ambientales julio 2007. Temperatura (T°C), Profundidad de la capa de mínimo oxígeno (PCMO), porcentaje de oxígeno disuelto (%O₂) y concentración total de clorofila (Cl a). Los valores significativos se muestran en color rojo.

Cestodos	<i>N. simplex</i>	Temperatura	PMC	%O ₂	Cl a tot
<i>H. major</i>	0.625236	0.061724	-0.095121	0.083770	-0.177432
<i>M. nephritidis</i>	0.405564	0.000000	0.147454	0.200921	-0.138064
<i>P. otobothrioides</i>	0.092036	0.074195	0.238992	-0.499262	-0.061357

7.8.2. Parasitismo de verano (agosto 2007) vs densidad de krill y variables ambientales

Para este crucero, se observó que la densidad del cestodo *H. major* se correlacionó positivamente con la densidad de la población de *Nyctiphanes simplex*, este resultado concuerda con la correlación observada en el crucero de julio de 2007 (**Tabla 6**).

Tabla 6. Correlación de parasitismo de cestodos para el crucero de verano (Agosto 2012) respecto a variables ambientales: Temperatura (T°C), profundidad de la capa de mínimo oxígeno (PCMO), porcentaje de oxígeno disuelto (%O₂) y fluorescencia total de clorofila (Cl a). Los resultados significativos se muestran en negritas.

	<i>N. simplex</i>	T°C	Prof. Est.	O ₂ m/L	%sat O ₂	Fluorescencia	
Prevalencia	<i>H. major</i>	0.23	-0.10	0.07	-0.23	0.04	0.18
	<i>M. nephritidis</i>	-0.22	0.18	0.15	0.00	0.11	0.11
	<i>P. otophthrioides</i>	0.04	0.01	-0.11	-0.24	0.03	0.10
Densidad	<i>H. major</i>	0.49	-0.29	0.06	-0.15	0.14	0.23
	<i>M. nephritidis</i>	-0.19	0.15	0.15	-0.02	0.12	0.12
	<i>P. otophthrioides</i>	0.35	-0.16	-0.07	-0.22	0.09	0.11

Análisis de agrupamiento jerárquico de dos vías

El análisis jerárquico de agrupamiento de dos vías de las especies de eufáusidos y sus parásitos helmintos mostró tres agrupaciones distintas con un corte de similitud al 38% (con un porcentaje de encadenamiento de 10.2%).

El primer grupo fue conformado exclusivamente por especímenes de *N. simplex* parasitados por los cestodos *Hemionchos major*, *Paranibelinia otophthrioides*, *Mobulocestus niprhitidis*, los acantocéfalos *Bolbosoma balanae*, *Bolbosoma* sp1. Y el trematodo *Paronatrema mantae* con una distribución altamente heterogénea en el área de estudio.

El segundo grupo estuvo conformado por especímenes de las especies de eufáusidos numéricamente dominantes y con más amplia distribución en el área de estudio pero que no mostraron infección de parásitos helmintos incluyendo *N. simplex* (subtropical nerítica), *N. difficilis* (templada oceánica) y *E. distinguenda* y *E. lamelligera* (tropicales y nerítica).

El tercer grupo incluyó especímenes de *E. lamelligera* infectados con *H. major* y el espécimen de *N. difficilis* infectado con *Copiatestes* sp. así como todas las demás especies

de afinidad tropical (*Euphausia diomedea*, *Euphausia tenera*, *Euphausia eximia*, *Stylocheiron affine*, *Nematobrachion flexipes*, *Stylocheiron carinatum* y *Nematoscelis gracilis*) que mostraron considerable baja densidad poblacional durante el periodo de estudio (**Fig. 18**).

Por otro lado, el análisis jerárquico de agrupamiento de las unidades de muestreo no mostró un patrón consistente a lo largo del gradiente costa-océano. Sin embargo, considerando la época del año (con un corte de similitud del 60%) se formaron seis grupos de unidades de muestreo (con un porcentaje de 4.7% de encadenamiento): 1) unidades de muestreo de julio y enero en los cuales *N. simplex* fue parasitado por seis y tres especies de helmintos respectivamente. Los grupos 2) y 3) incluyeron unidades de muestreo de las cuatro épocas del año en proporciones más o menos similares en la cual dominaron en abundancia *N. simplex* y *N. difficilis* no parasitados y algunas de las especies de baja densidad poblacional de eufáusidos, 4) incluyó unidades de muestreo de enero y una de agosto con ausencia o muy baja densidad de *N. simplex*, 5) este grupo tuvo exclusivamente unidades de muestreo de la época de transición frío-cálida (junio 2013) con alta diversidad de especies de eufáusidos (raramente parasitados con *H. major* y *Copiatestes* sp.) y 6) este grupo tuvo exclusivamente unidades de muestreo de julio 2007 donde únicamente se encontraron *N. simplex* en baja densidad poblacional y sin infección de parásitos helmintos (**Fig. 18**).

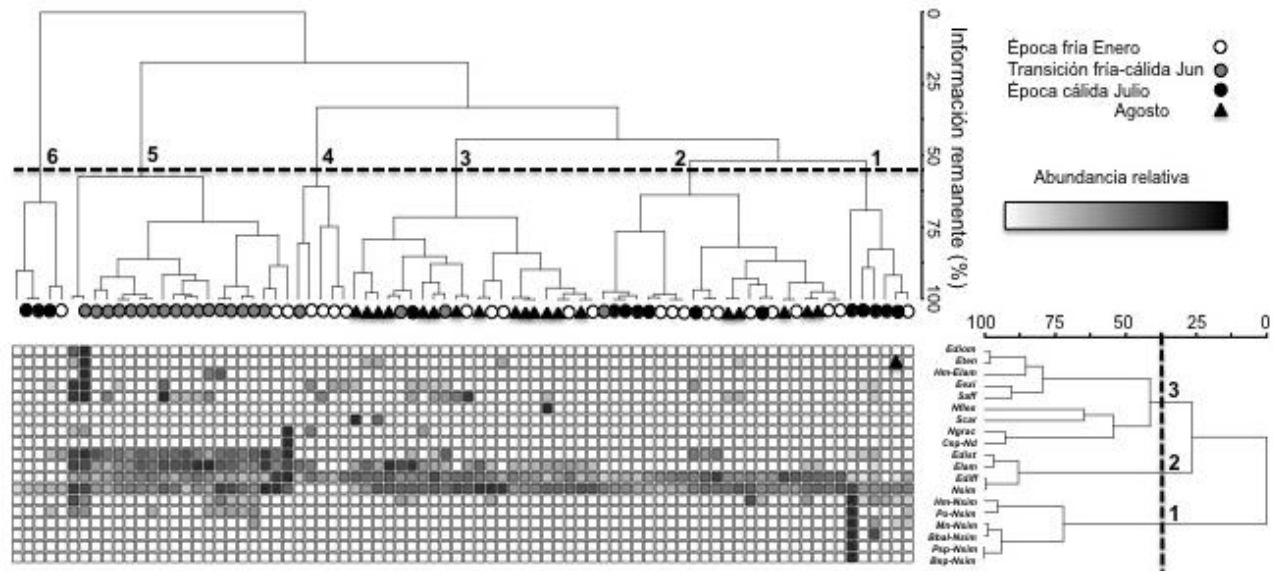


Figura 18. Dendrograma del análisis de agrupamiento de dos vías de la matriz de los especímenes de las distintas especies de eufúsidos no parasitados y parasitados con helmintos utilizando el método de enlace de Ward y la medida de distancia de Sorensen (Bray-Curtis) para todas las estaciones del Golfo de California recolectadas durante distintas épocas del año [enero 2007 (época fría n=23), junio 2013 (época de transición fría-cálida n=19) y julio 2007 y agosto 2012 (época cálida n=389)]. La función objetivo mide la pérdida de información en cada paso en el análisis jerárquico de agrupamiento (McCune *et al.*, 2002). Los dendrogramas muestran las abreviaturas de los géneros en la primera letra mayúscula y 3-4 letras del nombre de la especie.

Escalamiento No-Métrico Multidimensional de los eufúsidos sin y con parásitos.

El ENMM mostró un gradiente pronunciado estacional entre la época fría, transicional y cálidas demostrando que existieron diferencias en la abundancia y estructura de la comunidad de especies de eufúsidos sin y con parásitos helmintos. Los gradientes multidimensionales explicaron 50.7% de la variabilidad a lo largo del eje 1 y 31.9% a lo largo del eje 2 explicando ambos ejes un 82.6% de la variabilidad total (ambos ejes). El eje uno

representa un gradiente asociado positivamente con la profundidad de la capa de mezcla y en menor correlación con el porcentaje de saturación de oxígeno y la biomasa zooplanctónica. El eje uno está altamente correlacionado con la concentración de oxígeno disuelto y en menor magnitud con la concentración de clorofila-a. Todas las especies de eufáusidos (incluyendo los especímenes de las tres especies de eufáusidos parasitados) tendieron a mayores densidades en regiones donde la profundidad de la capa de mezcla fueron relativamente profundas (**Fig. 19, Tabla 7**). Aunque las unidades de muestreo de los cuatro cruceros mostraron un considerable traslape en los gradientes ambientales, a lo largo del eje 2 las unidades de muestreo de la época calida (julio y agosto) se ubicaron en la parte superior de la ordenación, en el centro, estuvieron las unidades de muestreo de la época transicional y, en la parte inferior, las unidades de muestreo de la época fría positivamente correlacionado con la temperatura a 10m y, negativamente correlacionado con la profundidad del fondo marino (regiones en la plataforma continental en la parte superior de la ordenación y las regiones oceánicas en la parte inferior). Las variables como BZ, concentración de clorofila a y porcentaje de saturación tuvieron considerablemente menor asociación con la densidad de los eufáusidos. *Nyctiphanes simplex* y *Nematoscelis difficilis* estuvieron cerca del centro de la ordenación por que tuvieron las mayores densidades poblacionales y los mas amplios patrones de distribución en el área de estudio. La especie más oceánica *Stylocheiron carinatum* estuvo positivamente correlacionada con la profundidad del fondo marino confirmando su afinidad biogeográfica oceánica. El resto de los especímenes de las especies de krill sin y con parásitos estuvieron en regiones con relativamente menores profundidades del fondo marino y mayores temperaturas a 10 m donde se registraron los especímenes *N. simplex* parasitados con cuatro especies de parásitos helmintos (las dos especies de *Bolbosoma*, los cestodos *M. nephritidis*, y *P. mantae*). De los especímenes de

eufáusidos parasitados con *H. major* y *P. otophthioides* fueron las que mostraron más amplia distribución espacial. Cabe mencionar que *H. major* infectando *N. simplex* y *E. lamelligera* están relativamente cercanas en el ordenamiento multidimensional. El espécimen de *N. difficilis* parasitado con el trematodo *Copiatestes* sp. fue encontrado en una estación con una relativa profunda capa de mezcla y baja concentración de oxígeno disuelto. De manera conceptual la mayor diversidad de especies en especímenes de *N. simplex* infectados fue cerca de la costa (estaciones en la plataforma continental) acorde con la afinidad nerítica de *N. simplex* (Fig. 19, Tabla 7).

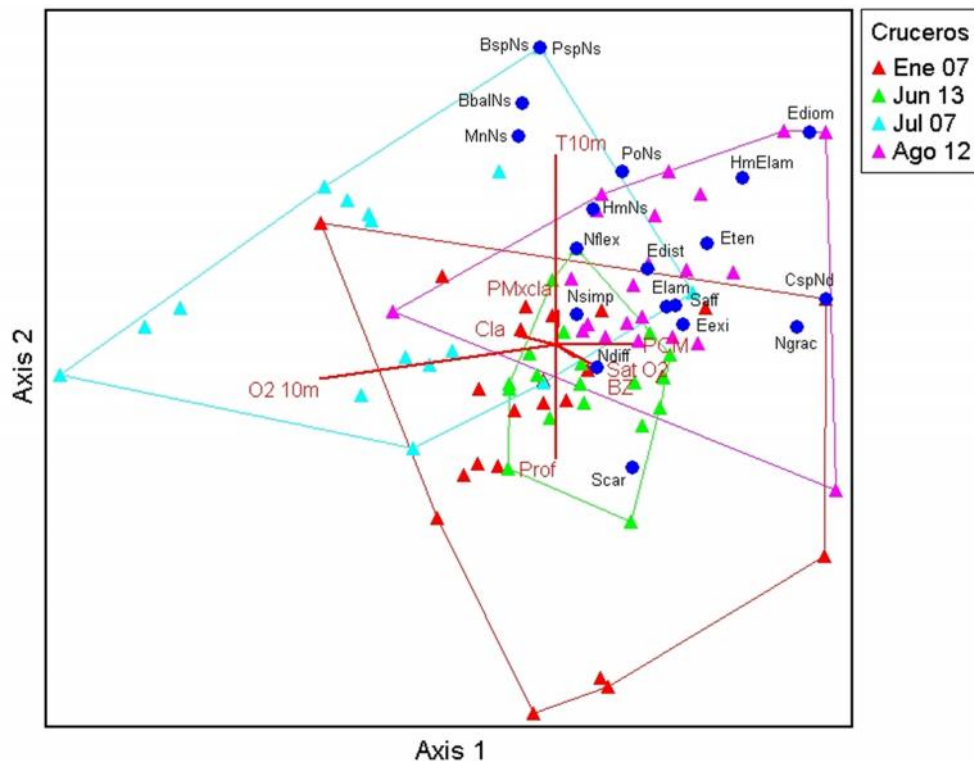


Figura 19. NMDS mostrando las estaciones de muestreo en el espacio de las especies. Las estaciones fueron codificadas por la época del año (cruceros). Las posiciones de los puntos de especies de eufáusidos (grandes círculos azules) representan promedios ponderados de sus abundancias en el espacio de la ordenación. Los símbolos de triángulos son estaciones recolectadas en distintas épocas del año. La dirección de los vectores indica la dirección de la correlación con las estaciones y el porcentaje de varianza (%) en los datos de abundancia de las especies de eufáusidos sin y con parásitos helmintos, explicada por cada variable ambiental.

Tabla 7. Resultados del Escalamiento No-Métrico Multidimensional para la abundancia total de eufáusidos sin y con parásitos (N=80) recolectados durante enero y julio 2007, agosto 2012 y junio 2013 en la región centro y norte del Golfo de California, mostrando el coeficiente de determinación entre paréntesis (r^2) y mostrando las correlaciones de Pearson y Kendall (r) de la asociación entre las distancias de ordenación y distancias originales n-espacial dimensionales para las variables ambientales analizadas. En negritas, son las variables con mayores correlaciones de Pearson y Kendall en cada uno de los ejes (modos de variabilidad).

Ejes	1 ($r^2=0.507$)			2 ($r^2=0.319$)			3 ($r^2=0.097$)		
	r	r^2	tau	r	r^2	tau	r	r^2	tau
Temp 10m (°C)	0.035	0.001	0.109	0.442	0.195	0.308	-0.365	0.133	-0.353
Prof Max Cla (m)	0.048	0.002	0.066	0.187	0.035	0.140	-0.125	0.016	-0.102
Fondo mar (m)	-0.018	0.000	-0.035	-0.345	0.119	-0.210	-0.189	0.036	-0.089
Bio Zoop (ml 1000 m ⁻³)	0.189	0.036	0.118	-0.145	0.021	-0.067	0.087	0.008	0.055
Saturación de O ₂ (%)	0.145	0.021	0.091	-0.108	0.012	-0.062	0.167	0.028	0.091
PCMO (< 1 ml L ⁻¹)	-0.109	0.012	-0.057	-0.022	0.000	-0.068	0.074	0.005	0.046
O ₂ 10m (< 1 ml L ⁻¹)	-0.496	0.246	-0.349	-0.191	0.037	-0.192	0.395	0.156	0.272
Cl-a (mg m ⁻³)	-0.197	0.039	-0.017	0.093	0.009	0.122	0.117	0.014	0.149
Sal 10m	-0.113	0.013	-0.136	-0.046	0.002	-0.049	0.249	0.062	0.284
PCM (m)	0.281	0.079	0.127	-0.035	0.001	0.004	-0.059	0.003	-0.050
<i>E. diomedea</i>	0.279	0.078	0.209	0.287	0.082	0.214	-0.051	0.003	-0.064
<i>E. distingenda</i>	0.458	0.210	0.382	0.470	0.221	0.417	-0.481	0.231	-0.419
<i>E. eximia</i>	0.360	0.130	0.213	0.070	0.005	0.010	-0.249	0.062	-0.289
<i>E. lamelligera</i>	0.735	0.540	0.701	0.309	0.096	0.260	-0.240	0.058	-0.197
<i>E. tenera</i>	0.252	0.064	0.143	0.207	0.043	0.068	0.098	0.010	0.138
<i>N. difficilis</i>	0.576	0.332	0.312	-0.395	0.156	-0.377	0.269	0.072	0.155
<i>N. flexipes</i>	0.016	0.000	0.002	0.093	0.009	0.102	0.130	0.017	0.130
<i>N. gracilis</i>	0.389	0.151	0.316	0.036	0.001	0.053	-0.007	0.000	-0.040
<i>N. simplex</i>	0.320	0.103	0.292	0.583	0.340	0.297	0.557	0.311	0.420
<i>S. affine</i>	0.388	0.150	0.321	0.156	0.024	0.115	-0.052	0.003	-0.055
<i>S. carinatum</i>	0.083	0.007	0.087	-0.165	0.027	-0.146	0.018	0.000	0.041
<i>H. major-N. simplex</i>	0.120	0.014	0.053	0.548	0.300	0.474	0.202	0.041	0.085
<i>H. major-E. lamelligera</i>	0.250	0.062	0.219	0.275	0.075	0.228	-0.115	0.013	-0.119
<i>M. nephritidis-N. simplex</i>	-0.058	0.003	-0.131	0.386	0.149	0.294	0.159	0.025	0.058
<i>P. otobothrioides-N. simplex</i>	0.164	0.027	0.153	0.534	0.285	0.431	-0.032	0.001	-0.144
<i>Copiatestes sp-N. difficilis</i>	0.213	0.046	0.154	0.044	0.002	0.066	0.028	0.001	0.018
<i>P. mantae-N. simplex</i>	-0.013	0.000	-0.038	0.287	0.082	0.158	0.228	0.052	0.154
<i>B. balanae-N. simplex</i>	-0.038	0.001	-0.081	0.331	0.110	0.217	0.118	0.014	0.035
<i>Bolbosoma sp-N. simplex</i>	-0.013	0.000	-0.038	0.287	0.082	0.158	0.228	0.052	0.154

7.8.3. Estadio infectivo de cestodos en *N. simplex*

Nyctiphanes simplex es frecuentemente infectado por cestodos Trypanorhyncha en el estadio de plerocercoides (segunda larva), el cual ya posee un escolex bien desarrollado usualmente dentro de un blastocisto (**Fig. 20 A-D**). Sin embargo, también se detectó el estadio de procercoide tardío (primera larva) (**Fig. 20 A**). La ocurrencia de los cestodos en dos estadios larvarios sucesivos (procercoide y plerocercoides, **Fig. 20 A-D**) indica que *Nyctiphanes simplex* es primer hospedero intermediario en la transmisión de parásitos hacia niveles tróficos superiores.

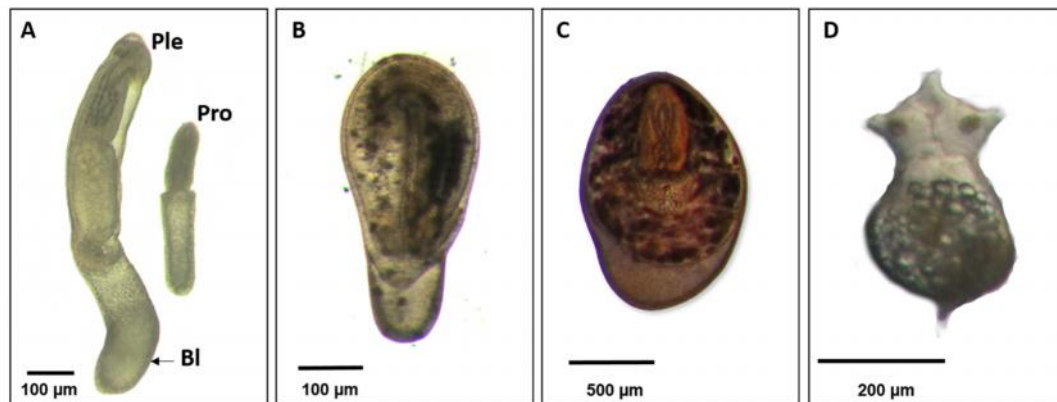


Figura 20. Cestodos que infectan al krill en el Golfo de California. *Hemionchos major* (A-B). *Mobulocestus nephritidis* (C) y *Paranybelinia otobothrioides* (D). Procercoide (Pro), Plerocercoides (Ple), Blastocisto (Bl).

7.8.4. Infección de cestodos por sexo (enero-julio 2007 y agosto 2012)

En los cruceros de enero y julio 2007 y agosto 2012, las hembras de *N. simplex* fueron infectadas con mayor frecuencia que los machos (**Fig. 21**). El cestodo *Hemionchos major*,

infectó a *N. simplex* desde la última etapa de la fase furcilia (5 mm de longitud total) hasta adultos (13 mm de longitud total) indicando que la infección puede ocurrir durante gran parte del desarrollo ontogénico del krill (expuesto a infecciones en la mayor parte de su ciclo de vida) (Fig. 21A-C). En machos, la talla mínima de infección fue mayor a la de las hembras en los tres cruceros (enero = 9 mm y julio = 7 mm) (Fig. 21 A-I).

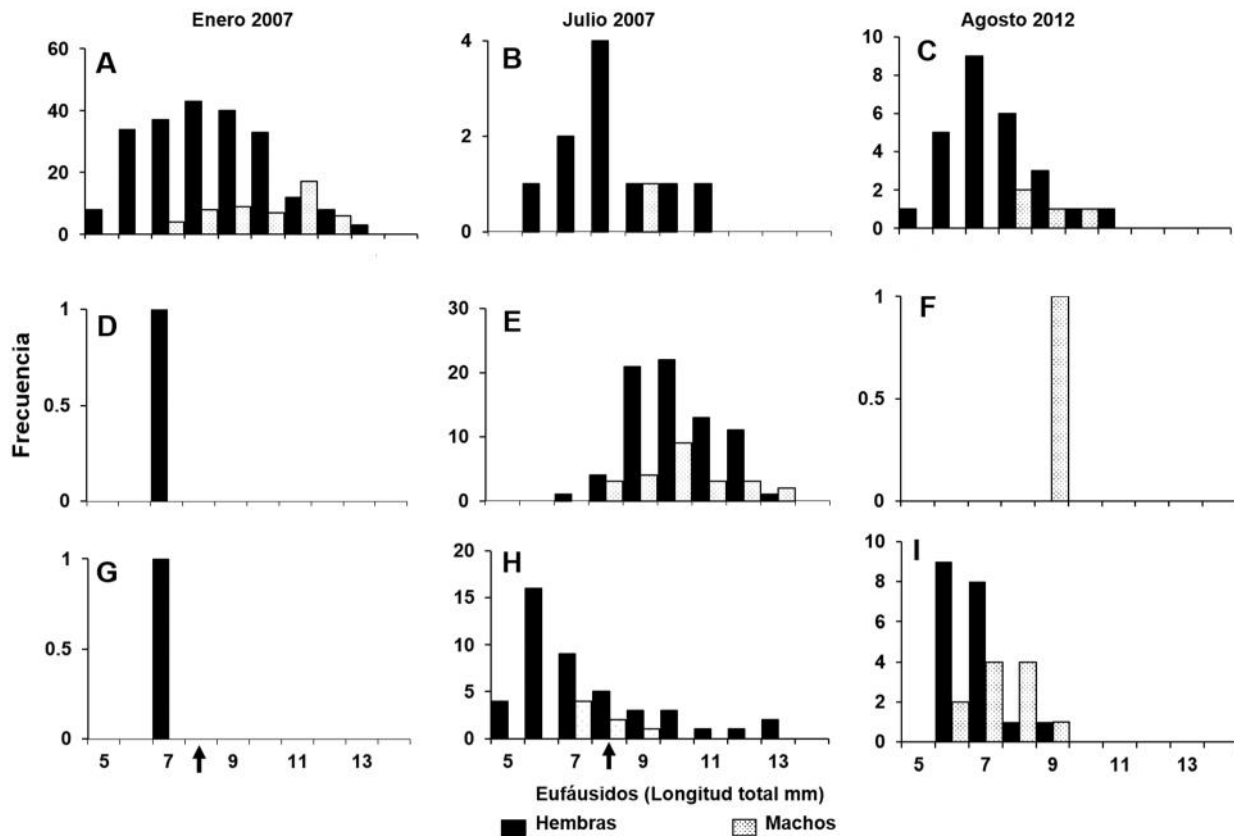


Figura 21. Distribución de tallas de *N. simplex* infectados por cada tipo de cestodos detectados durante los cruceros de enero y julio de 2007 y agosto 2012. La flecha indica la talla mínima en la cual se ha observado a una hembra ovígera o macho con espermátforo. *H. major* (A-C), *M. nephritidis* (D-F) y *P. otobothrioides* (G-I).

Aunque las hembras evidentemente fueron parasitadas con mayor frecuencia que los machos, esta diferencia fue no significativa (enero $X^2 = 4.0$, $p = 0.261$, julio $X^2 = 8.66$, $p =$

0.193 y agosto $X^2 = 9.8$, $p = 0.19$). Esto sugiere que la infección por cestodos en *N. simplex* no está condicionado por el sexo del hospedero.

En la población de krill se observaron hembras maduras así como hembras ovígeras no infectadas durante los cuatro cruceros oceanográficos (**Fig. 22 A-C**). Sin embargo, en los núcleos de infección por cestodos las hembras parasitadas presentaron gónada inmadura y no se observaron hembras ovígeras (**Fig. 22 D-F**). En general, se observó mayor parasitismo en hembras de *N. simplex* inmaduras (HI) en estadio de desarrollo gonádico I (GI) y el parasitismo fue menos frecuente en hembras en estadio de desarrollo gonádico más avanzado (GII – GIV) (**Fig. 22 D- F**).

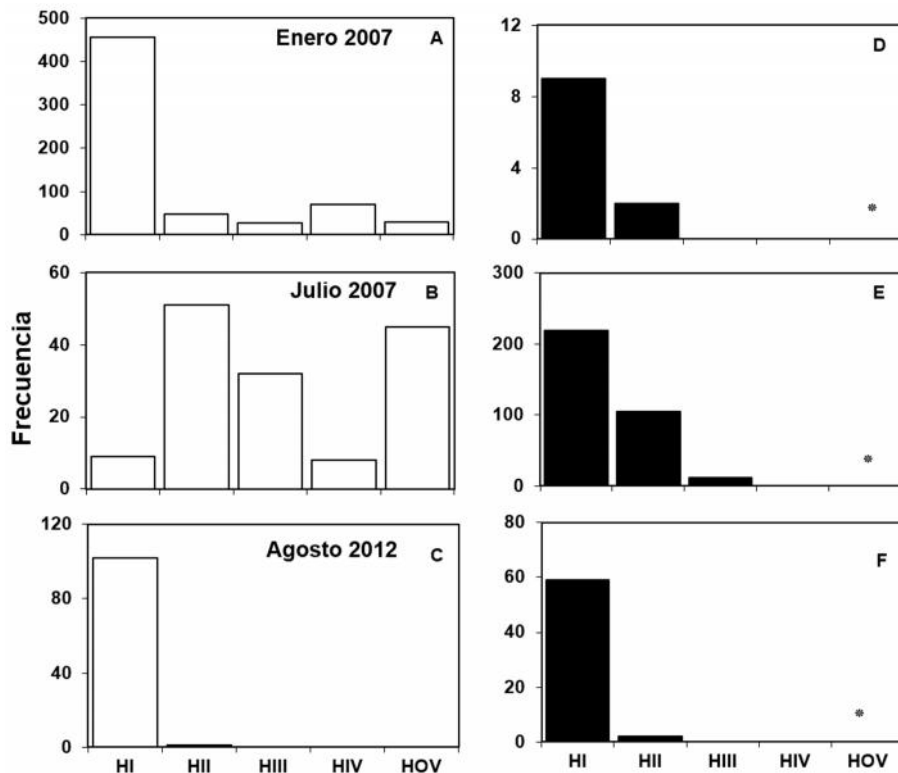


Figura 22. Frecuencia de cestodos en hembras de *Nyctiphanes simplex* en función del estadio de desarrollo gonádico: I = inmaduro, II = previtelogénesis, III = vitelogénesis, IV = grávida (HI – HIV) y hembra ovígera (HOV). () indica la ocurrencia de hembras maduras y ovígeras infectadas con cestodos (datos no cuantitativos). Hembras no parasitadas () parasitadas ().

Una observación notable fue la ocurrencia de hembras ovígeras (recolectadas de muestras no cuantitativas) infectadas por cestodos (**Fig. 22 D-F**) y acantocéfalos (grupos de parásitos diferentes) (**Fig. 23 A-C**). Esto indica que la infección por cestodos en *N. simplex* no necesariamente causa castración (tasa de adecuación = 0) aunque, el biovolumen que ocupan los cestodos *H. major*, *M. nephritidis* y el acantocéfalo *Bolbosoma* sp. en el hemocele de la hembra, así como la patología del hepatopáncreas asociada a la ocurrencia de *P. otobothrioides*, posiblemente influyan en el tamaño de puesta (número de huevos por puesta) o la tasa de producción de huevos (**Fig. 22, 23**).

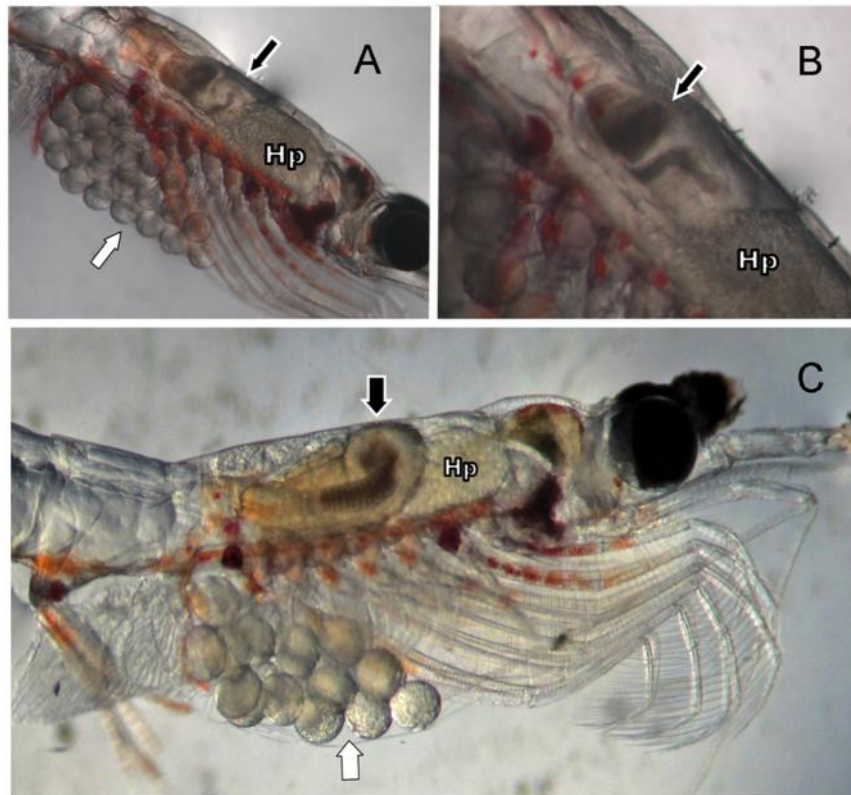


Figura 23. Hembras ovígeras de *Nyctyphanes simplex* infectadas por helmintos. A y B, cestodo Trypanorhyncha identificado como *Mobulocestus nephritidis* (flecha negra). Saco ovígero con tamaño de puesta considerable (flecha blanca). C, hembra ovígera de *N. simplex* infectada por *Bolbosoma* spp. (acantocéfalo). Hepatopáncreas (Hp) (flecha negra).

