



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Efecto del parásito *Gyrodactylus* sobre guppies machos y su transmisión a las hembras por interacción sexual

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Luis Enrique Muñoz Atonal

Directores

Dra. Palestina Guevara Fiore

Dr. Jorge Vázquez Pérez

Tlaxcala, Tlax.

Enero, 2018



Universidad Autónoma de Tlaxcala

Posgrado en Ciencias Biológicas

Efecto del parásito *Gyrodactylus* sobre guppies machos y su transmisión a las hembras por interacción sexual

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

MAESTRO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

P r e s e n t a

Luis Enrique Muñoz Atonal

Comité Tutorial

Dra. Palestina Guevara Fiore

Dr. Jorge Vázquez Pérez

Dr. Miguel Rubio Godoy

Dr. Sergio Iván Ancona Martínez

Tlaxcala, Tlax.

Noviembre, 2017

HOJA DE FINANCIAMIENTO

Este trabajo contó con el apoyo otorgado por parte de la Comisión Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), mediante la beca nacional para la realización de la maestría en Ciencias Biológicas de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (UAT), registrada el Programa para el Fortalecimiento del Posgrado Nacional. Padrón Nacional de Posgrado (PNP).

La beca fue registrada con el Currículum Vitae Único (CVU) número 20152515. Adicionalmente se contó con el apoyo de parte de Proyectos de la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado (VIEP) 2017 (ID: 00228).

OFICIO DE AUTORIZACIÓN



Universidad Autónoma de Tlaxcala
Secretaría de Investigación Científica y Posgrado
Posgrado en Ciencias Biológicas



**COORDINACIÓN MAESTRÍA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
CENTRO TLAXCALA DE BIOLOGÍA DE LA CONDUCTA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TLAXCALA
P R E S E N T E**

Los abajo firmantes, miembros del jurado evaluador del Proyecto de tesis que **Luis Enrique Muñoz Atonal** realiza para la obtención del grado de Maestro en Ciencias Biológicas, expresamos que, habiendo revisado la versión final del documento de tesis, damos la aprobación para que ésta sea impresa y defendida en el examen correspondiente. El título que llevará es **Efecto del parásito *Gyrodactylus* sobre guppies machos y su transmisión a las hembras por interacción sexual**".

Sin otro particular, le enviamos un cordial saludo.

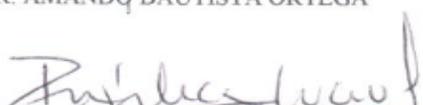
ATENTAMENTE
TLAXCALA, TLAX., DICIEMBRE 15 DE 2017


DRA. PALESTINA GUEVARA FIORE


DRA. ROSALINA MARÍA DE LOURDES REYES LUNA


DR. AMANDO BAUTISTA ORTEGA


DR. SERGIO IVÁN ANCONA MARTÍNEZ


DRA. ROSA ANGÉLICA LUCIO LUCIO



Sistema Institucional de Gestión de la Calidad Certificado bajo la Norma:
ISO 9001:2015-NMX-CC-9001-IMNC-2015



AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradecer al Posgrado del Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta (CTBC) de la Universidad Autónoma de Tlaxcala (UAT). Asimismo, agradecer el apoyo otorgado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), a través de la beca de posgrado con el Currículum Vitae Único (CVU) número 20152515. Además, agradecer el apoyo recibido por parte de Proyectos de la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado (VIEP) 2017 (ID: 00228).

Finalmente, agradecimientos al comité tutorial, integrado por la Dra. Palestina Guevara Fiore y el Dr. Jorge Vázquez Pérez, codirectores del presente proyecto de tesis, y al Dr. Miguel Rubio Godoy y Dr. Sergio Iván Ancona Martínez, que fungieron como tutores en este proyecto, por los conocimientos y los consejos en la mejora de este trabajo de tesis.

AGRADECIMIENTOS A TÍTULO PERSONAL

A mis padres y a mi hermano, quienes me apoyaron en todo momento para salir adelante con sus consejos, los cuales representan una parte vital en la consolidación de esta etapa tan importante en mi vida empujándome para cumplir mis objetivos que se reflejan en este trabajo de tesis. Los amo.

A Guadalupe, mi pareja, quien estuvo conmigo siempre brindándome su amor, apoyo moral incondicional y comprensión para llegar juntos a esta meta. Te amo tanto.

A mis amigos, quienes son incondicionales, me brindaron su cobijo y su apoyo siempre, les dedico este trabajo. De toda la vida, muchas gracias.

Un agradecimiento especial a la Dra. Rosalina Reyes Luna, por brindarme sus conocimientos para el desarrollo de este trabajo, de igual manera apoyándome y brindándome sus consejos. Muchas gracias.

A la Dra. Angélica Trujillo, quien me brindó el espacio para llevar a cabo una parte muy importante de este trabajo y alcanzar los objetivos. Muchas gracias.

A Christian Morán, quien me brindó sus conocimientos y su tiempo en este trabajo. Significa un aporte muy importante, además, para mi formación profesional. Muchas gracias Christian.

A Karla Martínez y Patricia Jiménez, quienes me ayudaron durante la fase de experimentación, y, sobre todo, gracias por su compañerismo y amistad. Muchas gracias.

De manera muy especial, a la Dra. Palestina Guevara Fiore, porque además de mostrarme el camino de la mejora constante, de la dedicación y la disciplina, me brindó su apoyo en todo momento para culminar este trabajo. Muchas gracias Doctora.

De manera muy significativa, René, porque su corazón queda plasmado en este trabajo y en mi vida, como un referente para la motivación a ser mejora diario. Muchas gracias por todo, y gracias por seguirme enseñando, con ánimo, el camino.

RESUMEN

Generalmente, los efectos del parasitismo sobre la selección sexual de machos se estudian correlacionando la carga parasitaria con la expresión de un rasgo precopulatorio del hospedero, como la coloración. Sin embargo, a pesar de que los rasgos postcopulatorios, como la calidad espermática, también son costosos, poco interés se ha generado para entender el efecto del parasitismo sobre éstos, y su efecto simultáneo sobre ambos niveles de selección, pre y postcopulatorio.

Se utilizó al guppy, *Poecilia reticulata*, para estudiar el efecto del parasitismo sobre el esfuerzo de apareamiento (la suma de los cortejos y los intentos de cópula forzada), la elección de pareja (comportamientos dirigidos hacia las hembras más grandes), y la calidad espermática (número de paquetes espermáticos, concentración espermática, movilidad, velocidad, viabilidad y morfología de los espermatozoides) de machos.

Los machos se asignaron a dos tratamientos: 1) No parasitados (control), en el que machos sanos fueron expuestos solamente a agua, y 2) Parasitados (experimental), en el que machos sanos fueron parasitados con dos ectoparásitos *Gyrodactylus*. El comportamiento sexual de los machos se midió una vez, posterior al tratamiento, de modo que se compararon machos sanos con machos parasitados. La medición de la calidad espermática se realizó en dos tiempos diferentes: antes y después de aplicar el tratamiento, de modo que se compararon tiempos de medición y tratamientos.

El esfuerzo de apareamiento fue menor en machos parasitados que en machos sanos, sin embargo, no se observó elección de pareja en ambos tratamientos. Además, los machos no parasitados, a excepción de la morfología espermática, no cambiaron su calidad espermática antes o después del tratamiento. En machos parasitados, los paquetes espermáticos y la concentración espermática fueron similares antes y después de ser infectados, pero su movilidad, viabilidad y velocidad disminuyeron después de aplicar el tratamiento, por lo que se evidencia por primera vez el efecto negativo del parasitismo sobre la calidad espermática en guppies. La cantidad de espermatozoides no se compromete, por lo que es muy probable que el daño se genere en etapas posteriores a la formación y diferenciación de las células espermáticas.

En conclusión, evaluamos simultáneamente el esfuerzo de apareamiento (rasgo precopulatorio) y la calidad espermática (rasgo postcopulatorio) en guppies machos, encontrando que ambos se ven altamente comprometidos ante el parasitismo.

Para evaluar si la preferencia de apareamiento en el comportamiento sexual de los machos afecta la transmisión del ectoparásito *Gyrodactylus* de machos parasitados a hembras sanas, utilizamos los comportamientos sexuales observados en las pruebas de comportamiento sexual con los machos parasitados. Se cuantificó el número de parásitos en cada una de las hembras 24 horas después de haber estado en contacto con los machos parasitados.

Los comportamientos sexuales del macho no tuvieron una relación con la carga parasitaria de las hembras, posiblemente porque observamos una actividad sexual muy baja en los machos parasitados en comparación con los machos sanos. Sin embargo, nuestros resultados muestran que las hembras pequeñas tuvieron una carga parasitaria mayor que las hembras grandes. Dos posibles explicaciones surgen de estos resultados: 1) las hembras que difieren en tamaño se comportaron diferente, lo que de alguna forma pudo haber facilitado la transmisión del parásito del macho a las hembras, 2) las hembras grandes fueron más resistentes a *Gyrodactylus*, de modo que nuestros resultados pudieron haber medido la resistencia al parásito en lugar de una diferencia en su transmisión.

Los resultados obtenidos en este proyecto muestran que las hembras pequeñas son más susceptibles a parasitarse de un macho conespecífico, lo cual puede tener implicaciones importantes en la dinámica poblacional generada por el parásito *Gyrodactylus*.

ÍNDICE

1.	INTRODUCCIÓN.....	1
2.	ANTECEDENTES.....	5
3.	JUSTIFICACIÓN.....	11
4.	HIPÓTESIS, PREDICCIONES Y OBJETIVOS.....	14
	Pregunta de investigación I: ¿Cómo el parasitismo afecta el comportamiento sexual y la calidad espermática en guppies machos?.....	14
4.1.	Hipótesis (I).....	14
4.2.	Predicciones (I).....	14
4.3.	Objetivo general (I).....	14
4.4.	Objetivos particulares (I).....	14
	Pregunta de investigación II: ¿Cuál es la relación entre el comportamiento sexual de los machos y la transmisión de <i>Gyrodactylus</i> de machos parasitados a hembras sanas?.....	15
4.5.	Hipótesis (II).....	15
4.6.	Predicción (II).....	15
4.7.	Objetivo general (II).....	15
4.8.	Objetivos particulares (II).....	15
5.	METODOLOGÍA.....	17
5.1.	Poblaciones de estudio.....	17
5.2.	Diseño experimental.....	21
5.3.	Parasitación experimental.....	23
5.4.	¿Cómo el parasitismo afecta el comportamiento sexual y la calidad espermática en guppies machos?.....	24
5.4.1.	Evaluación de la condición corporal.....	24
5.4.2.	Pruebas de comportamiento sexual.....	25
5.4.3.	Evaluación de la calidad espermática.....	26
5.4.3.1.	Paquetes espermáticos.....	27
5.4.3.2.	Concentración espermática.....	27
5.4.3.3.	Movilidad espermática.....	28
5.4.3.4.	Viabilidad espermática.....	28
5.4.3.5.	Velocidad espermática.....	29
5.4.3.6.	Morfología espermática.....	30
5.5.	¿Cuál es la relación entre el comportamiento sexual de los machos y la transmisión de <i>Gyrodactylus</i> de machos parasitados a hembras sanas?.....	30
5.6.	Análisis de datos.....	31
5.6.2.	Efecto del parasitismo sobre el comportamiento sexual.....	31
5.6.3.	Efecto del parasitismo sobre la calidad espermática.....	32
5.6.4.	Efecto del comportamiento sexual en la transmisión de parásitos a las hembras.....	32
6.	RESULTADOS.....	34
6.1.	¿Cómo el parasitismo afecta el comportamiento sexual y la calidad espermática en guppies machos?.....	34

6.1.2. Efecto del parasitismo en la condición corporal.....	34
6.1.3. Efecto del parasitismo sobre el comportamiento sexual	34
6.1.3.1. Latencia al comportamiento	34
6.1.3.2. Esfuerzo de apareamiento.....	35
6.1.3.3. Frecuencia de balanceo del gonopodio.....	36
6.1.3.4. Frecuencia de mordidas	36
6.1.3.5. Tiempo cerca de la hembra.....	37
6.1.3.6. Elección de pareja.....	38
6.1.3.6.1. Cortejo	38
6.1.3.6.2. Intentos de cópula forzada.....	38
6.1.4. Efecto del parasitismo en la calidad espermática	40
6.1.4.1. Paquetes espermáticos	40
6.1.4.2. Concentración espermática.....	41
6.1.4.3. Movilidad espermática	41
6.1.4.4. Viabilidad espermática	42
6.1.4.5. Velocidad espermática.....	43
6.1.4.5.1. Análisis de componentes principales (ACP)	43
6.1.4.5.2. Velocidad promedio (VAP).....	44
6.1.4.5.3. Velocidad curvilinear (VCL).....	45
6.1.4.6. Morfología espermática.....	46
6.1.4.6.1. Análisis de componentes principales (ACP)	46
6.1.4.6.2. Longitud total	47
6.1.4.6.3. Longitud de flagelo.....	48
6.2. ¿Cuál es la relación entre el comportamiento sexual de los machos y la transmisión de <i>Gyrodactylus</i> de machos parasitados a hembras sanas?	50
7. DISCUSIÓN.....	52
7.1. ¿Cómo el parasitismo afecta el comportamiento sexual y la calidad espermática en guppies machos?.....	53
7.2. ¿Cuál es la relación entre el comportamiento sexual de los machos y la transmisión de <i>Gyrodactylus</i> de machos parasitados a hembras sanas?	60
8. CONCLUSIÓN GENERAL.....	63
9. PERSPECTIVAS	64
10. REFERENCIAS	65
11. ANEXO 1: <i>Pruebas piloto</i>	82
12. ANEXO 2: <i>Efecto del número de parásitos sobre el comportamiento sexual. Análisis utilizando el parasitismo como una variable continua</i>	83
13. ANEXO 3: <i>Efecto del número de parásitos sobre la calidad espermática. Análisis utilizando el parasitismo como una variable continua</i>	88
14. PUBLICACIONES.....	94
14.1. XX Curso de Bases Biológicas de la Conducta.....	94
14.2. XXI Curso de Bases Biológicas de la Conducta	96
14.3. XXII Curso de Bases Biológicas de la Conducta	98

1. INTRODUCCIÓN

Los recursos energéticos destinados a la generación y mantenimiento de múltiples rasgos de la historia de vida de los organismos, como los que están relacionados con el mantenimiento corporal y la reproducción, son limitados, lo que genera disyuntivas biológicas (Krebs y Davies 1993, Fabian y Flatt 2012). Estas se definen como un vínculo entre dos rasgos, donde existe simultáneamente un aumento en la adecuación a través de uno y en consecuencia una reducción de la adecuación a través del otro (Krebs y Davies 1993).

Se pueden observar disyuntivas entre diferentes rasgos costosos de producir y de mantener. Por ejemplo, la coloración de las plumas y escamas en machos en varias especies de aves y peces se compone de pigmentos carotenoides y pteridinas (Houde y Torio 1992, Zuk y cols. 1998). Estos pigmentos también son esenciales para la activación del sistema inmune por su capacidad antioxidante en presencia de patógenos (Bendich 1989), por lo que, al defenderse de patógenos, los organismos deben asignar más recursos al sistema inmune limitando la calidad en la expresión de la coloración, generando en consecuencia una disyuntiva (Losdat y cols. 2011).

De forma similar, se han observado disyuntivas entre rasgos pre y postcopulatorios, aquellos rasgos que se utilizan antes o después del apareamiento respectivamente, y que se consideran a dos niveles diferentes de la selección sexual (Andersson 2006). En especies poliándricas, como en escarabajos *Stagmomantis limbata* (Leigh y Douglas 2006) y en ortópteros *Hemideina crassidens* (Kelly 2008), las hembras copulan con múltiples machos durante un evento reproductivo generando competencia espermática; en consecuencia, los machos aumentan su inversión en la calidad del espermatozoide, enfrentando un compromiso entre la producción de espermatozoides y el mantenimiento corporal (Lüpold y cols. 2014), pues los recursos asignados a aumentar su condición corporal muchas veces disminuyen los recursos que de otra forma estarían destinados a aumentar la calidad del espermatozoide producido (Reznick y cols. 2000, Kvarnemo y Simmons 2011).

Uno de los generadores más importantes de disyuntivas en la naturaleza es el parasitismo (Kekäläinen y cols. 2014), la relación ecológica en la que un parásito toma recursos energéticos directamente de un hospedero, causando costos en su adecuación

(Olsen 1974, Fabian y Flatt 2012). Ante estos costos, el hospedero es forzado a defenderse mediante mecanismos que incrementan la respuesta inmunitaria, como la resistencia, que se define como la capacidad de repeler a los parásitos (Råberg y cols. 2007), y la tolerancia, la cual es la capacidad de soportar una carga parasitaria sin comprometer la adecuación, incluyendo con ello el mantenimiento corporal (Grenfell y Dobson 1995, Sorci y cols. 1997, Bonneaud y cols. 2003). Las consecuencias del daño del parasitismo se han observado en múltiples rasgos de la historia de vida asociados tanto al mantenimiento como a la reproducción de los hospederos (ver Barber y cols. 2000), lo que ha colocado a los parásitos en el centro de muchas áreas de interés ecológico y evolutivo (Sheldon y Verhulst 1996). Los costos del parasitismo se asocian con una disminución de la actividad (Milinski 1984, Pauku y Kotiaho 2005), del mantenimiento corporal (Barrantes y Weng 2007, Hockley y cols. 2014), de la capacidad de forrajeo (Milinski 1990, Barber y cols. 1995), del cuidado parental (Barrantes y Weng 2007), de la elección de pareja (Jennions y Petrie 2000, Kokko y cols. 2012) y de la fecundidad de las hembras (Schultz y cols. 2006), entre otros.