7.8.5. Análisis histológico de la infección por céstodos de *Nyctiphanes simplex*

A través del análisis histológico de adultos de *Nyctiphanes simplex*, se evidenció a individuos machos y hembras maduros con gónadas reproductivamente activas (n=3) parasitados por los céstodos *H. major*, *M. nephritidis* y *P. otophthrioides* (**Fig. 24 A-E**). La hembra parasitada por *H. major* tenía gónada atrésica (en proceso de reabsorción de la gónada) con presencia de ovocitos amorfos y con núcleos fusionados por la ruptura de la membrana celular externa (**Fig. 24 C**).

Los machos parasitados por *M. nephritidis* y *P. otophthrioides* presentaron la gónada en la región dorsal y la presencia de espermatóforos extruídos indicando (al menos morfológicamente) que estos individuos infectados eran reproductivamente activos (**Fig. 24 B, D-E**). Este hallazgo, confirma que los hospederos machos no necesariamente son castrados (tasa de adecuación >0). La evidencia histológica sugiere que los machos pueden reproducirse aun siendo parasitados por estas dos especies de céstodos.

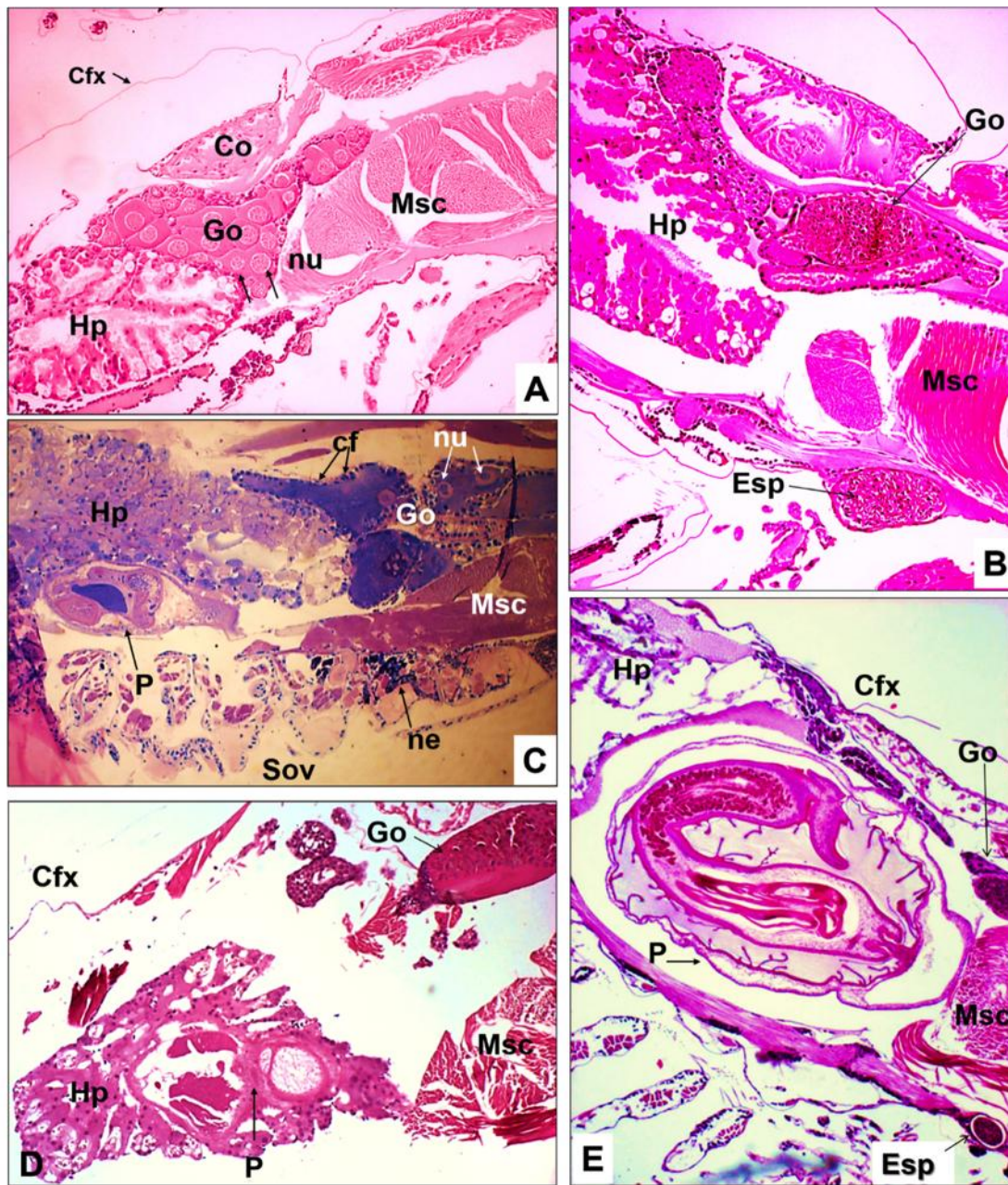


Figura 24. Infección de tres especies de cestodos del orden Thrypanorhyncha infectando machos y hembras maduros del krill *Nyctiphanes simplex*. A) hembra madura no infectada, la gónada muestra ovocitos en desarrollo. B) macho maduro no infectado con espermátforo extruído. C) hembra con gónada madura en estadio de reabsorción infectada con *H. major* en el hemocele. D) macho maduro infectado con *P. otophthioides* embebido en el hepatopáncreas. E) macho con gónada madura y espermátforo en proceso de extrusión infectado con *M. nephritidis*. Parásito (P), saco ovígero (Sov), necrosis (ne), músculo (Msc), células foliculares (cf), núcleos (nu), hepatopáncreas (Hp), gónada (Go), espermátforo (Esp), cefalotórax (cfx), corazón (Co).

Las tres especies de cestodos que infectan al krill tuvieron distinta patología posiblemente asociadas a sus diferentes estrategias de infección y localización dentro del hospedero. *H. major* y *M. nephritidis* se asociaron a hepatopáncreas edematosos probablemente causado por la ruptura del epitelio del hepatopáncreas debido al contacto por interacción mecánica (movimiento del blastocisto del parásito observado en vivo, particularmente para *H. major*) (**Fig. 25 F**).

El estudio histológico permitió visualizar cambios estructurales en el hepatopáncreas de los individuos parasitados por estas tres especies de cestodos. Sugiriendo un proceso degenerativo progresivo por la destrucción de las células que lo componen (con la correspondiente pérdida de la estructura funcional) (**Fig. 25 A-F; 26 A-D**).

7.8.6. Descripción histológica de la infección de *Paranybelinia otobothrioides*

El cestodo *Paranybelinia otobothrioides* se encontró principalmente dentro de su blastocisto embebido en el hepatopáncreas de *Nyctiphanes simplex* y raramente en la gónada (**Fig. 25 A**). *P. otobothrioides* se asoció frecuentemente con alteraciones estructurales del hepatopáncreas como bajo número y tamaño de células B (**Fig. 25 B-C**). Los individuos de *N. simplex* infectados por *P. otobothrioides* tuvieron respuesta hemocítica (aunque en baja densidad), enfatizando que los hemocitos no han sido hasta ahora observados en el hepatopáncreas de individuos no infectados (**Fig. 25 F**). Además, no se observó encapsulación alrededor de *P. otobothrioides* (aislamiento del parásito en una cápsula); tampoco en las otras tres especies de cestodo observados histológicamente en el presente estudio (**Fig. 25 B, D**). Estas observaciones sugieren que la infección en *N. simplex* rebasa la capacidad de respuesta inmune para neutralizar a este tipo de parásitos que

probablemente afecta la función del hepatopáncreas, el cual tiene la doble función de secretar enzimas y absorber el alimento digerido. De lo anterior, se infiere que el efecto secundario del parasitismo por helmintos en *N. simplex*, podría ser en forma de cascada, es decir, modificaciones en la alimentación, crecimiento, reproducción, comportamiento de los individuos infectados y posiblemente efecto ecológico a nivel de agregación.

Por otro lado, los cambios más evidentes en la conformación estructural de los túbulos del hepatopáncreas fue la hipertrofia tubular asociada al crecimiento de *P. otophthrioides* dentro del túbulo (**Fig. 25 D**). Otras condiciones patológicas fueron pérdida del epitelio intertubular (**Fig. 26 C-D**), descamación celular y pérdida de microvellosidades por la pérdida de células epiteliales (**Fig. 25E y 26 D**).

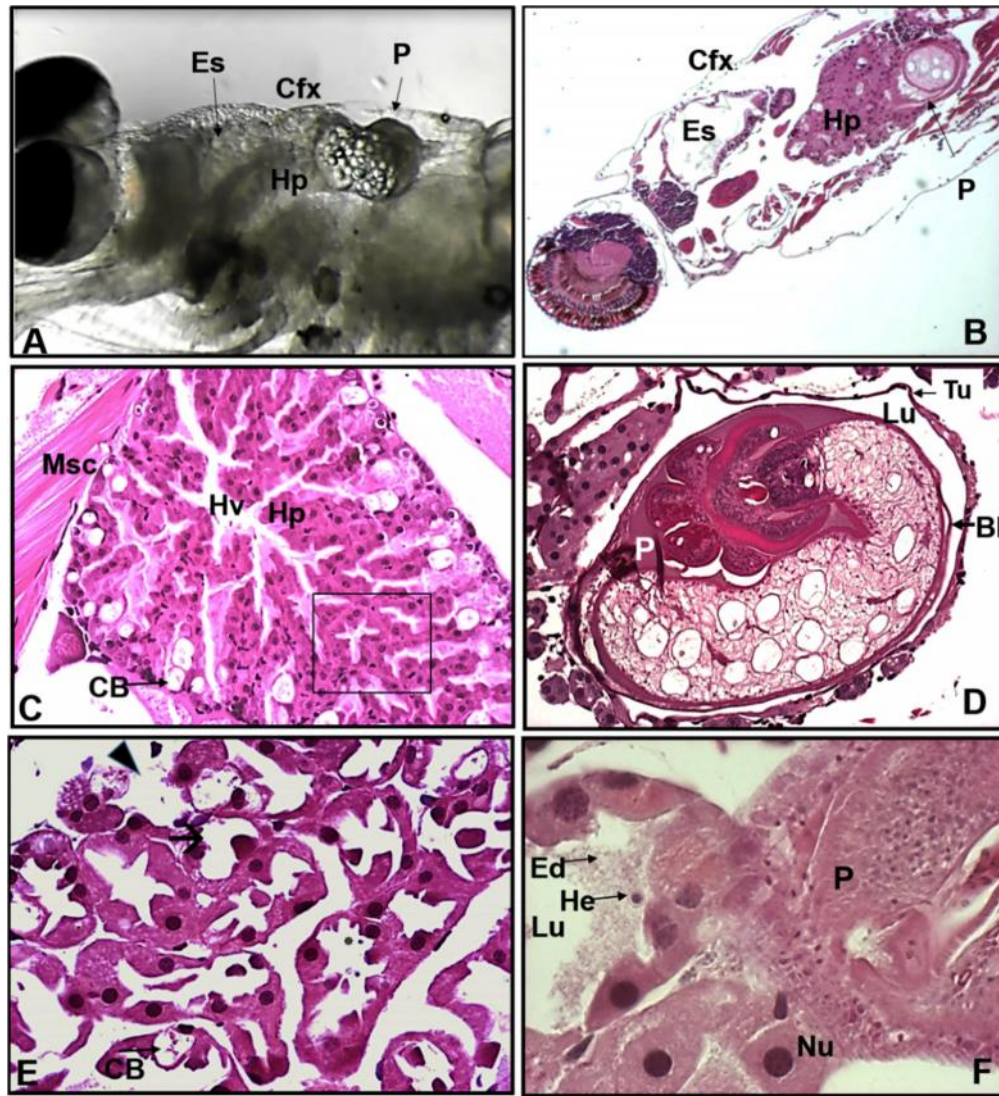


Fig. 25. Patología del hepatopáncreas del krill *Nyctiphanes simplex* causado por la infección del cestodo *Paranybelinia otobothrioides*. A) *N. simplex* recién colectado infectado con *P. otobothrioides*. B) corte longitudinal de *N. simplex* infectado con *P. otobothrioides*. C) hepatopáncreas de *N. simplex* no infectado, el recuadro indica la estructura saludable del lumen del túbulo hepatopancreático. D) túbulo hepatopancreático hipertrofiado por la infección de *P. otobothrioides*. E) hepatopáncreas de *N. simplex* infectado con *P. otobothrioides*, núcleo apoptótico (→), ruptura del túbulo () y baja densidad de células B (CB). F) zona de contacto parásito-hepatopáncreas. Blastocisto (Bl), células B (CB), edema (Ed), hemal vessel (Hv), hemocito (Hm), hepatopáncreas (Hp), túbulo (Tu), lumen (Lu), musculo (Msc), núcleo (Nu), parásito (P). Tinción hematoxilina-eosina.

Otra patología frecuentemente observada en el hepatopáncreas de hospederos parasitados con el cestodo *P. otobothrioides* fue la presencia de células picnóticas (con cromatina condensada) y túbulos colapsados (desprendimiento de las paredes internas) (**Fig. 26 C**).

La infección de cada uno de los tres cestodos se asoció a áreas del hepatopáncreas con acumulación de lipofuscinas. Sin embargo, se observaron más áreas de lipofuscinas en hepatopáncreas infectados por *P. otobothrioides* que en las otras dos especies de cestodos encontrados por su contacto e interacción directa con este órgano (**Fig. 26 A-C**).

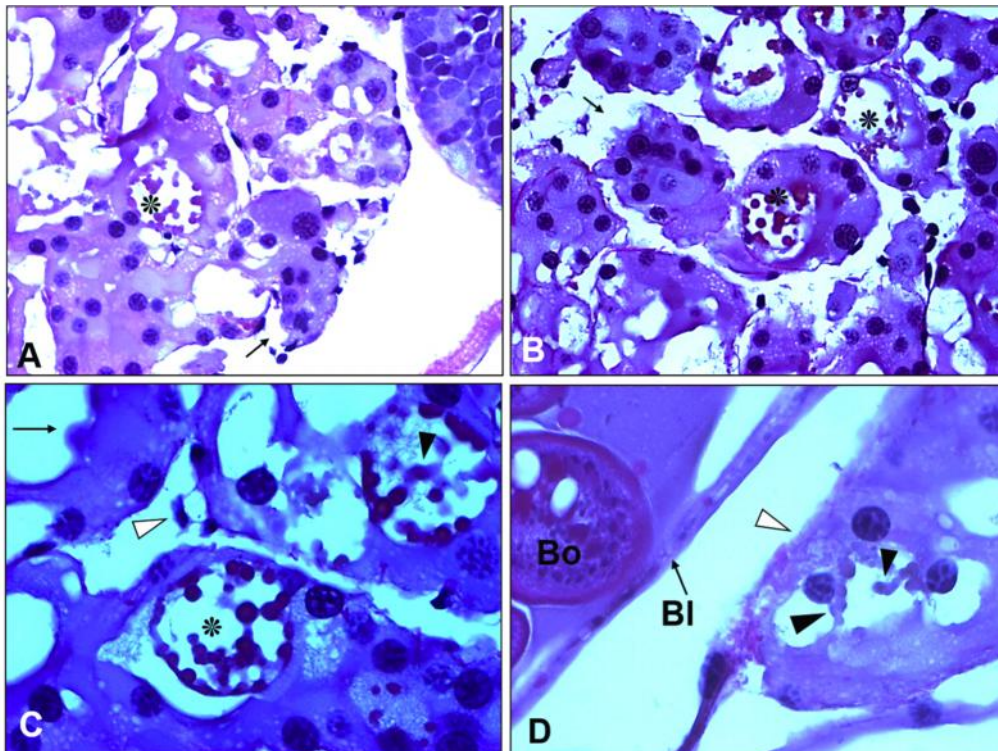


Figura 26. A) Área de acumulación de lipofuscinas en el hepatopáncreas de *Nyctiphanes simplex* infectado con *P. otobothrioides*. B) Áreas de lipofuscinas (*), blastocisto (BI), botrio (Bo), C) proceso inicial del desprendimiento de las paredes internas (→), desprendimiento celular y baja densidad de células epiteliales (△) y D) ausencia de microvellosidades y pérdida de tejido (△) y descamación de las paredes internas del túbulo (△), blastocisto (BI). Flecha.

7.8.7. Descripción histológica de la infección de cestodos Tetrphyllidea

Se descubrió la infección por una especie de cestodo no identificada del orden Tetrphyllidea (cestodos con cuatro ventosas, **figura 27 E**) en una hembra de *N. simplex* recolectada con una red no cuantitativa. La hembra infectada (*in vivo*) presentó la gónada altamente granular y con coloración blanquizca (**Fig. 27 A**). Este cestodo mostró una estrategia de infección distinta a los cestodos del Orden Trypanorhyncha. Por ejemplo, los cestodos Tetrphyllidea, infectaron al krill con una intensidad elevada (> 100) y ocuparon la mayor parte del cefalotórax invadiendo el primer segmento abdominal de la misma forma que ocurre con la gónada grávida (estadio IV) (**Fig. 27 A-F**). Se observó melanización (probablemente con participación de semi-ganulocitos) y zona de necrosis en el saco ovígero como parte de la respuesta de *N. simplex* ante la infección de esta especie de cestodo (**Fig. 27 B,C**). A pesar del pequeño tamaño individual del cestodo, la elevada intensidad de infección le confiere a este parásito mayor biomasa relativa a la biomasa de *N. simplex* que las otras tres especies de cestodos. Sin embargo, la patología del hepatopáncreas asociada a la presencia del cestodo Tetrphyllidea fue similar a la patología observada en las otras tres especies de cestodos Trypanorhyncha (de mayor tamaño individual), con presencia de áreas de acumulación de lipofuscinas, descamación y desprendimiento intertubular (**Fig. 27 F**).

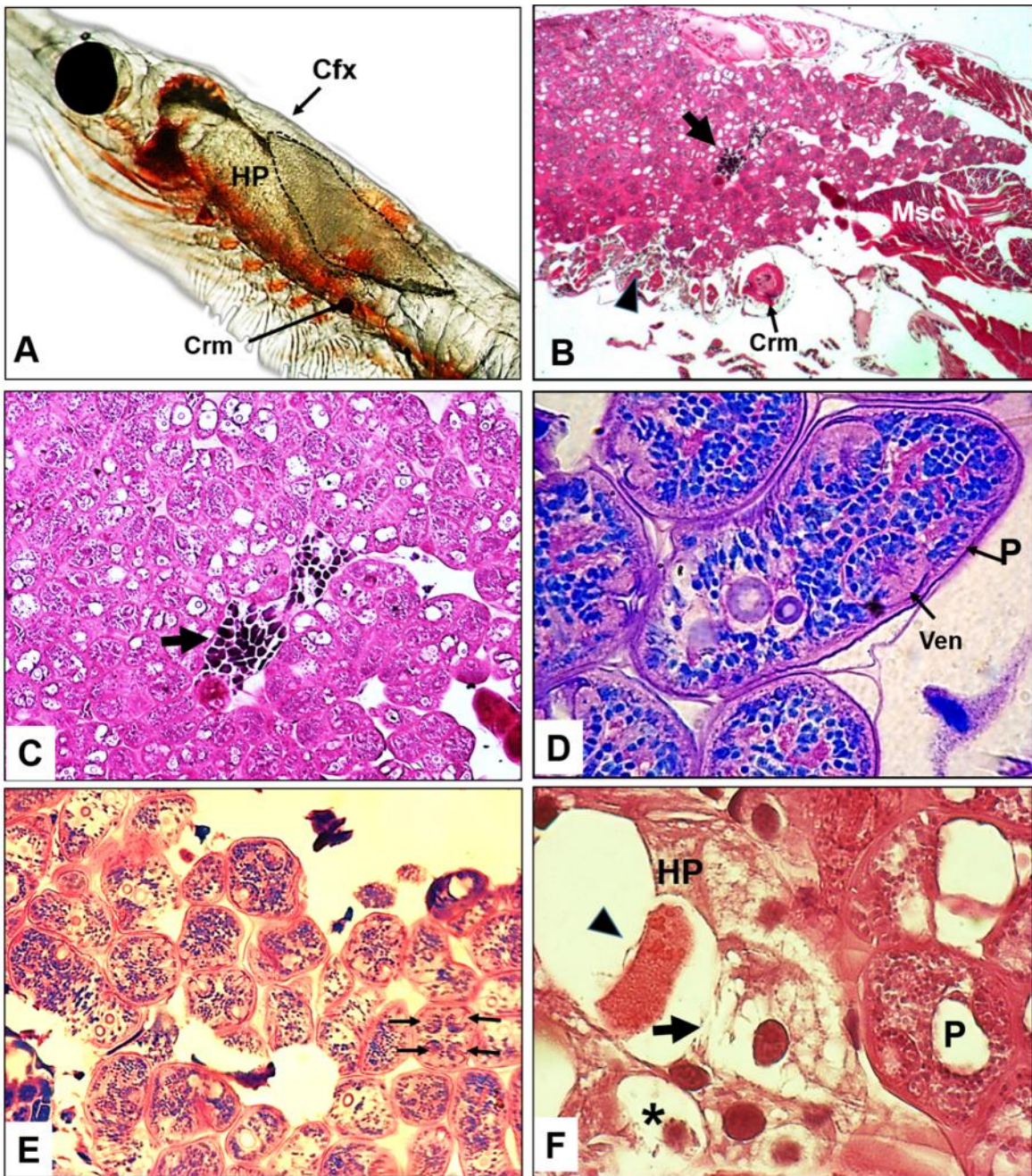


Figura 27. *Nyctiphanes simplex* infectado con cestodos del orden Tetracystidae (muestra recolectada con red no cuantitativa). A) *Nyctiphanes simplex*, hembra infectada con cestodos de la familia Tetracystidae. B-C) zona de melanización (→) y zona de necrosis (◄). D) cestodo Tetracystidae. E) vista apical que muestra las cuatro ventosas de los cestodos. F) descamación (◄) y pérdida de epitelio (→), presencia de lipofuscinas (*) del hepatopáncreas (Hp). Parásito (P), ventosas (Ven), cromatóforo (Crm).

7.8.8. Intensidad de infección e infección múltiple

Durante el presente estudio nunca se observó una intensidad mayor a 2 cestodos (de la misma especie) por hospedero. Sin embargo, la infección múltiple ocurrió rara vez (n 4) donde se detectó un *N. simplex* infectado simultáneamente por *H. major* y *P. otophthrioides* (Figs. 28-29).

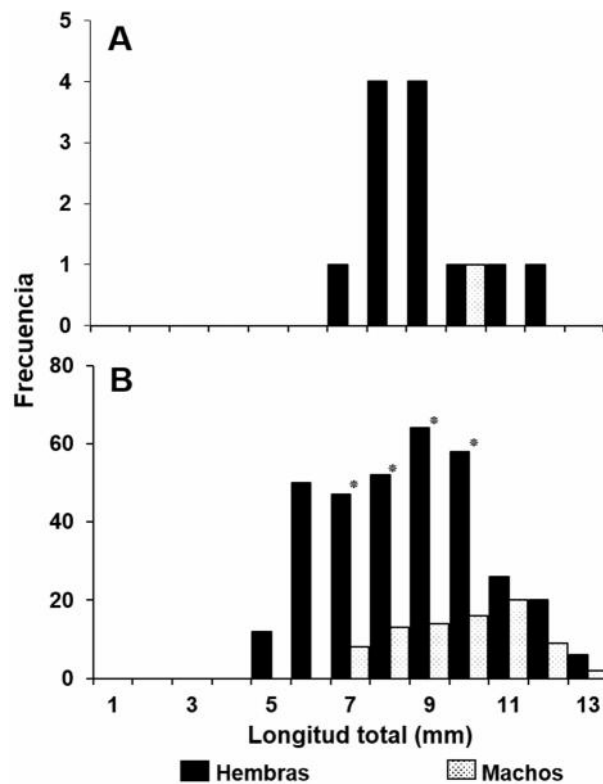


Figura 28. Distribución de frecuencia de la longitud total de hembras y machos de *Nyctiphanes simplex* parasitados por cestodos (las tres especies combinadas). (A) enero 2007 (n=13), (B) julio 2007 (n=417). El símbolo () representa el intervalo de longitud total donde se observaron especímenes infectados con dos cestodos de la misma especie por hospederos (máximo valor de intensidad).

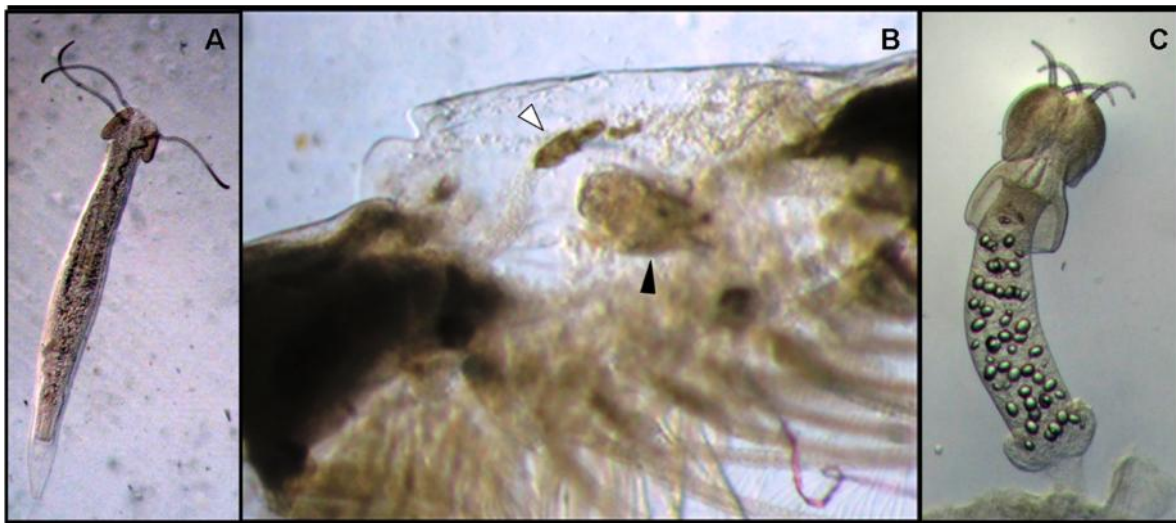


Figura 29. Cestodos Trypanorhyncha infectando a *Nyctiphanes simplex*. A, *Hemionchos* mayor en fase plerocercoide. B, cefalotórax de una hembra *N. simplex* infectada por *H. major* (fase procercoide) y *Paranybelinia* obothrioides envuelto en su blastocisto, insertado en la glándula digestiva (). C, *Paranybelinia* obothrioides (plerocercoide) liberado del blastocisto.

El sitio de ocurrencia más frecuente de infección de los cestodos fue el en el interior del cefalotórax (**Fig. 30 A-F**). Sin embargo, *Hemionchos major* y *Mobulocestus nephritidis* (dentro de su blastocisto), se distribuyen libremente en el hemocele en donde usualmente se ubica la gónada (**Fig. 30 A-D**). Mientras que *Paranybelinia obothrioides* presentó afinidad por parasitar la glándula digestiva (hepatopáncreas) (**Fig. 30 E-F**). Esto sugiere que las especies de cestodos tienen afinidades específicas (distintas) por un microhabitat desde estados larvales tempranos que permitiría la co-existencia (entre cestodos) (infección múltiple). Aunque este hecho, ocurrió con muy poca frecuencia en *Nyctiphanes simplex* (dado la relativamente baja intensidad de cada parásito).

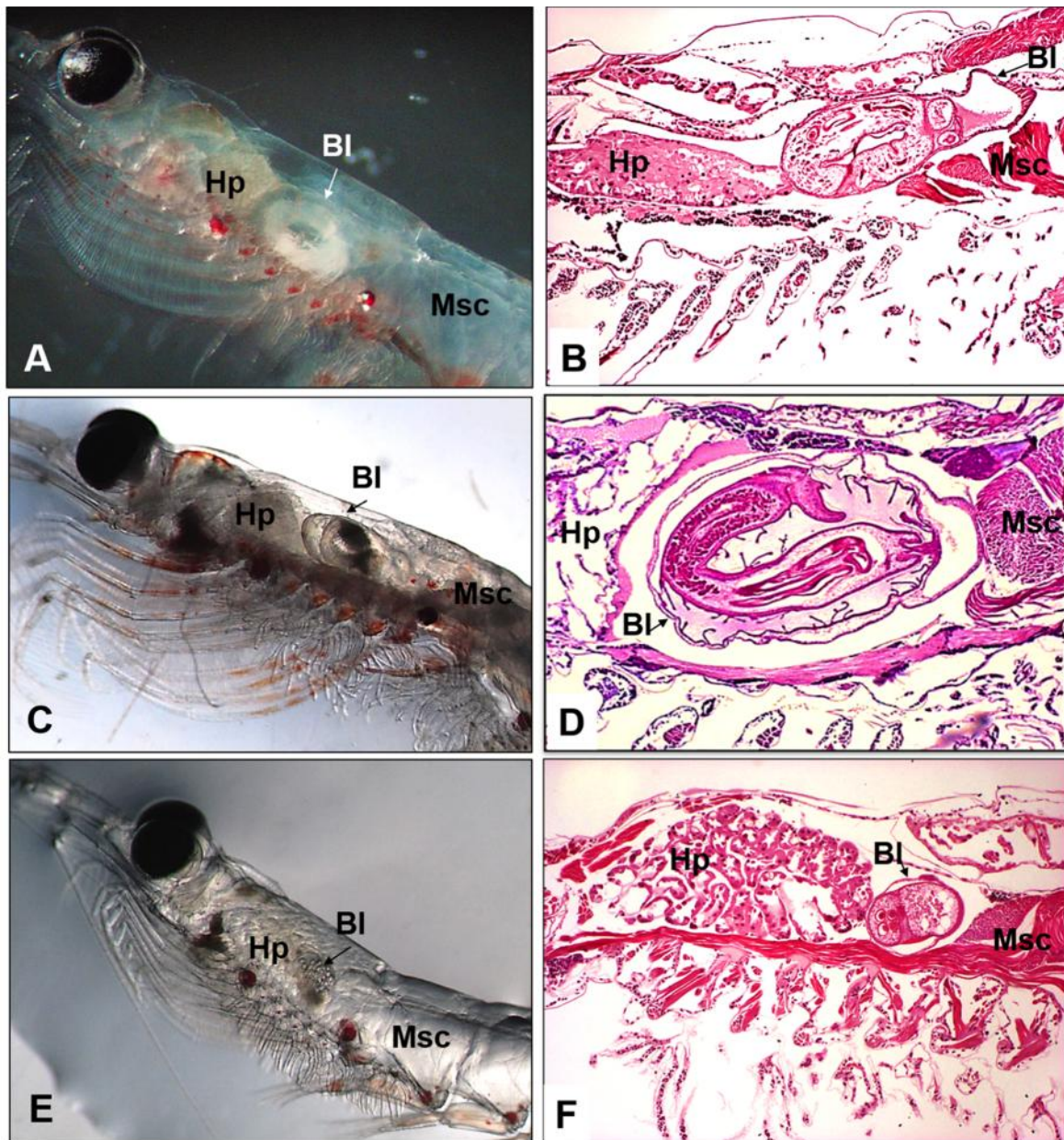


Figura 30. Sitios de infección (microhabitats) más frecuentes de los cestodos *H. major*, *M. nephritidis* y *P. otobothrioides*. Hepatopáncreas (Hp), blastocisto (Bl) y músculo (Msc).