Particularmente en machos, los efectos del parasitismo están asociados a la disminución de la intensidad de sus ornamentos, y muchas veces el efecto negativo en la calidad de la expresión de los rasgos sexuales de los machos suele relacionarse positivamente con la carga parasitaria (Milinski 1990, Barber y cols. 2000). Los rasgos más estudiados en machos son la coloración (Hamilton y Zuk 1982, Fitzgerald y cols. 1993, Folstad y Karter 1992, Ressel y Schall 1989), como en reptiles (Olsson y cols. 2011); la calidad del cortejo (Hurd 1993, Zuk y cols. 1998), como por ejemplo, en aves (Møller 1990, Zuk y cols. 1998, Baeta y cols. 2008) o en peces (gobios *Gobiusculus flavescens*, Pélabon y cols. 2005; trucha arcoiris *Onchorynchus mykiss*, Rushbrook y Barber 2006; pez cola de espada *Xiphophorus helleri*, Ávila y cols. 2011; guppy *Poecilia reticulata* (Houde y Torio (1992). El parasitismo también puede afectar la frecuencia de la cópula de los machos (López 1998, Barber y cols. 2000), como sucede en invertebrados, cuyo tiempo de inversión en el apareamiento disminuye (Rantala y cols. 2000).

Además de estos costos, el parasitismo puede afectar las redes sociales entre conoespecíficos en una población (Johnson y cols. 2011). Una disyuntiva que los organismos enfrentan es el contagio de parásitos cuando interactúan sexualmente, porque, aunque estas interacciones dan beneficios como la evaluación de las parejas de apareamiento y la fertilización, cada uno de estos encuentros implica un riesgo potencial de

contagio de parásitos. Las hembras ganan beneficios directos por aparearse con machos libres de parásitos (Freeland 1986, Borgia y Collis 1989, Hillgarth 1990, Clayton 1991), pues evitan ser contagiadas, es por ello que ha evolucionado la discriminación de parejas sanas durante la elección de pareja, como por ejemplo en el gallo bankiva (*Gallus gallus*), cuyas hembras sanas evitan a machos parasitados con *Ascaridia galli* y prefieren aparearse con machos sanos (Zuk y cols. 1998). Además, aparearse con machos sanos trae otros beneficios, ya que los machos libres de infección proveen más recursos y cuidado parental o cuidados a su pareja de mejor manera que machos enfermos (Hamilton 1990, Milinski 1990). Las hembras también pueden obtener beneficios indirectos porque los genes de resistencia son seleccionados para la descendencia (Hamilton y Zuk 1982).

La transmisión de parásitos de un hospedero a otro individuo determina el éxito evolutivo de los patógenos (Lipsitch y Moxon 1997). El proceso de transmisión depende de muchos factores como la interacción entre conespecíficos (transmisión dependiente de frecuencia; McCallum y cols. 2017, Johnson y cols. 2011), y la densidad poblacional (transmisión dependiente de densidad; Anderson y May 1982). Aunado a esto, la transmisión a nuevos hospederos dependerá de las características del hospedero, como su carga parasitaria, su capacidad inmune y con ello la resistencia al parásito, así como su experiencia previa al parasitismo (Madhavi y Anderson 1985, Matthews y cols. 1997, Cobbold y cols. 2007, Stein 2011, Aiello y cols. 2016, Stephenson y cols. 2016). Por ejemplo, individuos del crustáceo *Daphnia magna* que nunca han sido expuestos al parásito microsporidio *Glugoides intestinalis* son más susceptibles de parasitarse en comparación con hospederos previamente expuestos (Ebert 1994, Ebert y Mangin 1997), mientras que ratones de laboratorio son parasitados en un periodo de tiempo menor con *Plasmodium chabaudi* cuando no habían sido expuestos previamente, en comparación con sus hermanos previamente parasitados (Mackinnon y Read 1999). De manera similar, el tiempo de interacción con un individuo parasitado es un factor a considerar en la transmisión de parásitos, ya que a mayor tiempo de interacción mayor será la probabilidad de infección (Aiello y cols. 2016). Finalmente, los rasgos del mismo parásito influyen su transmisión de un hospedero a otro, pues su virulencia (capacidad de dañar al hospedero) afectará la transmisión; además, los parásitos externos o ectoparásitos pueden ser transmitidos con mayor facilidad a través de las interacciones como el apareamiento, debido a su alta

facilidad de pasar de un hospedero a otro en un periodo relativamente corto de tiempo (Hillgarth 1990).

En el presente estudio, se evaluó cómo el parasitismo afecta la calidad espermática y el comportamiento sexual de guppies machos (*Poecilia reticulata*). Tradicionalmente, al estudiar la interacción entre selección sexual y parasitismo en machos, se ha estudiado cómo se modifica un rasgo precopulatorio ante una infección parasitaria; pero poco se conoce del efecto sobre rasgos postcopulatorios de los machos, y en pocas ocasiones se ha estudiado el efecto del parasitismo sobre más de un rasgo en los machos, por ello la importancia de evaluar simultáneamente en cada macho rasgos precopulatorios (e.g. el comportamiento) y rasgos postcopulatorios (e.g. la calidad espermática).

Por otro lado, también evaluamos la relación entre el comportamiento sexual de machos y la transmisión de parásitos de machos parasitados a hembras sanas, ya que se desconocen los factores particulares que favorecen la transmisión del parásito a un hospedero nuevo en esta especie y en peces en general. La transmisión de parásitos entre conespecíficos puede generar conflicto sexual, que es la diferencia de los intereses evolutivos de ambos sexos (Parker y cols. 2013), ya que, si un sexo está parasitado y tiene preferencias específicas, generará mayor riesgo de contagio a los individuos más atractivos causándoles costos, por lo que estudiar la transmisión de parásitos de machos a hembras nos permitirá entender los patrones y procesos más específicos del contagio y estudiar el potencial del conflicto sexual en esta especie.

En conjunto, las dos preguntas de interés del presente proyecto, cómo el parasitismo afecta a los machos y cómo se transmite el parásito de machos infectados a hembras sanas, no sólo aportarán conocimiento novedoso e interesante acerca de la interacción entre el parásito *Gyrodactylus* y el pez guppy, también complementarán eslabones de conocimiento necesarios para entender la interacción entre parasitismo y selección sexual en machos, tomando en cuenta la Teoría de historia de vida.

2. ANTECEDENTES

La selección sexual explica la variación fenotípica influenciada por las estrategias particulares de ambos sexos en la competencia para obtener éxito de apareamiento y éxito reproductivo (Darwin 1871). La selección sexual opera por medio de dos mecanismos: 1) En la selección intrasexual, los individuos del mismo sexo compiten por acceso al sexo opuesto, por ejemplo, mediante peleas, en la búsqueda de parejas, o mediante la exhibición de ornamentos que evalúa el sexo opuesto (Møller 1990, Andersson 1994). 2) La selección intersexual se da entre individuos de diferente sexo por medio de la elección de pareja, en donde los individuos seleccionan entre las parejas potenciales con quién copular (Fisher 1930, Andersson 2006). Este proyecto se enfocó sólo a la selección intersexual.

La elección de pareja de apareamiento proporciona beneficios directos como protección, territorio, alimento o cuidado parental, y beneficios indirectos, como la herencia que tendrán las crías (Andersson 2006). Las hembras evalúan en los machos diferentes rasgos que les indican su calidad, por ejemplo, su condición corporal (Nicoletto 1991 y 1993, Santiago- Moreno y cols. 2010), la calidad del cortejo (Kennedy y cols. 1987, Kodrick-Brown 1985), o la calidad de la coloración (Hill 1990, Ligon y cols. 1990, Milinski y Bakker 1990). Estos rasgos funcionan como señales honestas en la hipótesis de los buenos genes, que asume que la reproducción con machos de alta calidad que son resistentes a patógenos beneficia indirectamente a las hembras a través de la herencia de dicha resistencia a su descendencia (Fisher 1930). Hamilton y Zuk (1982) evidenciaron que los rasgos vistosos en machos revelan información importante a las hembras acerca de la resistencia a parásitos, ya que dicha presión selectiva funge como mediador en la calidad de la expresión de dichos rasgos.

La selección sexual también ocurre después de la cópula, por ejemplo, en la competencia espermática, que ocurre cuando los espermias de diferentes machos compiten por fertilizar los gametos de las hembras cuando estas se aparean múltiples veces (Parker y cols. 1998, Birkhead y cols. 1993, Slatyer y cols. 2012). Así, los organismos deben poseer espermia de buena calidad para poder tener éxito en la fertilización. La competencia espermática selecciona rasgos que influyen en la competencia y éxito reproductivo, llamados conjuntamente calidad espermática, como la masa gonadal, la cantidad de eyaculado, la velocidad y la morfología espermática (Parker 1970). Por ejemplo, flagelos

más largos para nadar más rápido y así fecundar al óvulo antes que otros espermatozoides (Barber y cols. 2000, Boschetto y cols. 2011).

Actualmente la calidad espermática se considera un rasgo costoso de producir y mantener (Van Voorhies 1992, Olsson y cols. 1997, Paukku y Kotiaho 2005, Losdat y cols. 2011, Simmons 2011, Dowling y Simmons 2012), y se ha observado que incluso puede haber una relación negativa entre un incremento en la producción de esperma (número) y una disminución del tiempo de vida de los machos (Hunt y cols. 2004, Malo y cols. 2005). Dado que el sistema inmune reconoce las células espermáticas como foráneas, quedan expuestas a ataques de patógenos principalmente a nivel de testículo y epidídimo (Friberg 1982, Hogarth 1982, Roitt y cols. 1993; Hipótesis del hándicap inmunocompetente, Folstad y Karter 1992), durante la espermatogénesis (Hillgarth y cols. 1990, Liljedal y cols. 1999, Hosken y O'Shea 2001), por lo que deben ser protegidas mediante la inmunosupresión (Meinhard y Hedger 2011). La espermatogénesis es la etapa en la que las células totipotenciales llamadas espermatogonias se desarrollan en células haploides especializadas llamadas espermátidas, y, mediante procesos de proliferación, división celular meiótica y posterior evento de liberación de los espermatozoides por los testículos, su tránsito a través de los conductos eferentes testiculares y el transporte de los mismos a través del sistema urinario, se desarrollan en células especializadas llamadas espermatozoides, que son capaces de fertilizar el óvulo y generar descendencia (Zini y Agarwal 2011). Así, ante la disyuntiva entre el mantenimiento del sistema inmune y la optimización de la calidad espermática se esperaría que machos resistentes a parásitos destinen más recursos al mantenimiento de la calidad espermática que machos a los que el parasitismo ataca fuertemente.

Las hembras reciben información sobre la calidad espermática a través de señales como los ornamentos en los machos (Able 1996, Blount y cols. 2003, Andersson 2006, Locatello y cols. 2006, Velando y cols. 2008, Liljedal y cols. 1999, Kortet y cols. 2010, Pitcher y cols. 2003). Por ello, los machos que consigan una mayor calidad en la expresión de sus rasgos, y al mismo tiempo mantengan la calidad de esperma combatiendo agentes degradantes, como el estrés oxidativo generado por patógenos, tendrán mayor éxito de apareamiento (Peters y cols. 2004, Helfenstein y cols. 2010). Especies con coloración conspicua se enfrentan a la disyuntiva de asignar pigmentos carotenoides al mantenimiento

de la coloración o asignarlos para evitar el estrés oxidativo que afecta el desarrollo y funcionamiento del esperma (Peters y cols. 2004, Velando y cols. 2008).

En guppies, se ha estudiado extensivamente la calidad espermática, ya que es una especie que experimenta fuerte competencia espermática, y consecuentemente, los machos son capaces de evaluar el riesgo de competencia y modificar sus estrategias reproductivas (Pilastro y Bisazza 1999, Pilastro y cols. 2002, Evans y Pilastro 2011, Gasparini y cols. 2014).

Además, se ha puesto a prueba la interacción entre los rasgos pre y postcopulatorios cuando los machos están expuestos a una dieta de baja calidad (Devigili y cols. 2015, Rahman y cols. 2013), Devigili y cols. (2015) estudiaron el comportamiento sexual, la coloración y la calidad espermática (medida solamente como viabilidad) en dos grupos de guppies machos sometidos a distintas dietas, encontrando que los machos con alimento restringido tienen una disminución en la calidad de la expresión de rasgos pre (comportamiento y coloración) y postcopulatorios (viabilidad espermática), comparados con machos mejor alimentados; además, en segundo lugar existe una relación positiva entre la frecuencia de cortejo y el número de espermatozoides producido, mostrando una disyuntiva entre rasgos pre y postcopulatorios (Devigili y cols. 2015). Este resultado fue consistente con lo encontrado por Rahman y cols. (2013), quienes manipularon dos niveles de calidad y la cantidad de carotenoides en la dieta de guppies machos y encontraron, además de los resultados mencionados en rasgos pre y postcopulatorios por Devigili y cols. (2015), una reducción en la velocidad y la movilidad de los espermatozoides de los machos con baja calidad de dieta.

Sin embargo, a pesar del amplio interés en entender las variables que afectan la calidad espermática en guppies, sorprendentemente aún no se conoce cómo el parasitismo afecta a la calidad espermática, una característica post copulatoria. Se esperaría que las características precopulatorias sufran mayor fuerza de selección, ya que si estas son de baja calidad el macho disminuiría su éxito de apareamiento. Si el macho invierte más en características post copulatorias, pero no logra aparearse, esta inversión sería improductiva ya que mantener una buena calidad espermática sin lograr apareamientos sería un costo muy grande sin obtener ningún beneficio, pues para que la calidad espermática tenga efectos en la adecuación del macho, primero debe lograr la cópula. Aún no hay datos

suficientes que permitan entender la relación entre parasitismo y estos dos niveles de selección sexual, pre y postcopulatorios.

Además, son pocos los estudios que han estudiado los efectos del parasitismo sobre la calidad espermática. En peces *Phoxinus phoxinus* existe un efecto del parásito *Anodonta anatina* en la movilidad de los espermatozoides, pero no sobre las estructuras sexuales de los machos, unos tubérculos en la parte superior de la cabeza, lo que sugiere que la presencia de parásitos conlleva a una asignación mayor de recursos a mantener los rasgos precopulatorios a fin de incrementar su probabilidad de reproducción (Kekäläinen y cols. 2014). Sin embargo, la movilidad fue el único parámetro medido en este estudio, por lo que no se sabe si el parasitismo afecta otros aspectos de la calidad espermática.

En truchas del ártico, *Salvelinus alpinus*, la intensidad de la carga parasitaria se correlacionó negativamente con la velocidad de los espermatozoides, pero positivamente con la masa gonadal, aunque nuevamente otros aspectos de la calidad espermática no fueron medidos (Liljedal y cols. 1999). Sin embargo, en el rutilo *Rutilus rutilus L.*, no se encontraron efectos negativos del parasitismo sobre la calidad espermática, medida como movilidad y velocidad, cuando los machos fueron parasitados con endoparásitos *Myxolobius mülleri* (Kortet y cols. 2010).

Se ha puesto a prueba el efecto del parasitismo sobre la calidad espermática con un enfoque reproductivo y veterinario en cabras *Capra pyrenaica* (Santiago-Moreno y cols. 2010), o con un enfoque ecológico y de conservación en murciélagos *Chalinolobus morio* (Hosken y O'Shea 2001). Ambos estudios registraron un efecto negativo del número de parásitos sobre la calidad espermática medida como velocidad y movilidad espermática. En humanos, el daño espermático se ha observado como un daño colateral producido por daño sistémico en las gónadas y otros órganos reproductivos; las infecciones recurrentes de protozoarios parásitos como *Trichomonas vaginalis* y *Toxoplasma gondii* producen astenozoospermia y teratozoospermia, alteraciones en la movilidad y morfología de los espermatozoides respectivamente (revisado de Shiadeh y cols. 2016).

En el presente proyecto, se utilizó a uno de los parásitos más comunes del guppy, *Gyrodactylus sp.*, para estudiar su efecto en rasgos pre y postcopulatorios de machos. Este género de parásitos causa la mortalidad de su hospedero del 60-80% en poblaciones silvestres, con tiempos de parasitación promedio de 15 días, y las cargas parasitarias promedio son de 5 a 10 parásitos por individuo (Kennedy y cols. 1987; Milinski y Bakker

1990, Møller 1990, Burley y cols. 1991, Johnson y Boyce 1991, Houde y Torio 1992; López 1998). *Gyrodactylus* causa efectos negativos considerables sobre los guppies: el incremento en la carga parasitaria afecta la condición corporal (Kennedy y cols. 1987, Dargent y cols. 2013), reduce la calidad del forrajeo y la eficiencia del nado, por lo que los guppies parasitados invierten más tiempo en conseguir alimento y no discriminan en la calidad de este (Cable y cols. 2002, Kolluru 2006 y 2008), y prefieren corrientes con menor velocidad porque tienden a fatigarse más rápido que peces sanos (Richards y Chubb 1996, Van Oosterhout 2003, Hockley y cols. 2014). Por otro lado, este ectoparásito inhibe la elección de pareja de las hembras, ya que al estar parasitadas tienden a reducir la preferencia por los machos más coloridos, en comparación con hembras sanas que sí son selectivas (López 1998).

Principalmente, con este parásito se han investigado en múltiples ocasiones sus efectos negativos sobre ornamentos de los guppies machos (Kennedy y cols. 1987; Milinski y Bakker 1990, Møller 1990, Burley y cols. 1991, Johnson y Boyce 1991, Houde y Torio 1992; López 1998). *Gyrodactylus* reduce la intensidad del brillo y la cromaticidad de la coloración de los machos (Houde y Torio 1992, Kodric-Brown 1989, Kennedy y cols. 1987). También se ha observado efecto en el comportamiento sexual, ya que los machos parasitados con *G. turnbulli* realizan menos cortejo que machos sanos (Houde y Torio 1992, Lyles 1990, Scott y Nokes 1984). El comportamiento social también resulta afectado, pues los machos parasitados se aíslan con mayor frecuencia que machos sanos, incrementando su riesgo de depredación (Harris y cols. 2000, Bakke y cols. 2007, Stephenson y cols. 2015). Sin embargo, al igual que la calidad espermática, hasta el momento se desconoce cómo *Gyrodactylus* afecta a la elección de pareja en guppies machos.

Con respecto a las causas de la transmisión de *Gyrodactylus* entre conespecíficos, se sabe que el comportamiento social favorece la transmisión de parásitos entre las hembras guppies en poblaciones silvestres, ya que hay una relación positiva entre la tasa de interacción entre subpoblaciones dentro de un mismo hábitat y la carga parasitaria de *G. turnbulli* (Van Oosterhout y cols. 2007). Asimismo, existe una relación significativa entre el sexo, la sociabilidad y la transmisión de *Gyrodactylus*, siendo las hembras sociables las más susceptibles a parasitarse (Cable y cols. 2002, King y Cable 2007, Van Oosterhout y cols. 2007, Hockley y cols. 2014).