7.8.9. Microhabitats de los cestodos en *Nyctiphanes simplex*

Las tres especies de cestodos que infectan *N. simplex* ocurrieron en seis microhábitats distintos dentro del eufáusido. Los cestodos *H. major* y *M. nephritidis* infectaron

principalmente el hemocele, entre el hepatopancreas y el primer segmento abdominal (n = 368). El cestodo *P. otophthrioides* se encontró principalmente embebido en la glándula digestiva (hepatopáncreas), en la cual, los glóbulos refringentes de la larva se mimetizan con las células de la glándula digestiva (n = 47), aunque fue encontrado libre en el hemocele (sin blastocisto) con menor frecuencia (n = 6). Los microhábitats menos frecuentes del cestodo *H. major* fueron los segmentos abdominales (n = 2) y el intestino en donde fue detectado un procercoide (Fig. 29 B, 31).

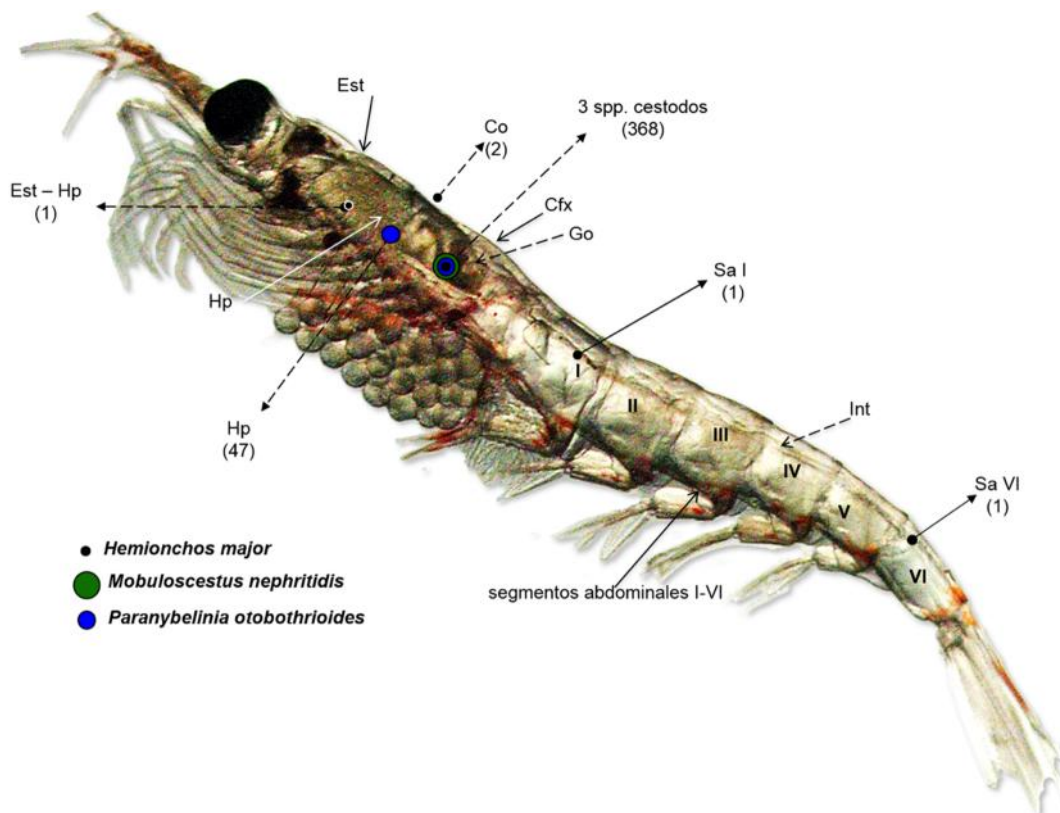


Figura 31. Esquema conceptual de *N. simplex* que muestra los sitios de infección de los (microhábitat) de tres especies de cestodos: *Hemionchos major*, *Mobulocestus nephritidis* y *Paranybelinia otophthrioides*. Estómago (Est), corazón (Co), cefalotórax (Cfx), gónada (Go), segmento abdominal (Sa I-VI), intestino (Int), hepatopáncreas (HP).

7.9. Interacción parásito–hospedero evidenciada mediante análisis histológico

El cestodo *Paranybelinia obobothrioides* fue la única especie de cestodo que infecta el hepatopáncreas. El plerocercioide (ya dentro del hepatopáncreas) es fácilmente confundido debido a la presencia de numerosos gránulos refringentes (posiblemente compuestos por lípidos) que semejan la textura granulosa del hepatopáncreas del hospedero (mimetismo) (Fig. 32 A-B).

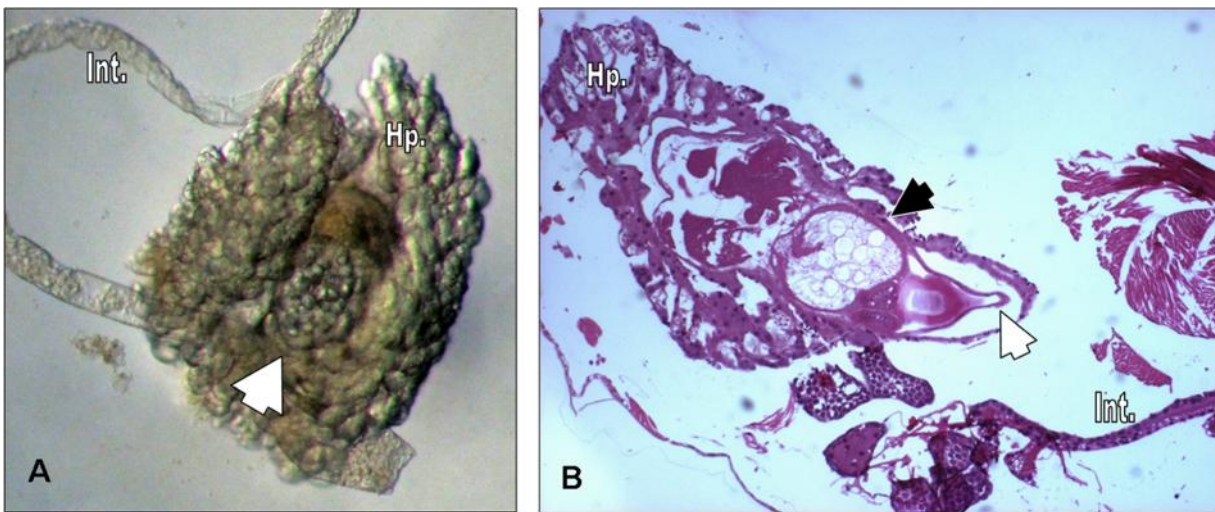


Figura 32. *Paranybelinia obobothrioides*. Detectado en hepatopáncreas de *Nyctiphanes simplex*. (A) hepatopáncreas disectado in vivo la flecha señala al parásito. (B) corte histológico que muestra al parásito embebido en el hepatopancreas. Parásito (→) y extremidad del blastocisto en forma de embudo (⇨). Intestino (int.), hepatopáncreas (Hp.).

7.9.1. Índice hepatosomático/factor de condición

La comparación del índice hepatosomático (IHS) entre *N. simplex* machos y hembras de cada estación oceanográfica del crucero de julio de 2007 mostró diferencias significativas por sexo. La correlación entre el IHS y la longitud del cefalotórax en machos no parasitados

mostró una pendiente positiva y aparentemente distinta a la de los machos parasitados (**Fig. 33 A**), sin embargo, las pendientes e intercepto de ambas correlaciones no fueron no significativamente distintas (no parasitados: $y = 40.7062 + 0.6912x$; $p = 0.8$; $r^2 = 0.0046$; parasitados: $y = 47.4903 - 3.5213x$; $p = 0.05$; $r^2 = 0.0474$).

Por otro lado, la correlación de IHS y longitud del cefalotórax de las hembras no parasitadas respecto a las parasitadas mostraron ambas una pendiente negativa significativa (no parasitadas: $y = 48.0562 - 2.2715x$; $p = 0.01$; $r^2 = 0.0784$; parasitadas: $y = 50.2271 - 4.5717x$; $p = 0.00$; $r^2 = 0.1567$). Asimismo, el factor de condición (IHS) de hembras parasitadas y no parasitadas fue significativamente diferente. Estos resultados fueron consistentes al comparar el IHS promedio de las hembras inmaduras en estadio de desarrollo gonádico I (GI) de la estación 36 del crucero de julio de 2007 ($t=3.08$, $p<0.05$) (**Figs. 33 B y 34**). La diferencia del IHS observada entre organismos (de ambos sexos) no parasitados respecto a los parasitados con cestodos, sugiere que la condición del krill puede verse modificada por la infección con cestodos, modificando principalmente en la relativamente menor capacidad de almacenamiento y asimilación (digestión) del alimento del krill, que podría dar como resultado la formación de agregaciones de individuos de krill con diferentes cualidades fisiológicas (parasitismo y alimentación).

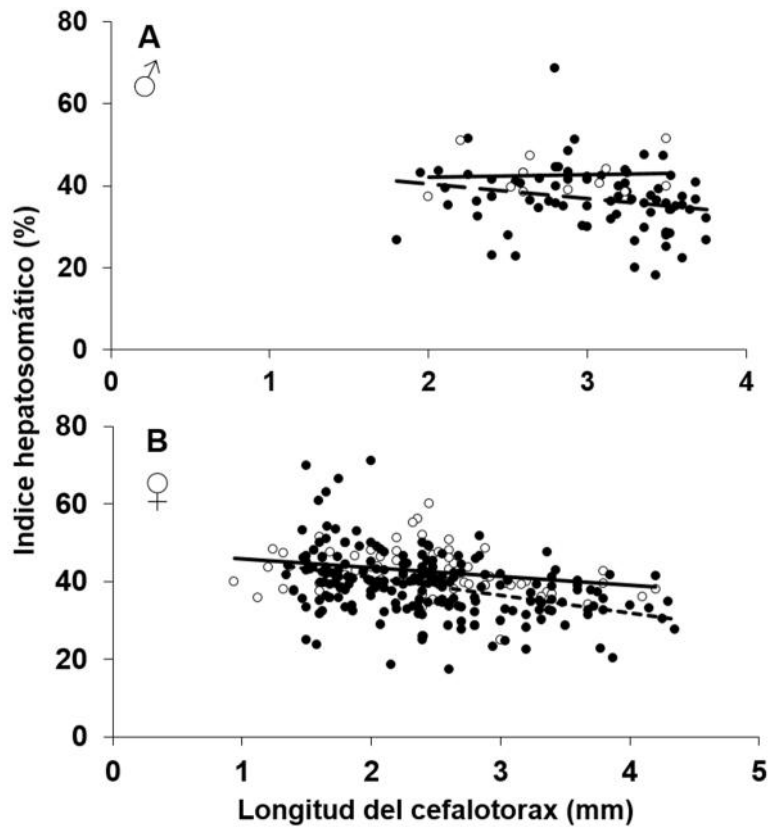


Figura 33. Diagrama de dispersión del IHS entre machos y hembras. (A) Machos infectados (○), machos no infectados (●). (B) hembras infectadas (○), hembras no infectadas (●). En cada gráfica se muestra la línea de tendencia. Krill no infectado (—), infectado (- - -).

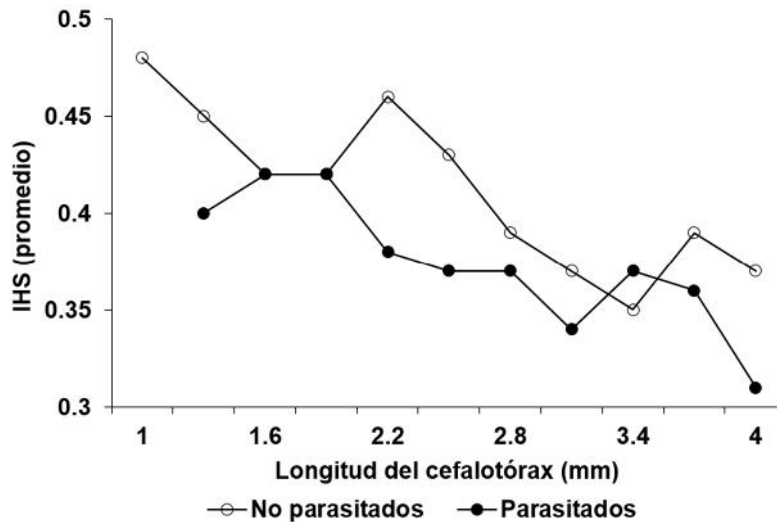


Figura 34. Índice hepatoatómico (IHS) promedio de hembras inmaduras (GI) de krill de la estación E36 del crucero de julio de 2007. Hembras de *Nyctiphanes simplex* no parasitadas (○) y Parasitadas por cestodos Trypanorhyncha (●).

7.9.2. Parasitismo y factor de condición entre machos y hembras de krill

El resultado del ANOVA de dos factores de la comparación del IHS de eufáusidos (machos y hembras) parasitados no mostró diferencia significativa en la interacción entre el sexo e infección (dicotomía de krill infectado o no infectado). Esto indica que estos dos factores influyen de manera separada y no existe efecto de interacción significativa entre estas variables (efecto de ambas variables) sobre el IHS. Pero, los valores promedio del IHS de los organismos infectados difieren significativamente (**Tabla 8**). La prueba de Newman-Keuls mostró que el factor de condición (IHS) de machos y hembras infectados con cestodos fueron estadísticamente distintas en comparación con las hembras no infectadas $p < 0.05$ (**Tabla 9**). Estos resultados sugieren que el IHS de organismos infectados fue independiente del sexo de los hospederos. Estos resultados concuerdan con la prueba χ^2 realizada de la cestodiasis por sexo (sección 7.6.4).

Tabla 8. Análisis de varianza de dos factores del efecto de sexo y presencia o ausencia de cestodos en el índice hepato-somático de especímenes recolectados en la estación oceanográfica E36 de julio 2007; donde tuvo una prevalencia suficientemente alta para comparar individuos de *N. simplex* infectados y no infectados en función del sexo (individuos del mismo enjambre) disminuyendo al máximo cualquier diferencia ocasionada por condiciones ambientales y alimento en el índice hepatosomático (IHS).

	SS	G. L	MS	F	p
Intercepto	238235.4	1	238235.4	4060.954	0.000000
Sexo	44.9	1	44.9	0.766	0.382148
Edo. Salud	778.6	1	778.6	13.272	0.000309
Sexo*Edo. Salud	52.8	1	52.8	0.900	0.343447
Error	21236.7	362	58.7		

Tabla 9. Prueba de Newman-Keuls de especímenes recolectados en la estación oceanográfica E36 de Julio 2007 donde tuvo una prevalencia suficientemente alta para comparar individuos de *N. simplex* con cestodos y sin cestodos en función de sexo (individuos del mismo enjambre) disminuyendo al máximo cualquier diferencia ocasionada por condiciones ambientales y alimento en el índice hepatosomático (IHS).

Sexo	Estado de salud	Machos No parasitados 42.646	Machos parasitados 36.839	Hembras No parasitadas 42.553	Hembras parasitadas 39.145
Machos	No parasitados				
Machos	Parasitados	0.006418			
Hembras	No parasitados	0.958494	0.004005		
Hembras	Parasitados	0.122962	0.197229	0.056747	

8 Análisis molecular de cestodos de krill

8.1 Extracción de ADN y amplificación de fragmentos de genes de parásitos

Dependiendo del grupo taxonómico de los parásitos con los que se trabajó en esta tesis, se emplearon diferentes tipos de técnicas de extracción de ADN genómico total (ADNg) (ver material y métodos). Las secuencias finales amplificadas en este estudio de los fragmentos de ADNr (18S y 28S) oscilaron de ~ 450 – 1900-bp utilizando distintos pares de iniciadores (en inglés primers, que flanquean los extremos del gen, iniciadores internos y universales). El ADNg se extrajo de cestodos que parasitan al krill en estadio de desarrollo larval conocido como plerocercioide (cestodos de krill) (**Fig. 35 A-C**). La variación en el tamaño de los fragmentos amplificados (pares de bases –pb–) se debe al uso de distintos pares de primers y a la región amplificada.

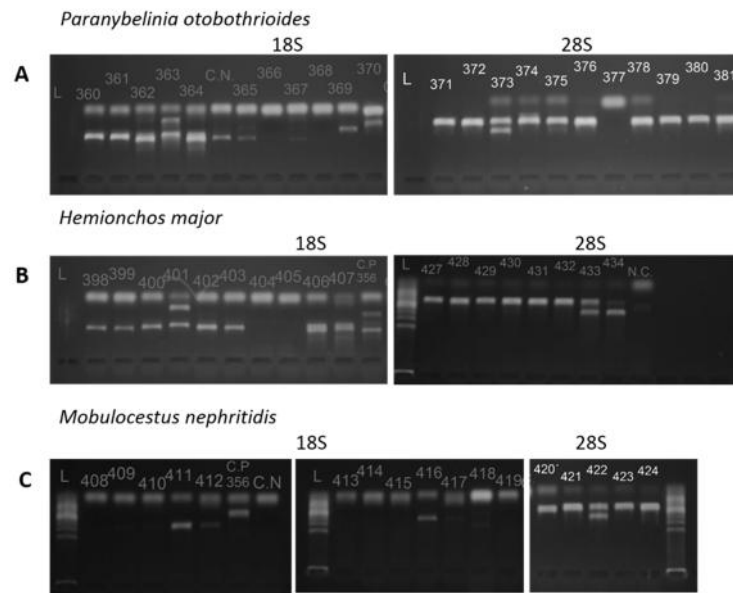


Figura 35. Electroforesis en gel de agarosa teñidos con bromuro de etidio que muestra amplificaciones de PCR de fragmentos de genes de cestodos que infectan al krill *N. simplex* en el Golfo de California. A, *Paranybelinia obovata*. B, *Hemionchos major*. C, *Mobulocestus nephritidis*.

8.1.1. Caracterización molecular de helmintos de depredadores de krill

Ésta es la primera caracterización molecular de los cestodos *Hemionchos major*, *Mobulocestus nephritidis* y *Paranybelinia obovata* que infectan al krill en el Golfo de California. Estos cestodos que ocurrieron en forma larvaria en el krill, fueron caracterizados genéticamente con los fragmentos de ADNr 18S y 28S. Para todos los cestodos, se obtuvieron fragmentos >1500 pb representando >75% de la longitud del gen de ~2000 pb. Para el gen 28S, el fragmento obtenido fue 809 pb de una longitud aproximada de 4000 pb y sólo se obtuvo para el cestodo *P. obovata* (no incluido). Por lo tanto, la fracción del 28S no fue incluido en el presente análisis.

8.2. Filogenia de cestodos que parasitan a *Nyctiphanes simplex*

8.2.1 *Paranybelinia otobothrioides* Dollfus, 1966

El análisis filogenético (Máxima Parsimonia, bootstrap, n=1000) con el gen 18S de cestodos del orden Trypanorhyncha que parasitan a *N. simplex* mostró una topología similar dando como resultado una topología general similar y congruente con la filogenia previamente reportada con evidencia genética por [Palm et al. \(2009\)](#). La topología del árbol sustentó la clasificación más reciente (basada en la morfología) que divide al orden Trypanorhyncha en dos subórdenes 1) Trypanotobatoidea que comprende las superfamilias Eutetrarhynchoidea junto con la superfamilia Tentacularioidea; y 2) el suborden Trypanoselachoidea conformado por las superfamilias Gymnorhynchoidea junto con la superfamilia Lacistorhynchoidea y Otobothrioidea (**Fig. 36**).

La caracterización genética y la filogenia de la especie *Paranybelinia otobothrioides*, apoya la validez taxonómica de la familia Paranybeliniidae (posiblemente junto con *Pseudonybelinia odonhoacanta* que aún no ha sido secuenciada). La familia Paranybeliniidae se distingue de la familia Tentaculariidae por presentar anillo muscular y hendiduras tegumentales (en inglés tegumental grooves) y por la ausencia de órgano prebulbar (**Fig. 36**). Sin embargo, el análisis genético muestra que esta familia está más estrechamente cercana con miembros de la superfamilia Tentacularioidei (bootstrap =100). Esta evidencia de estrecha relación de la especie *P. otobothrioides* (Paranybeliniidae) con los miembros de la superfamilia Tentacularioidei sustenta que la familia Paranybeliniidae es filogenéticamente más distante a la superfamilia Otobothrioidea (contrario a lo previamente propuesto mediante análisis morfológicos). Este clado está resuelto, sustentado por valores bootstrap 100% (**Fig. 36**). La relación filogenética de la familia Paranybeliniidae con la familia tentaculariidae no cambió la filogenia previamente descrita, por lo que, tres de las cinco

superfamilias actualmente reconocidas, siguen monofiléticas (Tentacularioidea, Gymnorhynchoidea, Otobothrioidea) (**Fig. 36**).

8.2.2 Hemionchos major y Mobulocestos nephritidis

Estas dos especies de cestodos de reciente descripción en fase adulta no han sido secuenciadas, por lo que este trabajo representa la primera caracterización molecular y se describe su filogenia. El análisis molecular, mostró que las especies *H. major* y *M. nephritidis* son generos pertenecientes a la familia Eutetrarhynchidae (superfamilia eutetrarhynchoidea). Este resultado es consistente con la clasificación previa basada en caracteres morfológicos como criterios taxonómicos (**Fig. 36**). De acuerdo a la topología del árbol, *H. major* y *M. nephritidis* son taxones hermanos, aunque la longitud de las ramas evidencia una clara diferenciación entre ambas especies. Asimismo, ambas especies están más estrechamente relacionadas con la especie *Rhinoptericola megacantha* (Familia Rhinoptericolidae) (valores bootstrap =100%). Este resultado confirma la parafilia de la superfamilia Eutetrarhynchoidea propuesto por Palm *et al.* (2009). Este nodo (*H. major*, *M. nephritidis* y *Rhinoptericola megacantha*) perteneciente a la superfamilia Eutetrarhynchoidea es el vínculo que relaciona a dos superfamilias, la superfamilia Eutetrarhynchoidea con la Tentacularioidea, aunque con valor bootstrap bajo (<70%) (**Fig. 36**).

De acuerdo con [Campbell & Beveridge \(2006\)](#), el género *Mobulocestos* presenta una fila central de ganchos en el principio de la hilera principal en la superficie botrial del tentáculo (como en el género *Fellicocetus*). De acuerdo con [Campbell & Beveridge \(2006\)](#), este carácter morfológico parece ser único dentro de los trypanorhyncha, por lo que

propusieron fuera considerado como un paso transicional entre las formas tentaculares heteracanta y homeoacanta.

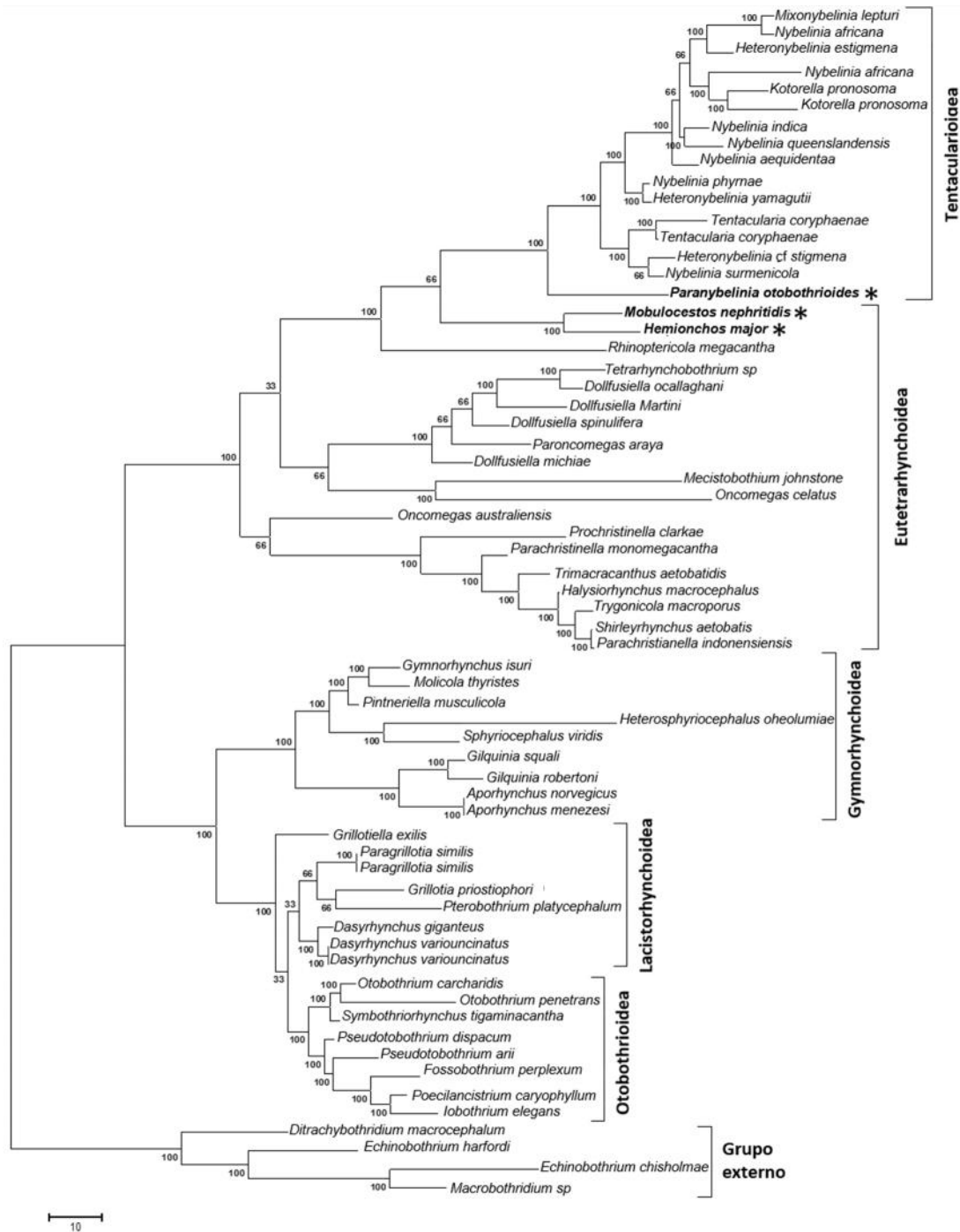


Figura 36. Filogenia de cestodos Trypanorhyncha *Paranybelinia otopharioidea*, *Hemionchos major* y *Mobulocestos nephritidis* que infectan a krill *Nyctiphanes simplex* (Máxima Parsimonia con el modelo TBR, bootstrap n=1000) gen 18S ADNr de 1989 pb de longitud. (Grupo externo: Diphyllidea).

9. Parásitos de depredadores muestreo no cuantitativo

Durante el desarrollo de este trabajo, se realizó análisis helmintológico a hospederos neotónicos (N > 240) que fueron muestreados de manera de oportunística (no cuantitativo) (**Figs. 37 A-C y 38, Tabla 10**). Entre algunos de los depredadores de crustáceos que se incluyeron en este estudio se encuentran las especies de peces mictófidios mesopelágicos (adultos de talla pequeña 3 – 6 mm de longitud total) como *Triphoturus mexicanus* (Familia Mictophyidae). El tiburón enano de profundidad *Cephalurus cephalus* (colectado a 280 m de profundidad) con una longitud total máxima observada en el adulto de 18 cm (**Fig. 37 C**).

Cada uno de los hospederos analizados helmintológicamente fueron colectados en la ensenada de La Paz (*Mugil cephalus* y *P. maculatofasciatus*) y Bahía de La Paz (mictofidos), Diodontidae (tamborillo), *Scomberomorus sierra* (sierra) (prevalencia o intensidad = 0). Se analizaron n<5 de las especies *Katsuwonus plamis* y *Coryphaena hippurus*, *Squatina californica* (angelito), *Dosidicus gigas* (calamar gigante) de diferentes localidades del Golfo de California en los cuatro cruceros oceanográficos en donde se muestreo krill (enero y julio 2007, agosto 2012 y junio 2013). Mientras que los géneros *Hipoglossina*, *Achirus*, *Paralichthys* (lenguados) y las especies *P. maculatofasciatus* (cabrilla) (*C. cephalus*) se capturaron en Bahía Magdalena (**Figs. 37 A-C y 38, Tabla 10**).

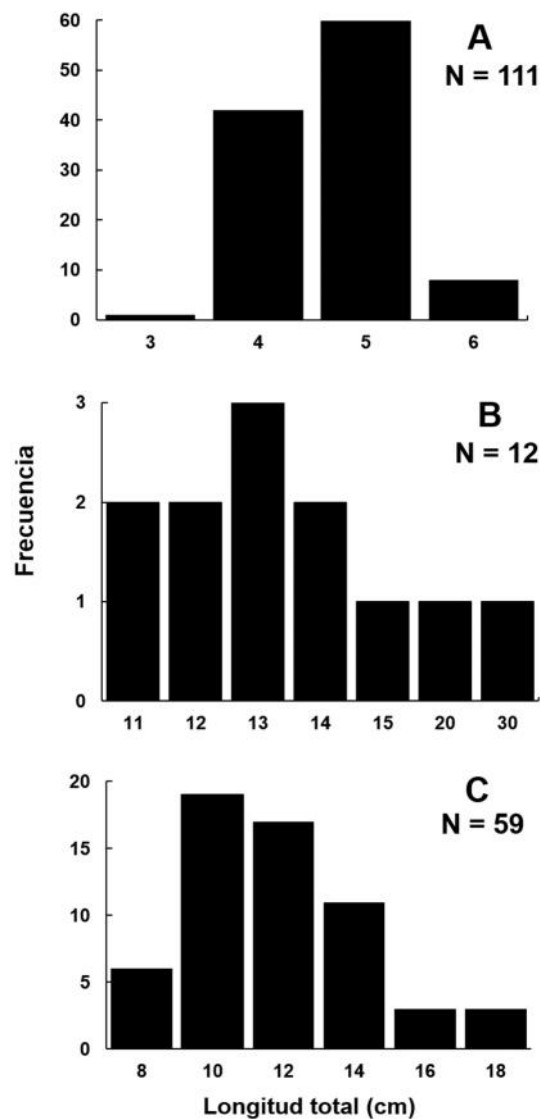


Figura 37. Distribución de frecuencia de longitud total (cm) de diversos peces analizados oportunísticamente para análisis de parásitos en el Golfo de California y Bahía Magdalena. A) Mictófido (*T. mexicanus*), B) lisa (*M. cephalus*), C) tiburón de profundidad (*C. cephalus*).

9.1. Parásitos helmintos de tiburones de Punta Lobos, B.C.S.

Se analizaron válvulas espirales de siete especies de tiburones de longitudes totales que variaron entre 1 – 2.3 m de longitud total, de la localidad Punta Lobos, B.C.S. (n = 40, datos no cuantitativos). Algunos de los parásitos colectados que se fijaron en alcohol 100% fueron utilizados para caracterizarlos morfológica y genéticamente, con énfasis en céstodos

del orden Trypanorhyncha (que ahora se sabe que sus fases larvarias parasitan al krill) (**Fig. 38, Tabla 10**).

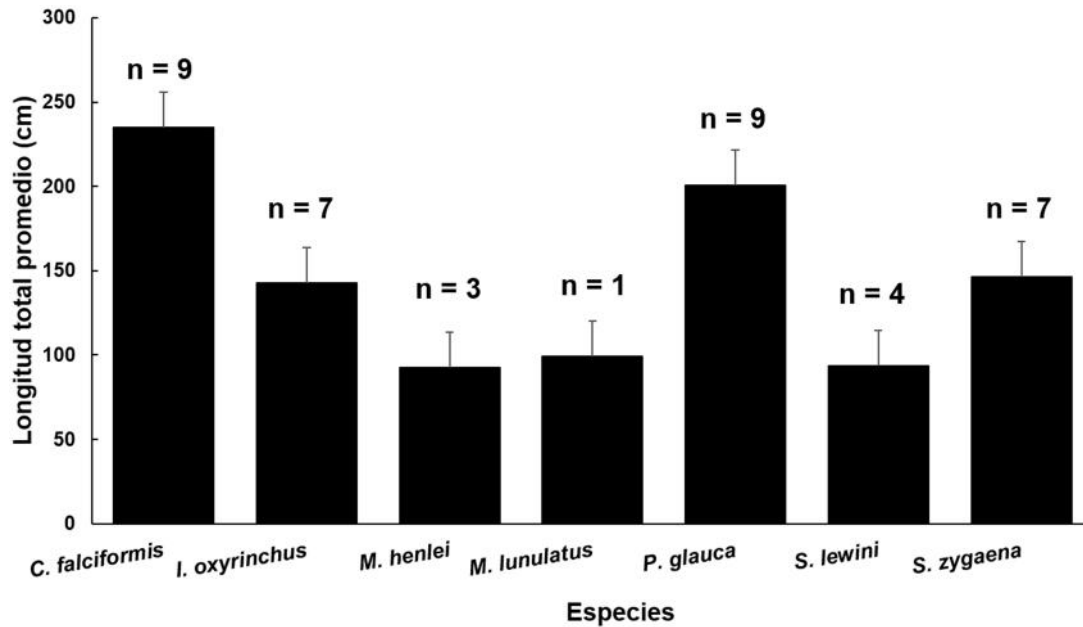


Figura 38. Especies de tiburones analizados helmintológicamente (válvula espiral) recolectados en Punta Lobos, B.C.S.

Los parásitos “adultos” de los depredadores de krill del Golfo de California, que fueron comparados con las formas larvarias que parasitan al krill, provienen de diez grupos taxonómicos, de los que destacan la ballena azul (*Balaenoptera musculus*), el mictófidio (*Triphuturus mexicanus*) y el calamar gigante (*Dosidicus gigas*). En general, se observó una elevada riqueza de especies conformada por cestodos de cuatro órdenes: Trypanorhyncha, Tetrphyllidea, Onchoproteocephalidea y Phyllobothriidea (**Fig. 39 A-I**), nematodos (familia Anisakidae), acantocéfalos (Polimorphydae y Rhadinorhynchidae) y trematodos (tres familias: Hemiuridae, Accacoeliidae y Hirudinellidae). La riqueza de especies de helmintos identificada (25 taxones, n = 211) de los hospederos “depredadores” se presenta en la Tabla 10.

Tabla 10. Hospederos analizados helmintológicamente. Cestodo (Ce), nematodo (Ne), acantocéfalo (Ac) y trematodo (Tr). El número de parásitos se muestra en la columna (N).

Hospedero		Parásito			
Grupo	Especie (nombre común)	Taxa	Grupo	Orden (O), Familia (F)	N
Tiburón	<i>Sphyrna zygaena</i> (tiburón martillo)	<i>Floriceps saccatus</i>	Ce	(O) Trypanorhyncha	1
		* <i>Floriceps saccatus</i>			1
	<i>S. lewini</i>	<i>Heteronybelinia</i> sp.			1
		<i>Phyllobothrium</i> sp.		(O) Tetracystidae	1
		<i>Onchobothrium</i> sp.		(O) Onchoproteocephalidea	1
	<i>Isurus oxyrinchus</i>	<i>Ceratobothrium</i> sp.		(O) Phyllobothriidae	1
		<i>Prosobothrium</i> sp.			1
Ballena	<i>Pionace glauca</i> (tiburón azul)	<i>Tetracystis</i> sp.		(O) Tetracystidae	11
		<i>Anisakis</i> sp.	Ne	(F) Anisakidae	1
		<i>Bolbosoma turbinella</i>	Ac	(F) Polymorphidae	3
Ballena	<i>B. musculus</i> (ballena azul)	<i>Bolbosoma</i> sp. 1			1
		<i>Bolbosoma balanae</i> (s.l)			3
		<i>Nybelinia surmenicola</i>	Ce	(O) Trypanorhyncha	2
Calamar	<i>D. gigas</i> (calamar gigante)	<i>Nybelinia</i> sp.			1
		<i>Tetracystis</i> sp.		(O) Tetracystidae	1
		<i>Dinurus longisinus</i>	Tr	(F) Hemiuridae	7
Dorado	<i>C. hipurus</i> (dorado)	<i>Tetrochetus</i> sp.		(F) Accacoeliidae	4
		<i>Hirudinella ventricosa</i>		(F) Hirudinellidae	3
		<i>Anisakis typica</i>	Ne	(F) Anisakidae	2
Barrilete	<i>Katsuwonus pelamis</i> (barrilete)	<i>Anisakis</i> sp.			1
Sierra	<i>Scomberomorus sierra</i> (sierra)	<i>Corynosoma</i> sp.	Ac	(F) Polymorphidae	3
Cabrilla	<i>Paralabrax maculatofasciatus</i> (cabrilla)	<i>Rhadinorhynchus</i> sp.		(F) Rhadinorhynchidae	1
		<i>Contracaecum multipapillatum?</i>	Ne	(F) Anisakidae	12
Lisa	<i>Mugil cephalus</i>	<i>Anisakis</i> spp.			146
Lenguado	<i>Achirus Paralichthys Hipoglossina</i>	No identificado	Ce		1
		Copépodo	Cr		1

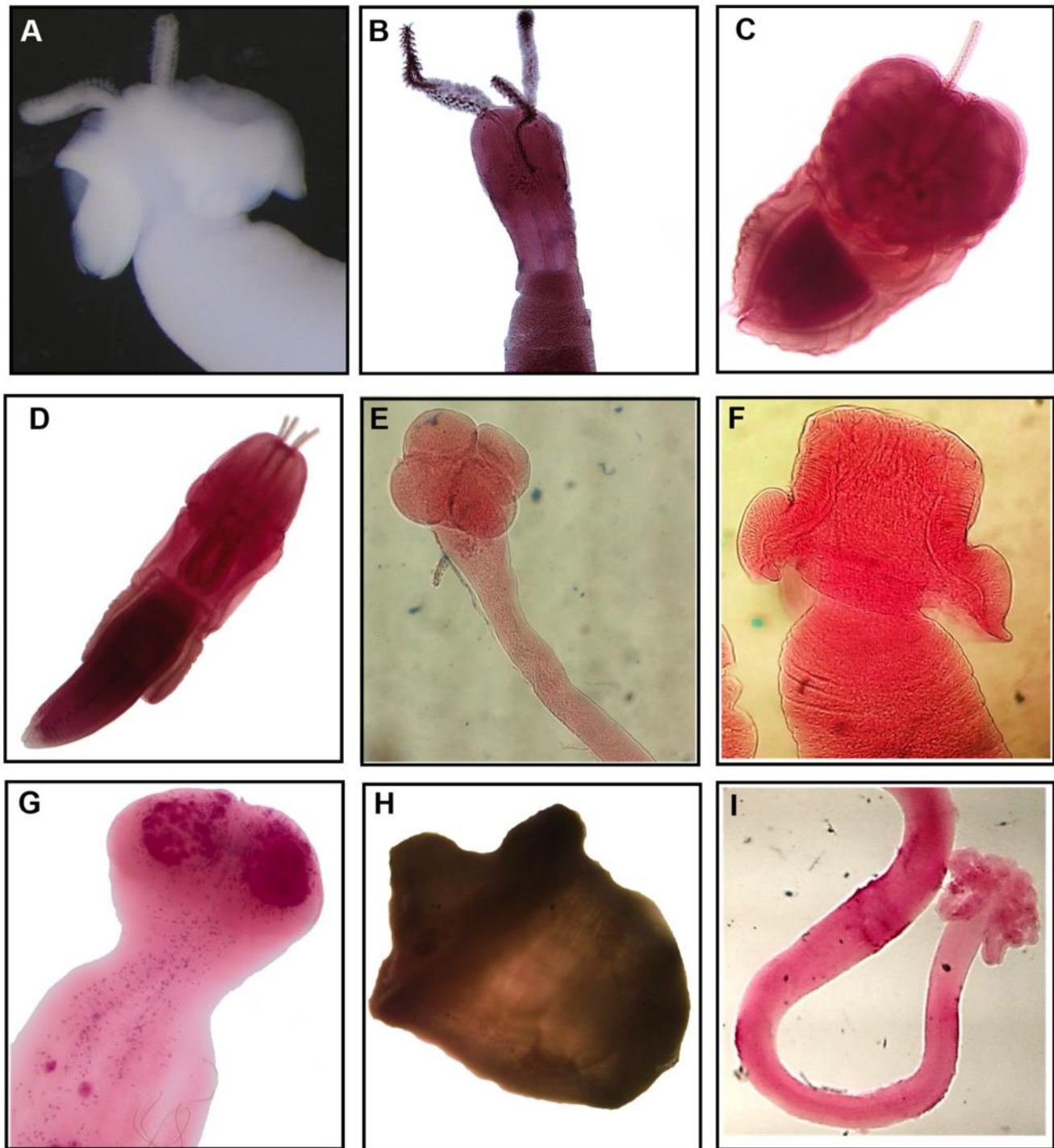


Figura 39. Diversidad de cestodos que parasitan a distintos depredadores comunes de krill en el Golfo de California. Cestodos del orden Trypanorhyncha (A-D). A) *Floriceps saccatus*; B) *Heteronybelinia* sp. C) *Nybelinia* sp.; D) *Nybelinia surmenicola*. Tetraphyllidea (E-I) E) *Prosobothrium* sp. F) *Ceratobothrium* sp.; G) Tetraphyllidea sp. 1; H) cestodo no identificado; I) *Phyllobothrium* sp.

9.1.2. Parásitos de heces de *B. musculus* en el Golfo de California.

Los parásitos que infectan a la ballena azul fueron obtenidos de heces colectadas durante cuatro temporadas de avistamiento invernal de la ballena azul en Bahía de La Paz y Loreto (abril 2012–2015). Se recuperaron 7 especímenes acantocéfalos adultos de muestras que fueron fijadas en formol al 5% (n=3) y alcohol 96% (n=4). Estos especímenes fueron identificados como acantocéfalos del género *Bolbosoma* (familia Polimorphidae) (ver diagnóstico de *Bolbosoma* en este estudio). Con base a su morfología y características morfológicas externas e internas se reconocieron tres morfotipos distintos: *Bolbosoma turbinella* (s.s.), *Bolbosoma* sp. 1 y *Bolbosoma* sp. 2 (Tabla 10, Fig. 40 A-F).

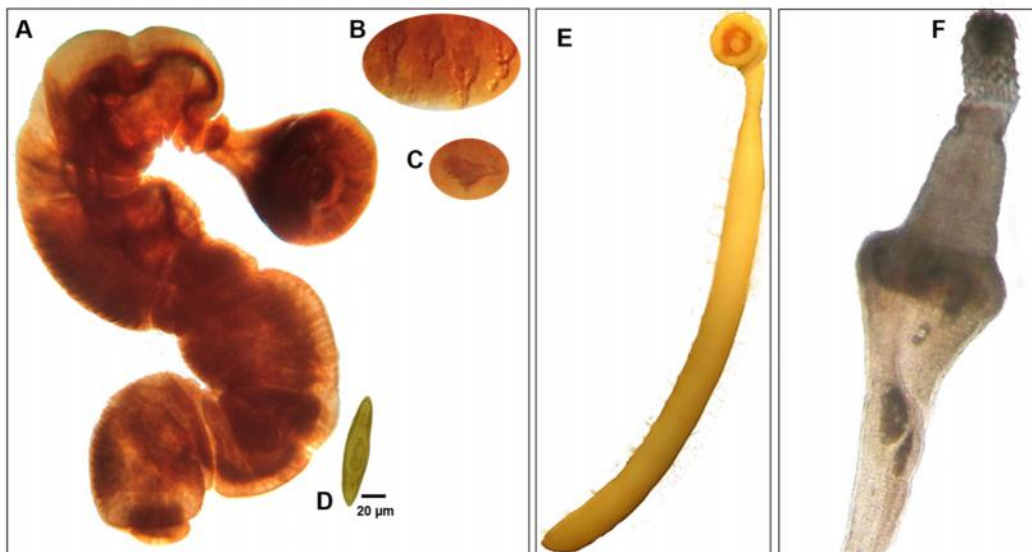


Figura 40. Acanthocéfalos adultos del género *Bolbosoma* que infectan a la ballena azul *Balaenoptera musculus* en el Golfo de California. *Bolbosoma* sp. 1 (A-D), *Bolbosoma turbinella* (s.l) (E) y *Bolbosoma* sp. 2 (F). Detalle de las espinas de la zona bulbar (B y C). Huevo (D).

9.1.3. Caracterización morfológica de los huevos de parásitos *Bolbosoma* sp. 1 (Acantocefala, Polymorphidae)

El espécimen adulto identificado previamente como *Bolbosoma* sp. 1 (acantocéfalo recuperado de heces de la ballena azul) (Tabla 10, Fig. 40 A-C) fue disectado para extraer sus huevos. Los cuales fueron teñidos y caracterizados morfológicamente de forma parcial. El huevo embrionado de forma ovoide está conformado por cuatro capas (Fig. 41 C). Más alargado que ancho: 71.5 μm (38.4–110.4) en longitud total y 20 (13.1–26.9) ancho ($n = 11$) estrechándose hacia los extremos. Las dos membranas más internas son más gruesas y en general las capas disminuyen su espesor hacia la parte externa del huevo. El huevo contiene en su interior a la larva acanthor (estadio que eclosiona el huevo) y éste es caracterizado por la presencia de masa nuclear en el centro (Fig. 41 A) y en uno de los extremos se observan los ganchos (número no determinado) (Fig. 41 A-B). Dentro de la segunda capa más interna, son evidentes dos prolongaciones polares de una de las membranas internas (de función desconocida) ubicadas individualmente en cada extremo del huevo (Fig. 41 A y C).



Figura 41. Huevos disectados del útero de un adulto de *Bolbosoma* sp. 1 (Familia Polymorphidae) adulto, recuperado de heces de ballena azul *Balaenoptera musculus*. A) embrión o acanthor dentro del huevo (\rightarrow). B) huevo sin teñir. C) Cuatro capas que conforman al huevo de *Bolbosoma* sp. 1. A y D teñido con lugol. Escala=20 μm .

9.1.4. Huevos de *Floriceps saccatus* (s.s) (Cestoda, Trypanorhyncha)

Los huevos del cestodo Trypanorhyncha *Floriceps saccatus* fueron obtenidos a partir de la disección de segmentos de proglotidios grávidos recuperados de válvula espiral de un espécimen del tiburón martillo *Sphyrna zygaena* (Tabla 10, Fig. 42 A-B). El huevo no embrionado de *F. saccatus*, fue encontrado frecuentemente en estado de blástula. Presenta una pared doble, transparente. Tiene forma ovoide, mide 59.3 ± 2.8 de longitud total y 48.7 ± 2.1 de ancho total: (n = 10). Presenta un opérculo pequeño en uno de sus extremos (Fig. 42 A) aunque algunas veces es imperceptible.

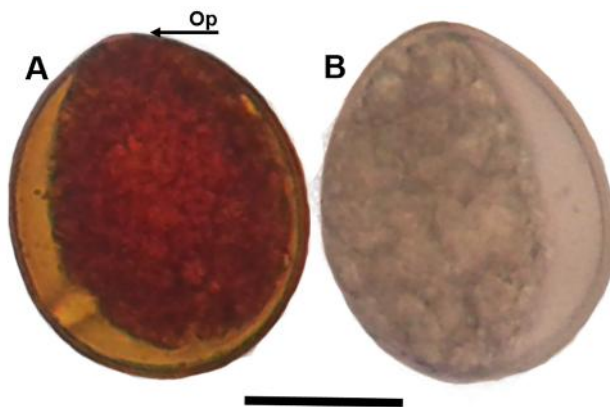


Figura 42. Huevos disectados del útero de adultos del cestodo Trypanorhyncha *Floriceps saccatus*. A, teñido con lugol. B, huevo sin teñir. Opérculo (→). Escala 20 μ m.

9.1.5. Identificación genética de helmintos de depredadores de krill: tiburones, ballena azul, calamar gigante, dorado, barrilete y lisa

A partir de la identificación y clasificación taxonómica al nivel más preciso posible mostrado en la tabla 10, algunos especímenes fueron usados para identificarlos mediante métodos moleculares. La selección (decisión *post facto*) de los helmintos caracterizados

genéticamente (parásitos de distintos depredadores), se fundamentó en caracterizar parásitos de depredadores que están vinculados tróficamente al krill, ya sea que se alimentan directamente de eufáusidos a través del interacciones depredador–presa (como las ballenas y mictófidios) o de aquellos depredadores que se alimentan de organismos depredadores de krill (i.e. barrilete, dorado y calamar) (**Tabla 10, Fig. 43**).

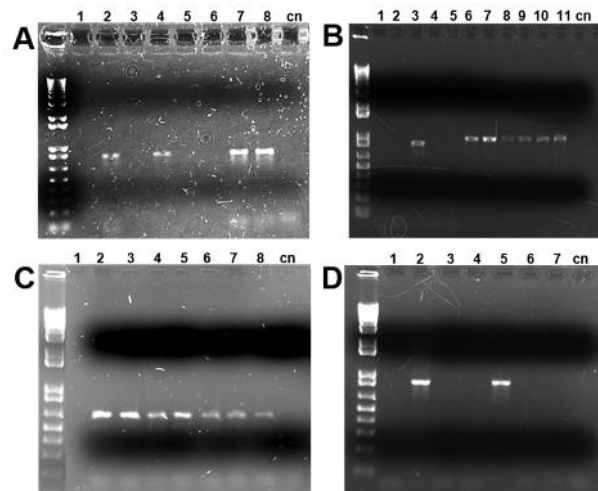


Figura 43. Electroforesis en gel de agarosa teñidos con bromuro de etidio que muestra amplificaciones de PCR de helmintos de krill y de algunos predadores (trematodos, cestodos, acantocéfalos y nematodos). A) Trematodos (*Dinurus longisinus*) de Dorado; B) nematodos de barrilete (*Anisakis typica*); C) cestodos de krill *Paranybelinia obothroides* (carriles 2-4), *Hemionchos major* (carriles 5 y 6) y *Mobulocestus nephritidis*. D) Acantocéfalos (*Bolbosoma turbinella*) obtenidos de heces de ballena azul (*B. musculus*). Nótese la diferencia en el tamaño de las regiones amplificadas para cada grupo de parásito. Control negativo (c.n.), marcador genético 1 Kb.

Durante el presente trabajo, se caracterizaron 22 individuos (Tabla 11). Se muestran los parásitos que se caracterizaron genéticamente, para contrastarlos con los helmintos que infectan a krill en el Golfo de California.

Tabla 11. Parásitos de depredadores identificados genéticamente con los genes 18S, 28S y las regiones intergénicas ITS1, 5.8S e ITS2.

Hospedero		Parásito			Genética		Num. acceso Genbank
Grupo	Especie (nombre común)	Taxa	Grupo	n	Gen	pb	
Tiburón	<i>Sphyrna zygaena</i> (T. martillo)	<i>Floriceps saccatus</i>	Cestodo	5	18S	1930	FJ572922
		* <i>F. saccatus</i>		4			
Ballena	<i>B. musculus</i> (Ballena azul)	<i>Bolbosoma turbinella</i>	Acantocefalo	3		854	JX442166
Calamar	<i>Dosidicus gigas</i> (Calamar gigante)	<i>Nybelinia surmenicola</i>	Cestodo	2	28S	1356	FJ572929
Dorado	<i>C. hiphurus</i> (Dorado)	<i>Dinurus longisinus</i>	Trematodo	4		1000	31662277
Barrilete	<i>Katsuwonus pelamis</i> (Barrilete)	<i>Anisakis typica</i>	Nematodo	2	ITS1+5.8+ITS2	1832	KC928261
Lisa	<i>M. cephalus</i>	¹ <i>C. multipapillatum</i> ?		2			

* Organismo secuenciado a partir de una muestra de estróbilo. ¹El nematodo perteneciente al género *Contraecaecum* (s. s), pero genéticamente distinto a *C. multipapillatum* (Fig. 44 A-B).

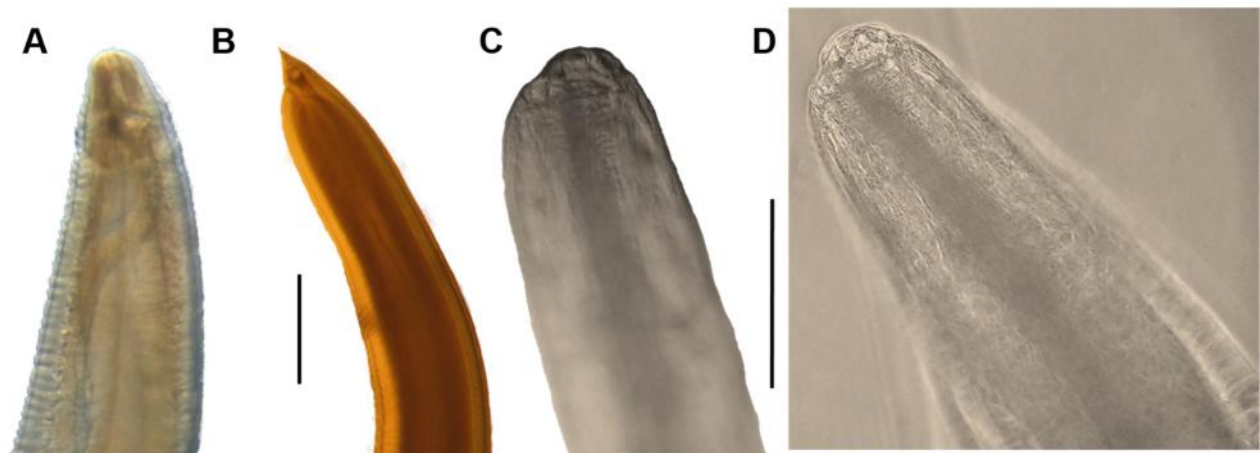


Figura 44. *Contraecaecum* sp. (hospedero: *Mugil curema*) A extremo anterior. B extremo posterior. *Anisakis* sp. (hospedero: *Katsuwonus pelamis* -barrilete-). C-D extremo anterior. Escala= 400 μ m.

La especie *Floriceps saccatus* que parasita al tiburón cabeza de martillo *Sphyrna zygaena* se caracterizó e identificó genéticamente. La secuencia parcial final (1930 pb) del gen 18S fue 100% idéntica a la secuencia reportada en el Genbank con número de acceso: FJ572922.1 (2.017 pb) (Waeschenbach, A, Palm, HW & Littlewood, DTJ.) (**Fig. 45**). La ocurrencia de *Floriceps saccatus* (*sensu stricto*) que infecta al tiburón *S. zygaena*, representa el nuevo registro de hospedero y hasta ahora se desconoce su ciclo de vida.

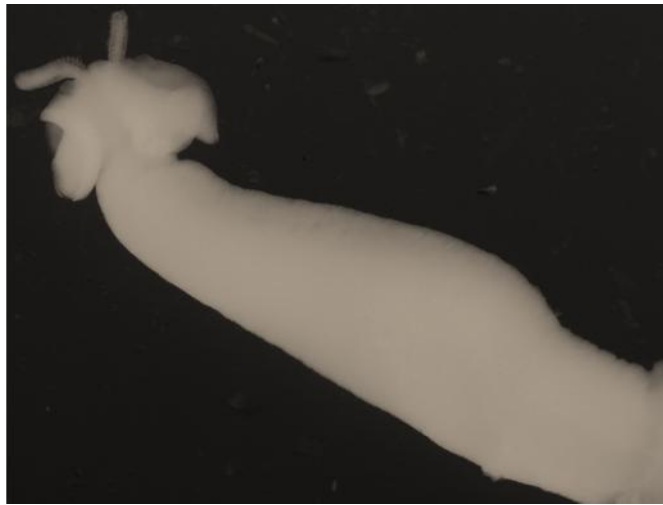


Figura 45. *Floriceps saccatus* (*sensu stricto*) que infecta al tiburón martillo *Sphyrna zygaena* (Localidad: Punta Lobos, B.C.S., México).

Identificamos especímenes de cestodos del orden Trypanorhyncha pertenecientes al género *Nybelinia* que parasitan al calamar gigante (*Dosidicus gigas*) (**Fig. 46 A-C**) y al género *Heteronybelinia* sp. que parasita al tiburón (*Sphyrna lewini*) (**Fig. 46 B**). Algunos de los trematodos (adultos) identificados de depredadores de krill se muestran en la figura **47 A-C**.

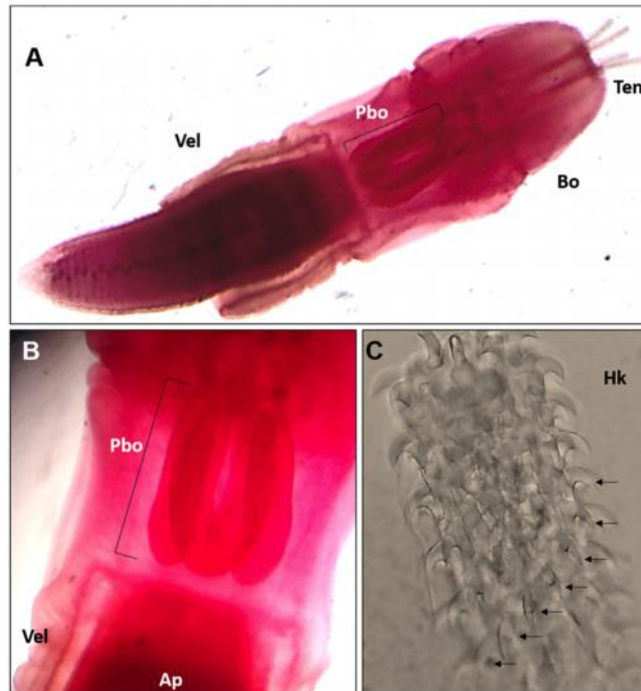


Figura 46. *Nybelinia surmenicola* (*sensu stricto*). Parásito que infecta al calamar gigante (*Dosidicus gigas*) en el Golfo de California. A) vista general del parásito, mostrando sus cuatro tentáculos (40X). B) del pars bulbosa (cuatro bulbos alargados) curveados, apéndice y velo. C) Armadura metabasal, ganchos organizados en forma de espiral (→). Bo=Botridios; Pbo=Pars bulbosa; Vel=Velo; Ap=Apendice (estróbilo); Ten=Tentáculos; Hk=Ganchos (Hooks) (Vista tentacular metabasal).

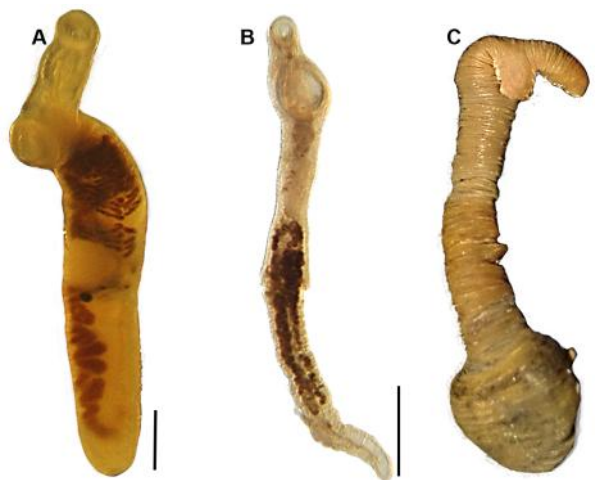


Figura 47. Trematodos que infectan al pez dorado (A-B) y barrilete (C). (A) *Tetrochetus* sp., (B) *Dinurus longisinus* (s.s) y (C) *Hirudinella ventricosa* (Barra = 2 mm).

9.2. Diversidad genética de helmintos parásitos de depredadores de krill

9.2.1. Análisis filogenético de *Bolbosoma turbinella* (hospedero *Balaenoptera musculus*)

El acantocéfalo recuperado de heces de ballena azul en marzo de 2015 en Loreto, B.C.S. fue identificado como *Bolbosoma turbinella* con base a la comparación de 860 pb del fragmento del gen 18S con secuencias homólogas de acantocéfalos (100% de homología) obtenidas de la base de datos mundial (BLAST). La región de la secuencia de *Bolbosoma turbinella* (espécimen analizado en el presente estudio) fue casi idéntica a las secuencias de las especies *Bolbosoma vasculosum* (99%) e idénticas a *B. balanae* (100%) y *B. caenoforme* (100%) (análisis no mostrado). Sin embargo, el porcentaje de cobertura de alineación, así como la morfología permitió discriminar a *B. turbinella* (este estudio) de *B. balanae* y *B. caenoforme*. El alto grado de similitud entre secuencias homólogas sugiere que la región central del gen 18S amplificada en este estudio es altamente conservada entre las especies del género *Bolbosoma*.

Las relaciones evolutivas entre las especies de acantocéfalos se infirió utilizando el método de evolución mínima (ME), el árbol está soportado con la suma total de la longitud de las ramas (SBL) del dendograma = 0.7176 (**Fig. 48**). El análisis filogenético mostró una topología taxonómicamente congruente integrando a las cuatro especies del género *Bolbosoma* en el mismo nodo (valores bootstrap > 95%) (**Fig. 48**) y dentro de la familia Polymorphidae valor del nodo bootstrap >98%.