El único registro de la transmisión de parásitos entre diferentes sexos en guppies fue una observación informal cualitativa realizada por Houde y Torio (1992), en la que se observaron cargas de *G. turnbulli* en hembras expuestas previamente a machos parasitados durante pruebas de comportamiento sexual en condiciones de laboratorio, por lo que aún no se ha puesto a prueba de forma empírica la transmisión de parásitos entre sexos durante interacciones sexuales como el cortejo o la cópula, y si esto ocurriera, qué aspectos determinan una transmisión exitosa del parásito entre sexos.

En otras especies se ha registrado transmisión de parásitos durante interacciones sexuales. En abejas melíferas *Apis mellifera*, durante la cópula se llegan a transmitir parásitos microsporidios *Nosema* de machos parasitados a hembras sanas a través del semen (Roberts y cols. 2015). Asimismo, las hembras del faisán común *Phasianus colchicus* llegan a transmitir ectoparásitos, como *Menopon sp.* y *Gniodes sp.*, a machos no parasitados en un periodo corto (<2 s), y con un número de interacciones mayor comparados con machos parasitados (Hillgarth 1990). En resumen, las interacciones sexuales incluyendo la cópula, son eventos potenciales de contagio de parásitos con implicaciones importantes para la relación parásito-hospedero y, sobre todo, para las presiones de selección que operan entre los sexos.

3. JUSTIFICACIÓN

Implicaciones científicas

El guppy representa un modelo idóneo para estudiar la relación entre parasitismo y selección sexual en machos, ya que conocemos muchos de los efectos del parasitismo sobre la biología de este pez. En este trabajo se respondieron dos preguntas originales de investigación: 1) ¿Cómo el parasitismo afecta la calidad espermática y el comportamiento sexual en guppies machos? y 2) ¿Cómo la preferencia de apareamiento de los machos afecta la transmisión del ectoparásito *Gyrodactylus* de machos parasitados a hembras sanas?

Con respecto a la primera pregunta, la mayoría de las veces en las que se ha relacionado al parasitismo con la selección sexual en machos, se han estudiado rasgos precopulatorios. Particularmente, en guppies todos los efectos del parasitismo sobre rasgos sexuales en machos, se han estudiado a nivel precopulatorio (e.g. calidad de la coloración y del cortejo). A pesar de ser un modelo muy estudiado en selección sexual, y en particular en competencia espermática, este es el primer estudio que aporta evidencia de los efectos del parasitismo sobre la calidad espermática de los guppies. Como la selección sexual también ocurre después del apareamiento, y en los machos estas presiones selectivas están relacionadas con la calidad espermática, nuestros resultados son un gran aporte no sólo para esta especie, sino para complementar lo que ya se conoce en otros vertebrados. En resumen, nuestro estudio evaluó simultáneamente los efectos del parasitismo sobre dos niveles selectivos, ya que estudiamos el comportamiento sexual y la calidad espermática, aportando información fundamental para que en el futuro podamos comprender de mejor forma las disyuntivas que se generan entre estos dos niveles de la selección sexual.

Con respecto a la segunda pregunta de investigación, acerca de la transmisión de parásitos de machos parasitados a hembras sanas, es importante estudiar la transmisión de *Gyrodactylus* porque a pesar de ser uno de los parásitos más comunes y más nocivos de los guppies, poco conocemos de los factores que favorecen transmisión de un individuo a otro, sobre todo en un contexto sexual. Los guppies muestran un sistema de apareamiento promiscuo, en el que los machos interactúan sexualmente con diferentes hembras y viceversa.

Las hembras tienden a formar redes sociales más estables que los machos, mientras que estos visitan diferentes grupos de peces en la misma población (Croft y cols. 2004), por lo que un macho parasitado podría infectar diferentes hembras en un tiempo relativamente corto. Las hembras grandes son más preferidas, lo que podría generarles mayor probabilidad de contagio. De hecho, las hembras parecen evitar a machos parasitados (López 1998), pero como los guppies machos pueden forzar la cópula, un macho parasitado podría acercarse con insistencia a una hembra a pesar de que ésta no esté interesada en ese macho. Anteriormente se ha evaluado el efecto del parasitismo sobre el comportamiento sexual para evidenciar la elección de pareja en favor de individuos sanos y en contra de individuos parasitados (Able 1996, Johnson y cols. 2011, Simmons 2011, Råberg y cols. 2007). Sin embargo, desconocemos cómo las preferencias de apareamiento de un sexo, afectan la adecuación en el otro sexo, por lo que los resultados que obtuvimos en este proyecto ayudarán a la comprensión del conflicto sexual que podría surgir de la transmisión de parásitos entre individuos de diferente sexo cuando interactúan sexualmente. Además, aportamos registros de los factores principales que favorecen la transmisión de *Gyrodactylus* de machos parasitados a hembras sanas, datos que abren una amplia posibilidad de estudio en el futuro.

Implicaciones socio-económicas

Se calcula que la industria de la acuariofilia genera ganancias cercanas a los 300 millones de dólares con una tasa de crecimiento anual del 14%, por ejemplo, un kilogramo de peces de arrecife destinado para los acuarios puede alcanzar un precio de mercado de 500 a 1800 dólares, mientras que un kilogramo de peces marinos destinado para el consumo humano puede oscilar entre 6 y 16.5 dólares (Lango Reynoso y cols. 2012).

En peces dulceacuícolas, más del 90% son producidos en granjas (Lango Reynoso y cols. 2012), siendo la familia Poeciliidae una de las más populares en acuicultura. Las especies de esta familia tienen un potencial para mantenerse en acuario debido a sus colores brillantes, comportamiento pacífico, fácil domesticación y adaptación al alimento comercial (Scott 1987). En este sentido, el presente estudio pretende aportar fundamentos para entender el efecto de uno de los parásitos más importantes en acuicultura, el ectoparásito

Gyrodactylus, sobre uno de los peces dulceacuícolas de ornato más populares no sólo en el comercio sino también en la ciencia.

En conjunto, las dos preguntas que se abordan en esta tesis permitieron, en primer lugar, evaluar y comparar dos características sexuales en machos parasitados y no parasitados, lo que genera una visión más integral de los efectos que el parasitismo sobre sus hospederos, aportando conocimiento novedoso y valioso para complementar la Teoría de Historia de Vida. Por otro lado, generó conocimiento sobre cómo los parásitos se transmiten entre conespecíficos, y particularmente entre sexos diferentes durante interacciones sexuales.

4. HIPÓTESIS, PREDICCIONES Y OBJETIVOS

Pregunta de investigación I: ¿Cómo el parasitismo afecta el comportamiento sexual y la calidad espermática en guppies machos?

4.1. Hipótesis (I)

El parasitismo genera costos que limitan la expresión del fenotipo de los machos comprometiendo en consecuencia su adecuación, por lo tanto, el ectoparásito *Gyrodactylus* tendría un efecto negativo a nivel pre y postcopulatorio.

4.2. Predicciones (I)

- Los machos parasitados disminuirán la frecuencia y la duración de diferentes comportamientos sexuales con las hembras, en comparación con machos sanos.
- Los machos parasitados tendrán menor calidad espermática (i.e. menor número de paquetes espermáticos, concentración de espermatozoides, viabilidad, movilidad y número de espermatozoides con morfología normal), en comparación con la calidad espermática de machos sanos.
- Los machos parasitados tendrán menor calidad espermática (i.e. menor número de paquetes espermáticos, concentración de espermatozoides, viabilidad, movilidad y número de espermatozoides con morfología normal), en comparación con esos machos cuando eran sanos.

4.3. Objetivo general (I)

Evaluar el efecto del parásito *Gyrodactylus* sobre el comportamiento sexual y la calidad espermática de guppies machos.

4.4. Objetivos particulares (I)

- Evaluar si el parasitismo reduce el comportamiento sexual en guppies machos (latencia al comportamiento, esfuerzo de apareamiento, balanceos del gonopodio, mordidas, tiempo de seguimiento a la hembra y elección de pareja).

- Evaluar si el parasitismo reduce la calidad espermática en guppies machos (número de paquetes espermáticos, concentración, movilidad, viabilidad, velocidad y morfología).

Pregunta de investigación II: ¿Cuál es la relación entre el comportamiento sexual de los machos y la transmisión de Gyrodactylus de machos parasitados a hembras sanas?

4.5.Hipótesis (II)

La transmisión de ectoparásitos de un hospedero a otro depende de la cercanía física entre ambos, como ocurre durante el apareamiento. Por lo tanto, se espera que el comportamiento sexual tenga una relación con la transmisión de parásitos entre machos y hembras guppies. En consecuencia, las preferencias de apareamiento durante la elección de pareja de un macho aumentarán la probabilidad de transmisión del parásito al tipo de hembra preferida.

4.6.Predicción (II)

A comportamiento sexual que una hembra reciba, mayor será la carga parasitaria con la que esta hembra será infectada. Dado que en condiciones normales los machos tienden a preferir hembras más grandes, la carga parasitaria será mayor en hembras grandes en comparación de hembras chicas después de la interacción con un macho guppy parasitado.

4.7.Objetivo general (II)

Evaluar si la elección de pareja de los machos está relacionada con la transmisión del parásito *Gyrodactylus* entre machos parasitados y hembras sanas guppies.

4.8.Objetivos particulares (II)

- Cuantificar el comportamiento sexual (i.e. la frecuencia y la duración de cortejos, la frecuencia de las cópulas forzadas, la frecuencia de los balanceos de gonopodio, el tiempo cerca de la hembra y el tiempo de seguimiento a la hembra) que los machos parasitados realizan a hembras sanas de diferente tamaño (i.e. hembras grandes y chicas).

- Cuantificar el número de parásitos en hembras grandes y pequeñas, posterior al contacto con machos parasitados.
- Evaluar si existe una relación entre los comportamientos sexuales que las hembras reciben de machos parasitados, y la carga parasitaria de ellas posterior al contacto con dichos machos.

5. METODOLOGÍA

5.1. Poblaciones de estudio

Los guppies (*Poecilia reticulata*) son una especie de peces dulceacuícolas tropicales con fecundación interna, sistema de apareamiento promiscuo, sin cuidado parental y con alta competencia espermática (Houde 1997; Figura 1A). En estado silvestre viven en promedio dos años, alcanzando su madurez sexual a las cinco semanas, dependiendo de la población de estudio (Houde 1997). Poseen alto dimorfismo sexual, con machos más pequeños (Longitud estándar (LE): 1.5-2.5 cm) que las hembras (LE: 2.5-4.5 cm); Houde 1997). El desarrollo embrionario es de aproximadamente un mes y las hembras pueden llegar a parir hasta 20 crías (Houde 1997).

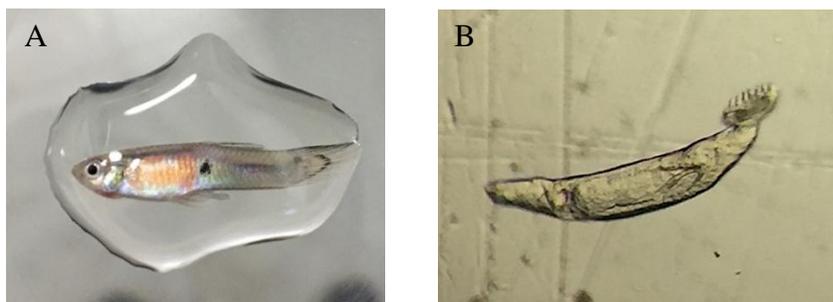


Figura 1. A: Macho guppy (*Poecilia reticulata*). B: Micrografía óptica donde se observa un parásito *Gyrodactylus* grávido mostrando los ganchos de la cría en su útero (aumento de 5x).

Los machos tienen un gonopodio o aleta anal modificada para la transferencia de esperma (ver Rodd y Sokolowski 1995). Otra diferencia entre los sexos es que los machos presentan coloración naranja compuesta por pigmentos carotenoides y drosópteras que obtienen de la dieta, y otros tipos de coloración como iridiscente y negra, las cuales se heredan a través del cromosoma “Y” (Magurran 2005). Las hembras tienen pigmentación oscura en el área del gonoporo que se encuentra en la base de la aleta anal (Houde 1997, Stephenson y cols. 2016).

Los machos exhiben dos tácticas de apareamiento, el cortejo y la cópula forzada. El cortejo ocurre frente a la hembra, se trata de un despliegue donde el cuerpo toma la forma de S, por lo que se denomina sigmoide, donde el macho extiende las aletas al realizar movimientos vibratorios con su cuerpo (Houde 1997; Figura 2A). La cópula forzada es una táctica de inseminación sin consentimiento aparente de la hembra, que consiste en el intento

del macho de introducir su gonopodio en el gonoporo de la hembra sin cortejo previo (Figura 2B).

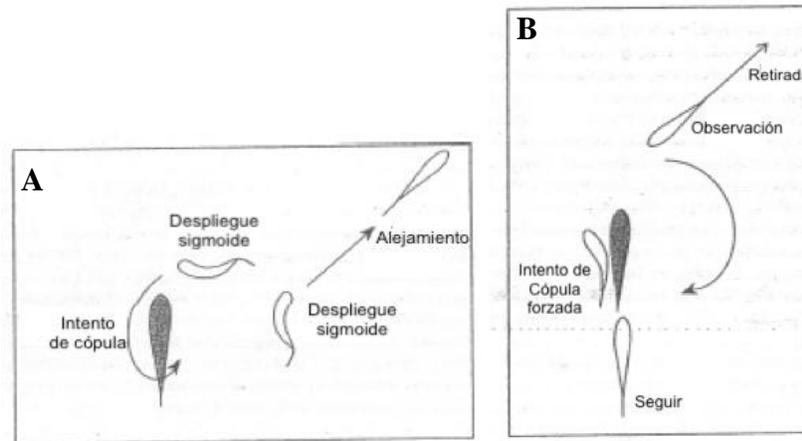


Figura 2. A. Esquema del comportamiento de cortejo. El macho (blanco) se coloca en frente o a un costado de la hembra (gris) y ejecuta el despliegue sigmoide cerca de ella, para después rodearla e intentar copular con ella o alejarse. B. Esquema del comportamiento de intento de cópula forzada, donde el macho intenta por un costado de la hembra introducir su gonopodio en el gonoporo sin previo cortejo. Modificado de Houde (1997).

Para este experimento, se colectaron machos y hembras guppies silvestres (n~360) de un estanque ubicado en la localidad de Tehuixtla, estado de Morelos, con presencia de selección natural y sexual, ya que los peces experimentan depredación, forrajeo natural, competencia interespecífica y elección de pareja. Posteriormente fueron trasladados al Laboratorio de Ecología Evolutiva de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla (BUAP) en diciembre de 2015. Los peces se colocaron en cuatro tanques de 120 L equipados con grava, flujo de aire y temperatura del agua constante (24 ± 1 °C), bajo un régimen de luz-obscuridad de 12:12 h y alimentados con hojuelas comerciales dos veces al día (Figura 3).

Cada dos semanas se realizó limpieza de la superficie y semanalmente cambio de un tercio de agua para mantener en óptimas condiciones el medio para los peces y lograr su aclimatación. Todos los peces utilizados en el proyecto fueron sexualmente maduros, sin previa experiencia en otros experimentos y desparasitados antes del experimento, además de que no se encontró presencia de *Gyrodactylus* inicialmente. Las hembras que se usaron no eran receptivas y no estaban familiarizadas con los machos, lo que ayudó a estandarizar la respuesta de las hembras a los machos experimentales (Guevara-Fiore y cols. 2010).



Figura 3. Tanques de la población de guppies en el laboratorio.

Diez días después de la colecta, se seleccionó una muestra (n= 60) para su revisión bajo anestesia en microscopio óptico a 5x, con el fin de buscar parásitos externos e internos, en la cual no se observó presencia de *Gyrodactylus*. La anestesia en este procedimiento, y en los subsecuentes, consistió en una disolución de aceite de clavo (*Eugenia caryophyllus*, 20 mg/L) y alcohol en proporción 1 a 9 aforada a 1L de agua a 10 °C; esta práctica no resulta nociva para los guppies (Perdikaris y cols. 2010) o los parásitos (Sutili y cols. 2014).

Se observó presencia de protozoarios endoparásitos en el 99% de las muestras revisadas a través de la disección de peces que no sobrevivieron al traslado, por lo que toda la población fue desparasitada usando WormKrush© para endoparásitos (Levamisol 99%, Subquaria®), y para ectoparásitos Tetra ParasiteGuard© (Praziquantiel, Diflubenzuron, Metronidazol, Acriflavina, Tetra®). No se observó mortalidad durante el proceso de desparasitación.

El parásito más estudiado y más prevalente en el guppy es *Gyrodactylus sp.* (Figura 1B), un género de ectoparásitos monogéneos multicelulares (Lyles 1990, Van Oosterhout y cols. 2007, Stephenson y cols. 2015) de tamaño pequeño (~200 µm) y con ciclo directo (i.e. sin hospederos intermediarios) (Bakke y cols. 2007), que cuenta con aproximadamente 400 especies descritas en peces teleósteos (Harris y cols. 2000), de los cuales 11 ocurren en poecílidos (García-Vázquez y cols. 2015) y tres especies (*G. turnbulli*, *G. bullatrudis* y una críptica) en guppies (Xavier y cols. 2015). Estos parásitos son vivíparos hermafroditas con reproducción asexual (Cable y cols. 2002, King y Cable 2007). Exhiben progénesis extrema (madurez sexual antes de alcanzar la adultez), donde un parásito puede desarrollar en su

útero hasta tres generaciones viables, una dentro de la otra (Cable y cols. 2002, Bakke y cols. 2007). Este proceso se lleva a cabo en un tiempo corto (24 a 36 h) y puede resultar en un crecimiento explosivo de las poblaciones de parásitos (Cable y cols. 2002 lo que potencialmente causa tasas de mortalidad del 75% de los guppies en condiciones silvestres (Van Oosterhout y cols. 2007).

En México, se ha documentado la ocurrencia de *G. salmonis* en trucha *Oncorhynchus mykiss* (Rubio-Godoy y cols. 2012), de *G. pakan* y *G. taken* en el tetra *Astyanax aeneus* (Razo-Mendivil y cols. 2014), así como la descripción de dos especies nuevas en *Xiphophorus hellerii* (*G. jarocho*) y *Heterandria bimaculata* (*G. xalapensis*) (Rubio-Godoy y cols. 2010). También se ha documentado la descripción de ocho especies del género en poecílidos, incluyendo *P. reticulata*, además de la revisión y rectificación de errores en la descripción de *G. bullatarudis* (García-Vásquez y cols. 2015).

Gyrodactylus se adhiere a su hospedero mediante el prohaptor, una estructura consistente en ganchos que se localizan en el extremo posterior de su cuerpo; así se daña la superficie de la piel y principalmente en la aleta caudal, que es la zona que prefieren en nuevos hospederos (Van Oosterhout y cols. 2003, Bakke y cols. 2007). Se alimentan del epitelio y del moco que producen los hospederos, que es el producto de la activación de la defensa inmune primaria (Bakke y cols. 2007).

Este ectoparásito se transmite a través del contacto directo con peces parasitados tanto vivos como muertos, y su característica reproducción le permite un aumento súbito de la carga parasitaria, lo que permite la colonización de múltiples zonas del hospedero en periodos breves de tiempo y facilita la transmisión exitosa a otros hospederos (Cable y cols. 2002, Johnson y cols. 2011). La transmisión también depende de factores asociados a características de los hospederos como la experiencia de infecciones previas de los hospederos (memoria inmunitaria), lo que incrementa la velocidad a la que *Gyrodactylus* se disemina, incrementando su virulencia y su potencial epidémico (ver Stephenson y cols. 2016). Se ha observado de manera menos frecuente y poco documentada, que pueden transmitirse a través de la película de agua donde se fijan por periodos breves de tiempo (ver Bakke y cols. 2007, Cable y van Oosterhout 2007).

Para este proyecto, el ectoparásito *Gyrodactylus* se obtuvo de poblaciones de peces comerciales. Se obtuvieron cinco guppies domésticos obtenidos del acuario “*Aquapets*” del estado de Tlaxcala, que fueron trasladados al Laboratorio de Ecología Evolutiva BUAP en

marzo de 2016. Se corroboró que se encontraban parasitados con *Gyrodactylus* (<10 parásitos) bajo anestesia en microscopio óptico, y se colocaron en un tanque con alta densidad de guppies (>40 en 40 L) en condiciones estándar, donde cada semana se agregaron tres peces sin parásitos para mantener y aumentar la población de *Gyrodactylus* (ver Lyles 1990).

5.2. Diseño experimental

En el experimento se registró el comportamiento y la calidad espermática de machos asignados a dos tratamientos, no parasitados y parasitados. En el tratamiento de machos no parasitados, los machos se expusieron solamente a agua y fueron manipulados de manera similar a los machos parasitados. En el tratamiento de machos parasitados, se expusieron a agua más *Gyrodactylus*. En las siguientes secciones se detalla cada una de las metodologías utilizadas durante el diseño experimental. Para la medición de la calidad espermática se utilizaron medidas repetidas, antes y después de aplicar el tratamiento, mientras que el comportamiento sexual de los machos se midió una sola vez, después del tratamiento (Figura 5).

El experimento comenzó con la obtención del peso (g) y la talla (cm) para el cálculo del índice de condición corporal (K), y la búsqueda de ectoparásitos de 64 guppies machos seleccionados aleatoriamente de la población. Los parásitos se buscaron con ayuda de un microscopio óptico *Leica* en aumento de 10x. Se corroboró que al inicio del experimento los machos no tenían ectoparásitos. Los machos asignados a los tratamientos no mostraron diferencias significativas con base en el índice de condición corporal K (No parasitados: 0.0027 ± 2.216^{-06} , Parasitados: 0.0025 ± 2.216^{-06} ; t-test: $t_{1,99} = 1.79$, $P < 0.078$).

Posteriormente, se aislaron a los machos bajo condiciones estándar en grupos de cuatro machos contenidos en un tanque de 15 L para su aclimatación durante 7 días para asegurar la disponibilidad de su carga espermática completa (ver Devigili y cols. 2012). Para estimular la producción espermática (Bozynski y Liley 2003), los tanques de aislamiento (32 x 15 x 27 cm) contaron con un contenedor de 7 x 7 x 25 cm transparente con orificios (Figura 4A) en el cual se colocó un par de hembras guppies sexualmente maduras y no receptivas, con las cuales los machos tuvieron intercambio de señales visuales y químicas. Los cuatro machos aislados difirieron en sus patrones de coloración lo que nos permitió

identificarlos posteriormente, y también con la ayuda de las fotografías que se obtuvieron de cada uno.

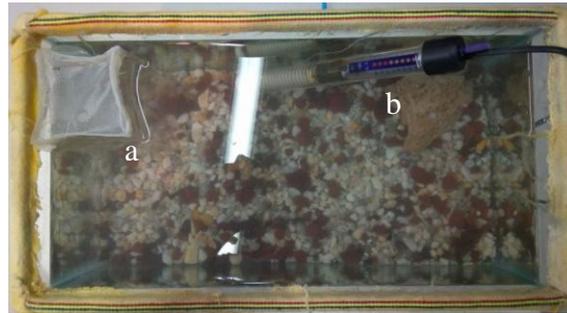


Figura 4. Vista superior del tanque de aislamiento de machos con un compartimiento de aislamiento para hembras (a) y un calentador (b).

Después del periodo de aclimatación de siete días, se obtuvo una muestra de esperma de cada macho bajo anestesia para medir su calidad espermática. Posteriormente, la mitad de los machos se asignaron a cada uno de los dos tratamientos, parasitados y sanos sin parásitos. A partir de este momento tuvimos dos grupos de machos, parasitados y no parasitados (Figura 5). Veinticuatro horas después del tratamiento, se cuantificó el número de parásitos presentes en cada uno de los machos y se llevaron a cabo las pruebas de comportamiento sexual en las que un macho interactuó con un par de hembras de distinto tamaño (Figura 5). Para evaluar si el comportamiento sexual del macho tuvo alguna relación con la transmisión de *Gyrodactylus* de machos parasitados a hembras sanas, se utilizaron solamente las hembras expuestas a machos del tratamiento experimental (ver detalles más adelante).

A los 7 días después de aplicar los tratamientos, se procedió a tomar la segunda muestra de esperma en cada macho, siguiendo la misma metodología que se utilizó en la primera toma de muestra y también se llevó a cabo un segundo conteo de parásitos en los machos (Figura 5).

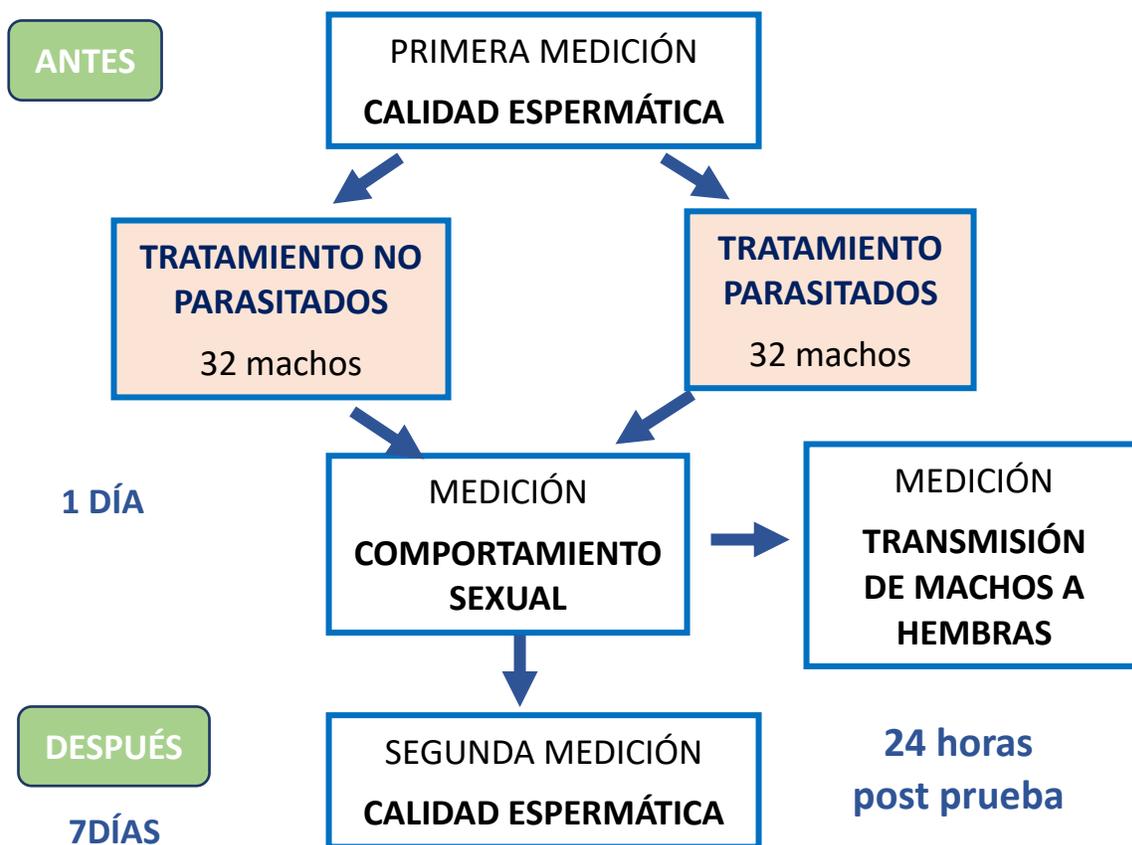


Figura 5. Diagrama que describe el diseño experimental. La medición de la calidad espermática se realizó en antes y después de la aplicación del tratamiento (no parasitados o parasitados), mientras que la medición del comportamiento sexual y la cuantificación de los parásitos transferidos de machos parasitados a hembras sanas se realizó una vez.

5.3. Parasitación experimental

Los peces previamente parasitados, se anestesiaron y fueron observados bajo microscopio óptico. Se seleccionaron los peces que tuvieron más de 10 parásitos (Stephenson y cols. 2015), y por medio de cepillado se separaron solamente dos parásitos. Los parásitos fueron extraídos con pipetas de transferencia y se depositaron en recipientes de 10 ml donde se colocó a un macho del tratamiento experimental para que se parasitara (Figura 6A). Esta carga parasitaria se utilizó como carga inicial para los machos parasitados.

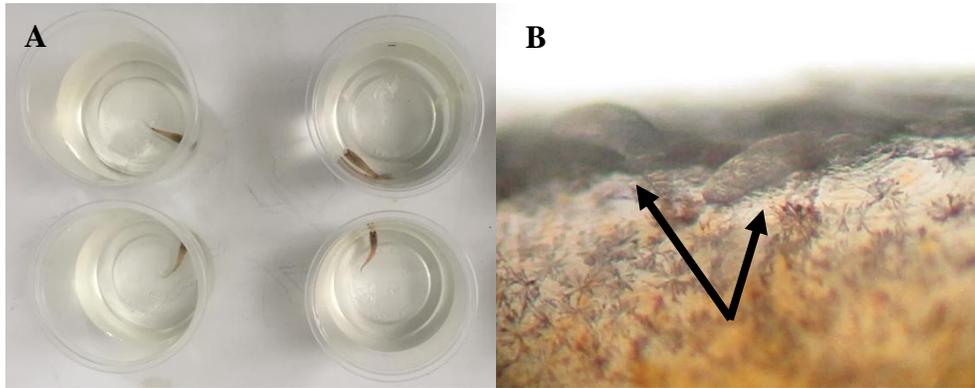


Figura 6. A. Machos aislados individualmente para parasitación experimental. B. Piel de un macho parasitado donde se aprecian los dos *Gyrodactylus* (micrografía óptica en aumento 5x).

Posterior a un tiempo de exposición a los parásitos de 10 ± 3 min, los machos expuestos al parásito se anestesiaron para confirmar que los dos parásitos estuvieran fijados a los machos mediante su observación con microscopio óptico (Figura 6B). Los machos no parasitados fueron tratados idénticamente, pero sin exponerlos a *Gyrodactylus*.

5.4. ¿Cómo el parasitismo afecta el comportamiento sexual y la calidad espermática en guppies machos?

5.4.1. Evaluación de la condición corporal

El peso de cada macho se obtuvo con una balanza analítica *Velab Laboratories* y la longitud estándar (LE, distancia en centímetros de la boca al pedúnculo caudal) se obtuvo con las fotografías digitales de cada macho con el programa ImageJ (v. 1.50i, descarga: <http://rsbweb.nih.gov/ij/>). Para conocer la condición corporal de los machos, se obtuvo la relación longitud-peso, la cual es una regresión potencial de la relación entre dichas variables.

Se utilizó la ecuación: $WT = a L^b$ (ver Froese 2006), en donde WT es el peso total del pez en gramos, a es una constante de regresión equivalente al factor de condición (K), L es la LE en centímetros y b es el coeficiente de crecimiento de la regresión. Con los valores de a y b , se obtuvo el factor de condición (K) por medio la ecuación $K = Wt * Lb$ (ver Froese 2006). Se calculó el índice K antes y a final del experimento para cerciorarnos de que no cambiara durante el tiempo del experimento. Dado el poco tiempo de parasitismo que evaluamos (7 días) no esperábamos que este valor cambiara en nuestros machos.

5.4.2. Pruebas de comportamiento sexual

Al día siguiente del inicio de los tratamientos (Figura 5), se observó a cada macho con un par de hembras de diferente tamaño durante 30 minutos en un tanque de 8 L (Figura 7) donde interactuaron libremente. La hembra chica midió en promedio la misma longitud estándar que el macho (LE: 1.240 ± 0.09), y la hembra grande 5.5 mm más grande que la hembra chica (LE: 1.802 ± 0.01). Se ha observado que los guppies machos tienden a preferir hembras de mayor tamaño (Houde 1997, Herdman y cols. 2004). Todas las pruebas de comportamiento se realizaron en el horario de 8:00 a 12:00 h, el intervalo de mayor actividad sexual para los guppies (Houde 1997).

En todas las pruebas hubo un solo observador (Luis Enrique Muñoz Atonal), quien se colocó detrás de una cortina color negro que permitía la observación a través de un orificio para no generar estrés a los peces. Los datos se colectaron utilizando el programa BORIS (Friard y Gamba 2016).

Las pruebas comenzaron con la aclimatación de las dos hembras durante 25 minutos en el tanque de observación. Posteriormente se colocó el macho y se inició la prueba donde se registraron los siguientes comportamientos: **1)** Latencia al primer comportamiento (tiempo transcurrido entre el inicio de la prueba al registro del primer comportamiento sexual), **2)** Frecuencia de cortejo (número de veces que un macho realiza un despliegue sigmoide), **3)** Frecuencia de intentos de cópula forzada (número de intentos de intromisión del gonopodio sin cortejo previo) **4)** Frecuencia de balanceo de gonopodio (número de veces que el gonopodio se movió), **5)** Frecuencia de mordidas (número de veces que los machos colocaron su boca en el gonoporo de la hembra), **6)** Tiempo cerca de la hembra (tiempo que invierte el macho en colocarse a un cuerpo de distancia de la hembra). Liley (1966) realiza una descripción más detallada del comportamiento sexual de los guppies.

Con los datos registrados se calculó tanto el esfuerzo de apareamiento como la elección de pareja de los machos en ambos tratamientos de la siguiente forma:

- 1. Esfuerzo de apareamiento.** Se sumaron las frecuencias de los comportamientos de cortejo e intentos de cópula forzada, lo que nos dio la actividad total realizada a ambas hembras por cada macho durante las pruebas de comportamiento.

- 2. Elección de pareja.** Se tomó la diferencia de un comportamiento dirigido a la hembra grande (G) menos el mismo comportamiento hacia la hembra chica (C). Si la diferencia obtenida de un comportamiento (G-C) es igual a cero, la preferencia del macho es igual para las dos hembras. Si la diferencia es mayor que cero la preferencia está dirigida hacia la hembra grande y si es menor que cero la elección del macho es hacia la hembra chica.

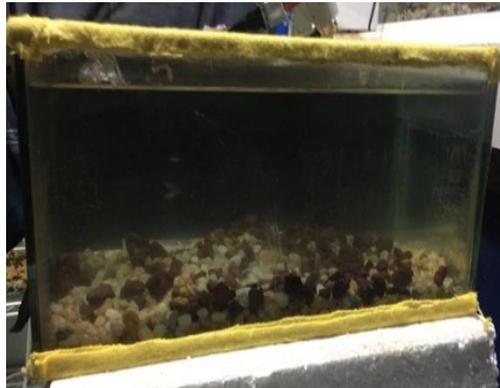


Figura 7. Tanque de observación utilizado para las pruebas de comportamiento sexual de los guppies machos.

5.4.3. Evaluación de la calidad espermática

Los machos anestesiados fueron colocados en una caja de Petri con solución salina (NaCl 0.9 %) y se extrajo una muestra de esperma mediante dos ligeras presiones en el abdomen de cada macho siguiendo la técnica de Matthews y cols. (1997) ampliamente utilizada en otros estudios (Gasparini y cols. 2014, Devigili y cols. 2012 y 2015, Rahman y cols. 2013) (Figura 8). Se colectaron 100 μL de la disolución en tubos Eppendorf etiquetados con la identidad de cada macho, con la cual se obtuvieron los parámetros de viabilidad, movilidad, velocidad, concentración (células/ μL) y morfología espermática, de los cuales se detallan más adelante.

Las medidas de calidad espermática se realizaron bajo la supervisión de la Dra. Rosalina Reyes Luna, jefa del laboratorio de Biología de la Reproducción de la Facultad de Ciencias Biológicas de la BUAP.



Figura 8. Imagen donde se observa la extracción de esperma de un guppy macho mediante presión abdominal.

5.4.3.1. Paquetes espermáticos

Se cuantificaron los paquetes espermáticos del total de la muestra de esperma obtenida de cada macho utilizando un microscopio estereoscópico *Velab laboratories* (Figura 9).