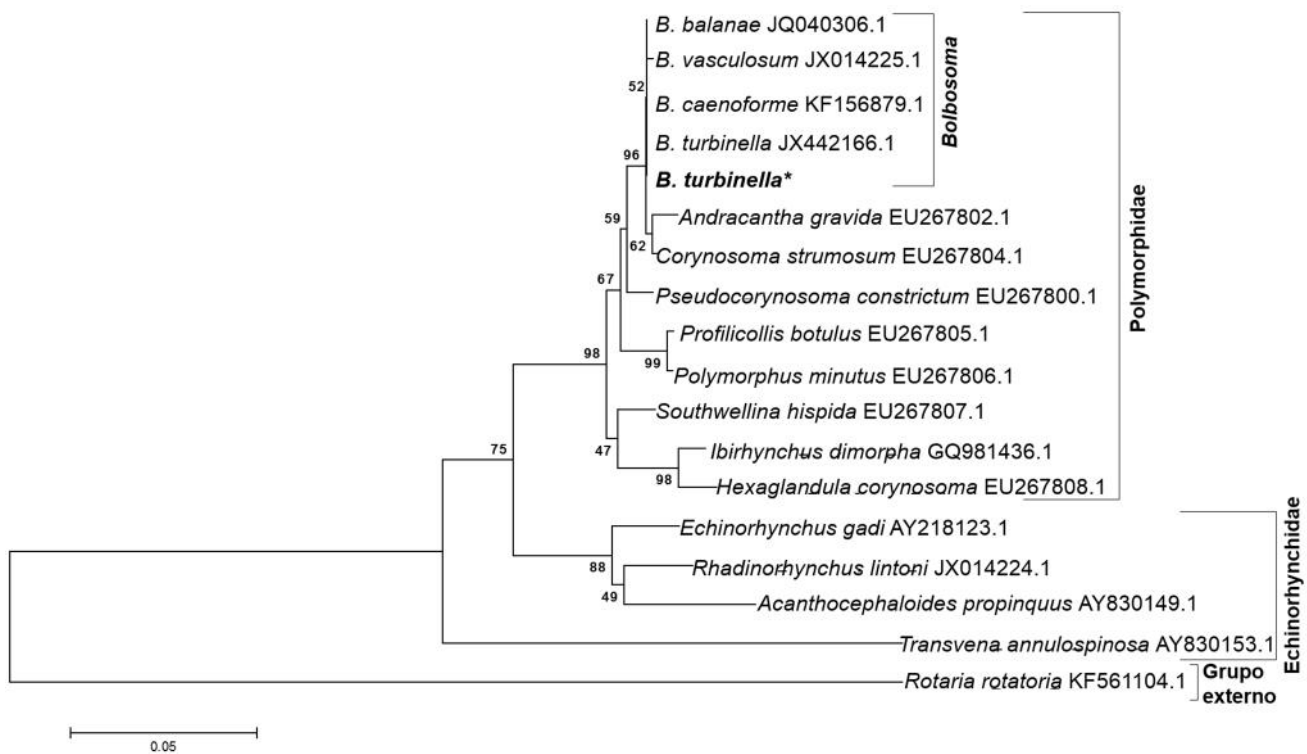


Figura 48. Análisis filogenético (gen 18S rDNA) de especies de acantocéfalos en el que se adiciona la secuencia de la especie *Bolbosoma turbinella* obtenido de heces de ballena azul recolectada en Loreto en marzo de 2015 (letras negritas y asterisco) inferido con el algoritmo de Evolución Mínima (ME). Se incluyeron 18 secuencias de nucleótidos con un total de 584 sitios comparables. Los números indican los valores de confianza (bootstrap) a 10,000 réplicas.

10. Conceptualización de ciclos de vida (Acanthocefalos del género *Bolbosoma*)

10.1. *Nyctiphanes simplex* – *Bolbosoma* spp. – *Balaenoptera* spp.

Cuando el hospedero definitivo *B. musculus* defeca, libera en la columna de agua a los huevos embrionados de acantocéfalos (**Fig. 40 A-C**). Las ballenas frecuentemente defecan en las mismas zonas donde están depredando los enjambres de krill. El krill *Nyctiphanes simplex* (hospedero intermediario) adquiere los huevos tróficamente (**Fig. 49 B**). En el hospedero intermediario, se llevan a cabo cambios ontogénicos del parásito desde la fase de

huevo, acanthor, acanthella hasta llegar a cystacanto (fase infectiva, previo al adulto) (**Fig. 16 A-D**). Cuando *N. simplex* es depredado por *B. musculus*, el krill le transmite el parásito en fase larval, el cual se desarrollará hasta la fase de adulto (**Fig. 40 A, E-F**) y se reproducirá en la ballena azul (**Fig. 49 A-C**).

Una vía alterna en el ciclo de vida del acantocéfalo (**Fig. 49 D**), se lleva a cabo cuando el krill *N. simplex* (infectado con el cystacanto), es depredado por un organismo (no mamífero marino), el cual adquiere y hospeda al cystacanto (proveniente del krill) pero sin que se registre cambio ontogenético en la larva (*i.e.* se mantiene en fase cystacanto). La larva en estadio cystacanto se desarrollará en adulto cuando un mamífero marino (*i.e.* Balenopterido, Physterioidea) ingiera (no necesariamente por depredación) al hospedero paraténico (**Fig. 49 D**).

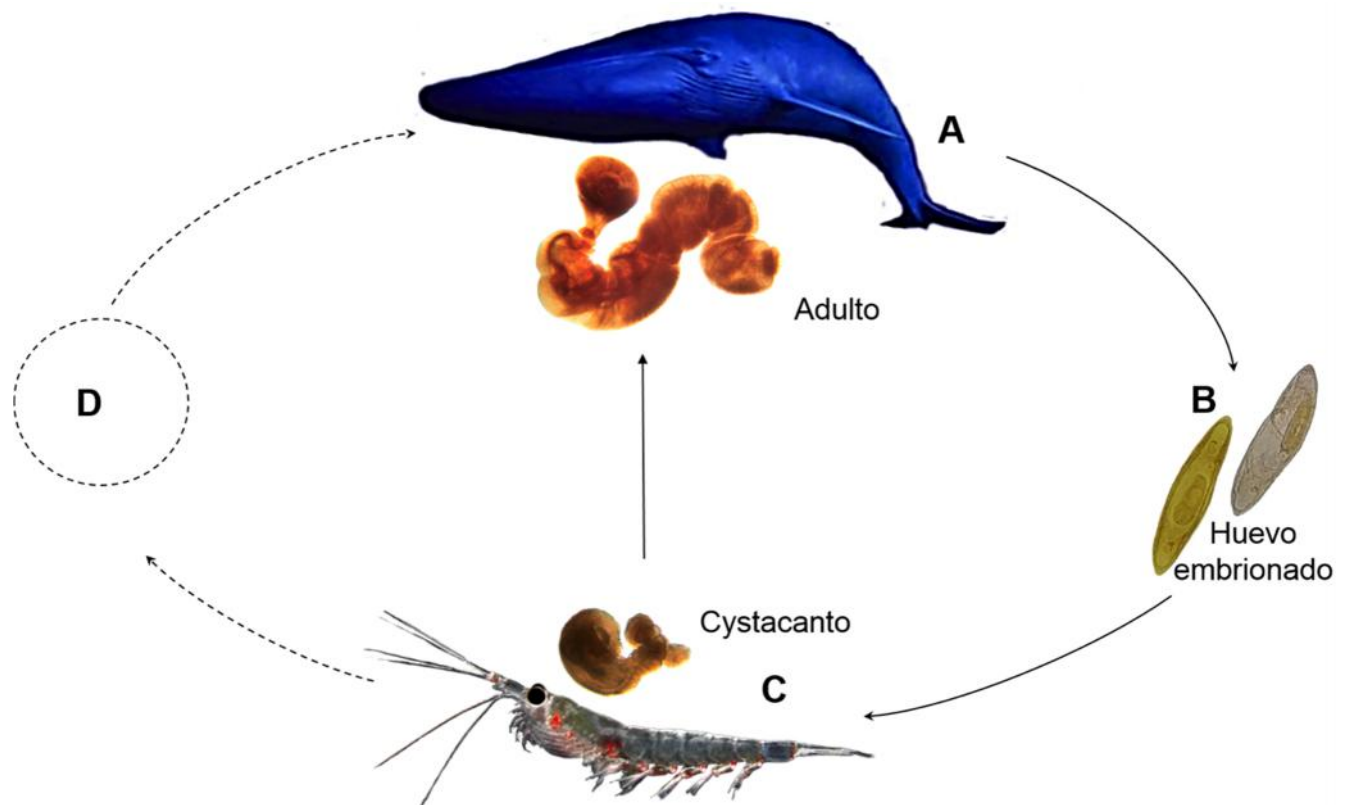


Figura 49. Conceptualización del ciclo de vida para acantocéfalos del género *Bolbosoma* en el Golfo de California (este estudio). Ciclo de vida de *Bolbosoma* (líneas sólidas). Las líneas punteadas indican la participación de hospedero paraténico (*i.e.* pez o crustáceo).

10.2. Conceptualización de ciclos de vida (cestodos del orden Trypanorhyncha)

10.2.1. *Nyctiphanes simplex* – *Hemionchos* y *Mobulocestus* spp. – *Mobula* spp.

El parásito en estadio adulto vive en el intestino de *Mobula* spp. las cuales al defecar, liberan los huevos en la columna de agua. Este proceso, libera y dispersa los huevos (**Fig. 50 A, B**). El huevo continúa su desarrollo somático hasta que se forma la larva coracidio, la cual, emerge del huevo a través del opérculo (**Fig. 50 B**) y tiene una fase libre en la columna de agua. *Nyctiphanes simplex* se infecta con los cestodos *Hemionchos major*, *Mobulocestus nephritidis* y *Paranybelinia otobothrioides*, través de la ingestión del coracidio, el cual llega al intestino y penetra a través de él para alojarse en el hemocele, donde se desarrolla en el estadio larval de procercoide (**Fig. 50 C-D**).

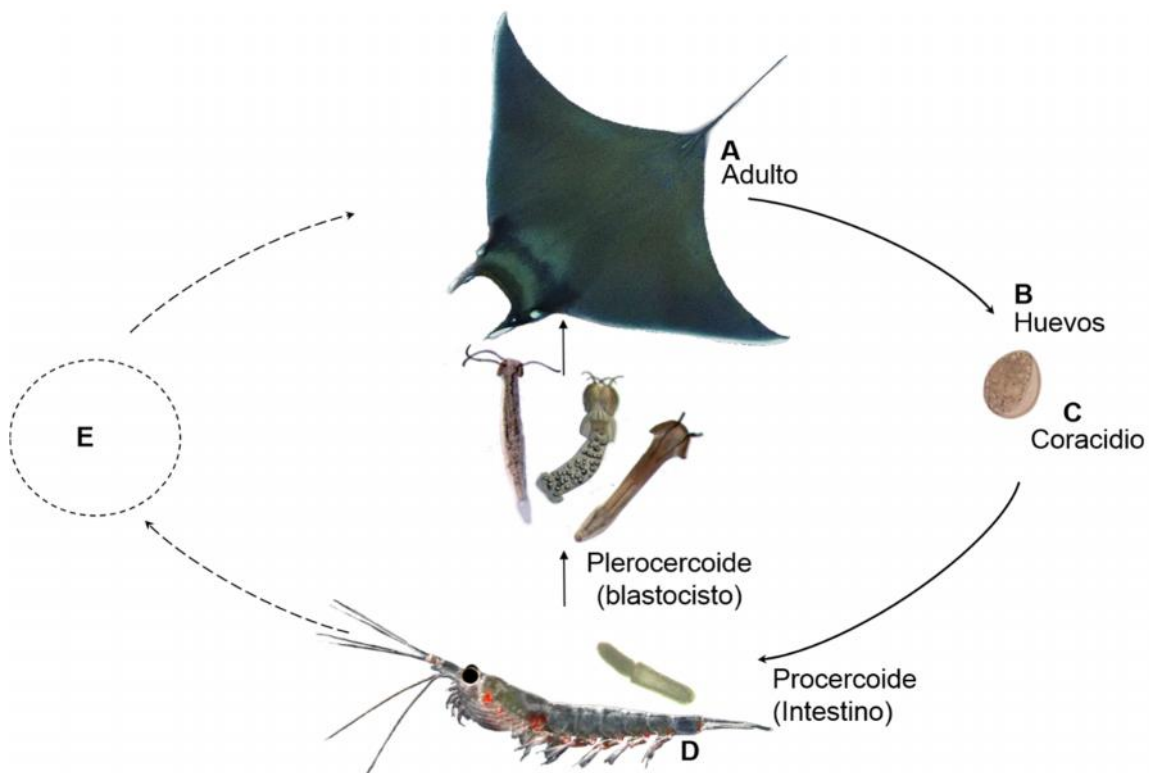


Figura 50. Conceptualización de ciclos de vida (cestodos del orden Trypanorhyncha).

La ocurrencia de cestodos en estadio procercoide (en intestino y hemocele de *N. simplex*), así como la ocurrencia del estadio plerocercoide dentro de blastocistos (en el hemocele), evidencia cambios en el desarrollo ontogenético en los cestodos *Hemionchos major* y *Mobulocestus nephritidis*, dentro de *N. simplex*. Los cambios ontogenéticos más notables de las larvas de cestodos (este estudio) son el crecimiento y desarrollo de un escólex, así como la formación del blastocisto en el proceso de desarrollo de estadio procercoide a plerocercoide. Esto sugiere que *N. simplex* tiene la función de primer hospedero intermediario para los cestodos trypanorhyncha *Hemionchos major*, *Mobulocestus nephritidis* y, probablemente también, para el cestodo *Paranybelinia otobotrhioides*.

11. Discusión

11.1 Aspectos taxonómicos y genéticos

La presente tesis de doctorado es el primer estudio sistemático e integral de la taxonomía, ecología y transmisión de parásitos helmintos de las especies de krill hacia niveles tróficos superiores en el Golfo de California y, posiblemente, a nivel mundial. Desde el primer registro de helmintos que infectan al krill hace 130 años ([Sars, 1885](#)), la riqueza y diversidad hasta ahora conocida de parásitos proviene de 48 de las 86 especies de eufáusidos que conforman al orden Euphausiacea. La información integrada de todos los parásitos conocidos en krill a nivel mundial, incluyen 17 tipos distintos de epibiontes, patógenos, parásitos y parasitoides ([Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2010](#); [Gómez-Gutiérrez & Morales-Avila, en prensa](#)). Sin embargo, la mayor parte de los registros de helmintos en krill a nivel mundial, con pocas excepciones ([Gregori *et al.*, 2012, 2013, 2014](#)), provienen de muestras cualitativas o hallazgos accidentales. De esta forma, el conocimiento de la ecología, interacción parásito-hospedero y función de los eufáusidos como vectores de parásitos helmintos es fragmentada. Los registros previos de helmintos que infectan a eufáusidos de aguas mexicanas provienen de muestreos cualitativos ([Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2010](#), [González-Solís *et al.*, 2013](#)). Estos trabajos aportaron información taxonómica limitada y con inconsistencias en las identificaciones taxonómicas ([Morales-Avila *et al.*, 2015](#)). Los estudios ecológicos cuantitativos e integrales (ecología) para describir la interacción parásito-hospedero y la infección por helmintos son recientes ([Gregori *et al.*, 2012, 2013, 2014](#); [Morales-Avila *et al.*, 2015](#)) lo que promueve el desarrollo de estudios bajo el enfoque de taxonomía integrativa y filogenia integrativa.

Este es el primer estudio ecológico cuantitativo de parásitos helmintos que infectan eufáusidos en México y se propone un modelo ecológico que permite estimar el grado de

infección por helmintos en poblaciones del zooplanctón por unidad de volumen o área (Morales-Avila *et al.*, 2015) y su asociación con las condiciones ambientales en la cual habitan las tres especies de eufáusidos incluidas en este estudio.

Aunque no se descubrieron nuevas especies, se describieron morfológicamente (taxonomía clásica y ultraestructura) apoyado con técnicas de biología molecular las formas larvianas de especies de cestodos recientemente descritas en fase adulta, *Hemionchos major* Campbell & Beveridge (2006) y *Mobulocestus nephritidis*, Campbell & Beveridge (2006) que parasitaron rayas del género *Mobula* en el Golfo de California. La presente tesis contribuye de manera significativa al conocimiento del ciclo de vida de estas especies de parásitos (desarrollo ontogenético en hospederos planctónicos).

La caracterización molecular (secuencia parcial del gen 18S >1800pb) de las tres especies de cestodos más prevalentes que infectan al krill [*Hemionchos major*, *Mobulocestus nephritidis* (Campbell & Beveridge, 2006) y *Paranybelinia otobothrioides* (Dollfus, 1966)] representa la primera caracterización molecular y se define su posición taxonómica y relaciones filogenéticas con respecto a otras especies previamente conocidas del orden Trypanorhyncha (Palm *et al.*, 2009).

Con evidencia taxonómica y molecular se demostró que *Hemionchos major* y *Mobulocestus nephritidis* Campbell & Beveridge, (2006) taxonómica y molecularmente se relacionan con los miembros de la superfamilia Eutetrarhynchoidea (Campbell & Beveridge, 2006). Ambas especies están filogenéticamente emparentados con especies de la familia Rhinoptericolidae, estas especies presentan formas tentaculares parecidas, sin embargo, el parentesco filogenético entre miembros de las familias Rhinoptericolidae y Eutetrarhynchidae mostró resolución nodal débil (valores bootstrap < 70%). Este resultado, así como la longitud de las ramas del nodo, sugiere una alta tasa de divergencia entre géneros del orden

Trypanorhyncha. Esta relación filogenética entre integrantes de diferentes familias fue previamente caracterizado con análisis concatenado (18 y 28S) por [Palm et al. \(2009\)](#).

Desde la descripción original del plerocercóide (estadio larvario) de *Paranybelinia obobothrioides* [Dollfus, 1966](#) ([descubierto libre entre muestras de plancton sin hospedero](#)), este cestodo no había sido reportado y el material tipo depositado en la Colección del Museo Nacional de Historia Natural de París observado por [Harry Palm \(com. pers.\)](#) no permitió la re-descripción morfológica de esta especie. Debido a la información morfológica incompleta, la posición sistemática de *Paranybelinia obobothrioides*, fue incluida en la superfamilia Tentacularioidea (debido que se creía que el plerocercóide carecía de un blastocisto y la armadura homeoacanta, [Schmidt 1986](#); [Campbell & Beveridge 1994](#); [Beveridge et al., 1999](#)) y o en la superfamilia Obobothrioidea basado en la presencia de hendiduras botriales ([Palm, 1995, 1997, 2004](#)). [Palm \(2008\)](#) re-describió *P. odontacantha* y ambas especies fueron incluidas en la familia Paranybeliniidae, propuesta por [Dollfus \(1966\)](#) como parte de la superfamilia Tentacularioidea.

En la presente tesis se identificó como *Paranybelinia obobothrioides* [Dollfus, 1966](#) (Paranybeliniidae) describiendo la morfología interna y externa del blastocisto, la ultraestructura superficial de la larva y la caracterización parcial del genoma en los fragmentos del SSU y LSU rDNA. Los análisis moleculares del ssrDNA y lsrDNA (Dominios 1-3) demostraron la relación filogenética de *Paranybelinia obobothrioides* con la superfamilia Tentacularioidea dentro de la orden Trypanorhyncha, lo que confirma la validez taxonómica de la familia Paranybeliniidae [Dollfus, 1966](#) ([Morales-Avila et al., en preparación](#)).

La caracterización taxonómica y genética de las especies de helmintos que infectan a *Nyctiphanes simplex* y *Euphausia lamelligera* (para el caso de *N. difficilis* infectado con *Copiatestes* sp. no fue caracterizado por tener un único espécimen preservado en formol),

representa un avance taxonómico significativo y proporcionan una perspectiva general de la biología, ecología y patología de la interacción parásito-hospedero de estas dos especies de krill que habitan el Golfo de California. Con la integración de la información taxonómica y ecológica actualmente disponible, se ha propuesto que la relevancia de las especies de krill como vector de helmintos hacia niveles tróficos superiores varíe en diferentes áreas geográficas (Morales-Avila *et al.*, 2015). Por ejemplo la especie *Nyctiphanes couchii* en el Atlántico Norte es infectado principalmente por acantocéfalos y nematodos (Gregori *et al.*, 2012, 2013, 2014) a diferencia de la predominancia en prevalencia de cestodos (98.7%) en *N. simplex* en el Golfo de California.

11.1.2. Trematodos

En la presente tesis se estimó cuantitativamente que el krill parasitado por trematodos tiene considerable baja abundancia poblacional (<1.2 ind. 1000 m³) y baja prevalencia (0.03 y 0.16%) de los tremátodos *Paronatrema mantae* parasitando a *N. simplex* y *Copiatestes* sp. parasitando a *Nematoscels difficilis*.

Comparando nuestro resultado de prevalencia (0.37%) con la ocurrencia de trematodos en todo el mundo (Tabla 1) y en comparación con otros helmintos detectados en el Golfo de California (Cestoda [> 98.8%], Acanthocephala [0,56%], y Nematoda [0.18%]; con n = 530 especímenes) que parasitan a *Nyctiphanes simplex* Morales-Ávila *et al.* (2015) se propuso cuantitativamente que *N. simplex* y *Nematoscels difficilis* son hospederos intermediarios no conspicuos para estas especies de trematodos. Esto se ha observado en otras regiones, donde los tremátodos digéneos parasitan al krill con baja prevalencia (<1%) y, por lo general, con intensidad de 1, raramente 2. Por ejemplo, *Euphausia similis* fue reportada parasitada por trematodos en muy baja prevalencia (0.00004%) en la Bahía Tosa,

Japón (Shimazu 1971, 1982). Sólo hay dos reportes de trematodos que infectan al krill con prevalencias relativamente altas: *Pseudopecoelus japonicus* parasitando a *E. similis*, con una prevalencia de hasta el 38% en Suruga, Japón (Komaki, 1970) y de la revisión de los ejemplares de la Expedición Challenger 1872–1876 donde Claugher (1976) reportó la prevalencia más alta (90%) de trematodos digéneos (*Copiatestes thyrstae*) documentada hasta ahora en krill (120 ejemplares de *Nematoscelis megalops*) colectados en el Atlántico Sur.

A partir de la información taxonómica que se resume en la Tabla 1 (ver Morales-Avila *et al.*, 2015) emerge un patrón que los trematodos tienen distinto éxito de infección y estrategias de dispersión en diferentes especies de krill y hasta en la misma especie de hospedero en diferentes áreas de muestreo. Lo más remarcable es que la diversidad de trematodos que infectan al krill es menos diversa de lo que se pensaba previamente, debido a las sinonimias del género *Copiatestes* evidenciado por del traslape del número de testículos (Shvetsova, 2004). Estas sinonimias implican que las especies de trematodos con prioridad taxonómica podrían tener un patrón zoogeográfico más amplio, infectando diferentes especies de krill (prediciendo una baja especificidad). El presente estudio es el primer registro de un endoparásito que infecta a *Nematoscelis difficilis* para la cual se había reportado únicamente epibiontes, ectoparásitos y meso-parásitos (Field, 1969; De Silva-Dávila *et al.*, 2004, Landers *et al.*, 2006, Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2010a).

11.1.3. *Paranybelinia otobothrioides*

Análisis previos demostraron que la ultraestructura superficial es una herramienta útil para determinar las relaciones filogenéticas y taxonomía de los cestodos trypanorhyncha (Richmond & Caira, 1991; Palm, 1995, 1997, 2004, 2008). Aunque la ultraestructura

superficial ha sido analizada solo en algunas especies representativas, cada vez es más claro que los diferentes taxones tienen patrones de microtriques relativamente uniformes y que estos patrones se pueden utilizar como caracteres diagnósticos de las especies. Los cestodos de la superfamilia Tentacularioidea, familia Tentaculariidae, tienen microtriques filiformes en el pedúnculo del escólex y microtriques unciniformes y acerosados de ultraestructura característica interna a lo largo de los bordes botriales (Palm, 2000; Palm *et al.*, 2000). Los microtriques capiliformes están ausentes en la parte posterior del apéndice. Palm (2008) describió la ultraestructura superficial de *Pseudonybelinia obobothrioides*, una especie descrita por Dollfus (1966) también colectada en vida libre en el plancton marino y la incluyó junto con la especie *Paranybelinia odontacantha* en la familia Paranybeliniidae. La ocurrencia de microtriques unciniformes en la superficie y los márgenes botriales en *Paranybelinia obobothrioides* con la ausencia de microtriches espiniformes en estas regiones y la ausencia de fosas botriales (en inglés llamados bothrial pits) y microtriques capiliformes en el apéndice permite la asignación de esta especie a la superfamilia Tentacularioidea y no a la superfamilia Obobothrioidea como había sido previamente reportada (Palm, 1995, 1997, 2004). Este resultado, es apoyado por datos moleculares de ssrDNA.

La ultraestructura superficial de *Paranybelinia obobothrioides* observada con MEB semejante a la de las especies de la familia Tentaculariidae, los cuales tienen una combinación de microtriques acerosados/unciniformes sobre los microtriques superficiales y filiformes en la parte botrial distal que cubren todo el pedúnculo escólex. Dentro de los Tentaculariidae, varias especies, como *Nybelinia indica*, *Heteronybelinia estigmema* y *Mixonybelinia lepturi*, poseen una banda de microtriques unciniformes y acerosados a lo largo de los márgenes botriales y microtriques filiformes alargados en todo el escólex (Palm, 1995; 2004). Los microtriques capiliformes en la parte proximal del apéndice están ausentes en estos tres

géneros. El patrón de microtriques de *Paranybelinia otobothrioides* es más consistentemente similar al de las especies de la superfamilia Tentacularidae, con la excepción de que en *P. otobothrioides* los microtriques unciniformes cubren toda la superficie botrial. Aquí confirmamos que *P. otobothrioides* tiene dos botrios dorsales y ventrales en lugar de cuatro botrios triangulares que no están completamente separados entre sí, por lo que la familia Paranybeliniidae puede distinguirse de los Tentaculariidae y sigue siendo una familia taxonómicamente válida. Especial atención debe hacerse en relación con las ranuras tegumental en el margen posterior de los botrios. Dollfus (1966, 1967) llamó a estas estructuras en el margen posterior del bothria en *P. odontacantha* como hendiduras botriales, un nombre que se introdujo originalmente por Linton (1890) para las estructuras características en el margen botrial posterior en el género *Otobothrium*. Palm (1995, 1997) utilizó este carácter para distinguir las especies de la superfamilia otobothrioidea de todas las otras especies dentro de los trypanorhyncha. Sin embargo, la estructura observada es diferente al de las especies de la superfamilia Otobothrioidea que han sido examinados mediante microscopia electrónica de transmisión (MET) y de barrido (MEB). Jones (2000), Palm & Overstreet (2000) y Palm *et al.* (1998, 2000) analizaron la ultraestructura de los hendiduras botriales en especies otobothrioideos (*O. mugilis*, *O. cysticum*, *O. penetrans*) mediante MET y microtriques espiniformes identificados de ultraestructura similares a los microtriques palmados en la superficie botrial distal. En todos los casos, la forma de las microtriques en MEB fueron claramente diferentes respecto al de la superficie botrial circundante. Una relación entre las hendiduras botriales y el llamado 'Sinneskante' (hendidura botrial con forma específica, con microtriques bífidas delgados) fue evidente en los lacistorhynchoides (Pintner, 1934; Jones, 2000; Palm *et al.*, 2000). *Parotobothrium balli* combina ambas estructuras, que tiene un margen botrial característico que termina justo

antes de un hendidura botrial lateral. En el caso de *P. odontacantha*, no se observaron microtriques espiniformes y en los surcos tegumentales de *P. odontacantha* situados en el margen posterior de los botrios están cubiertas con microtriques unciniformes que no se pudieron distinguir por MEB de los que cubren el resto de la superficie botrial.

En consecuencia, las ranuras tegumentales en el extremo posterior de los botrios no son correspondientes a las hendiduras botriales de acuerdo con las descripciones de [Linton \(1890\)](#), [Jones \(2000\)](#) y [Palm et al. \(2000\)](#). Para distinguir las estructuras botriales en Paranybeliniidae de los Pseudotobothriidae y Otophthriidae, los primeros se denominan hendiduras tegumentales que están cubiertos con microtriques unciniformes y los bordes botriales están cubiertos con microtriques espiniformes. Las ranuras tegumentales se consideran tienen una función de soporte, para la familia Paranybeliniidae y los pozos botriales se consideran sinapomórficos para la Otophthrioidea, como fue previamente sugerido por [Palm \(1995, 1997, 2004\)](#).

11.2. Patología

El efecto de las especies de cestodos que infectan a *N. simplex* fue evaluado histológicamente en función al de desarrollo gonádico de ambos sexos de *Nyctiphanes simplex* de acuerdo con [Zavala-Hernández, \(2007\)](#) y [Gómez-Gutiérrez et al. \(2010b\)](#). Las cuatro especies de cestodos que infectaron a *N. simplex* tuvieron patologías diversas, sugiriendo que cada una de ellas tiene estrategias de ciclo de vida, comportamiento y desarrollo distinto dentro del hospedero. En general, en los *N. simplex* parasitados con cestodos se observaron hemocitos en el hepatopáncreas, sin embargo, la cantidad de hemocitos observados (evaluada cualitativamente) en el krill parasitado es considerablemente baja en comparación con individuos de *N. simplex* no infectados. La baja

densidad de hemocitos o baja reacción hemocítica podría ser un indicador de infección con afectación severa en la estructura funcional del hepatopáncreas asociada a excreción de enzimas y asimilación de alimento digerido teniendo efecto posiblemente negativo en las tasas de producción secundaria (crecimiento somático, mudas y/o reproducción). La formación de los hemocitos en crustáceos tiene lugar en el sistema hematopoyético, la presencia de hemocitos circundantes en crustáceos usualmente es observada en la hemolinfa, tejido conectivo del hepatopáncreas, así como en el lumen de los túbulos (Kakoolaki *et al.*, 2010). Estas células, representan una de las principales fuentes de respuesta del sistema inmune en los crustáceos (Batistella *et al.*, 1996; Kakoolaki *et al.*, 2010, Saha, 2011). Sin embargo, las bajas concentraciones de hemocitos han sido asociadas como un indicador de infecciones severas por virus en decápodos (*Panilurus argus*) (Perazzolo *et al.*, 2002; Li *et al.*, 2008). Exceptuando los estudios recientes en el krill antártico *Euphausia superba*, los mecanismos de reacción de krill por infección de helmintos son hasta ahora desconocidos en las 85 especies de krill restantes (Miwa *et al.*, 2008, Seear *et al.*, 2012, Zhao *et al.*, 2013, Gómez-Gutiérrez & Morales-Avila, 2015). Gómez-Gutiérrez *et al.* (2015 a, b) reportaron la respuesta de radicales libres y enzimas de estrés oxidativo de *N. simplex* infectado por el ciliado parasitoide *Pseudocollinia brintoni* y la infección colateral de bacterias debido a la infección trófica de este ciliado apostomátido. Previamente Miwa *et al.* (2008) mostraron cortes histológicos de *E. superba* mostrando evidencia de nódulos melanizados en respuesta a infección bacteriana encapsuladas por capas de melanina el cual es posteriormente rodeado por hemocitos (su Fig. 4a). En su figura 6a, ellos reportan un macroparásito inmerso en la gónada (corte transversal) rodeado de células heteromórficas y un pequeño número de hemocitos (Miwa *et al.*, 2008). Komaki (1970) con un corte histológico semejante del krill *Euphausia similis* mostró una fotografía de un parásito no

identificado, que por su talla y ubicación de la infección probablemente haya sido un helminto. El presente trabajo es la primera aproximación descriptiva de la patología y respuesta de krill infectado por cestodos Trypanorhyncha y Tetrphyllidea evidenciado con métodos histológicos en la especie nerítica de afinidad subtropical *Nyctiphanes simplex* (11-16 mm LT). Aunque en la presente investigación también se registraron helmintos infectando a las especies *Nematoscelis difficilis* (18-20 mm LT) (trematodo del género *Copiatestes*) (Morales-Ávila et al., 2015) y *Euphausia lamelligera* (7-11 mm LT) por *H. major* (este estudio), que co-existen con *N. simplex* en el Golfo de California, el número limitado de especímenes parasitados no permitió describir dicha interacción parásito-hospedero como fue descrita para *N. simplex*.