Figura 9. Micrografía estereoscópica a 5x donde se observan los paquetes espermáticos en una de las muestras.

5.4.3.2. Concentración espermática

La concentración de la muestra obtenida nos permite saber el número de espermatozoides presentes en un μL y en el total en la muestra. La muestra de espermatozoides se homogenizó previamente a la toma de la alícuota ($100 \mu\text{L}$) para realizar el conteo en una cámara de Neubauer (hemocritómetro). Se tomaron $10 \mu\text{L}$ para llenar la cámara y se dejó reposar 5 minutos para dejar sedimentar las células. Los espermatozoides se contaron en los 25 cuadros de la cuadrícula central de la cámara bajo un microscopio óptico a 40x. Para determinar el número de células por μL y por la muestra total, el número de células contadas en los 25 cuadros se multiplicó por 10 000, que representa el volumen de la

cámara en cm^3 , y posteriormente se multiplicó por el volumen total de la muestra (Mahmoud y cols. 1997, Brazil y cols. 2004).

5.4.3.3. *Movilidad espermática*

La cuantificación de la movilidad refleja la capacidad del espermatozoide para poder desplazarse, lo que en condiciones naturales le permite al espermatozoide encontrar y posteriormente penetrar el ovocito. Se obtuvo 10 μL de la disolución y se añadió una solución activadora de 150 mmol/L de Cloruro de Potasio (KCl) y 4 mg/mL de albúmina suero fetal bovino (SFB) (Billard y Cosson 1992). Se tomaron 10 μL de la muestra recién obtenida y homogeneizada a la que se le colocó un cubreobjetos para obtener una distribución uniforme de la muestra que se observó en aumento de 40x bajo microscopio óptico. Se realizó un conteo mínimo de 200 espermatozoides en diferentes campos al azar, y se registró el porcentaje de células móviles e inmóviles (ver Cooper 2007).

5.4.3.4. *Viabilidad espermática*

La viabilidad de los espermatozoides nos proporciona información sobre el número de espermatozoides vivos. Se obtuvieron 20 paquetes espermáticos de cada muestra y se depositaron en 50 μL de la solución de NaCl 0.9% y se adicionó 50 μL de disolución Diacetato de Fluorosceína (FDA) y 10 μL de Yoduro de Propidio (IP). Posteriormente, la muestra se agitó y en un portaobjetos se colocó 10 μL y un cubreobjetos, y se observó inmediatamente en un microscopio de fluorescencia *Nikon Y-FL* a 100x para obtener el porcentaje de las células vivas y muertas en un mínimo de 200 células en total, en diferentes campos seleccionados al azar. Se reportó el porcentaje de células vivas y muertas (Gasparini y cols. 2014; Figura 10).

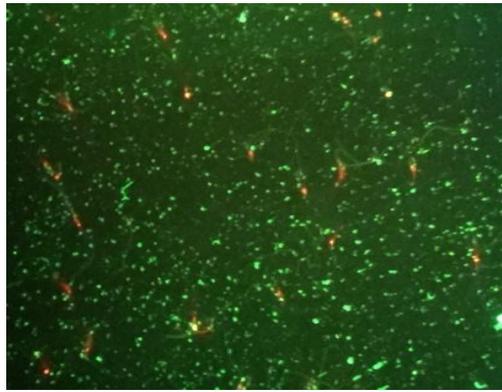


Figura 10. Micrografía óptica de fluorescencia a 100x donde se muestran espermatozoides vivos (coloración verde) y muertos (coloración roja).

5.4.3.5. Velocidad espermática

La velocidad es, en peces con fertilización interna, la capacidad de un espermatozoide de recorrer en un tiempo determinado la distancia entre la zona del útero hasta el ovocito, y similar a la movilidad, es un parámetro de competitividad en guppies por alcanzar el éxito de fertilización (ver Boschetto y cols. 2011). Se utilizó una cámara *iSight* (apertura $f/2.2$, chip CMOS, 10x, Apple Inc.) con la que se obtuvieron videos de los espermatozoides en movimiento (5 segundos) utilizando un microscopio óptico de campo claro (Leica DME, Leica Microscopies) a 40X, siguiendo el protocolo de Wilson-Leedy e Ingerman (2007) (<https://imagej.nih.gov/ij/plugins/docs/CASAinstructions.pdf>).

Los videos en formato *.mov* fueron convertidos a formato *.avi* utilizando el programa de libre acceso Leawo Video Converter (v.7.6.0. 2006-2017 Leawo[®] Software) y posteriormente a formato *.zvi* utilizando el programa Zeiss AxioVision (v. 4.8.2.0, 2006-2010, Carl Zeiss Microimaging), el cual transformó cada video en cuadros por segundo en formato *.jpeg*.

Los videos fueron analizados utilizando el complemento CASA (Computer Assist Sperm Analysis) de ImageJ y se consideraron los parámetros: **1)** VAP (velocidad promedio de la ruta en todos los cuadros medidos, $\mu\text{m/s}$), **2)** VSL (velocidad en línea recta, $\mu\text{m/s}$), **3)** VCL (velocidad curvilínea de cada cuadro por segundo, $\mu\text{m/s}$), **4)** LIN (linealidad, VSL/VAP), **5)** WOB (oscilación, VAP/VSL) y **6)** PROG (Progresión de un punto a otro de todos los cuadros por segundo. VAP promedio en todos los cuadros por segundo analizados) (Figura 11). Todas las extracciones de esperma se realizaron en el horario de 8:00 a 12:00 h.

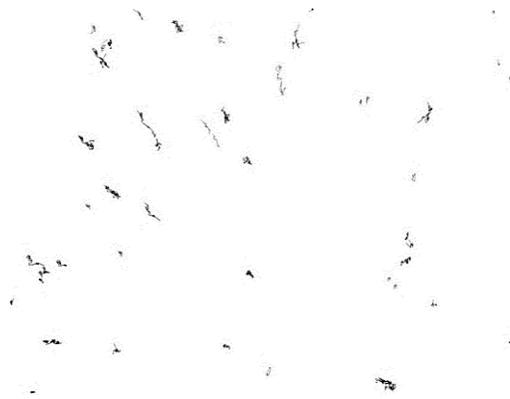


Figura 11. Micrografía óptica a 10x utilizada para cuantificar los parámetros de velocidad con el complemento CASA de ImageJ. Se muestra el patrón de movimiento como una línea oscilante negra y las cabezas de los espermatozoides.

5.4.3.6. Morfología espermática

Se obtuvieron imágenes digitales de un campo que contuvo como mínimo 20 espermatozoides de cada muestra de esperma bajo aumento de 100x (Leica DM1000 microscope) usando una cámara digital (Canon EOS Rebel T5i). Se utilizó el programa *ImageJ* para medir **1)** Longitud total, **2)** Longitud cabeza, **3)** Longitud pieza media y **5)** Longitud flagelo en μm (Gasparini y cols. 2014; Figura 12).



Figura 12. Micrografía óptica a 10x donde se observan espermatozoides para la evaluación de la morfología.

5.5. *¿Cuál es la relación entre el comportamiento sexual de los machos y la transmisión de Gyrodactylus de machos parasitados a hembras sanas?*

Derivado de las pruebas de comportamiento sexual con los machos parasitados, se estudió el efecto del comportamiento sexual del macho parasitado sobre la transmisión de parásitos a las hembras sanas, las cuales se encontraban libres de *Gyrodactylus* antes de las pruebas de comportamiento sexual. Cada una de las hembras expuestas a los machos parasitados se

observaron 24 horas después de haber interactuado con el macho parasitado usando para ello un microscopio óptico con aumento de 40x con el fin de cuantificar el número de parásitos en cada una de ellas (Figura 13).

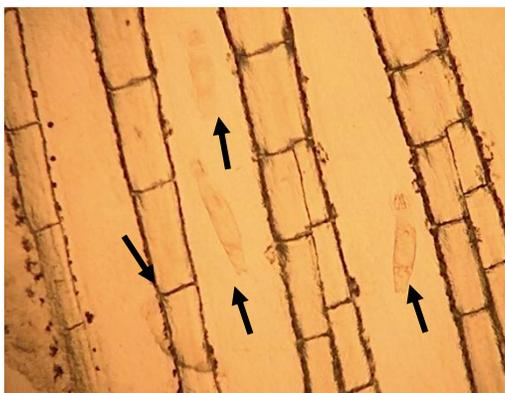


Figura 13. Micrografía óptica a 5x donde se observa la aleta caudal de una hembra parasitada con cuatro *Gyrodactylus* (señalados con flechas negras) 24 h después de las pruebas de comportamiento sexual.

5.6. Análisis de datos

Todos los análisis se llevaron a cabo en el programa estadístico *RStudio* (RStudio Team 2015).

5.6.1. Condición corporal de los machos durante el experimento

Para evaluar que la condición corporal (K) de machos sanos y parasitados no haya cambiado a lo largo del experimento, se realizó un modelo lineal generalizado mixto (GLMM), que permitió observar si existen diferencias en la condición comparando los dos tratamientos y los dos tiempos de medición, utilizando la identidad de los machos como factor aleatorio y las mediciones de la condición (antes y después del tratamiento) como factor fijo.

5.6.2. Efecto del parasitismo sobre el comportamiento sexual

El comportamiento se registró solo una vez, posterior a la aplicación del tratamiento, de modo que comparamos el comportamiento de machos sanos con el de machos recientemente parasitados. Se utilizaron modelos generalizados (GLM) tipo *zero-inflated*

con ajuste de distribución de error de tipo Poisson, porque el número de valores de cero (ausencia de comportamiento) fue muy alto. Se analizó tanto el esfuerzo de apareamiento como la elección de pareja (frecuencia).

5.6.3. Efecto del parasitismo sobre la calidad espermática

Se obtuvieron dos muestras de espermatozoides de los machos, antes y después de los tratamientos. Por ello, para evaluar el efecto del parasitismo sobre la calidad espermática, se utilizó un GLMM para cada una de las variables de calidad espermática medidas en ambas ocasiones. Además, se utilizó la identidad del macho como factor aleatorio, con la finalidad de observar el efecto del tratamiento y del tiempo, así como la interacción entre ambos.

La velocidad y la longitud espermática fueron descritas con varios parámetros (7 y 4 parámetros respectivamente), por lo que se realizó un análisis de componentes principales (PCA) para reducir el número de variables que posteriormente se utilizaron en un GLMM.

Se ajustó la distribución de error de la variable dependiente para cada modelo. En el caso de los paquetes espermáticos, se utilizó el ajuste de distribución binomial negativo para controlar la sobre dispersión y para las variables que fueron continuas o proporciones (todas las demás variables) se utilizó un ajuste de distribución Gamma.

5.6.4. Efecto del comportamiento sexual en la transmisión de parásitos a las hembras

Para evaluar si la transmisión de *Gyrodactylus* a cada una de las dos hembras que interactuaron con el macho parasitado está relacionada con el comportamiento sexual del macho durante las pruebas de comportamiento, primero se realizó un análisis de correlación para descartar aquellas variables que no tuvieron una asociación significativa con el número de parásitos en las hembras. Posteriormente, las variables que sí estuvieron correlacionadas de forma significativa, se integraron en un GLMM con distribución de error tipo Poisson.

En este modelo se utilizó el número de parásitos que se encontraron en el par de hembras expuestas a cada macho, en función de cada uno de los comportamientos del macho (intento de cópula forzada, mordida, aproximación, seguimiento), el número de parásitos cuantificados en los machos previo al inicio de las pruebas de comportamiento sexual y el

tamaño de cada hembra, chica o grande, como variables de efecto fijo, y como variable de efecto aleatorio la identidad del par de hembras expuestas a cada macho.

Este experimento fue diseñado para evaluar dos tratamientos diferentes. Sin embargo, como se cuantificó el número de parásitos en todos los machos (antes de las pruebas de comportamiento sexual y antes de la segunda medición de la calidad espermática), también se pudo evaluar el efecto del número de parásitos tanto en variables del comportamiento sexual como de la calidad espermática, utilizando solo machos parasitados.

Dicho análisis utilizó el mismo modelo estadístico que se describió anteriormente para cada una de las variables del comportamiento sexual y calidad espermática, reemplazando el factor tratamiento por ‘número de parásitos’ de cada macho en dichas mediciones, y utilizando la misma distribución de error. Los resultados de estos análisis, se detallan en el aparatado de “Anexo 2” y “Anexo 3”.

6. RESULTADOS

6.1. ¿Cómo el parasitismo afecta el comportamiento sexual y la calidad espermática en guppies machos?

6.1.2. Efecto del parasitismo en la condición corporal

El cuadro 1 muestra las variables de peso, talla e índice corporal (K) de los machos de ambos tratamientos. Los machos parasitados tuvieron una condición corporal similar a los machos del tratamiento de machos no parasitados ($t = -0.65$, $P = 0.51$), así como en las mediciones antes y después de generar los tratamientos ($t = -0.44$, $P = 0.66$). La variación explicada por los tratamientos fue de 0.22% y por los tiempos (primera o segunda medición) fue de 0.04%.

Cuadro 1. Número total de individuos, peso, LE y valores del índice K para los machos de ambos tratamientos.

Tratamiento	N	Tiempo	Peso (g) *	LE (mm) *	K Promedio
No parasitados	32	Antes	0.13 ±0.02	13.14 ±1.798	2e-05x ^{3.3585}
		Después	0.15 ±0.06	13.20 ±1.825	2e-05x ^{3.4245}
Parasitados	32	Antes	0.13 ±0.03	12.92 ±2.035	2e-05x ^{3.3765}
		Después	0.15 ±0.10	12.96 ±1.985	2e-05x ^{3.4343}

LE: Longitud estándar, K: índice de condición corporal, * Promedio ± error estándar

6.1.3. Efecto del parasitismo sobre el comportamiento sexual

El comportamiento sexual se midió solo una vez, 24 horas después de que los machos fueron parasitados (machos parasitados) o inoculados con agua (machos no parasitados).

6.1.3.1. Latencia al comportamiento

La latencia al comportamiento sexual no tuvo diferencias significativas entre los tratamientos de machos sanos y machos parasitados (GLM, $z = 0.41$, $P = 0.57$; Cuadro 2; Figura 14).

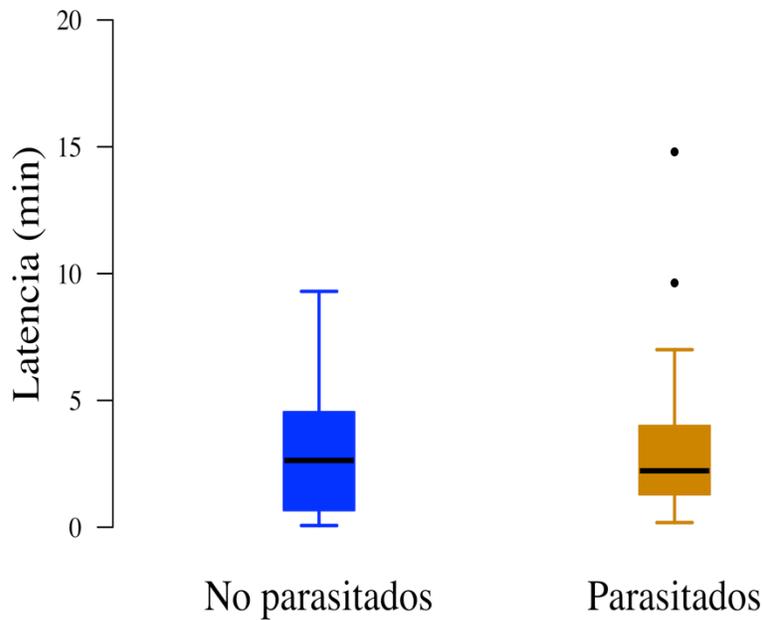


Figura 14. Latencia al comportamiento sexual de machos no parasitados y parasitados (n=64).

6.1.3.2 Esfuerzo de apareamiento

El esfuerzo de apareamiento, la suma del total de frecuencias de cortejo y de intentos de cópulas forzadas a ambas hembras, fue significativamente distinto entre machos sanos y parasitados (GLM, $z = -2.45$, $P = 0.01$; Cuadro 2). Los machos sanos mostraron mayor esfuerzo en comparación con los machos parasitados (Figura 15).

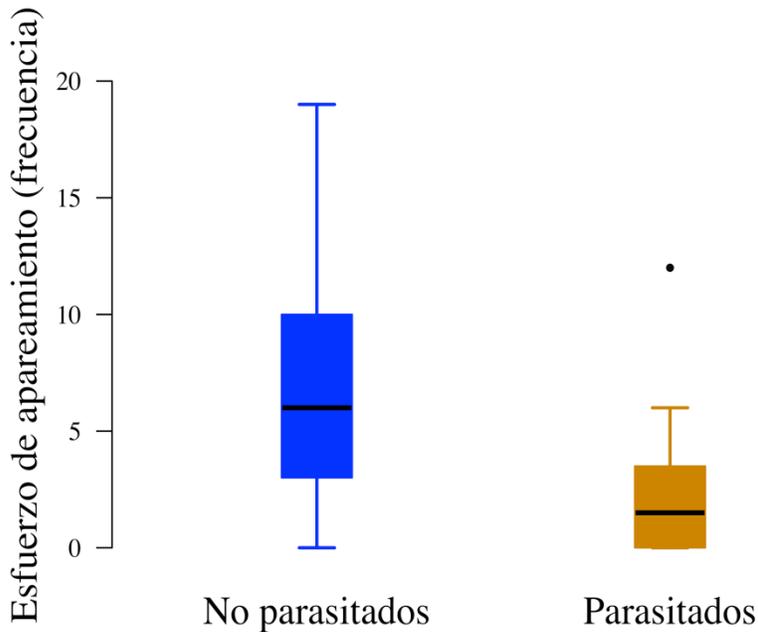


Figura 15. Esfuerzo de apareamiento de guppies machos no parasitados y parasitados (n=64).

6.1.3.3. Frecuencia de balanceo del gonopodio

Se encontraron diferencias significativas entre la frecuencia del balanceo de gonopodio de machos de diferentes tratamientos (GLM, $z = -3.35$, $P = 0.01$; Cuadro 2). Los machos parasitados mostraron menor frecuencia de balanceos de gonopodio en comparación con los machos sanos (Figura 16).