Miwa et al. (2008) demostraron que *E. superba* responde con amplio espectro de acción a la infección por bacterias y parásitos (no identificados). Sin embargo, dependiendo del sitio de infección, *E. superba* encapsuló al parásito (no identificado ~1 mm) que ocurrió en la parte dorsal del cefalotórax y contrariamente, no se encontró evidencia de reacción celular del hospedero hacia el parásito de menor tamaño corporal (<1 mm) que infectó las gónadas. Recientemente Seear et al. (2012), realizaron el primer estudio de expresión génica en *E. superba* donde se detectaron dos tipos de proteínas involucradas en la respuesta inmune: Catepsina y Lectina tipo C. Evidentemente, el mecanismo y tipo de defensa de *E. superba* (20-25 mm LT) es eficiente para erradicar principalmente bacterias (Miwa et al., 2008; Seear et al., 2012; Zhao et al., 2013). Zhao et al. (2013) lograron purificar de *E. superba* un péptido con actividad antimicrobiana (CMCC-1), el cual destruyó la membrana y pared celular de la bacteria *Staphylococcus aureus*. Con evidencia de la eficiencia del sistema inmune contra patógenos observado en *E. superba* (una de las especies más grandes de krill), Seear et al. (2012) propusieron la hipótesis de que la respuesta inmune del krill sería similar con

cualquier tipo de agente de infección dado que, como cualquier invertebrado, el krill posee un sistema inmune no adaptativo. Es decir, no existe evidencia que el krill adquiriera inmunidad ante infecciones previas. Esto implica que el sistema inmune de cualquier especie de krill será eficiente para atenuar, inmovilizar y erradicar los parásitos que las infecten pero parece ser ineficiente contra infecciones de ciliados parasitoides del género *Pseudocollinia* (Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2015a,b). En el presente trabajo, los resultados de especímenes analizados histológicamente, así como los datos ecológicos de krill infectado (n>500), mostraron que los cestodos (en estadio de procercoide y plerocercoide) *Hemionchos major*, *Mobulocestus nephritidis*, *Paranybelinia otophthrioides* y los céstodos Tetraphyllidea que ocurrieron en diferentes sitios de infección (microhabitats) no son encapsulados por *Nyctiphanes simplex*. Este resultado contradice la hipótesis propuesta por Sear *et al.* (2012) y sugiere que diferentes especies de krill reaccionan de manera distinta que dependen no solo de la condición fisiológica del krill, sino también del tipo de parásito y la condición del hospedero.

11.3. Factor de condición

El hepatopáncreas y la gónada femenina en estado grávido son los órganos más grandes de los crustáceos decápodos y eufáusidos. El hepatopáncreas tiene múltiples funciones biológicas, incluyendo la síntesis y secreción enzimática y reservorio de minerales y sustancias orgánicas que son distribuídas durante el ciclo de muda (Brown, 1994; Ceccaldi 1997; Gimenez *et al.*, 2008; Diaz *et al.*, 2010). El tamaño de la glándula digestiva y su proporción respecto a la longitud del caparazón, han sido usados como factor de condición en el krill (índice hepatosomático ó IHS) (Shin, 2000).

El IHS de *Nyctiphanes simplex* (hembras inmaduras) parasitadas respecto a hembras (no parasitadas) de las mismas muestras (localidad) y mismo crucero (época del año) fue

significativamente menor ($p < 0.05$). Este resultado sugiere que en el medio silvestre bajo las mismas condiciones ambientales y krill de la misma longitud total, el krill parasitado tiene una tasa de alimentación menor y condición de salud inferior respecto al krill no parasitado. El análisis histológico de *N. simplex* parasitado, mostró notables cambios estructurales que posiblemente comprometan la función del hepatopáncreas mostrando señales de desnutrición. El hepatopáncreas de los crustáceos es sensible a cambios histológicos e histoquímicos en respuesta a diferentes demandas fisiológicas (muda, crecimiento y reproducción) (Al-Mohanna & Nott, 1989; Sousa & Petriella, 2001), ambientales (salinidad) (Masson, 2001; Cuartas *et al.*, 2003; Diaz *et al.*, 2010) y contaminación (Icely & Nott, 1992; Johnston *et al.*, 1998). Ambríz-Arreola *et al.*, (2012) mostró cómo el IHS de dos especies de krill tropical *Euphausia lamelligera* y *Euphausia distinguenda* fue pequeño durante época de baja concentración de clorofila a, con predominio de eventos de convergencias costeras y con IHS relativamente más alto durante periodos con alta concentración de clorofila a, y mayor frecuencia e intensidad de eventos de surgencias costeras. En el presente trabajo, se parearon hembras de *N. simplex* infectadas y no infectadas con tallas iguales (no necesariamente misma edad por su capacidad de encogimiento), mismo estadio de desarrollo gonádico y, debido a que provienen de la misma muestra, se asume que las condiciones ambientales y de alimentación fueron semejantes (misma estación de muestreo). Por lo tanto, las diferencias significativas del IHS de krill (infectado con cestodos) recolectados del medio natural sugieren que los cambios estructurales observados en el hepatopáncreas son el resultado directo de las deficientes condiciones alimenticias del krill parasitado. Asimismo, el hepatopáncreas de los euphausíidos parasitados tuvieron una menor cantidad de células tipo B (estimado cualitativamente). En crustáceos, las células B tienen la función de almacenamiento y secreción enzimática y eliminación de desechos (Hopkin &

[Nott, 1980](#); [Cuartas et al., 2002](#)). Esta aparente disminución de número de células B, es una evidencia adicional que la infección por cestodos afecta la tasa de alimentación y asimilación del krill. Por lo que, es altamente probable que los cambios estructurales y patología del hepatopáncreas del hospedero (krill) infectado por cestodos, tenga modificaciones fisiológicas diversas relacionadas con la tasas de crecimiento y periodo de intermuda y podría afectar la sobrevivencia del krill bajo condiciones adversas de alimentación ([Shin, 2000](#)). También, se espera que la pérdida de las células con microvellosidades y el desprendimiento o descamación del epitelio intertubular, modifique el funcionamiento y eficacia de acumulación y absorción de nutrientes así como la secreción enzimática y, por ende, la digestión y/o asimilación del alimento. [Andeev \(1985\)](#) y [Takahashi et al., \(2009\)](#) reportaron daño en microvellosidades del hepatopáncreas causado por esporozoos gregarínidos en elevadas intensidades afectan la funcionalidad de éste, particularmente evidenciado con micrografías de MET en el krill *E. superba*, ver figura 4a, b publicada por [Takahashi et al., \(2009\)](#). En este órgano se lleva a cabo la absorción de los productos digeridos (digestión y almacenamiento de energía por un periodo de horas a semanas), metabolismo de lípidos y carbohidratos ([Brown, 1994](#)).

Por otro lado, la presencia de lipofuscinas (peroxidación de lípidos inducida por radicales libres) ([Sheehy, 1990](#)) asociadas a la infección de *P. otobothroides* podría ser un indicador de estrés fisiológico para el krill. En crustáceos, el sistema inmune incluye mecanismos efectores (células para ejecutar respuestas ante estímulos) que permiten la eliminación de los agentes externos (patógenos) mediante la inducción de modificaciones de moléculas químicas oxidativas por el sistema profenoloxidasa (proPO) ([Vázquez et al., 2009](#)). Probablemente, la presencia de estos gránulos de lípidos peroxidados (desecho) esté asociada con una disminución de la capacidad de absorción hepatopancreática y, por lo

tanto, a cambios en la función de este órgano digestivo (Diaz *et al.*, 2010). Sin embargo, esto debe ser investigado en el futuro debido a que se ha propuesto que la concentración de lipofuscinas principalmente en el sistema nervioso de los crustáceos se incrementa con la edad (Nicol *et al.*, 1990; El-Sayed, 1994; Siegel & Nicol, 2000; Harvey *et al.*, 2008; Harvey *et al.*, 2010). Hasta donde se tiene conocimiento, el presente trabajo es el primer reporte de zonas de lipofuscinas localizadas principalmente en el hepatopáncreas del krill asociado a la infección de cestodos Trypanorhyncha. Este tipo de pigmentos lipídicos no fue notado en la descripción histopatológica más reciente de *E. superba* realizada por Miwa *et al.* (2008).

11.4. Castración

La castración parasitaria es una estrategia adaptativa independiente de la intensidad de infección que requiere la eliminación eventual de la reproducción del hospedero para que éste no derive biomasa y energía en este costoso proceso energético. Esta inducción a cese de la reproducción puede repercutir en uno de los principales medios de adquirir energía del cuerpo del hospedero (Kuris, 1974; Blower & Roughgarden 1987, Lafferty & Kuris, 2002, 2009). Los parásitos castradores más comunes en crustáceos incluye al grupo de los helmintos (nematodos, tremátodos, acantocéfalos y cestodos) (Plaistow, 2001; Bollache *et al.*, 2002; Rohde, 2005; Lafferty & Kuris, 2009). En la presente tesis doctoral, los resultados ecológicos de la infección por helmintos de *N. simplex*, mostraron que las hembras de krill con gónada inmadura en previtelogénesis (GI) son frecuentemente parasitadas por cestodos y la frecuencia de infección por helmintos disminuye en hembras en estadios de desarrollo gonádico más avanzados (GIV y hembras ovígeras). En contraste, el hallazgo de hembras ovígeras vivas (n<3) parasitadas por las especies de cestodos *Hemionchos major* y *Mobulocestus nephritidis* y, también por el acantocéfalo *Bolbosoma* sp., sugiere que los

parásitos no necesariamente castran a los hospederos infectados (Kuris, 1974; Blower & Roughgarden, 1987; Lafferty & Kuris, 2002). En este trabajo, también se observó (histológicamente) que los cestodos *H. major*, *M. nephritidis* y *P. otobothrioides* infectaron a hembras ovígeras y machos con gónada y con espermátforo extruído (indicador de que el krill infectado tenía actividad reproductiva al momento de su captura).

Los ovarios de la hembra de *N. simplex* (infectada por *H. major*) en estadio de atresia o gónada cinco (GV) tuvo la misma estructura que las de hembras no infectadas (oocitos de forma irregular y apariencia fusionada por absorción de la membrana del ooplasma) (Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2010). Sin embargo, la frecuencia y proporción de oocitos en estadio atrésico no pudo ser determinado debido al tamaño de la muestra mínima obtenida (n=1). Sin embargo, el gran tamaño del parasito relativo al hospedero, así como al hecho de que los helmintos se localizan en el hemocele donde se ubica la gónada, es altamente probable que los parásitos disminuyan el tamaño de puesta del hospedero (número de huevos por evento de desoves), y por ende, la fecundidad de la hembra en su ciclo de vida. Al respecto, la presencia de parásitos (probablemente helmintos) en *Euphausia similis* (Komaki, 1970) y *E. superba* (Miwa *et al.*, 2008) en estadio larval inicial ocurrió en el ovario y estuvo rodeado por oocitos en el estadio inicial de desarrollo o gónada (GI) de *E. superba*. Sin embargo, estos autores no describieron si *E. superba* podría ser castrado por efecto del parásito.

Las hembras parasitadas en diferentes fases de desarrollo gonádico y la detección de algunas hembras ovígeras infectadas sugiere que los cestodos no necesariamente cesan la ovogénesis de *N. simplex* por lo tanto este tipo de parasitismo no siempre finaliza en castración (*sensu* Lafferty & Kuris 2002) como parece suceder con *N. simplex* infectado con ciliados parasitoides (Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2015a, b). Más del 90 % de las hembras infectadas por cestodos mostraron indicios de haber desovado previamente (hembra gastada

con espacio entre el penúltimo y último apéndice torácico, indicio que la hembra ya tuvo sacos ovígeros previamente). Más del 95% de los machos presentaron el espermátforo extruído, este hecho sugiere que tanto machos como hembras podrían no verse afectados en cuanto a su comportamiento de reproducción por la infección por cestodos.

Para los trematodos de la familia Syncoelidae se observaron parasitando a un macho de *N. simplex* el cual tenía el espermátforo extruído pero sin desarrollo gonadal evidente en el cefalotórax (Morales-Ávila *et al.*, 2015). La hembra juvenil de *N. difficilis* tenía una gónada inmadura (G1) y sin espermátforo unido al télico que indicaría reciente actividad reproductiva (Morales-Ávila *et al.*, 2015), sin embargo, el mínimo número de muestras no parece ser conclusivo si los trematodos también pueden o no permitir una reproducción del hospedero aunque sea de forma disminuída.

11.5. Helmintos tróficamente transmitidos (interacción depredador–presa)

A pesar de que los crustáceos del orden Euphausiacea (krill) tienen solo 86 especies en el mundo, éstos son un componente numéricamente relevante del zooplancton. Estos crustáceos son ampliamente distribuídos y forman grandes y densas agregaciones que atraen a múltiples depredadores. Al mismo tiempo, las agregaciones de eufáusidos representan hospederos potencialmente disponibles para que los parásitos continúen sus ciclos de vida. De este modo, la relación trófica presa-depredador representa un nodo fundamental para la transmisión de parásitos a través de la trama alimenticia. Paradójicamente, una de las interacciones ecológicas menos estudiadas en el krill es la interacción parásito-hospedero y la relevancia del krill como vector de parásitos hacia niveles tróficos superiores.

En el presente estudio, se investigó los helmintos de las 11 especies de krill que co-ocurren en el Golfo de California y su relevancia en la transmisión de parásitos en algunos de sus depredadores más conspicuos como la ballena azul (*Balaenoptera musculus*).

La riqueza de especies de parásitos que infectan al krill en el Golfo de California (9 taxa de helmintos), indica que los cestodos del orden Trypanorhyncha son los parásitos más prevalentes e infectan principalmente a la especie numéricamente dominante *Nyctiphanes simplex* con intensidad 1 (un cestodo por krill), raramente 2. Se observó que la densidad del krill infectado por estos cestodos, llega a alcanzar hasta 288 ind. 1000 m⁻³. Este resultado ecológicamente implica que el krill *N. simplex* es parasitado principalmente por cestodos que alcanzan su fase adulta parasitando elasmobranquios (tiburones y rayas) para completar sus ciclos de vida. Por ejemplo, los plerocercoides de las especies *Hemionchos major* y *Mobulocestus nephitidis* que infectan al krill *Nyctiphanes simplex* (este estudio) fueron recientemente descritos como adultos parasitando a la especie *Mobula japónica* y *M. thurstoni* respectivamente en el Golfo de California (Campbell & Beveridge, 2006). Las rayas del género *Mobula*, se alimentan directamente de macrozooplancton, principalmente de *N. simplex* y en menor proporción de Mysidaceos (Notarbartolo-di-Sciara, 1988; Sampson et al., 2010) de la especie *Mysidium rickettsi* Harrison & Bowman, 1987 (Gómez-Gutiérrez et al., 2014). El resultado de infección del krill *Nyctiphanes simplex* principalmente por cestodos Trypanorhyncha, concuerda con el registro previo de parásitos en krill del Golfo de California de Gómez-Gutiérrez et al., (2010a). Estos autores mostraron que la mayor riqueza de helmintos que infecto al krill *N. simplex* fueron principalmente cestodos. Esto es ecológicamente contrastante a la comunidad de helmintos que hospeda la especie de krill *Nyctiphanes couchii* en el Océano Atlántico, la cual es principalmente infectada por

Acantocefalos (*Bolbosoma balanae* y *Rhadinorhynchus* sp.) y el nematodo *Anisakis simplex* (menos prevalente) (Gregori *et al.*, 2012, 2013, 2014).

Considerando que los cestodos Trypanorhyncha parasitan con prevalencia y densidad considerablemente alta al krill *N. simplex*; además de que éstos helmintos deben transmitirse tróficamente a través de nodos en la relación depredador-presa, sugiere que *N. simplex* es frecuente hospedero intermediario en la transmisión de parásitos hacia las rayas del género *Mobula* el cual ha sido frecuentemente reportado que se alimentan de agregaciones de krill (Notarbartolo-di-Sciara, 1988; Sampson *et al.*, 2010) inclusive de masivas agregaciones de caliptopis de *N. simplex* en Loreto, B.C.S. (Gómez-Gutiérrez *com. personal*). Sin embargo, es altamente probable que en el Golfo de California la ballena azul (*B. musculus*), así como *Balaenoptera physalus* y *B. edeni* también se alimenten de enjambres de eufáusidos infectados por cestodos. En contraste, los registros previos de helmintos de heces de *Balaenoptera musculus* y *B. physalus* no muestran cestodos del orden Trypanorhyncha (huevos, larvas o adultos) sino huevos tentativamente identificados como cestodos del género *Dyphyllobotrium* (Rocha-Gosselin, 2009; Flores-Cascante, 2012; Flores-Cascante & Gendron, 2012). El único registro de una forma larvaria de cestodo trypanorhyncha en ballenas del Océano Pacífico, ocurrió en la pared intestinal del cachalote (*Physeter macrocephalus*) (Lambertsen, 1997). El hallazgo de este cestodo (n=1) en el cachalote, sugiere que la infección fue accidental (probablemente por el consumo de calamar infectado). De modo contrastante, considerando que en una agregación de krill, la densidad organismos infectados por cestodos Trypanorhyncha llega a ser hasta de 288 ind. 1000 m⁻³, es altamente probable que en el GC las ballenas *Balaenoptera musculus*, *B. physalus* y *B. edeni* hospeden cestodos Trypanorhyncha. Sin embargo, la infección debería considerarse como accidental debido a que los cestodos (en estadio plerocercoides) no completarían su ciclo de vida (no

madurarían sexualmente) en las ballenas. Cabe señalar que los cestodos *Hemionchos major* y *Mobulocestus nephritidis* completan su ciclo de vida en *Mobula japonica* y *M. thurstoni* (Campbell & Beveridge, 2006). Esto podría explicar parcialmente la ausencia de huevos de cestodos Trypanorhyncha en trabajos previos de parásitos en heces de las ballenas *Balaenoptera physalus* y *B. musculus* en el Golfo de California (Rocha-Gosselin, 2009; Flores-Cascante, 2012; Flores-Cascante & Gendron, 2012) y *B. musculus*, *B. physalus*, *B. borealis* y *Physeter macrocephalus* de las islas de los Azores, Portugal (Hermosilla *et al.*, 2015).

En contraste, los acantocéfalos (*Bolbosoma*) y nematodos (*Anisakis*) alcanzan su fase adulta cuando parasitan mamíferos marinos (misticetos y odontocetos, e inclusive pinnípedos) como hospederos finales, los cuales son infectados al alimentarse de presas (hospederos) parasitadas. En este sentido, considerando la relación trófica directa entre el krill y las ballenas que habitan el Golfo de California (poblaciones locales o durante sus movimientos migratorios), sugiere a los misticetos *Balaenoptera musculus*, *B. physalus*, *B. edeni* son los hospederos finales conspicuos para nematodos y acantocéfalos que infecten a las especies de krill del Golfo de California. Sin embargo, en la presente tesis doctoral que comprendió el análisis helmintológico cuantitativo de cuatro cruceros oceanográficos (temporada fría, transición y cálida), no se observaron nematodos parasitando al krill en la misma región. Registros previos indican que el nematodo *Anisakis simplex* parasita con muy baja prevalencia < 0.0001% al krill *Nyctiphanes simplex* en el Golfo de California (Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2010a). La ausencia de ese nematodo en las 11 especies de krill (este estudio) y considerando que *Anisakis simplex* es una especie generalista, tentativamente sugiere la participación de otros hospederos intermediarios zooplanctónicos que probablemente tengan mayor relevancia en términos de prevalencia, intensidad y densidad

de hospederos infectados (ind. por área o volumen) en la transmisión de este parásito en la trama trófica del Golfo de California. A nivel mundial, los nematodos del género *Anisakis* infectan a 11 de las 86 especies de krill, (Gregori *et al.*, 2014). Recientemente, estos autores evidenciaron con análisis genético (ITS1, 5.8 rDNA e ITS2) que las especies *Anisakis simplex* (s. l.) y *A. pegreffii* infectan al krill *Nyctiphanes couchii* en aguas del Atlántico (prevalencia 0.0019%) (Gregori *et al.*, 2014).

Por otro lado, se observó que los acantocéfalos que infectan a *Balaenoptera musculus* (depredador) y a *Nyctiphanes simplex* (presa) pertenecen al género *Bolbosoma* (familia Polymorphidae). Aunque en este trabajo identificamos genéticamente a la especie de acantocéfalo *Bolbosoma turbinella* (recuperado de heces) que infecta a la ballena azul, no fue posible comparar la diversidad (a nivel específico) de acantocéfalos entre la ballena y el krill. Esto se debe principalmente a que las especies de acantocéfalos que infectaron a *N. simplex* (n=3) fueron uno de los grupos menos prevalentes con densidad poblacional máxima de *N. simplex* infectado de 2 ind. 1000 m⁻³. Sin embargo, las larvas de acantocéfalos que infectan al krill, probablemente representen tres especies distintas. Considerando los registros previos de acantocéfalos en el krill *N. simplex*, así como en las ballenas *Balaenoptera physalus* y *B. musculus* (Rocha-Gosselin, 2009; Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2010a; Flores-Cascante, 2011; Flores-Cascante & Gendron, 2012), el hallazgo de la especie *Bolbosoma balanae* (sensu lato) en *Nyctiphanes simplex* y *Bolbosoma turbinella* parasitando a la ballena azul (*Balaenoptera musculus*), representan primeros registros de infección de las especies de acantocéfalos en el Golfo de California.

El acantocéfalo *Bolbosoma turbinella* (identificado morfológica y genéticamente) es un parásito con baja especificidad por lo que la infección no sería exclusiva de las ballenas azules. Esta especie también se ha registrado parasitando en varios mysticetos (ballenas de

sei, de aleta, jorobada franca *Eubalaena glacialis*, ballena franca Atlántico Norte,) y odontocetos (*Hyperoodon ampullatus* y *Physeter macrocephalus*). La distribución de *Bolbosoma turbinella* parasitando ballenas incluye los océanos Atlántico y Pacífico en los hemisferios norte y sur facilitado por las grandes migraciones que realizan algunas de estas especies en los mares del mundo (Measures, 1992; Hermosiolla *et al.*, 2015).

Otro de los especímenes de acantocéfalos recuperados de heces de ballena azul, fue identificado a nivel género (*Bolbosoma* sp. 1, **Fig. 40 A-D**). La identificación a nivel de especie se vio limitada por que este espécimen presentó la proboscis invertida impidiendo contar el número y forma de los ganchos por filas (entre otras características de la parte anterior del bulbo). Aunque la caracterización molecular de este espécimen (*Bolbosoma* sp. 1, **Fig. 40 A-D**) está en proceso (ADNg extraído), se realizó la descripción morfológica de huevos obtenidos por disección directa del espécimen adulto. Las características morfológicas de los huevos de *Bolbosoma* sp. 1 (este estudio) respecto a los huevos descritos en trabajos anteriores (Rocha, 2009; Flores-Cascante, 2012; Flores-Cascante & Gendron, 2012) demuestra que la ballena azul es parasitada por una diversidad de especies más elevada de lo que se creía.

Por otro lado, *Dosidicus gigas* es uno de los depredadores activos más voraces y abundantes de la zona epipelágica, aunque puede distribuirse en estratos por debajo de la capa mínima de oxígeno hasta 1200 m de profundidad. Esta especie es endémica del Pacífico Oriental Tropical (Kato *et al.*, 2014) es ampliamente distribuída desde el este del Pacífico, Golfo de California hasta el Pacífico Sur (Chile) (Nigmatullin *et al.*, 2001; Ulloa *et al.*, 2006). Para el Golfo de California su biomasa calculada se estima en 34.9–210 mil toneladas para el periodo de 1990 a 2001 (Nigmatullin *et al.*, 2001). Registros previos de hábitos alimenticios indican que *Dosidicus gigas* tiene un amplio espectro trófico alimentándose de

peces linterna, crustáceos (copépodos, anfípodos, eufáusidos, camarones pelágicos y langostillas) moluscos pelágicos, calamares (incluso de su misma especie), pulpos y peces (Shimazu, 1975; 1999; Nigmatullin *et al.*, 2001; Camarillo-Coop *et al.*, 2013). En el Golfo de California, *Dosidicus gigas* en fase de paralarva y juveniles <34 mm (manto) se alimentan principalmente de crustáceos (57%) incluido *N. simplex*, peces (22%) y anfípodos (6%) (Camarillo-Coop *et al.*, 2013). Considerando la relación trófica existente depredador-presa, entre el calamar *Dosidicus gigas* y las especies de eufáusidos, cabe la posibilidad de que el krill sea un vector de helmintos tróficamente transmitidos para el calamar gigante *D. gigas*.

De los registros previos de infección por cestodos en calamares a nivel mundial, especies del género *Nybelinia* (orden Trypanorhyncha) comúnmente infectan a los calamares *Ommastrephes sloani pacificus*, *Illex coindetii*, *Lepidoteuthis grimaldii*, *Todarodes saggitatus*, *T. pacificus* plerocercoides y las larvas de los cestodos *Phyllobothrium* y *Tetrarhynchus* (orden Phyllobothriidea) (Shimazu, 1975; Palm *et al.*, 1997; Céspedes *et al.*, 2011). Sin embargo, el calamar gigante *D. gigas* es principalmente infectado por nematodos (9-12 especies), cestodos del orden Trypanorhyncha (*Tentacularia coryphaenae* y *Hepatoxylon trachiuri*) y Phyllobothriidea, trematodos y ciliados (*Chromidina*) (Shimazu, 1975; Palm *et al.*, 1997; Nigmatullin *et al.*, 2001; Pardo-Gandarillas *et al.*, 2009; Céspedes *et al.*, 2011).

Estas observaciones evidencian que el cestodo el género *Nybelinia* se transmite tróficamente a través del vínculo presa-depredador entre los eufáusidos y calamares principalmente para la zona del Pacífico Norte (Shimazu, 1975, 1999). Este autor conceptualizó el ciclo de vida de *Nybelinia surmenicola* y propuso que los eufáusidos, el calamar *Todarodes pacificus* y peces, son hospederos intermediarios y el hospedero final es el tiburón *Lamna ditropis* (Shimazu, 1975). A pesar de los registros de infección de *Nybelinia surmenicola* en krill en el Pacífico Norte, la relevancia ecológica de las especies de

eufáusidos como vectores de parásitos de diferentes regiones del mundo aún se desconoce, en parte debido a que los estudios de parásitos ecológico-cuantitativos son recientes (Gregori *et al.*, 2012, 2013, 2015; Morales-Avila *et al.*, 2015).

Gómez-Gutiérrez *et al.* (2010a) hicieron el primer registro de diversidad de parásitos de *N. simplex* en el noroeste de México. En ese trabajo a pesar que se muestran fotografías de tres tipos de cestodos, no fueron identificados a nivel específico. En el presente trabajo se descubrió que la especie nerítica más abundante en el Golfo de California *N. simplex* es principalmente infectado por cestodos trypanorhyncha (*Hemionchos major*, *Mobulocestus nephritidis* y *Paranybelinia otobothrioides*) y una especie no identificada de Tetrphyllidea. La especie más frecuente y abundante *H. major* tuvo una prevalencia máxima hasta de 14% y densidad máxima de krill parasitado de 288 ind. 1000 m⁻³. Sin embargo, no se registró infección por *Nybelinia surmenicola* en ninguna de las 11 especies de krill en el Golfo de California en el presente trabajo ni en Gómez-Gutiérrez *et al.* (2010a). De manera contrastante, con base a morfología y genética, el análisis helmintológico de *Dosidicus gigas* (depredador de krill) capturado en Santa Rosalía, Baja California Sur en el crucero de octubre de 2010, evidenció el primer registro de *N. surmenicola* parasitando el calamar gigante *D. gigas*. El haplotipo de *Nybelinia surmenicola* (gen 28S) fue idéntico a los registros previos FJ572929.1 (Palm *et al.*, 2009) y JN662466 (Bryan *et al.*, 2012).

Sin embargo, la caracterización morfológica y genética de los cestodos que infectan al depredador (*D. gigas*) y a la presa (*N. simplex*) en el Golfo de California, demostró que las especies de cestodos (trypanorhyncha) que infectan a ambas especies (depredador y presa) son filogenéticamente distantes. *Nybelinia surmenicola* que parasita a *D. gigas* y *Paranybelinia otobothrioides* que parasita a *N. simplex* pertenecen a la superfamilia Tentacularioidea. Considerando que los cestodos trypanorhyncha son helmintos que deben

transmitirse tróficamente (Lafferty & Kuris, 2002), nuestros resultados indican que hasta la fecha no existe evidencia que las especies de cestodos que parasitan *N. simplex* se transmiten al calamar gigante *D. gigas* en el Golfo de California. En esta investigación se analizaron numerosas muestras y especímenes de krill sin encontrar ningún cestodo del género *Nybelinia*. Markaida *et al.* (2008) informó que *D. gigas* se alimenta en Santa Rosalía principalmente de organismos micronectónicos mesopelágicos, en su mayoría los mictófidos *Benthoosema panamense*, *Triphoturus mexicanus*, y el calamar *Pterygioteuthis giardi*, así como, Pterópodos y en menor proporción los crustáceos. Recientemente Bryan *et al.* (2012) con morfología y genética, identificaron a *Nybelinia surmenicola* en la merluza del Pacífico (*Merluccius productus*) en la costa oeste de Estados Unidos durante 2008 y 2009. El cestodo del género *Nybelinia* (en forma larvaria) es ampliamente distribuido en la denominada "zona del Pacífico Norte" que se extiende por todo el Pacífico Norte – Mar del Norte de Japón-Ojotsk y el Mar de Bering (Shimazu, 1975) infectando especies que se distribuyen en la región sub-antártica del Pacífico Norte como *Euphausia pacifica* la cual es abundante en la Corriente de California. Es probable que *N. surmenicola* que infecta al calamar gigante en el Golfo de California, pueda ser utilizada como un marcador biológico para trazar zonas de alimentación del calamar gigante.

11.6. Conceptualización de ciclos de vida de los trematodos

Trematodos de la familia Syncoelidae

El ciclo de vida de los trematodos de la familia Syncoelidae es parcialmente conocido, particularmente en las etapas desde huevo hasta cercaria y de sus primeros hospederos intermediarios (Gibson & Bray, 1977), a pesar de que los copépodos y el krill son considerados como segundos hospederos intermediarios (Overstreet, 1970; Marcogliese,

1995; Busch *et al.*, 2012). Los trematodos Syncoelidos han mostrado una baja especificidad de infección, ya que se han encontrado anteriormente como: 1) etapa mesocercaria en el hemocele del krill (no enquistados con la cola, el presente estudio), 2) metacercarias de vida libre (sin hospedero) (Odhner, 1911; Dollfus, 1966; Shimazu, 1982, 2006), 3) metacercarias sujetas externamente en el zooplancton (trematodos sin cola), como en *Nyctiphanes couchii* (Dollfus, 1966), y copépodos (Overstreet, 1970; Schell, 1985), y 4) la etapa metacercaria en el hemocele del krill (presumiblemente con cola) (Kagei, 1979).

Los trematodos Syncoelidos se observan con mayor frecuencia como larvas con colas no enquistadas (erróneamente referidos como “metacercarias no enquistadas”), en realidad son una etapa mesocercaria con órganos reproductivos inmaduros, que se define como una forma intermedia entre cercaria y metacercaria (Galaktionov & Dobrovolskij, 2003) que se observó parasitando el hemocele de *Nematoscelis megalops* y *Thysanoessa gregaria* (Sars, 1885; Claugher, 1976), *E. pacifica* (Shimazu & Kagei, 1978, Shimazu, 2006), *N. simplex* y *N. difficilis* (presente estudio).

En los hospederos finales nectónicos de los trematodos sincoelidos se encuentran fijados a la piel, y cavidad bucal y branquial de teleósteos (Shvetsova, 2004), peces condriktios zooplantofagos *Manta birostris* (Walbaum, 1792) y *Rhincodon typus* Smith, 1828 parasitados por *Paronatrema mantae* y *P. boholanum* (Dyer *et al.*, 1988; Villareal & Dailey, 1993; Curran & Overstreet, 2000; Eduardo, 2010) y tiburones carnívoros como *Prionace glauca* (Linnaeus, 1758) son parasitados por *P. vaginicola* (Curran & Overstreet 2000). Los trematodos syncoelidos han sido registrados que ocurren unidos a las patas de las aves marinas (Claugher, 1976).

Debido a que los trematodos se han detectado dentro del hemocele del krill como mesocercaria no enquistada con cola y metacercarias (Claugher, 1976; Kagei, 1979),

Morales-Ávila *et al.* (2015) propusieron que los trematodos pueden desarrollarse en este tipo de crustáceos, por lo tanto, el krill debe considerarse un hospedero intermediario (no conspicuos) en lugar de paraténico o accidental de los trematodos.

La especie nerítica *N. simplex* migra y forma densos enjambres cercano al fondo marino (distinto a *N. difficilis* porque ésta especie es oceánica) (Robinson & Gómez-Gutiérrez, 1998; Gómez-Gutiérrez & Robinson, 2006). Este comportamiento epibéntico transitorio de *N. simplex* podría facilitar la transmisión de parásitos de presas bentónicas a depredadores nectónicos en el hábitat pelágico los cuales no están expuestas a especies de afinidad oceánica como *N. difficilis* o *E. eximia*. Futuros estudios podrían determinar si los trematodos de la familia Syncoelidae buscan activamente al próximo hospedero o si infectan pasivamente al krill y sus depredadores a través de las interacciones tróficas depredador–presa.

Este es primer estudio para describir cuantitativamente las relaciones ecológicas entre los parásitos que infectan al krill y la transmisión de éstos a través de la trama trófica en el Golfo de California. Esta primera aproximación se basa en contrastar la diversidad taxonómica y densidad de parásitos vs. riqueza y densidad de los potenciales hospederos (especies de krill) y cómo estos se transmiten a algunos de sus depredadores más comunes. La variabilidad ambiental estacional influyó la diversidad taxonómica de helmintos que infectan a *Nyctiphanes simplex*. El aumento de la riqueza de especies de parásitos así como la infección en la población (enjambres) fue evidente en invierno (con mayor abundancia de *N. simplex*) en comparación con el verano (baja abundancia de *N. simplex*, M-W, U = 145, $p=0.01$) del mismo año. Mientras que en el periodo de transición (junio 2013) disminuyó la riqueza, la densidad y infección de parásitos, probablemente debido a la alta variación

ambiental (principalmente de la temperatura) (**Fig. 17-19**). La comparación de estas relaciones ecológicas en función de las condiciones ambientales (estacionales e interanuales), mostró un patrón de infección altamente agregado y heterogéneo en el Golfo de California, sugiriendo que la infección en enjambres de krill es un proceso altamente complejo. En este sentido, la densidad, el grado de agregación y la dispersión del hospedero no corresponden proporcionalmente con el parasitismo en la población.

Por otro lado, la remarcable diversidad taxonómica de helmintos que infectan a *Nyctiphanes simplex* refleja las relaciones interespecíficas con sus depredadores más conspicuos. Los cestodos (Trypanorhyncha) *Hemionchos major*, *Mobulocestus nephritidis* y *Paranybelinia otophthroides* invariablemente requieren a elasmobranquios (tiburones y rayas) para completar sus ciclos de vida. Los acantocéfalos *Bolbosoma balanae*, *Bolbosoma* sp1 y *Bolbosoma* sp2 completan sus ciclos de vida en mamíferos marinos (misticetos, odontocetos y pinnípedos). El trematodo *Paronatrema mantae* infecta a la mantarraya gigante *Manta birostris* y al tiburón ballena *Rhyncodon typus*. Finalmente, los cestodos Tetrphyllidea infectan a peces teleósteos, elasmobranquios y mamíferos marinos. Sin embargo, la identidad específica del parásito Tetrphyllidea que infectó a *N. simplex* no pudo ser determinada por la condición en la que fue descubierta (mediante corte histológico). La evidencia ecológica de la interacción parásito-hospedero y depredador-presa sugiere que *N. simplex* es vector relevante en la transmisión de parásitos hacia niveles tróficos superiores en el Golfo de California. Los cestodos y acantocéfalos que completan su ciclo de vida en hospederos finales de hábitos alimenticios filtradores (zooplanctófagos), incluyen un menor número de hospederos intermediarios en contraste con los trematodos que tienen ciclos de vida más complejos con múltiples hospederos intermediarios. Esto favorece así la tasa de infección a hospederos intermediarios y definitivos en el Golfo de California. Los resultados

de la presente tesis sugieren que *Nyctiphanes simplex* es primer hospedero intermediario en el ciclo de vida de cestodos y acantocéfalos y segundo hospedero intermediario en el ciclo de vida de trematodos.

12. Conclusiones

- 1) De las 11 especies de eufáusidos observados en el Golfo de California nueve especies de helmintos parasitaron únicamente a las tres especies más abundantes de krill [*Nyctiphanes simplex* (parasitado con 8 especies), *Nematoscelis difficilis* y *Euphausia lamelligera* (parasitados cada una con 1 especie)] demostrando, de manera general, que la prevalencia de parásitos interespecífica en eufáusidos tiene una relación directa con la densidad de los hospederos. Aunque no se descarta la posibilidad de que las otras nueve especies de eufáusidos puedan ser parasitadas con helmintos, el elevado número de especímenes observado en este trabajo indica con alta certidumbre que la probabilidad de una eventual infección es proporcionalmente baja en función su densidad poblacional.
- 2) Los cestodos dominan la estructura de la comunidad de helmintos que infectan a los eufáusidos del Golfo de California (98.8%) y la infección por trematodos, acantocéfalos y nematodos raramente parasitan a los eufáusidos en esta región.
- 3) La densidad y prevalencia de cada una de las especies de parásitos en relación a la densidad de *N. simplex* (variabilidad intraespecífica) no mostró correlación directa positiva; infiriendo que la distribución espacio-temporal de los parásitos tiene una distribución heterogénea dentro de la población de los hospederos y que otros factores ambientales o biológicos posiblemente favorezcan la ocurrencia de parásitos en krill en forma altamente heterogénea (núcleos de alta prevalencia).
- 4) La caracterización morfológica (botrios indentados en la base, la presencia de ganchos uncinados con lagunas y puntas mucronadas, armadura heteroacanta heteromorfas con ganchos sólidos y base de la armadura tentacular sin ensanchamiento basal) de larvas de trypanoryncha que mas frecuentemente

parasitaron a los eufáusidos *Nyctiphanes simplex* y *Euphausia lamelligera* permitió concluir que son las larvas de la especie *Hemionchos major* Campbell & Beveridge (2006) previamente descrita en fase adulta.

- 5) La caracterización morfológica (botrios ovalados, armadura metabasal heteroacanta con ganchos heteromorfos, sólidos, con voidad apical y una fila central de ganchos en la superficie botrial del tentáculo) de larvas de trypanoryncha más grande que parasitaron al eufáusido *Nyctiphanes simplex* permitió concluir que son las larvas de la especie *Mobuloscestus nephritidis* (Eutetrarhynchidae) Campbell & Beveridge (2006) previamente descrita en fase adulta.
- 6) De la re-descripción de las larvas trypanoryncha que infectaron el hepatopáncreas de *N. simplex* permite concluir que tiene la misma morfología de la especie *Paranybelinia otobothrioides* (Paranybeliniidae) previamente reportada y descrita en fase larval por Dollfus (1966) a partir de especímenes recolectados en vida libre de una muestra de zooplancton. Debido a que esta especie tiene una estrategia particular por hospedarse en el hepatopáncreas de los eufáusidos (en este caso *N. simplex*), la cual tiene glóbulos refrigentes que se mimetizan con el hepatopáncreas, permite explicar por qué esta especie no había sido observada y reportada desde su descripción original.
- 7) *Paranybelinia otobothrioides* fue originalmente incluída en la familia Paranybellinidae Dollfus (1966) y después con caracteres morfológicos fue reasignada a la familia Otobotrholdae. La caracterización genética de *P. otobothrioides* permitió concluir y confirmar que la familia Paranybeliniidae es válida y su relación filogenética es más cercana con la superfamilia Tentacularidea, no con la superfamilia Otobotrholdae. El análisis molecular mostró que la familia Paranybeliniidae se sustenta como una familia propia, conformada por las especies *Pseudonybelinia odonthoacanta* (parásito aún no secuenciado) junto con *Paranybelinia otobothrioides*.
- 8) La caracterización morfológica (presencia de ventosas accesorias en la ventosa oral y ventral) de larvas de trematodos que parasitó a *Nyctiphanes simplex*, permitió concluir

que son las larvas de la especie *Paronatrema mantae* Manter (1940) previamente descrita en fase adulta.

- 9) De la re-descripción de las larvas de trematodo que infectaron a *N. difficilis* (variable número de testículos, acetábulo pedunculado y presencia de glándulas en la región de la faringe), permitió concluir que tiene la misma morfología de las especies del género *Copiatestes* descritas en otras especies de eufáusidos en distintas partes del mundo. A partir de una revisión bibliográfica de los trematodos que infectan krill a nivel mundial y la sinonimización de las especies de este género basado en la morfología de adultos, permitió concluir que la diversidad de especies de trematodos que infectan eufáusidos a nivel mundial es menor de lo que previamente se había reportado. Esto implica que las especies taxonómicamente válidas tienen una distribución biogeográfica más amplia de lo previamente conceptualizado.
- 10) Se concluye que las larvas de *Hemionchos major* y *Mobuloscestus nephritidis* reportados en krill completan su ciclo de vida (hospedero final) parasitando a *Mobula japonica* y *M. thurstoni* (y posiblemente otras especies de rayas) en el Golfo de California. La ocurrencia de estas dos especies de cestodos en diferentes estadios de desarrollo (procercoide y plerocercoide) sugiere que éstos se desarrollan ontogenéticamente en el hospedero implicando que *N. simplex* y *E. lamelligera* son frecuentes hospederos intermediarios.
- 11) Debido a que los cestodos dominaron en prevalencia (0.4-14%), densidad de krill parasitado (hasta 288 ind. 1000 m⁻³) y mas amplia distribución geográfica infectando a *N. simplex* en el Golfo de California y costa occidental de Baja California, se concluye que *N. simplex* es primer hospedero intermediario relevante en la transmisión de parásitos cestodos que completan su ciclo de vida principalmente en tiburones y rayas.
- 12) Los acantocefalos *Bolbosoma* sp. parasitaron en considerable baja prevalencia al eufáusido *N. simplex* en el Golfo de California. Éstas se observaron en diferentes estadios de desarrollo que implica que *N. simplex* es un hospedero intermediario. Se

infiere que este género de acantocéfalo parasita principalmente cetáceos Balenopteriidae y cachalote *Physeter macrocephalus* en el Golfo de California. Con base a descripción morfológica de los acantocéfalos, la riqueza de especies del género *Bolbosoma* que infectan a *N. simplex* y *B. musculus* es más elevada de lo que previamente se había reportado para el Golfo de California.

- 13) *Nyctiphanes simplex* y *Nematoscelis difficilis* son hospederos secundarios intermediarios no conspicuos en la transmisión de trematodos de la familia Syncoelidae y se infiere una alta probabilidad que éstos infecten peces como el pez remo *Regalecus glesne* (*Copiatestes*) y la manta gigante *Manta birostris* (*Paronatrema*).
- 14) Aunque la mayoría de las hembras de *N. simplex* parasitadas con helmintos fueron hembras inmaduras (gónada estadio 1) ocupando parcialmente el espacio disponible en el hemocele; la observación de hembras ovígeras parasitadas con *H. major*, *M. nephritidis* y *Bolbosoma* sp. permitió concluir que estas especies de helmintos no necesariamente castran a los hospederos, pero es probable que disminuyan la tasa de producción de huevos comparados con hembras no infectadas.
- 15) Las observaciones de la estructura interna de los órganos mediante cortes histológicos, así como bajos valores del índice hepatosomático, demostraron un daño patológico distinto para cada especie de cestodo. Se concluye que, *P. otobotrioides* tuvo mayor efecto patológico de la glándula digestiva debido a su particular comportamiento de hospedarse dentro del hepatopáncreas. Las especies *H. major* y *M. nephritidis* tuvieron un daño a órganos relativamente menor por hospedarse suspendidos en el hemocele (con daño mecánico a hepatopáncreas con el contacto del blastocisto con este órgano) contrasta con la elevada intensidad de infección de los cestodos Tetraphyllidea que ocuparon gran parte del hemocele con daño al hepatopáncreas, probablemente con efecto castrador.

13. Recomendaciones

Futuros estudios de parásitos en hospederos zooplanctónicos por estratos de profundidad y/o en muestreos de plancton con planes de muestreo homogéneamente distribuidos en el área de estudio, así como su respectivo contraste con las variables ambientales, permitirá describir la influencia del ambiente en el parasitismo.

Muestreos periódicos (serie de tiempo) de krill y sus parásitos en el Golfo de California como el que se está realizando en muestreos semanales de Cabo Pulmo 2014-2015, en la serie de tiempo de eufáusidos en Cabo Corrientes 1996-1998 o la serie IMECOCAL 1997-presente.

Iniciar estudios de respuesta inmune en eufáusidos asociados a cada especie de parásito, asimismo, a partir de cortes histológicos de eufáusidos parasitados analizar la composición bioquímica a partir de emisión de electrones medidos con un microscopio electrónico de barrido que muestre si los parásitos tienen o no una composición específica semejante al de su hospedero.

Estudios de genética poblacional en *Nyctiphanes simplex* de diferentes localidades, por ejemplo, la costa occidental de Baja California y el Golfo de California así como de la población de Perú, permitirá establecer el grado de divergencia o flujo genético (conectividad) entre las poblaciones de parásitos y hospederos que permita investigar procesos de co-especiación de parásito-hospederos. Esto podría explicar patrones de diversidad o capacidad de parasítica.

Se recomienda realizar mayor esfuerzo de investigación en especies de afinidad oceánica o tropical en donde la diversidad del parásito es poco conocida (*Euphausia eximia*, *Euphausia recurva*, *Euphausia diomedae*, *Euphausia tenera*, *Stylocheiron affine*, *S. carinatum* y *Nematoscelis gracilis*).

14. Bibliografía

- Acosta, L., T. León-Quintob, F. J. Bornay-Llinaresa, M. A. Simón & J. G. Esteban. 2011. Helminth parasites in faecal samples from the endangered Iberian lynx (*Lynx pardinus*). *Vet. Parasitol.* 179: 175-179.
- Al-Mohanna, S. Y. & Nott, J. A. 1989. Functional cytology of the hepatopancreas of *Penaeus semisulcatus* (Crustacea: Decapoda) during the moult cycle. *Mar. Biol.*, 101: 535-544.
- Ambriz-Arreola, I., Gómez-Gutiérrez, J., Franco-Gordo, M. D. C., Lavaniegos, B. E., & Godínez-Domínguez, E. 2012. Influence of coastal upwelling-downwelling variability on tropical euphausiid abundance and community structure in the inshore Mexican central Pacific. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 451: 119-136.
- Amin, O. M. 1987. Key to the families and subfamilies of Acanthocephala, with erection of a new class (Polyacanthocephala) and a new order (Polyacanthorhynchida). *J. Parasitol.* 73: 1216-1219.
- Anderson, R. C. 2000. Nematode Parasites of Vertebrates: their Development and Transmission, 2nd edn. *Wallingford: CAB International.* 672 pp.
- Azevedo, J. de S., L. G. da Silva, C. R. S. F. Bizerril, M. A. Dansa-Petretski & N. R. W. Lima. 2006. Infestation pattern and parasitic castration of the crustacean *Riggia paranensis* (Crustacea: Cymothoidea) on the fresh water fish *Cyphocharax gilbert* (Teleostei: Curimatidae). *Neotrop. Ichthyol.*, 4(3): 363-369.
- Bargu, S., L. C. Powell, S. L. Coale, M. Busman, G. J. Doucette & M. W. Silver. 2002. Krill: a potential vector for domoic acid in marine food webs *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 237: 209-216.
- Battistella, S., Bonivento, P., & Amirante G. A. 1996. Hemocytes and immunological reactions in crustaceans. *Italian J. Zool.*, 63(4): 337-343, DOI: 10.1080/11250009609356156.

- Blower, S. & Roughgarden, J. 1987. Population dynamics and parasitic castration: a mathematical model. *Amer. Natur.* 129: 730-754.
- Beaugrand, G., Brander K. M., J. A. Lindley, S. Souissi & P. C. Reid. 2003. Plankton effect on cod recruitment in the North Sea, *Nature*, 426(6967): 661-664.
- Baumgartner, M. F., T. V. N. Cole, R. G. Campbell, G. J. Teegarden & E. G. Durbin. 2003. Associations between North Atlantic right whales and their prey, *Calanus finmarchicus*, over diel and tidal time scales. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 264: 155-166.
- Beers, J. R. 1976. Determination of zooplankton biomass. En: Steedman, H. F. (Ed). *Zooplankton Fixation and Preservation*. Monographs on Oceanographic Methodology. The UNESCO press, 2:35-84.
- Bhadury, P., M. C. Austen, D. T. Bilton, P. J. D. Lamshead, A. D. Rogers & G. R. Smerdon. 2006. Development and evaluation of a DNA-barcoding approach for the rapid identification of nematodes. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 320: 1-9.
- Bollache, L., Rigaud, T. & Cézilly, F. (2002). Effects of two acanthocephalan parasites on the fecundity and pairing status of female *Gammarus pulex* (Crustacea: Amphipoda). *J. Invert. Pathol.*, 79(2): 102-110.
- Boström, S. 1989. The taxonomic position of some teratocephalid nematodes: a scanning electron microscope study. *Rev. Nematol.*, 12: 181-190.
- Boström, S. & R. Gydemo. 1983. Intraspecific variability in *Acrobelloides nanus* (de Man) Anderson (Nematoda, Cephalobidae) and a note on external morphology. *Zool. Scr.*, 12: 245-255.
- Brinton, E. & A. W. Townsend. 1980. Euphausiids in the Gulf of California – the 1957 cruises. *Calif. Coop. Oceanic Fish. Invest. Rep.*, 21: 211-236.

- Bryan, D. R., Jacobson, K. C. & Buchanan, J. C. 2012. Recent increase in *Nybelinia surmenicola* prevalence and intensity in Pacific Hake (*Merluccius productus*) off the United States West Coast. *J. Parasitol.*, 98(1): 85-92.
- Bush A. O., K. D. Lafferty, J. M. Lotz & A. W. Shostak. 1997. Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis *et al.*, revisited. *J. Parasitol.*, 83(4): 575-583.
- Caira N. J., T. Scholz & B. B. Georgiev. 2006. Cestode systematics and phylogeny move forward. *Syst. Parasitol.* 65: 171-174.
- Camarillo-Coop, S., Salinas-Zavala, C. A., Lavaniegos, B. E., & Markaida, U. 2013. Food in early life stages of *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae) from the Gulf of California, Mexico. *J. Mar. Biol. Ass. UK*, 93(07): 1903-1910.
- Campbell, R. A. & I. Beveridge. 1994. Order trypanorhyncha Diesing, 1863. *En: Khalil, L. F., Jones A. & Bray R. A. (Eds). Keys to the cestode parasites of vertebrates. Wallingford: CAB International, pp. 50-148.*
- Campbell, R. A. & Beveridge, I. 2006. Three new genera and seven new species of trypanorhynch cestodes (family Eutetrarhynchidae) from manta rays, *Mobula* spp. (Mobulidae) from the Gulf of California, Mexico. *Folia Parasitol.*, 53(4): 255-275.
- Campbell, G., J. Teegarden & E. G. Durbin. 2003. Associations between North Atlantic right whales and their prey, *Calanus finmarchicus*, over diel and tidal time scales, *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 264: 155-166.
- Campos, A., M. P. Cummings, J. L. Reyes & J. P. Lacleite. 1998. Phylogenetic relationships of platyhelminthes based on 18S ribosomal gene sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 10(1): 1-10.
- Céspedes, R. E., Iannacone, J. & Salas, A. 2011. Helminths parasites of *Dosidicus gigas* "Pota" eviscerada en Arequipa, Perú. *Ecol. Aplicada.* 10(1): 1-11.

- Chandra, K. J. 1986. *Nybelinia indica* n. sp. (Cestoda: Trypanorhyncha) from teleost fishes off Waltair coast, Bay of Bengal. *Riv. Parassitol.* 47: 199-202.
- Chervy, L. 2002. The terminology of larval cestodes or metacestodes. *Syst. Parasitol.* 52: 1-133.
- Coats, D. W., T. Bachvaroff, S. M. Handy, S. Kim, I. Gárate-Lizárraga & C. F. Delwiche. 2008. Prevalence and phylogeny of parasitic dinoflagellates (genus *Blastodinium*) infecting copepods in the Gulf of California. *Oceánides*, 23(1-2): 67-78.
- Conn, B. D. & Z. widerski. 2008. A standardized terminology of the embryonic envelopes and associated developmental stages of tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda). *Folia Parasitol.*, 55: 42-52.
- Cuartas, E. I., Díaz, A. C., & Petriella, A. M. 2003. Modificaciones del hepatopáncreas del langostino *Pleoticus muelleri* (Crustacea, Penaeoidea) por efecto de la salinidad. *Biociencias*, 11(1): 53-59.
- Cuartas, E. I., Díaz, A. C. & Petriella, A. M. 2002. Estudio morfológico e histológico del hepatopancreas del langostino *Pleoticus muelleri* (Bate) (Crustacea, Penaeoidea). 15: 5-13.
- Díaz, A. C., Sousa, L. G. & Petriella, A. M. 2010. Functional cytology of the hepatopancreas of *Palaemonetes argentinus* (Crustacea, Decapoda, Caridea) under osmotic stress. *Brazilian Arch. Biol. Tech.* 53(3): 599-608.
- Dobson, A., K. D. Lafferty, A. M. Kuris, R. F. Hechinger & W. Jetz. 2008. Homage to Linnaeus: How many parasites? How many hosts? *PNAS*, 105: 11482-11489.
- Dogiel, V. 1906. Beitrge zur kenntnis der Peridineen. *Mitt. Zool. Stn. Neapel*, 18: 1- 45.
- Doyle, J. J. & J. L. Doyle. 1987. A rapid DNA isolation procedure for small quantities of fresh leaf tissue. *Phytochemical Bull.* 19: 11-15.

- El-Sayed, S. Z. (Ed.). 1994. *Southern Ocean ecology: the BIOMASS perspective*. Cambridge University Press.
- Endo, Y. & Kadoya, N. 1991. Colorimetry of the hepatopancreas in Antarctic krill, *Euphausia superba*. *Polar Biol.* 11: 135-137.
- Fang, W., S. Xu, S. Zhang, Y. Wang, X. Chen & D. Luo. 2010. Multiple primer PCR for the identification of anisakid nematodes from Taiwan Strait. *Exp. Parasitol.* 124(2): 197-201.
- Fernández-Gimenez, A. V., Díaz, A. C., Velurtas, S. M., Petriella, A. M., & Fenucci, J. L. (2008). Effects of different dietary vitamin A levels in the red shrimp *Pleoticus muelleri* (Bate, 1888) (Decapoda, Solenoceridae). *Revista de Biología Marina y Oceanografía.* 43(3): 483-490.
- Ferreira, F. M., K. T. Jensen, P. A. Martins, S. F. Sousa, J. C. Marques & M. A. Pardal. 2005. Impact of microphallid trematodes on the survivorship, growth, and reproduction of an isopod (*Cyathura carinata*). *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 318: 191-199.
- Flores-Cascante, L. 2012. *Caracterización de la carga parasitaria intestinal en ballenas azules del Golfo de California*. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, IPN, 75 p.
- Flores-Cascante, L. & D. Gendron. 2012. *Application of McMaster's technique in live blue whales*. *Vet. Record.* 71(9): 220-220.
- Fontaine, C. T. & D. V. Lightner. 1975. Cellular response to injury in penaeid shrimp. *Mar. Fish. Rev.*, 37(5-6): 4-10.
- Gendron, D. 1992. Population structure of daytime surface swarms of *Nyctiphanes simplex* (Crustacea: Euphausiacea) in the Gulf of California, Mexico. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 87: 1-6.

- Gibson, D. I., A. Jones & R. A. Bray (Eds.) 2002. Keys to the trematoda. Volume I. *CABI Publishing, Wallingford, UK & The Natural History Museum, London, UK*,. 521 pp.
- Gómez del Prado-Rosas, M. C. 1999. New records, hosts, and SEM observations of *Cercaria owreae* (Hutton, 1954) from the Mexican Caribbean Sea. *J. Helminthol. Soc. Wash.*, 66: 194-197.
- Gómez del Prado-Rosas, M. C. 2002. An accacoelid metacercaria parasitizing *Flaccisagitta enflata* (Grassi, 1881) from the Mexican Caribbean Sea. *J. Helminthol. Soc. Wash.*, 69: 108-111.
- Gómez del Prado-Rosas, M. C. 2005. Hemiurid metacercariae (Trematoda) in Chaetognaths from the Mexican Caribbean Sea. *Comp. Parasitol.*, 72: 230-233.
- Gómez del Prado-Rosas, M. C., J. N. Álvarez-Cadena, L. Segura-Puertas & R. Lamothe-Argumedo. 1999. First record of *Torticaecum* sp. (Trematoda: Didymozidae) in the chaetognath *Serratosagitta serratodentata* (Krohn, 1853) from Caribbean waters. *J. Plank. Res.*, 21: 1005-1008.
- Gómez del Prado-Rosas, M. C., J. N. Álvarez-Cadena, L. Segura-Puertas & R. Lamothe-Argumedo. 2007. Didymozoid *Monilicaecum* type trematodes in chaetognaths from the Mexican Caribbean Sea. *Rev. Mex. Biodiver.* 78: 483-487.
- Gómez del Prado-Rosas, M. C., I. Valles-Vega, H. Lozano-Cobo & S. Hernández-Trujillo. 2011. Metacercarias de hemiúridos en copépodos de la Ensenada de La Paz, Baja California Sur, México. *Neotrop. Helminthol.*, 5(2): 125-137.
- Gómez-Gutiérrez, J. & I. Castellanos-Osorio. 2010. *Heterophryxus appendiculatus* G.O. Sars, 1885 (Isopoda: Dajidae) extension range in the northeast Pacific and Caribbean Sea (Mexico) that indicates inter-ocean zoogeographic distribution. *Crustaceana*, 83(10): 221-230.

- Gómez-Gutiérrez, J. & D. J. Shields. 1998. Range extension for *Oculophryxus bicaulis* Shields & Gómez (Isopoda, Dajidae) in the South China Sea. *Crustaceana*, 71(2): 167-170.
- Gómez-Gutiérrez, J., R. De Silva-Davila & B. Lavaniegos-Espejo. 1996. Growth production of the euphausiid *Nyctiphanes simplex* on the coastal shelf off Bahia Magdalena, Baja California Sur, Mexico. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 138: 309-314.
- Gómez-Gutiérrez, J., Rodríguez-Jaramillo, C., Del Ángel-Rodríguez, J., Robinson, C.J., Zavala-Hernández, C., Tremblay, N. & Martínez-Gómez, S. 2010. Biology of the subtropical sac-spawning euphausiid *Nyctiphanes simplex* in the northwestern seas of Mexico: Interbrood period, gonad development and lipid content. *Deep-Sea Res II: Topical studies in Oceanography*. 57(7-8): 616-630.
- Gómez-Gutiérrez J., Morales-Ávila, J.R. (En prensa) Chapter 10, Parasites and diseases. In: The biology of Antarctic krill: *Euphausia superba* Dana 1851, Siegel, V. (ed.), Advances in Polar Ecology, Springer Publisher, U.K.
- Gómez-Gutiérrez, J., S. Kawaguchi & Nicol, S. 2009. Epibiotic suctorians and enigmatic ecto and endoparasitoid dinoflagellates of euphausiid eggs (Euphausiacea) off Oregon, USA. *J. Plankton Res.* 31(7): 777-786.
- Gómez-Gutiérrez, J., S. Kawaguchi & Morales-Ávila, J. R. (libro bajo contrato) Global diversity and ecological function of parasites of euphausiids. Springer.
- Gómez-Gutiérrez, J., Martínez-Gómez, S. & C. J. Robinson (2012) Seasonal growth, molt, and egg production of *Nyctiphanes simplex* (Crustacea: Euphausiacea) in the Gulf of California. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 455: 173-194.
- Gómez-Gutiérrez, J., López-Cortez, A., Aguilar-Méndez, M. J., Del Angel-Rodríguez, J., Tremblay, N., Zenteno-Savín, T. & Robinson, C. J. (2015a). Histophagous ciliate *Pseudocollinia brintoni* and bacterial assemblage interaction with krill *Nyctiphanes*

- simplex*: I. Transmission process. *Dis. Aquat. Organ.* 16(2): 2013-226.
- Gómez-Gutiérrez, J., R. Palomares-García & D. Gendron. 1995. Community structure of the euphausiids populations along the west coast of Baja California, México during the weak ENSO 1986-87. *Mar. Ecol. Progr. Ser.*, 120: 41-51.
- Gómez-Gutiérrez, J., W. T. Peterson & J. F. Morado. 2006. Discovery of a ciliate parasitoid of euphausiids off Oregon, USA: *Collinia oregonensis* n. sp. (Apostomatida: Colliniidae). *Dis. Aquat. Org.*, 71: 33-49.
- Gómez-Gutiérrez, J., W. T. Peterson, A. de Robertis & R. D. Brodeur. 2003. Mass mortality of krill caused by parasitoid ciliates. *Science*, 301:339.
- Gómez-Gutiérrez, J., C. J. Robinson, S. Kawaguchi & S. Nicol. 2010. Parasite diversity of *Nyctiphanes simplex* and *Nematoscelis difficilis* (Crustacea:Euphausiacea) along the Northwestern coast of Mexico. *Dis. Aquat. Org.*, 88: 249-266.
- Gómez-Gutiérrez, J., M. Strüder-Kypke, D. Lynn, M. J. Aguilar-Méndez, A. López-Cortés, S. Martínez-Gómez & C. J. Robinson. 2012. *Pseudocollinia brintoni* gen. nov. sp. nov. (Apostomatida: Colliniidae), a parasitoid ciliate infecting the euphausiid *Nyctiphanes simplex*. *Dis. Aquat. Org.* 99 :57-78.
- González-Solís, D., Castellanos-Osorio, I., & Beveridge, I. 2013. Larval trypanorhynch (Cestoda) infecting *Euphausia americana* (Euphausiacea) collected in the Mexican Caribbean Sea. *Rev. Mex. Biodiv.*, 84(2): 664-667.
- Gregori, M., F. J. Aznar, E. Abollo, Á. Roura, Á. F. González & S. Pascual. 2012. *Nyctiphanes couchii* as intermediate host for the acanthocephalan *Bolbosoma balaenae* in temperate waters of the NE Atlantic. *Dis. Aquat. Org.*, 99: 37-47.