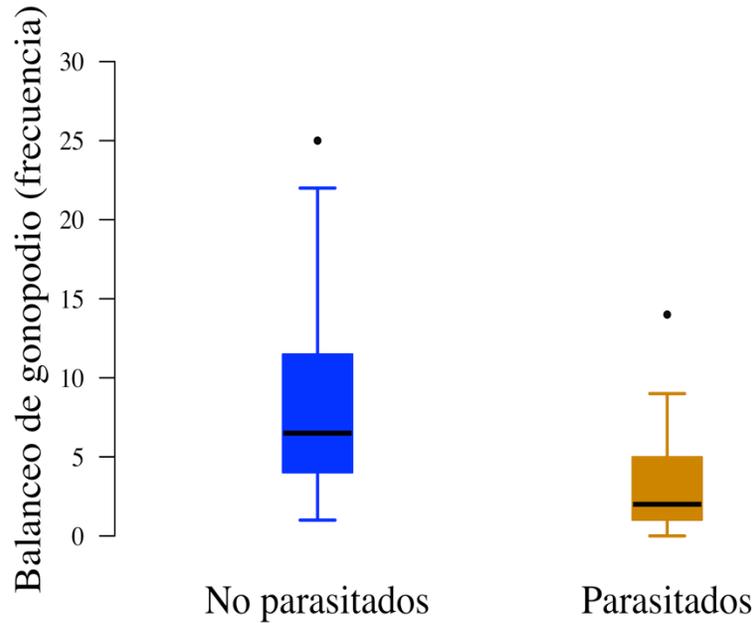


Figura 16. Frecuencia de balanceo de gonopodio de guppies machos no parasitados y parasitados (n=64).

6.1.3.4. Frecuencia de mordidas

La frecuencia de mordidas de machos hacia las hembras no tuvo diferencias significativas en ambos los tratamientos (GLM, $z = 0.41$, $P = 0.68$; Cuadro 2; Figura 17).

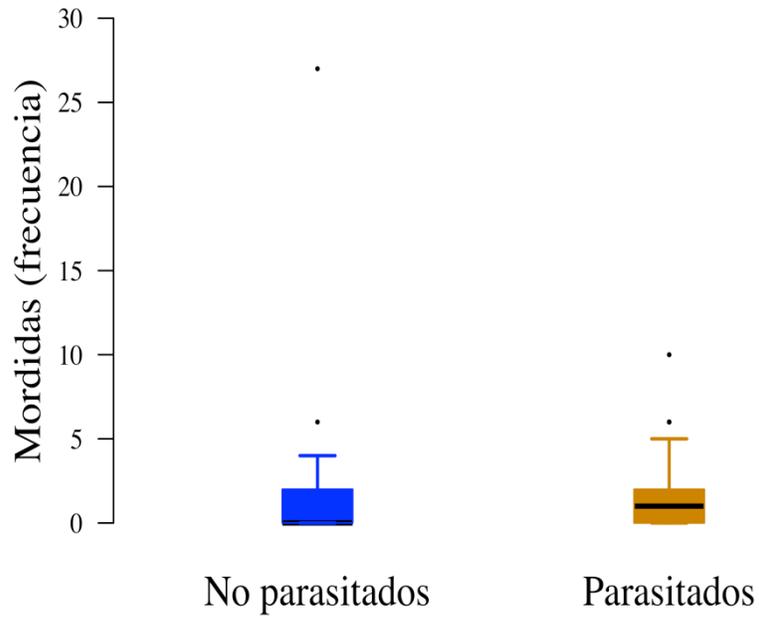


Figura 17. Frecuencia de mordidas de los guppies machos no parasitados y parasitados (n=64).

6.1.3.5. Tiempo cerca de la hembra

Respecto al tiempo que los machos pasaron cerca de las hembras, los machos parasitados tuvieron tiempo de aproximación mayor que los machos sanos (GLM, $z= 3.20$, $P= 0.02$; Cuadro 2; Figura 18).

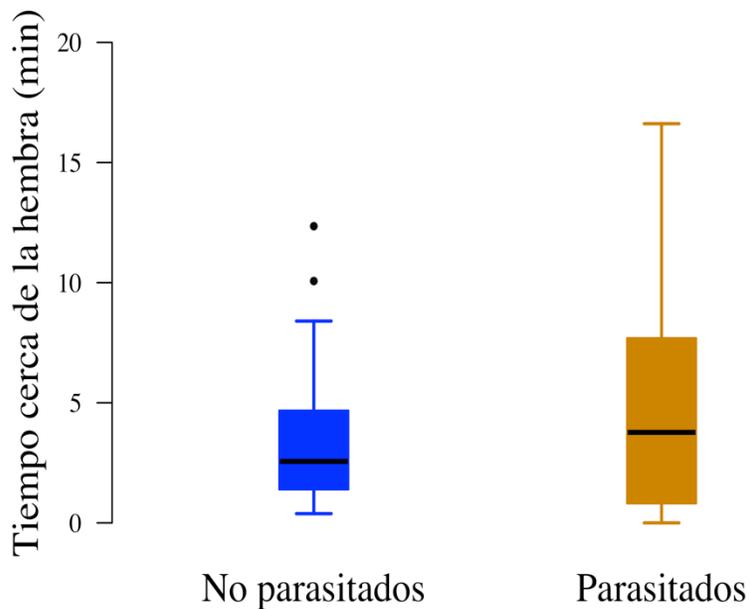


Figura 18. Tiempo cerca de la hembra (min) de guppies machos no parasitados y parasitados (n=64).

6.1.3.6. Elección de pareja

6.1.3.6.1. Cortejo

No se observó una preferencia significativa en la frecuencia de cortejo a la hembra chica o grande de los machos sanos y parasitados (GLM, $z = -0.57$, $P = 0.56$; Cuadro 2; Figura 19).

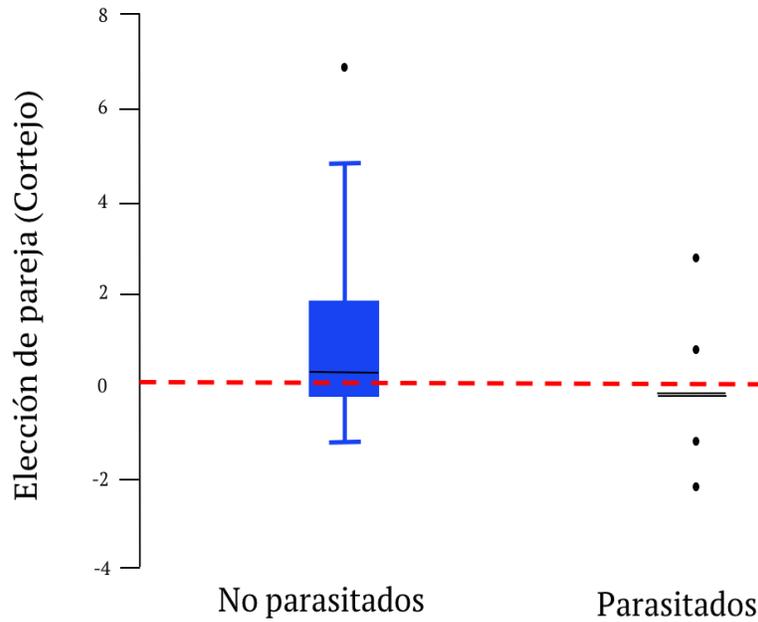


Figura 19. Despliegues de cortejo dirigidos a la hembra grande o chica (G-C) en guppies machos no parasitados y parasitados (n=64).

6.1.3.6.2. Intentos de cópula forzada

Los machos de ambos tratamientos no mostraron preferencia significativa por las hembras con respecto a su tamaño cuando realizaron intentos de cópula forzada, por lo que tanto las hembras grandes como las chicas recibieron la misma frecuencia de este comportamiento (GLM, $z = -1.30$, $P = 0.08$; Cuadro 2; Figura 20).

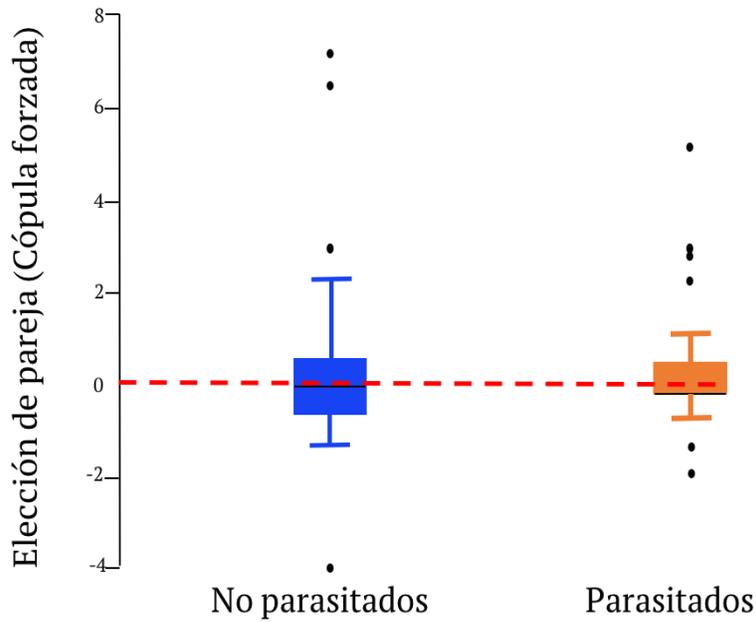


Figura 20. Intentos de cópula forzada dirigidos a la hembra grande o chica (G-C) en guppies machos no parasitados y parasitados (n=64).

Cuadro 2. Modelos generalizados de las comparaciones del comportamiento sexual de machos no parasitados y parasitados.

Término	g.l.	Devianza (X^2)	<i>P</i>	%
Latencia (min)		0.17	0.675	0.11
Error	62	150.91		99.88
Total	63	151.08		
Esfuerzo de apareamiento		57.7	0.01*	14.1
Error	62	351.5		85.89
Total	63	409.2		
Balances de gonopodio		80.47	0.01*	26.72
Error	62	220.6		73.27
Total	63	301.07		
Mordidas		0.7	0.785	0.27
Error	62	257.56		99.97
Total	63	257.63		
Elección de pareja (Cortejo)		6.25	0.25	2.09
Error	62	292.69		97.9
Total	63	298.94		
Elección pareja (Intentos de cópula forzada)		31.64	0.08	4.67
Error	62	645.59		95.32
Total	63	677.23		
Duración cortejo (min)		0.231	0.634	1.350
Error	62	16.869		98.64
Total	63	17.100		

Duración seguimiento (min)		2.02	0.174	0.996
Error	62	200.72		99.003
Total	63	202.74		
Duración tiempo cerca de la hembra(min)		5.02	0.02*	2.48
Error	62	196.72		97.51
Total	63	201.74		

Se muestra la devianza residual, total, el valor de P y el porcentaje de explicación de cada variable en el modelo.

6.1.4. Efecto del parasitismo en la calidad espermática

6.1.4.1. Paquetes espermáticos

No se observaron diferencias significativas en el número de paquetes espermáticos entre muestras de machos de diferentes tratamientos (GLMM, $t = -0.42$, $P = 0.65$). De forma similar, no se observaron diferencias significativas tanto entre tiempos de medición antes y después (GLMM, $t = 0.22$, $P = 0.92$), ni en la interacción entre estos dos factores (GLMM, $t = 0.04$, $P = 0.66$; Cuadro 4; Figura 21).

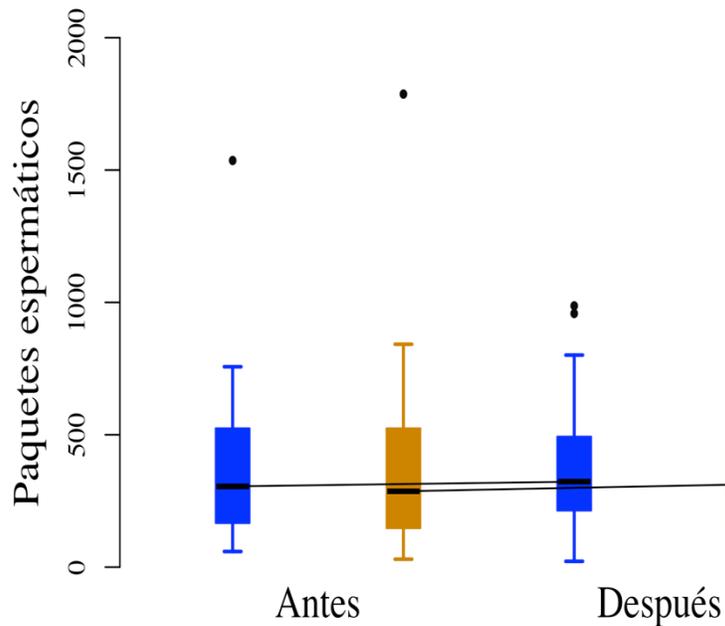


Figura 21. Número de paquetes espermáticos de machos no parasitados y machos parasitados antes y después de los tratamientos. Se muestra la mediana de cada grupo (n=64).

6.1.4.2. Concentración espermática

Con respecto al número de espermatozoides por μL , no se observaron diferencias significativas entre tratamientos (GLMM, $t= 0.23$, $P= 0.81$). Tampoco se observaron diferencias significativas entre tiempos de medición de antes y después ($t= 1.04$, $P= 0.30$), ni en la interacción entre estos dos factores ($t= 0.71$, $P= 0.48$; Cuadro 4; Figura 22).

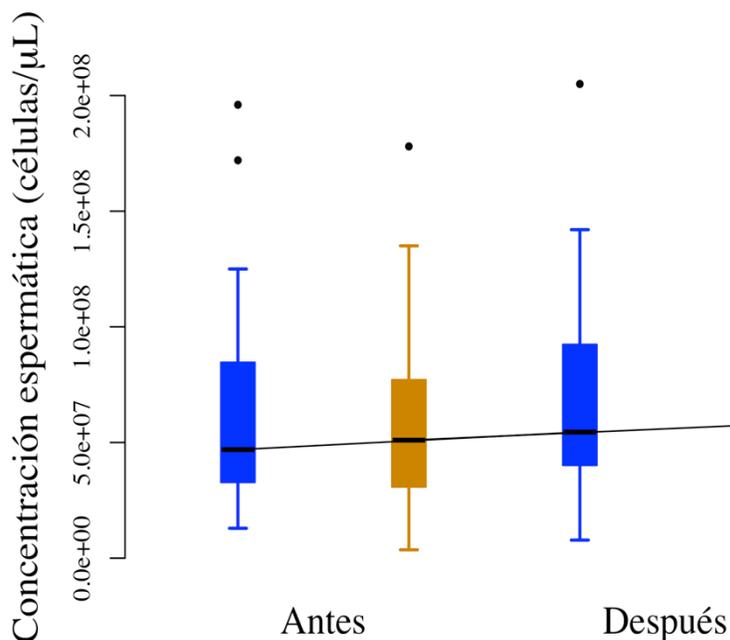


Figura 22. Concentración espermática (células/ μL) de machos no parasitados y parasitados antes y después de los tratamientos. Se muestra la mediana de cada grupo ($n=64$).

6.1.4.3. Movilidad espermática

No se observaron diferencias significativas en movilidad de los espermatozoides de los machos sanos en las mediciones antes y después del tratamiento (GLMM, $t= 0.39$, $P= 0.69$), y de la misma manera, no se observaron diferencias significativas entre machos sanos y machos experimentales antes de ser parasitados ($t= 1.05$, $P= 0.28$). Sin embargo, sí se observó una disminución significativa en la movilidad de los espermatozoides de los machos experimentales después del tratamiento ($t= 3.06$, $P= 0.001$; Cuadro 4; Figura 23).

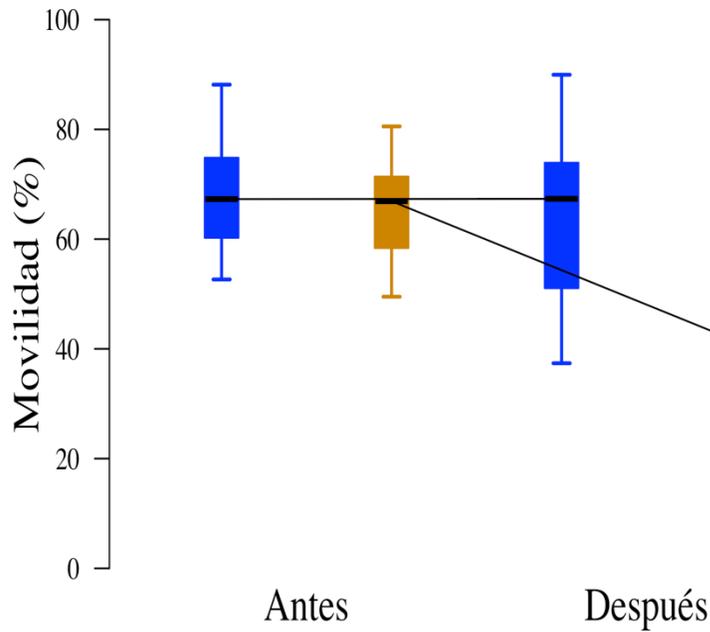


Figura 23. Porcentaje de espermatozoides móviles de machos no parasitados y machos parasitados antes y después de los tratamientos. Se muestra a la mediana de cada grupo (n=64).

6.1.4.4. Viabilidad espermática

No se observaron diferencias significativas en viabilidad de los espermatozoides de los machos sanos en las mediciones antes y después del tratamiento (GLMM; $t = -0.60$, $P = 0.51$). De la misma manera, no se observaron diferencias significativas entre machos sanos y machos experimentales antes de ser parasitados ($t = -0.29$, $P = 0.77$). Sin embargo, sí se observó una disminución significativa en la viabilidad de los espermatozoides de los machos experimentales después del tratamiento ($t = 8.17$, $P = 0.001$; Cuadro 4; Figura 24).