- Gregori, M., Aznar, F. J., Abollo, E., Roura, A., González, A. F., & Pascual, S. 2013. *Nyctiphanes couchii* as intermediate host for *Rhadinorhynchus* sp. (Acanthocephala, Echinorhynchidae) from NW Iberian Peninsula waters. *Dis. Aquat. Org.* 105(1): 9-20.
- Gregori, M., Roura, Á., Abollo, E., González, Á. F. & Pascual, S. 2015. *Anisakis simplex* complex (Nematoda: Anisakidae) in zooplankton communities from temperate NE Atlantic waters. *J. Nat. Hist.* 49(13-14): 755-773.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucl. Acids. Symp. Ser.* 41: 95-98.
- Harvey, H. R., Secor, D. H. & Ju, S. J. 2008. The use of extractable lipofuscin for age determination of crustaceans: reply to Sheehy (2008). *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 353: 307-311.
- Harvey, H. R., Ju, S. J., Son, S. K., Feinberg, L. R., Shaw, C. T. & Peterson, W. T. 2010. The biochemical estimation of age in Euphausiids: Laboratory calibration and field comparisons. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 57(7): 663-671.
- Hoberg, E. P., Daoust, P. Y. & McBurney, S. C. O. T. T. 1993. *Bolbosoma capitatum* and *Bolbosoma* sp. (Acanthocephala) from sperm whales (*Physeter macrocephalus*) stranded on Prince Edward Island, Canada. *J. Helminthol. Soc. Wash.*, 60(2): 205-210.
- Humanson, G. L. 1979. Animal tissue techniques. WH. Freeman, San Francisco, 962 pp.
- Jiménez Pinedo, N. C. 2010. Hábitos alimentarios y relación interespecífica entre la ballena azul (*Balaenoptera musculus*) y la ballena de aleta (*B. physalus*) en el suroeste del Golfo de California. Tesis de maestría, Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas).

- Jacob-Cervantes, M., Gallardo-Cabello, M., Chiappa-Carrara, X. & Ruiz, A. L. 1992. Régimen alimentario de la sardina crinuda *Opisthonema libertate* (Pisces: Clupeidae) en el Golfo de California. *Rev. Biol. Trop.*, 40: 233-233.
- Jones, K., M. Beveridge I., A. R. Campbell & H. Palm. 2004. Terminology of the sucker-like organs of the scolex of trypanorhynch cestodes. *Syst. Parasitol.* 59: 121-126.
- Kabata, Z. 1981. Copepoda crustacea parasitic on fishes: problems and perspectives. *Adv. Parasitol.* 19: 1-71.
- Kakoolaki, S., Sharifpour, I., Soltani, M., Ebrahimzadeh Mousavi, H. A., Mirzargar, S. & Rostami, M. 2010. Selected morpho-chemical features of hemocytes in farmed shrimp, *Fenneropenaeus indicus* in Iran. *Iranian J. Fish. Sci.*, 9(2). 219-232.
- Karnovsky, N., S. Kwa niewski, J. M. W sławski, W. Walkusz & A. Beszczy ska-Möller. 2003. The foraging behaviour of little auks in a heterogenous environment. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 253: 289-303.
- Kato, Y., Wakabayashi, T. & Sakai, M. 2014. Review of trophic interactions of the jumbo flying squid, *Dosidicus gigas*, in the southeast Pacific Ocean. *Bull. Fish. Res. Agen.* 38: 119-120.
- Keesing, F., L. K. Belden, P. Daszak, A. Dobson, C. D. Harvell, R. D. Holt, P. Hudson, A. Jolles, K. E. Jones, C. E. Mitchell, S. S. Myers, T. Bogish & R. S. Ostfeld. 2010. Impacts of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. *Nature*, 468: 647-625.
- Knight, W. B., R. A. Hiatt, B. L. Cline & L. S. Ritchie. 1976. A modification of the formol ether concentration technique for increased sensitivity in detecting *Schistosoma mansoni*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, 55: 818-823.

- Komaki, Y. 1970. On the parasitic organisms in a krill, *Euphausia similis*, from Suruga Bay. *J. Ocean. Soc. Japan.* 26(5): 283-295.
- Kramer, D., M. Kalin, E. Stevens, J. Thrailkill & J. Zweifel. 1972. Collecting and processing data on fish eggs and larvae in the California Current region. *NOAA Tech. Rep. NMFS circ.*-370 pp.
- Kuris, A. M. 1974. Trophic interactions: similarity of parasitic castrators to parasitoids. *Quaternary Rev. Biol.* 49: 129-148.
- Kuris, A. M., A. R. Blaustein & J. J. Alió. 1980. Hosts as islands. *Am. Nat.* 116: 570-586.
- Ladrón-de-Guevara, P., Heckel, G. & Lavaniegos, B. E. 2015. Spatial and temporal occurrence of fin whales (*Balaenoptera physalus*) and euphausiids (*Nyctiphanes simplex*) in the Ballenas Channel, Gulf of California, Mexico. *Cienc. Mar.*, 41: 125-142.
- Lafferty K. D. & A. M. Kuris. 2002. Trophic strategies, animal diversity and body size. *Trends Ecol. & Evol.*, 17: 507-513.
- Lafferty, K. D. & Kuris, A. M. (2009). Parasitic castration: the evolution and ecology of body snatchers. *Trends Parasit.*, 25(12): 564-572.
- Lamothe-Argumedo, R. 1994. Importancia de la helmintología en el desarrollo de la acuicultura. *Anales Inst. Biol. Univ. Nac. Autón. México, Ser. Zool.* 65(1): 195-200.
- Landers, S. C., J. Gómez-Gutiérrez & W. T. Peterson. 2006. *Gymnodinioides pacifica*, n. sp., an exuviotrophic ciliated protozoan (Ciliophora, Apostomatida) from euphausiids of the Northeastern Pacific. *Europ. J. Protistol.* 42: 97-106.
- Landers, S. C., J. Gómez-Gutiérrez & W. T. Peterson. 2007. The fine structure of the phoront of *Gymnodinioides pacifica*, a ciliated protozoan (Ciliophora, Apostomatida) from euphausiids of the Northeastern Pacific. *Europ. J. Protistol.* 43(3): 239-249.

- Li, C., Shields, J. D., Ratzlaff, R. E., & Butler, M. J. (2008). Pathology and hematology of the Caribbean spiny lobster experimentally infected with *Panulirus argus* virus 1 (PaV1). *Virus Res.* 132(1): 104-113.
- Littlewood, D. T. J. & P. D., Olson. 2001. Small subunit rDNA and the Platyhelminthes: signal, noise, conflict and compromise. En: Littlewood, D.T.J., Bray, R.A. (Eds.), *Interrelationships of the Platyhelminthes*. Taylor & Francis, London, pp. 262-278.
- Loreille, O., E. Roumat, O. Verneau, F. Bouchet & C. Hänni. 2001. Ancient DNA from *Ascaris*: extraction amplication and sequences from eggs collected in coprolites. *Int. J. Parasitol.* 31: 1101-1106.
- Lozano-Cobo, H. 2011. *Fauna helmíntica en quetognatos del norte de Quintana Roo, México. (2004-2004)*. Tesis de Maestría. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas, IPN, 176 p.
- Luque, L. J. & R. Poulin, 2004. Use of fish as intermediate hosts by helminth parasites: A comparative análisis. *Acta Parasitol.* 49(4): 353-361.
- Madden, T. The BLAST Sequence Analysis Tool. 2002 .Oct 9 [Updated 2003 Aug 13]. In: McEntyre J, Ostell J, editors. The NCBI Handbook [Internet]. Bethesda (MD): National Center for Biotechnology Information (US); 2002. Chapter 16. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK21097/>.
- Markaida, U., Gilly, W. F., Salinas-Zavala, C. A., Rosas-Luis, R. & Booth, J. A. T. 2008. Food and feeding of jumbo squid *Dosidicus gigas* in the central Gulf of California during 2005-2007. *Cal. Coop. Oceanic Fish. Invest. Rep.*, 49: 90-103.
- Marcogliese, D. J. 1995. The role of zooplankton in the transmission of helminth parasites to fish. *Rev. Fish Biol. Fish.*, 5: 336-371.

- Marcogliese, D. J. 2001. Pursuing parasites up the food chain: Implications of food web structure and function on parasite communities in aquatic systems. *Acta Parasitol.* 46: 82–93.
- Marcogliese, D. J. 2002. Food webs and the transmission of parasites to marine fish. *Parasitol.* 124: 83-99.
- Marcogliese, D. J. 2004. Parasites: small players with crucial roles in the ecological theater. *EcoHealth*, 1: 151-164.
- Margolis, L., G. W. Esch, J. C. Holmes, A. M. Kuris & G. A. Schad. 1982. The use of ecological terms in parasitological terms. En (report of an *ad hoc* committee of the American Society of parasitologists) *J. Parasitol.* 68(1): 131-133.
- Mauchline, J. & L. R. Fisher. 1969. The biology of euphausiids. *Adv. Mar. Biol.* 7: 1-454.
- Measures, L. N. (1992). *Bolbosoma turbinella* (Acanthocephala) in a blue whale, *Balaenoptera musculus*, stranded in the St. Lawrence Estuary, Quebec. *Journal of the Helminthological Society of Washington*, 59(2): 206-211.
- McCune, B., J. B. Grace & D. L. Urban. 2002. Analysis of ecological communities. MjM Software Design. Gleneden Beach, Oregon, USA, pp. 300.
- Montero-Pau, J., Gómez, A., & Muñoz, J. (2008). Application of an inexpensive and high-throughput genomic DNA extraction method for the molecular ecology of zooplanktonic diapausing eggs. *Limnol. Oceanogr.: Methods*, 6(6): 218-222.
- Morales-Ávila, J. R., Gómez-Gutiérrez, J., Gómez del Prado-Rosas M.C. & Robinson, C. J. 2015. Larval trematodes *Paronatrema mantae* and *Copiatestes* sp. parasitize Gulf of California krill (*Nyctiphanes simplex*, *Nematoscelis difficilis*). *Dis. Aquat. Org.* 116: 23-35.

- Morrone, J. J. & Lopretto, E. C. 1995. Parsimony analysis of endemism of freshwater Decapoda (Crustacea: Malacostraca) from Southern South America. *Neotropica*, 41: 3-8.
- Near J. T., J. R. Garey & S. A. Nadler. 1998. Phylogenetic relationships of the acanthocephala inferred from 18S ribosomal DNA sequences. *Mol. Phylogenet. Evol.* 10(3): 287-298.
- Nicol, S. 1990. The age-old problem of krill longevity. *BioScience* 40: 833-836.
- Nicol, S., Virtue, P., King, R., Davenport, S. R., McGaffin, A. F., & Nichols, P. 2004. Condition of *Euphausia crystallorophias* off East Antarctica in winter in comparison to other seasons. *Deep Sea Res. Part II: Topical Studies in Oceanography*. 51(17): 2215-2224.
- Nigmatullin, C. M., Nesis, K. N. & Arkhipkin, A. I. 2001. A review of the biology of the jumbo squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae). *Fish. Res.*, 54(1): 9-19.
- Notarbartolo-di-Sciara, G. 1988. Natural history of the rays of the genus *Mobula* in the Gulf of California. *Fish. Bull.* 86: 45-66.
- O'Brien, C., Virtue, P., Kawaguchi, S. & Nichols, P. D. 2011. Aspects of krill growth and condition during late winter-early spring off East Antarctica (110–130 E). *Deep Sea Res. Part II: Topical Studies in Oceanography*, 58(9): 1211-1221.
- Olson P. D., M. Zarowiecki, F. Kiss & K. Brehm. 2012. Cestode genomics—progress and prospects for advancing basic and applied aspects of flatworm biology. *Parasite Immunol.*, 34: 130-150.
- Osorio-Tafall, B. F. 1946. Contribución al conocimiento del Mar de Cortes. *Bol. de la Soc. Mex. Geogr. Estadist.* 62(1): 89-130.
- Overstreet, R. M., & Hochberg, F. G. 1975. Digenetic trematodes in cephalopods. *J. Mar. Biol. Ass. U.K.*, 55(04): 893-910.

- Palm, H. W., Walter, T., Schwerdtfeger, G. & Reimer, L. W. 1997. *Nybelinia* Poche, 1926 (Cestoda: Trypanorhyncha) from the Moçambique Coast, with description of *N. beveridgei* sp. nov. and systematic consideration of the genus. *South Afr. J. Mar. Sci.*, 18(1): 273-285.
- Palm, W. H. 2000. Trypanorhynch cestodes from Indonesian coastal waters (East Indian Ocean). *Folia Parasitol.* 47: 123-134.
- Palm, W. H., A. Waeschenbach, P. D. Olson, D. Timothy & J. Littlewood. 2009. Molecular phylogeny and evolution of the Trypanorhyncha Diesing, 1863 (Platyhelminthes: Cestoda). *Mol. Phylogenet. Evol.* 52: 351-367.
- Palm, W. H., A. Waeschenbach, P. D. Olson, D. Timothy & J. Littlewood. 2009. Molecular phylogeny and evolution of the Trypanorhyncha Diesing, 1863 (Platyhelminthes: Cestoda). *Mol. Phylogenet. Evol.* 52: 351-367.
- Palm, W. H. 1997. An alternative classification of trypanorhynch cestodes considering the tentacular armature as being of limited importance. *Syst. Parasitol.* 37: 81-92.
- Pardo-Gandarillas, M. C., Lohrmann, K. B., Valdivia, A. L. & Ibáñez, C. M. 2009. First record of parasites of *Dosidicus gigas* (d'Orbigny, 1835) (Cephalopoda: Ommastrephidae) from the Humboldt Current system off Chile. *Rev. Biol. Mar. Oceanogr.* 44(2): 397-408.
- Perazzolo, L. M., Gargioni, R., Ogliari, P. & Barracco, M. A. 2002. Evaluation of some hemato-immunological parameters in the shrimp *Farfantepenaeus paulensis* submitted to environmental and physiological stress. *Aquaculture*, 214(1): 19-33.
- Plaistow, S. J., Troussard, J. P. & Cézilly, F. 2001. The effect of the acanthocephalan parasite *Pomphorhynchus laevis* on the lipid and glycogen content of its intermediate host *Gammarus pulex*. *Inter. J. Parasitol.* 31(4): 346-351.

- Ramírez, F. C. & Dato, C. 1989. Observations on parasitism by *Thalassomyces fagei* on three euphausiid species in Southern Atlantic waters. *Oceanol. Acta.* 12(1): 95-97.
- Rocha-Gosselin, A. 2009. *Caracterización de la carga microbiana y parasitaria de tres especies de misticetos en las costas de la península de Baja California, México.* Tesis de Maestría, Centro Interdisciplinarios de Ciencias Marinas (IPN), La Paz, B.C.S., México, pp. 113.
- Rohde, K. (Ed.). (2005). *Marine parasitology.* Csiro Publishing.
- Rosas-Luis, R., C. A. Salinas-Zavala, V. Koch, P. Del Monte Luna, M. V. Morales-Zárate. 2008. Importance of jumbo squid *Dosidicus gigas* (Orbigny, 1835) in the pelagic ecosystem of the central Gulf of California. *Ecol. Model.* 218: 149-161.
- Saha, S. (2011). Innate immune source and functional machinery in decapods of Crustacea. *Indian J. Fund. Applied Life Sci.*, 1(3): 310-324.
- Sars, G. O. 1885. Report on the Schizopoda collected by H.M.S. Challenger during the years 1873-76. In: Thomson CW, Murray J (eds). *Report on the scientific results of the voyage of H.M.S. Challenger, during the years 1873–76.* *Zool.* 37(13): 1-228.
- Schinkel, J. S. M., 2004. Hábitos alimentarios del rorcual común *Balaenoptera physalus* en el Golfo de California mediante el uso de isotopos estables de nitrógeno y carbono. Tesis doctoral, Instituto Politécnico Nacional. Centro Interdisciplinario de Ciencias Marinas.
- Sheehan D. C. & B. B. Hrapchak. 1973. *Theory and Practice of Histotechnology.* Saint Louis: Mosby Company.
- Sheehy, M. R. J. 1990. Widespread occurrence of fluorescent morphological lipofuscin in the crustacean brain. *J. Crust. Biol.* 10(4): 613-622.

- Shields, D. J. & J. Gómez-Gutiérrez. 1996. *Oculophryxus bicaulis* a new genus and species of Dajid isopod parasitic on the euphausiid *Stylocheiron affine* Hansen. *Int. J. Parasitol.* 26(3): 261-268.
- Shimazu, T. 1975. Some cestodes and acanthocephalan larvae from euphausiid crustaceans collected in the northern North Pacific Ocean. *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 41: 913-921.
- Shimazu, T. 1975. A description of the adult of *Nybelinia surmenicola* with discussions on its life-history (Cestoda: Trypanorhyncha: Tentaculariidae). *Bull. Jap. Soc. Sci. Fish.* 41: 823-830.
- Shimazu, T. 1982. Some helminth parasites of marine planktonic invertebrates. J. Nagano-ken Junior Collection, 37 (1982): 11-29.
- Shimazu, T. 1999. Plerocercoids with blastocysts of the trypanorhynch cestode *Nybelinia surmenicola* found in the euphausiid crustacean *Euphausia pacifica*. *Otsuchi Mar. Sci.*, 24: 1-4.
- Shimazu, T. 2006. Trematodes and cestodes parasitic in euphausiids. *Bull. Plankt. Soc. Japan.* 53(1): 45-53.
- Shimomura, M. & S. Ohtsuka. 2008. New record of a euphausiid ectoparasitic isopod, *Heterophryxus appendiculatus* G. O. Sars, 1885 (Crustacea: Dajidae) from Japan. *Proc. Biol. Soc. Wash.* 121(3): 326–330.
- Shin H. H., H. Y. Chen & C. Y. Lee. 2010. Acanthocephalan fauna of marine fish in Taiwan and the differentiation of three species by ribosomal DNA sequences. *Taiwania*, 55(2): 123-127.
- Shukhgalter, O. A., & Nigmatullin, C. M. 2001. Parasitic helminths of jumbo squid *Dosidicus gigas* (Cephalopoda: Ommastrephidae) in open waters of the central east Pacific. *Fish. Res.* 54(1): 95-110.

- Siegel, V., & Nicol, S. 2000. Population parameters. *Krill biology, ecology and fisheries*, 103-149.
- Small, E. 2011. The new Noah's Ark: beautiful and useful species only. Part 1. Biodiversity conservation issues and priorities. *Biodiversity*, 12(4): 232-247.
- Smith, P. E. & S. Richardson. 1979. Técnicas modelo para la prospección de huevos y larvas de peces pelágicos. *FAO Doc. Tec. Pesca*, 175:1-107.
- Smyth, J. D. & McManus, D. P. 2007. *The physiology and biochemistry of cestodes*. Cambridge University Press.
- Sobecka E., B. Szostakowska, K. MacKenzie, W. Hemmingsen, S. Prajsnar & M. Eydal. 2012. Genetic and morphological variation in *Echinorhynchus gadi* Zoega in Müller, 1776 (Acanthocephala: Echinorhynchidae) from Atlantic cod *Gadus morhua* L. *J. Helminthol.* 86(1): 16-25.
- Sousa, L.G. & Petriella, A.M. 2000. Histology of the hepatopancreas of the freshwater prawn *Palaemonetes argentinus* (Crustacea, Caridea). *Biocell.* 24(3): 189-195.
- Suzuki, N., Murakami, K., Takeyama, H. & Chow, S. 2006. Molecular attempt to identify prey organisms of lobster phyllosoma larvae. *Fish. Sci.* 72(2): 342-349.
- Suzuki, N., Hoshino, K., Murakami, K., Takeyama, H. & Chow, S. 2008. Molecular diet analysis of phyllosoma larvae of the Japanese spiny lobster *Panulirus japonicus* (Decapoda: Crustacea). *Mar. Biotech.* 10(1): 49-55.
- Sparks, A. K. & C. T. Fontaine. 1973. Host response in the white shrimp, *Penaeus setiferus*, to infection by the larval trypanorhynchid cestode, *Prochristianella penaei*. *J. Invert. Pathol.* 22: 213-219.
- Studer, A., D. W. Thieltges & R. Poulin. 2010. Parasites and global warming: net effects of temperature on an intertidal host–parasite system. *Mar. Ecol. Progr. Ser.* 415:11-22.

- Takahashi, K.T., Kawaguchi, S. & Toda, T. 2009. Observation by electron microscopy of a gregarine parasite of Antarctic krill: its histological aspects and ecological explanations. *Polar Biol.* 32(4): 637-644.
- Tamura, K., Stecher, G., Peterson, D., Filipski, A. & Kumar, S. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Mol. Biol. Evol.* 30: 2725-2729.
- Tershy, B. R., Acevedo, G. A., Breese, D. & Strong, C. S. 1993. Diet and feeding behavior of fin and Bryde's whales in the central Gulf of California, Mexico. *Rev. Inv. Cient.* 1: 31-38.
- Théodoridès, J. 1989. Parasitology of marine zooplankton. *Adv. Mar. Biol.*, 25: 117-177.
- Thompson, R. M., K. N. Mouritsen & R. Poulin. 2005. Importance of parasites and their life cycle characteristics in determining the structure of a large marine food web. *J. Animal Ecol.*, 74: 77-85.
- Tyler, G. A. 2001. Diphyllidean cestodes of the Gulf of California, México with descriptions of two new species of *Echinobothrium* (Cestoda: Diphyllidea). *J. Parasitol.* 87: 173-184.
- Tyler, G. A. & J. N. Caira. 1999. Two new species of *Echinobothrium* (Cestoidea: Diphyllidea) from myliobatiform elasmobranchs in the Gulf of California, México. *J. Parasitol.* 85: 327-335.
- Ulloa, P., Fuentealba, M. & Ruiz, V. 2006. Hábitos alimentarios de *Dosidicus gigas* (D'Orbigny, 1835) (Cephalopoda: Teuthoidea) frente a la costa centro-sur de Chile. *Rev. Chilena Hist. Nat.* 79(4): 475-479.
- Vickery, W. L. & R. Poulin. 2002. Can helminth community patterns be amplified when transferred by predation from intermediate to definitive hosts? *J. Parasitol.* 88: 650-656.
- Virtue, P., Kawaguchi, S., McIvor, J., Nicol, S., Wotherspoon, S., Brown, M., Casper R., Davenport S., L. Finley, Foster J., Yoshida T. & Yoshiki, T. 2010. Krill growth and

- condition in Western Indian Ocean sector of the Southern Ocean 30-80° E in austral summer 2006. *Deep Sea Res. Part II: Topical Studies in Oceanography*. 57(9): 948-955.
- Walkusz, W. & L. Rolbiecki. 2007. Epibionts (*Paracinet*) and parasites (*Ellobiopsis*) on copepods from Spitsbergen (Kongsfjorden area). *Oceanol.* 49(3): 369-380.
- Williams, B. D., Schrank, B., Huynh, C., Shownkeen, R. & Waterston, R. H. 1992. A genetic mapping system in *Caenorhabditis elegans* based on polymorphic sequence-tagged sites. *Genetics* 131(3): 609-24.
- Yuryev, A. 2004. *Methods in molecular biology*, vol. 402: PCR primer design. Humana Press. Totowa, NJ
- Zander, C. D., S. Groenewold & U. Strohbach. 1994. Parasite transfer from crustacean to fish hosts in the Lübeck Bight, SW Baltic Sea. *Helgol. Meer.* 48: 89-105.
- Zavala-Hernández, C. (2007). Estrategias reproductivas en tres especies de eufáusidos (Crustacea: Euphausiacea) subtropicales en el Golfo de California. Licenciatura en Biología Marina de la Universidad Autónoma de Baja California Sur, México. pp. 87.
- Zeitzschel, B. 1969. Primary productivity in the Gulf of California. *Mar. Biol.* 3(3): 201-217.

Anexo 1. Lista de parásitos de *Nyctiphanes simplex* (Ns) y *Nematoscelis difficilis* (Nd) y las principales características de los parásitos detectados hasta ahora en ambas costas de la península de Baja California, México. Regiones: BM = plataforma continental y boca de Bahía Magdalena, GC = Golfo de California, y Oregon, USA (Tomado de Gómez-Gutiérrez *et al.*, 2010 a).

Hospedero	Parásito	Localidad	Características	Prevalencia promedio por estación (intensidad)
Ns	Chlorophytas <i>Licmophora</i> spp.	BM, GC	Diatomeas penadas Epibioticas, tamaño promedio 30 µm (células sin pedunculo con forma triangular)	8% (1-10,000)
Ns, Nd	Ellobiopsidea <i>Thalassomyces fagei</i>	BM, GC	Mesoparasito castrador, 1.2 mm, estadio temprano 0.62 mm	1.5% (1)
Nd	Ciliophora Suctoría <i>Ephelota</i> sp	Oregon	Longitud promedio de stalk con cabeza 0.79 mm (rango 0.22-1.77 mm), diámetro de la cabeza 250 µm	0.1% (1-80)
Ns, Nd	Apostomatida Foettingeriidae	BM, GC	Ectoparásito foronte y trofante de ciliados exuviotróficos, talla promedio 40 µm longitud 20 µm ancho, con color diferente (transparente, negro, anaranjado) que indica una asociación diversa de especies.	29% (1-300) NS
Ns	Collinidae <i>Collinia</i> sp.	BM, GC	Endoparásitos parasitoides longitud promedio 36 µm (rango 20-40 µm dependiendo del estadio de vida). Número de hileras móviles que varían entre 12 y 18.	1-40% (<100,000)
Ns	Animalia Helmintha Trematoda <i>Paronatrema</i> sp.	GC,	Endoparásitos transmitidos vía cadena trófica, grupo 1,080 µm longitud	*0.001% (1)
Ns	Cestoda Trypanorhyncha <i>Tetrarhynchobothrium</i> sp.	BM	Endoparásitos transmitidos vía cadena trófica. Cestoda plerocercoides con un blastocisto. Blastocisto 1, 340 × 860 µm, Embrión café brillante, Longitud total del embrión 1,140 µm, cabeza 440 µm y cuerpo 300 µm de ancho.	< 0.001 (1)
	No identificado metacestodo	GC	Endoparásito transmitidos vía cadena trófica, grupo 680 µm diámetro de cada larva 55 µm	*0.001% (1)

Ns	Diphyllidea Echinobothryiidae <i>Echinobothrium</i> sp.	GC	Endoparásito transmitido vía cadena trófica, 2.6 mm de longitud total, cuerpo delgado, scolex 289 µm de ancho. Movimientos muy energéticos.	< 0.001 (1)
Ns	Nematodo <i>Anisakis simplex</i>		El estado larvario L3 puede ser mas largo que el hospedero (12.1 mm, longitud total del hospedero de 11.8 mm, 9.4 mm, longitud total del hospedero 10 mm). Prominente diente larval y un mucron grande 20 µm longitud. Ancho 0.4 mm, anchura del cuerpo/longitud radio 3.3%. distancia del ano a la punta de la cola 100 µm.	0.0001% (1)
Ns	Acanthocephala Polymorphidae	BM, GC	Endoparásito transmitido vía cadena trófica, tres estados larvario acantor (en forma de pera alargada), acanthela (en forma de pera), y cistacanto (figura ovalada). Las tallas de los acantocefalos y el estadio de desarrollo fueron correlacionados con la longitud total de los hospederos (krill).	3.1% (1)
Ns	Crustacea Isopoda Epicarida No identificado cryptoniscus Estado larvario	BM	Ectoparásito, no identificado <i>Epicaridea cryptoniscus</i> estado larvario 1.3 mm longitud total, café, con ojos y 14 segmentos infectando <i>N. simplex</i> female 9.8 mm longitud total.	<0.1% (1)
Nd	Isopodo Dajidae <i>Notophryxus lateralis</i>	GC	Ectoparásito castrador, Hembra 2.1 mm largo × 1 mm ancho, y Macho 1.8 mm largo × 0.9 mm ancho, cuerpo ovoide altamente modificado para el modo de vida parasitica. Color anaranjado-café. Macho 400 µm	<1% (1)

Anexo 2. Resumen de reportes de larvas de cestodos infectando eupausidos (Orden Euphausiacea) en el mundo (modificado de González-Solis *et al.*, 2013)

Especie de krill	Larvas de cestodos (plerocercoides o cysticercooides)	Región de muestreo	Referencia
<i>Thysanoessa inermis</i>	<i>Nybelinia sumernicola</i>	North Pacific Ocean	Shimazu (1975)
	Unidentified cestode <i>Anomotaenia</i> spp.	North Pacific Ocean Bering Sea	Shimazu (2006)
	<i>Nybelinia sumernicola</i>	Off Aleutian Islands	
<i>T. longipes</i>	<i>Nybelinia sumernicola</i>	North Pacific Ocean	Shimazu (1975)
	<i>Pelichnibothrium caudatum</i>	North Pacific Ocean	
	<i>Nybelinia sumernicola</i> <i>Pelichnibothrium caudatum</i>	Off Aleutian Islands Bering Sea	Shimazu (2006)
<i>T. raschii</i>	<i>Nybelinia sumernicola</i>	North Pacific Ocean	Shimazu (1975b)
<i>Nyctiphanes simplex</i>	<i>Tetrahynchobothrium</i>	Bahía Magdalena, Mexico	Gómez-Gutiérrez et al. (2010)
	" <i>Echinobothrium</i> "	Goulf of California, Mexico	
	unidentified cestode	Gulf of California, Mexico	
<i>Euphausia pacifica</i>	<i>Nybelinia sumernicola</i>	North Pacific Ocean	Shimazu (1975b)
	<i>Nybelinia sumernicola</i>	Iwate Prefecture, Japan	Shimazu (1999)
	<i>Nybelinia sumernicola</i>	Off Aleutian Islands	Shimazu (2006)
	<i>Pelichnibothrium caudatum</i> <i>Nybelinia</i> sp.?	Bering Sea Alaska	Smith & Snyder (2005)
<i>E. similis</i>	<i>Echinobothrium</i> sp.	Suruga Bay, Japan	Shimazu, 1975, 2006
	Eutetrarhynchidae gen. sp.	Suruga Bay, Japan	
	<i>Tetrahynchobothrium</i> sp.	Suruga Bay, Japan	
	Phyllobothriidae gen. sp.	Suruga Bay, Japan	
<i>E. recurva</i>	<i>Pseudonybelinia odontacantha</i>	East China Sea	Shimazu (2006)
<i>E. diomedeeae</i>	<i>Tetrahynchobothrium</i> sp.	Suruga Bay, Japan	Shimazu (2006)
<i>E. americana</i>	Eutetrarhynchidae gen. sp.	Banco Chinchorro, Mexico	González-Solis <i>et al.</i> , (2013)
Unknown species of euphausiid	<i>Nybelinia sumernicola</i>	North Pacific Ocean	Shimazu (1975)
<i>Nyctiphanes simplex</i>	<i>Hemionchos major</i> , <i>Mobulocestus nephritidis</i> y <i>Paranybelinia obothrioides</i> y una especie del orden Tetracyllidea	Golfo de California y costa occidental de Baja California Sur	Este estudio