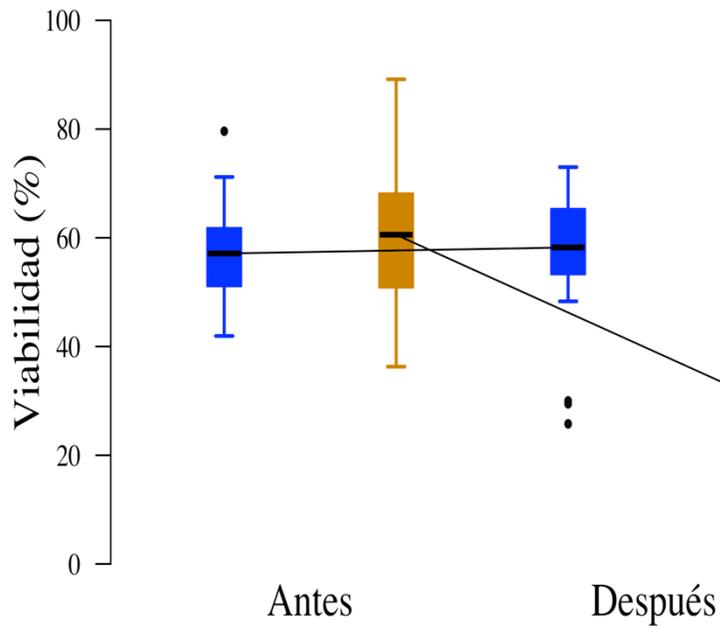


Figura 24. Porcentaje de espermatozoides vivos de machos no parasitados y machos parasitados antes y después de los tratamientos. Se muestra a la mediana de cada grupo (n=64).

6.1.4.5. Velocidad espermática

6.1.4.5.1. Análisis de componentes principales (ACP)

El ACP de la velocidad espermática mostró que las variables que explicaron más porcentaje de varianza acumulada fueron VAP (> 77%. CASA-PC1) y VCL (21% CASA-PC2) (Cuadro 5) y que ambas mostraron valores altos (Eigenvalor) en la mayoría de las correlaciones con los demás componentes (Figura 25).

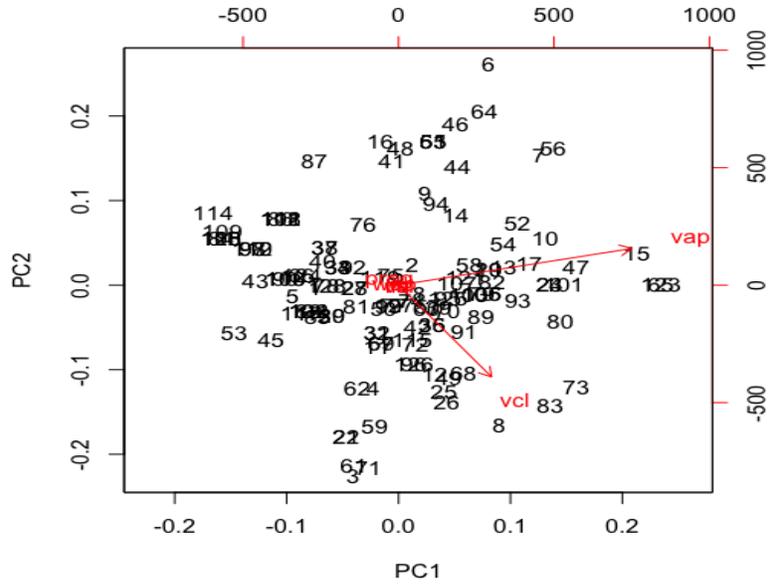


Figura 25. Gráfico de los componentes principales de la velocidad espermática en machos no parasitados y machos parasitados medidos antes y después del tratamiento. VAP (PC1) y VCL (PC2) muestran valores de pendiente mayores respecto a los demás componentes (Flechas rojas).

6.1.4.5.2. Velocidad promedio (VAP)

No se observaron diferencias significativas en la velocidad promedio (VAP) de los espermatozoides de los machos sanos en las mediciones antes y después del tratamiento (GLMM, $t=-1.20$ $P= 0.22$), y de la misma manera comparado con la primera medición de los machos parasitados antes del tratamiento (GLMM, $t= -0.29$, $P= 0.76$). Sin embargo, la velocidad de los espermatozoides disminuyó significativamente después de parasitar a los machos (GLMM, $t= 3.96$, $P= 0.001$; Cuadro 4; Figura 26).

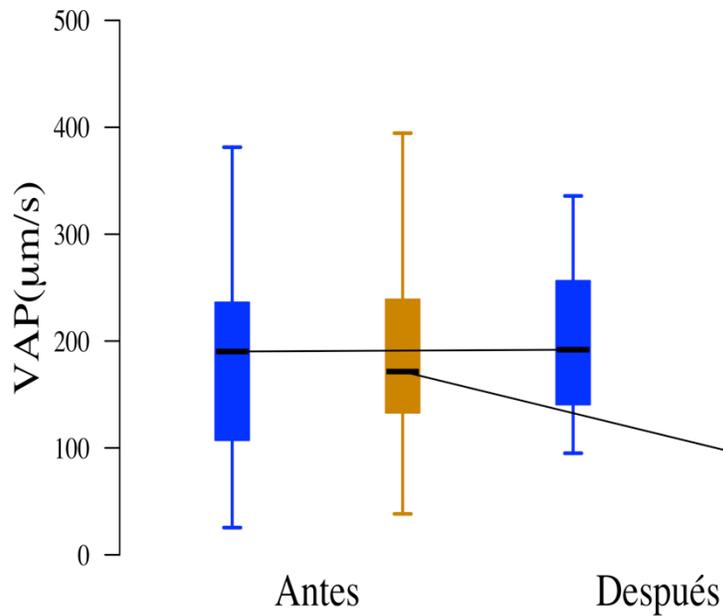


Figura 26. Velocidad promedio (VAP, μ/s) de machos no parasitados y machos parasitados antes y después de los tratamientos. Se muestra a la mediana de cada grupo (n=64).

6.1.4.5.3. Velocidad curvilínea (VCL)

No se observaron diferencias significativas en la velocidad curvilínea (VAP) de los espermatozoides de los machos sanos en las mediciones antes y después del tratamiento (GLMM, $t = 0.60$ $P = 0.54$), ni comparado con la primera medición de los machos parasitados antes del tratamiento (GLMM, $t = -0.46$, $P = 0.63$). Sin embargo, la velocidad de los espermatozoides disminuyó significativamente después de parasitar a los machos del tratamiento experimental (GLMM, $t = 2.70$, $P = 0.001$; Cuadro 4; Figura 27).

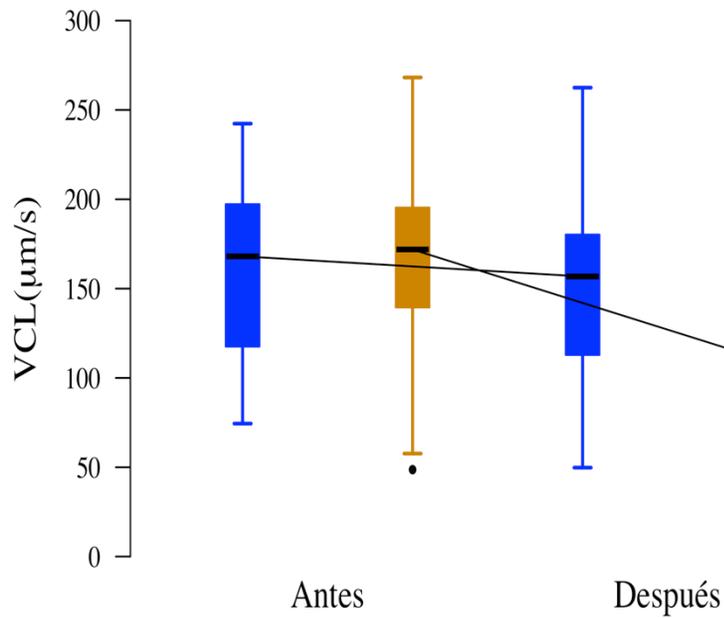


Figura 27. Velocidad promedio (VAP, μ/s) de machos no parasitados y machos parasitados antes y después de los tratamientos. Se muestra a la mediana de cada grupo (n=64).

6.1.4.6. Morfología espermática

6.1.4.6.1. Análisis de componentes principales (ACP)

El ACP para esta variable mostró que los componentes principales para la morfología que explicaron más porcentaje de varianza respecto de los demás fueron la longitud total (PC1) y la longitud del flagelo (PC2), ya que explican más del 98% de la varianza acumulada (Cuadro 5), y mostraron valores más altos en la mayoría de las correlaciones (Eigenvalor) con los demás componentes (Figura 28).

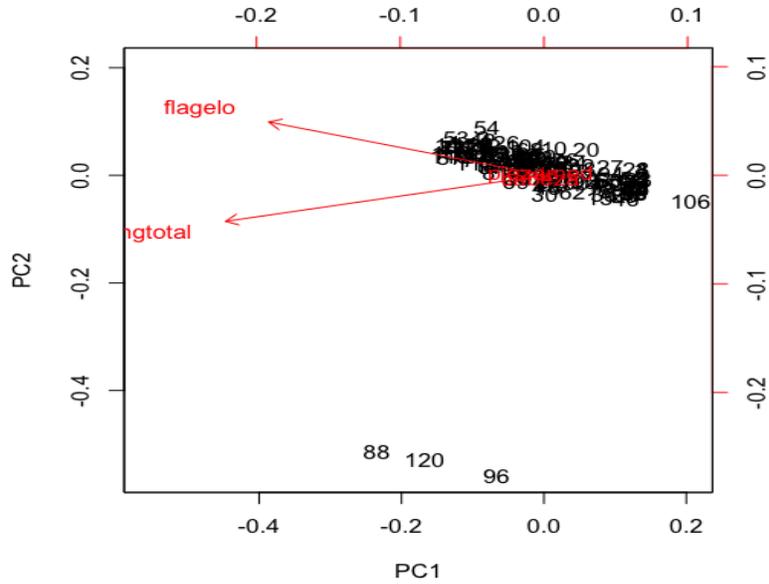


Figura 28. Gráfico de los componentes principales de la velocidad espermática (VCL) en machos no parasitados y parasitados medidos Antes y Después del tratamiento. Longitud total (PC1) y Longitud del flagelo (PC2) muestran valores de pendiente mayores respecto a los demás componentes (Flechas rojas).

6.1.4.6.2. Longitud total

La longitud total de los espermatozoides de los machos disminuyó significativamente en ambos tratamientos (GLMM, $t = -2.27$, $P = 0.03$) y en la segunda medición en comparación con la primera (GLMM, $t = 2.98$, $P = 0.001$), pero no se observó un efecto del parasitismo (GLMM, $t = -0.8$, $P = 0.16$) (Cuadro 4; Figura 29).

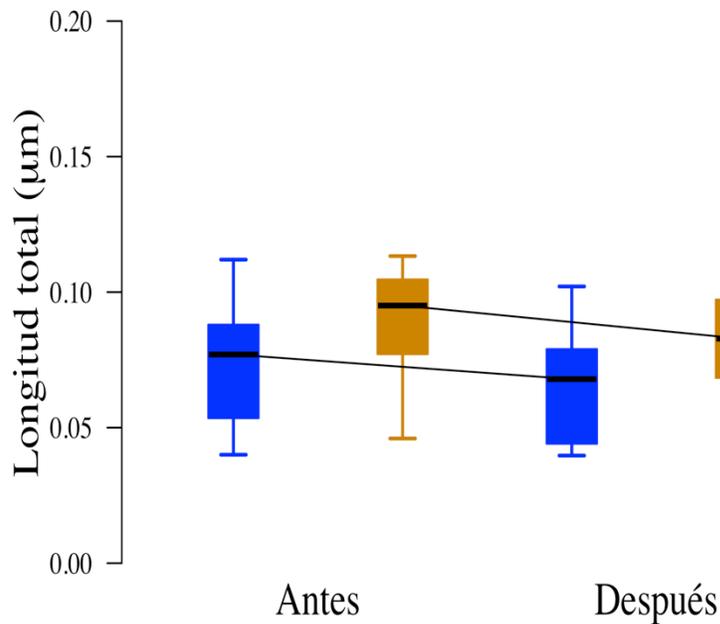


Figura 29. Longitud total (μm) de machos no parasitados y machos parasitados antes y después de los tratamientos. Se muestra la mediana de cada grupo ($n=64$).

6.1.4.6.3. Longitud de flagelo

La longitud del flagelo de los espermatozoides disminuyó significativamente en ambos tratamientos (GLMM, $t=-2.27$, $P= 0.02$) y en la segunda medición en comparación con la primera (GLMM. $t= 2.98$, $P= 0.001$), pero no se observó un efecto del parasitismo (GLMM, $t = -0.8$, $P = 0.92$; Cuadro 4; Figura 30).

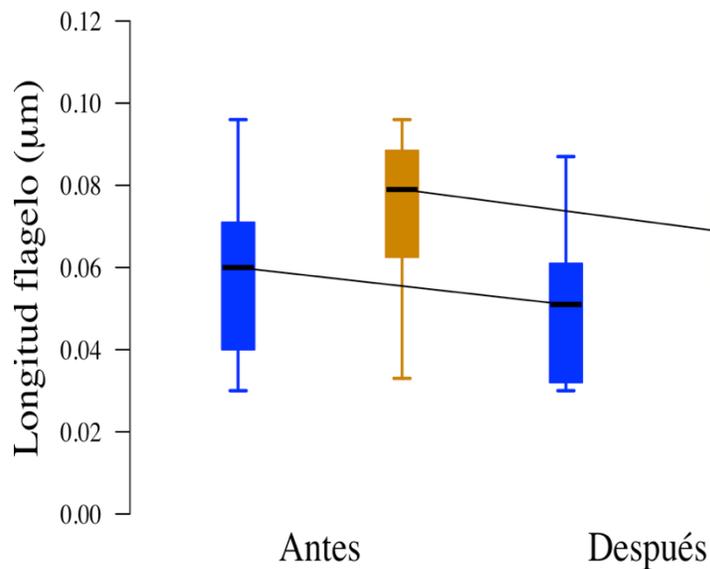


Figura 30. Longitud de flagelo (μm) de machos no parasitados y machos parasitados antes y después de los tratamientos. Se muestra a la mediana de cada grupo ($n=64$).

Cuadro 3. Eigenvalor y proporción de variación explicada para los componentes principales (PCs) de la velocidad espermática (PC 1-6) y morfología espermática (PC 1-4).

PCs	Eigenvalor	% Variación explicada
Velocidad espermática		
CASA-PC1	89.442	77.61
CASA-PC2	46.536	21.01
CASA-PC3	9.294	0.83
CASA-PC4	7.388	0.53
CASA-PC5	1.070	0.01
CASA-PC6	0.461	0.00
Morfología espermática		
PC1	0.0323	94.89
PC2	0.007	4.66
PC3	0.001	0.27
PC4	0.001	0.17

Cuadro 4. Modelos generalizados de las comparaciones de la calidad espermática de machos no parasitados y parasitados.

Término	g.l.	Devianza (X^2)	P	%
Paquetes espermáticos				
Tratamiento	1	0.1212	0.65	0.07
Tiempo	1	0.2005	0.92	0.1
Tratamiento: Tiempo	1	0.0015	0.66	0.0008
Error	124	1708.9		99.8
Total	127	1709.2		
Movilidad (%)				
Tratamiento	1	14.63	0.54	1.37
Tiempo	1	0	0.77	0.81
Tratamiento: Tiempo	1	9.09	0.001**	0.85
Error	124	1060.4		99.73
Total	127	1064.4		
Viabilidad (%)				
Tratamiento	1	20.5	0.69	1.88
Tiempo	1	10.38	0.28	0.95
Tratamiento: Tiempo	1	53.08	0.01*	4.88
Error	124	1061.6		97.77
Total	127	1085.8		
Número de espermatozoides				

Tratamiento	1	1.34	0.31	0.27
Tiempo	1	0.02	0.54	0.40
Tratamiento: Tiempo	1	0.04	0.61	0.819
Error	124	4877.3		96.971
Total	127	4878.7		
Longitud total (mm)				
Tratamiento	1	9.45	0.03*	1.34
Tiempo	1	5.41	0.001**	0.77
Tratamiento: Tiempo	1	1.93	0.16	0.27
Error	124	686.33		97.88
Total	127	701.15		
Longitud flagelo				
Tratamiento	1	18.67	0.02*	2.66
Tiempo	1	5.18	0.001*	0.73
Tratamiento: Tiempo	1	0.0078	0.92	0.73
Error	124	705.03		97.88
Total	127	728.76		
Velocidad (VAP)				
Tratamiento	1	2.47	0.54	0.16
Tiempo	1	2.64	0.63	0.17
Tratamiento: Tiempo	1	15.28	0.001*	1.028
Error	124	1480.3		99.65
Total	127	1485.4		
Velocidad (VCL)				
Tratamiento	1	10.003	0.22	0.72
Tiempo	1	2.64	0.76	0.19
Tratamiento: Tiempo	1	0.32	0.001*	0.2
Error	124	1363.5		99.25
Total	127	1373.8		

Se muestra la devianza residual, total, el valor de P y el porcentaje de explicación de cada variable en el modelo.

6.2. ¿Cuál es la relación entre el comportamiento sexual de los machos y la transmisión de Gyrodactylus de machos parasitados a hembras sanas?

Sorpresivamente, no se observó una correlación entre el comportamiento sexual de los machos durante las pruebas de comportamiento y el número de parásitos en las hembras posterior a haber estado en contacto con un macho parasitado (Cuadro 5). Sin embargo, el tamaño de las hembras sí tuvo una correlación significativa con el número de parásitos después de la interacción sexual (g.l. = 62, $t = -2.59$, $Rho = -0.31$, $P = 0.01282$), siendo las

hembras chicas las que tuvieron una mayor cantidad de parásitos (GLMM, g.l. = 1, F = 17.02, $P = 0.001$; Figura 31).

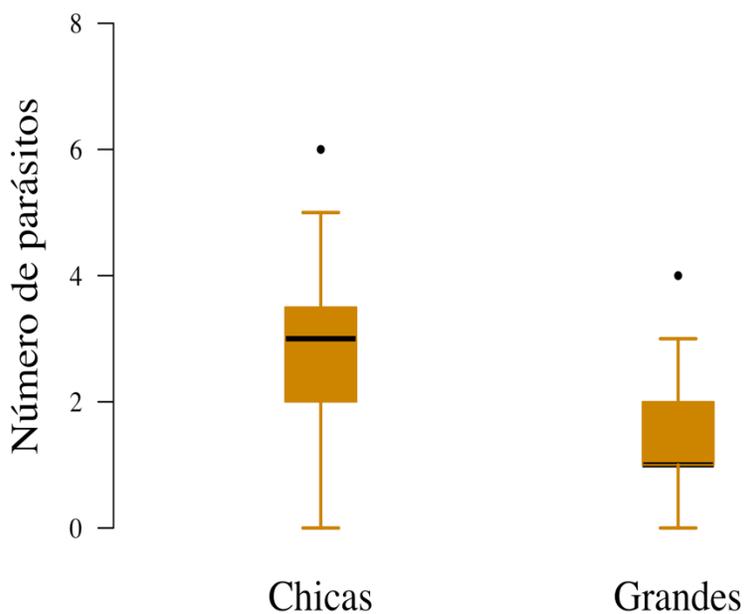


Figura 31. Número de parásitos en las hembras chicas y grandes expuestas a machos parasitados en las pruebas de comportamiento (n=64).

Cuadro 5. Correlaciones entre los comportamientos sexuales de machos parasitados y la carga parasitaria de las hembras expuestas (chica y grande).

Término	t	Rho	g.l.	P
Latencia al comportamiento	-1.4	-0.17	62	0.16
Esfuerzo de apareamiento	-1.36	-0.17	62	0.17
Frecuencia de balaceo de gonopodio	0.1	0.013	62	0.91
Frecuencia de mordidas	1.46	0.18	62	0.14
Tiempo cerca de la hembra	1.63	0.2	62	0.1
Duración seguimiento	-0.45	-0.05	62	0.65
Esfuerzo de apareamiento (cortejo)	-0.12	-0.015	62	0.9
Esfuerzo de apareamiento (cópula forzada)	-1.22	-0.1	62	0.66

Se muestra el valor de t, de Rho, los grados de libertad para cada comportamiento y el valor de P.

7. DISCUSIÓN

El presente proyecto se enfocó en el estudio del efecto del parasitismo sobre dos rasgos en guppies machos, el comportamiento sexual (rasgo precopulatorio) y la calidad espermática (rasgo postcopulatorio). Se trabajó con peces silvestres en condiciones experimentales controladas en el laboratorio. Se puso a prueba el efecto del ectoparásito *Gyrodactylus* durante siete días, un periodo corto de tiempo en relación con la esperanza de vida del pez guppy, que puede ser de más de dos años (Houde 1997).

A pesar de ello, detectamos efectos significativos en los rasgos medidos. El tiempo de parasitismo se definió tomando en cuenta los datos obtenidos en pruebas piloto en las que se parasitó a guppies machos aislados en grupos de cuatro, con una carga inicial de 2 parásitos (ver Anexo 1). En esas pruebas, el 65% de los machos murió a partir de los 8 días de parasitismo, con una prevalencia del 100% y un incremento de más del 900% en la carga parasitaria (que llegó a ser hasta de 37 parásitos) (Figura 1 del Anexo 1). Esto sugiere que nuestra población de guppies es poco resistente a los efectos de la especie de *Gyrodactylus* con la que se trabajó y poco tolerante a una carga parasitaria alta. Otras poblaciones de guppies provenientes de Trinidad han mostrado mayor resistencia a este parásito, ya que logran vivir con el parásito en promedio 15 días (Kolluru y cols. 2006 y 2008, Cable y Van Oosterhout 2007, Stephenson y cols. 2016).

Los machos no mostraron una variación en su condición corporal (medida a través del índice K) a lo largo del presente experimento (Cuadro 1), lo cual no resultó sorprendente, dado que el tiempo del tratamiento fue muy poco. Además, los machos estuvieron en condiciones de laboratorio controladas con abundante acceso a alimento de buena calidad. Trabajos previos han documentado valores similares de condición corporal en guppies bajo condiciones silvestres (K promedio = 0.0025), un efecto similar cuando las condiciones experimentales son controladas, como la talla (Grether y cols. 2001) y la disponibilidad de alimento (Kolluru y cols. 2008). Por ejemplo, machos *Gasterosteus aculeatus* parasitados con el céstodo *Schistocephalus solidus* tuvieron valores similares de condición corporal (porcentaje de grasa en el riñón) que sus equivalentes sanos (Tierney 1994).

En condiciones silvestres *Gyrodactylus* no parece ser un agente importante en la reducción de la condición corporal de guppies (Martin y Johnsen 2007), ya que se ha observado que los machos pueden albergar un número alto de parásitos sin modificar su

condición corporal (Getty 2002). Esto se debe a que cuando la condición corporal de un organismo es óptima, se espera una mayor tolerancia a los parásitos, ya que su capacidad de respuesta inmunitaria es más temprana a diferencia de individuos con menor condición (revisado de Barber y cols. 2000). Los guppies con mayor condición corporal son más tolerantes a las cargas parasitarias de *Gyrodactylus* (Kolluru y cols. 2008, Tadiri y cols. 2013), es por esta razón que medimos la condición de los machos durante el experimento y observamos que los machos en ambos tratamientos tuvieron condición corporal similar (Cuadro 1).

Además de estudiar el efecto del parasitismo sobre los machos, esta tesis tuvo como objetivo evaluar la existencia de una relación entre el comportamiento sexual de un macho y la transmisión de *Gyrodactylus* a hembras sanas. Para ello, utilizamos los datos de las pruebas de comportamiento sexual en donde participaron un macho del tratamiento experimental parasitado con *Gyrodactylus* y un par de hembras de diferente tamaño, ambas sanas y sin previa experiencia con este parásito. Este objetivo es novedoso y muy interesante, ya que abarca diferentes aspectos del parasitismo, desde el proceso básico de transmisión de un hospedero a otro, hasta las implicaciones que conlleva dicha transmisión como la generación de conflicto sexual entre machos y hembras.

A continuación, se discuten las dos preguntas de investigación de mi proyecto de tesis para finalizar con una conclusión general de las implicaciones básicas de los resultados generados en el presente proyecto.

7.1. ¿Cómo el parasitismo afecta el comportamiento sexual y la calidad espermática en guppies machos?

Hay dos aspectos innovadores de estudiar el efecto del parasitismo sobre el comportamiento sexual y el espermatozoides de guppies machos. El primero fue medir más de una característica sexual en los machos experimentales, ya que generalmente se evalúa el efecto del parasitismo sobre un solo rasgo sexual. Además, en este estudio evaluamos por primera vez cómo este parásito afecta a la elección de pareja de los machos, ya que no había sido puesto a prueba previamente. El segundo aspecto innovador fue estudiar cómo cambia la calidad espermática ante el parasitismo, ya que los rasgos postcopulatorios tienden a ser omitidos en el estudio de la interacción entre parasitismo y selección sexual.

Particularmente en guppies machos, toda la investigación generada previamente se ha enfocado al estudio de la coloración y el cortejo, por lo que estos resultados muestran por primera vez cómo la calidad espermática se ve afectada por el parasitismo en guppies.

Respecto al comportamiento sexual, medimos el tiempo que los machos de ambos tratamientos tardan en ejecutar comportamientos sexuales. Observamos que la latencia al comportamiento fue similar entre machos sanos y parasitados, ya que ambos mostraron motivación similar para iniciar una interacción sexual con las hembras en las pruebas de comportamiento sexual (Figura 12). Este resultado es contrario a lo observado en estudios previos. Por ejemplo, Kennedy y cols. (1987) observaron que el tiempo al comportamiento de guppies machos parasitados disminuyó conforme la carga parasitaria de *Gyrodactylus* aumentaba, en donde la carga máxima no sobrepasó 20 parásitos.

También se midió el efecto del parasitismo sobre dos aspectos del comportamiento sexual de guppies machos, el esfuerzo de apareamiento (la suma de la frecuencia de cortejo y los intentos de cópula forzada) y la elección de pareja de apareamiento (entre dos hembras de diferente tamaño). Se cree que las cargas parasitarias menores a 20 *Gyrodactylus* no producen daño significativo o signo de enfermedad (Houde 1997), pero nosotros mostramos que incluso con una carga menor, de entre 2 y 7 parásitos antes de las pruebas de comportamiento sexual, los machos sí cambian su comportamiento, ya que los machos parasitados redujeron su esfuerzo de apareamiento considerablemente en comparación con los machos sanos (mediana = 5.42 en machos no parasitados y 2.23 en machos parasitados; Figura 14).

Estos resultados son consistentes con lo encontrado previamente por Kennedy y cols. (1987), quienes mostraron una relación negativa de la carga parasitaria de *Gyrodactylus* con el cortejo y la cópula forzada, lo que sugiere que probablemente este ectoparásito impone costos en la inversión energética para el apareamiento. Aunado a esto, Houde y Torio (1992) mostraron la existencia de una correlación negativa entre *Gyrodactylus* y el cortejo de los machos. Además, encontraron que los machos menos coloridos tuvieron menor frecuencia de tiempo con las hembras, y el área de los puntos de coloración resultó un mejor predictor de la resistencia a los parásitos de los machos a diferencia de la intensidad de la coloración (Houde y Torio 1992). Dada la inversión energética que requiere esfuerzo de apareamiento, es posible que la reducción en el esfuerzo que

observamos en los machos parasitados sea un intento de conservar los recursos energéticos para combatir y sobrevivir al parasitismo.

La frecuencia del balanceo del gonopodio tuvo diferencias significativas entre los tratamientos, ya que machos parasitados registraron menor frecuencia de balanceo de gonopodio (Figura 15). Al parecer este movimiento ayuda a que el esperma se posicione en el gonopodio, lo que facilita la eyaculación (Clark y Aronson 1951, Baerends y cols. 1955, Liley 1966, Farr 1980). Otra hipótesis es que el balanceo del gonopodio posiciona los ganchos del gonopodio correctamente, preparando este órgano para la inserción en el gonoporo de la hembra (Houde 1997).

Finalmente, el comportamiento de mordidas de machos a hembras fue similar entre ambos tratamientos. Este comportamiento parece ser una forma de evaluación que los machos hacen a las hembras, posiblemente para identificar en cada hembra la presencia de feromona receptiva que solamente las hembras receptoras producen (ver Herdman y cols. 2004; Guevara-Fiore y cols. 2010). Hubiéramos esperado que los machos sanos hicieran más mordidas porque su esfuerzo de apareamiento, medido como cortejo e intentos de cópula forzada, fue más alto que el esfuerzo de machos parasitados. Sin embargo, no encontramos diferencias entre tratamientos, posiblemente porque en todo el experimento utilizamos hembras no receptoras.

Debido a que los parásitos son costosos para sus hospederos, es posible que los guppies con *Gyrodactylus* tengan menos energía destinada a la reproducción, por ende, que reduzcan este comportamiento que precede a la fecundación. Sin embargo, hasta ahora nadie ha realizado un estudio cuantitativo del costo energético del parasitismo en guppies. En nuestro experimento también evaluamos el tiempo que el macho invirtió cerca de la hembra, con los machos parasitados pasando más tiempo cerca comparados con los machos sanos (Figura 17). Kolluru y cols. (2008) observaron el mismo patrón en guppies procedentes de Trinidad.

En guppies se ha observado que la agregación es significativamente mayor con conespecíficos de mayor tamaño (Hockley y cols. 2014). Además, previamente se observó que guppies contagiados con *G. turnbulli* pasaron más tiempo cerca de conespecíficos en ausencia de flujo de agua en comparación con peces sanos (Hockley y cols. 2014).

Respecto a la elección de pareja, la literatura muestra que en condiciones normales la elección de los machos es hacia las hembras más grandes (Herdman 2004, Baerends y cols.

1955), por lo que esperábamos observar una preferencia hacia éstas. Sin embargo, en nuestro experimento tanto los machos sanos como los machos parasitados tuvieron una frecuencia similar de cortejo y cópula forzada para la hembra chica y para la grande, es decir, no mostraron elección por alguna de ellas (Figura 18 y 19). Es por ello que no pudimos observar el efecto del parasitismo sobre la elección del macho. Sin embargo, previamente se han observado resultados similares a los nuestros. Ojanguren y Magurran (2004) encontraron que guppies machos de dos poblaciones silvestres de Trinidad no discriminan a las hembras con base en su tamaño.

Nuestros resultados apuntan a que en guppies, la elección de pareja en los machos parasitados se pierde principalmente porque los machos no realizan suficiente esfuerzo de apareamiento. La elección de pareja para evitar conespecíficos parasitados se ha estudiado ampliamente en hembras. Kennedy y cols. (1987) evaluaron en guppies la preferencia de las hembras por machos poco (0-2) y muy parasitados (1-9), encontrando una relación negativa entre la preferencia por los machos y la carga parasitaria en condiciones experimentales. Sin embargo, las presiones de selección sexual son diferentes para machos y hembras, así que estos resultados no deben extrapolarse a los machos directamente. Además, dado que en machos sanos las tácticas de apareamiento son variables entre los individuos, es posible que el efecto del parasitismo en este estudio tenga efectos distintos entre diferentes hospederos (Bischoff y cols. 1985) y también entre poblaciones de guppies diferentes (Houde 1997), por lo que valdría la pena repetir las pruebas de elección de pareja con guppies machos que sean más resistentes a *Gyrodactylus*.

Por otro lado, además del comportamiento sexual, nuestros resultados indican la existencia de un efecto negativo del parasitismo sobre la calidad espermática en guppies, tan solo a siete días de haberse parasitado los machos. Particularmente, se observó que la cantidad de espermatozoides en los machos parasitados, ya sea medida por el número de paquetes espermáticos o por la concentración espermática, es similar entre machos sanos y parasitados (Figura 15 y 16 respectivamente). Sin embargo, los espermatozoides de machos parasitados tienen menor movilidad (Figura 22), viabilidad (Figura 23) y velocidad espermática (Figuras 25 y 26) que los de machos sanos. La literatura respalda la idea de que los rasgos de calidad del esperma en guppies son dependientes de la condición, ya que, si los machos tienen una dieta baja en calidad, su número de espermatozoides/ μL disminuye, pero sin un efecto significativo en la velocidad (VAP, VCL y VSL), morfología y longitud

espermática (Devigili y cols. 2012). Sin embargo, Rahman y cols. (2013) sí observaron un efecto significativo de la calidad de la dieta sobre la velocidad, morfología y longitud espermática. Además, si un macho detecta una densidad alta de hembras en la población, tiende a incrementar significativamente tanto el número como la velocidad de sus espermatozoides (VAP) (Devigili y cols. 2015), lo que sugiere que la producción de espermatozoides es costosa pues cuando no hay hembras su producción baja.

Un aspecto interesante de nuestros resultados fue el cambio que sufrió la morfología en ambos tratamientos a través del experimento, ya que, en ambos tratamientos, no parasitados y parasitados, la longitud total y del flagelo disminuyeron significativamente en la segunda medición (después del tratamiento; Figura 28 y 29). Estas observaciones son similares a lo registrado por Devigili y cols. (2015), pues los espermatozoides de guppies machos con una dieta de baja calidad y encuentros con hembras distintos, también disminuyeron en su longitud total a través del tiempo.

La disminución que observamos en nuestro estudio obviamente apunta a un efecto del tiempo, esto es, que el tiempo de aislamiento de los machos, tanto los controles como los experimentales, parece reducir este aspecto morfológico. La dieta de los machos fue de alta calidad, ya que se alimentaron dos veces con la marca de hojuelas Tetramin[®], una de las mejores composiciones dietéticas para guppies. Además, esa dieta es la que llevaban antes de que comenzara el experimento, no hubo cambios durante este estudio. Por ello pensamos que el tiempo de aislamiento pudiera ser la causa de estos resultados, ya que se relaciona con el tiempo que pasó el espermatozoides almacenado en las gónadas.

Se sabe que los espermatozoides viejos (de nueve días) son de menor calidad en términos de velocidad y movilidad que los nuevos o recientemente producidos (dos días) (Boschetto y cols. 2011, Gasparini y cols. 2014). Se esperaría que espermatozoides más pequeños tengan una movilidad y velocidad menor debido a que no son maduros morfológicamente, sin embargo, esta hipótesis tendría que ponerse a prueba controlando diferentes variables en un futuro experimento.

Una posible explicación de que nuestros machos parasitados hayan disminuido otras variables menos la cantidad de espermatozoides reside en los mecanismos de mantenimiento de la respuesta inmune presentes en peces teleosteos (Huang y cols. 2009). Ante una infección fuerte, la producción de granulocitos se dispara, lo que puede llegar a limitar los recursos destinados a mantener la calidad espermática, produciendo daño a las células espermáticas

(Meinhard y Hedger 2011). Además, la respuesta inmune ante el ataque de patógenos compromete la producción de hormonas como andrógenos, lo que también puede limitar la asignación de recursos a la calidad espermática, ya que incrementa la oxidación de las células espermáticas (Hillgarth y cols. 1990, Helfenstein y cols. 2010). Tomando en cuenta nuestros resultados, sugerimos que el costo del parasitismo sobre la calidad espermática de guppies machos está afectando a etapas posteriores a la formación y diferenciación de las células espermáticas donde los espermatozoides migran al epidídimo y maduran su velocidad y movilidad (Friberg 1982, Hogarth 1982, Rolff y Siva-Jothy 2002).

Debido a que hay escasa literatura abordando la relación entre parasitismo y calidad espermática, todavía es difícil concluir con respecto a los patrones de interacción. Además, un problema es que no todos los estudios evalúan todas las características que pueden describir a la calidad espermática. Por ejemplo, en la trucha del Ártico, Liljedal y cols. (1999) no evaluaron la cantidad de espermatozoides, pero sí midieron la movilidad espermática, la cual estuvo negativamente relacionada con la intensidad de ectoparásitos. Figenshou y cols. (2013), además de evaluar la velocidad espermática en la misma especie, midieron la fragmentación del ADN y la cantidad de espermatozoides, y el único efecto significativo de daño provocado por ectoparásitos fue la cantidad de espermatozoides. En peces *Rutilus rutilus L.* no existe un efecto del parasitismo sobre la calidad espermática (movilidad y velocidad) cuando los machos fueron parasitados con endoparásitos *Myxolobius mülleri* (Kortet y cols. 2010), pero los autores solamente midieron concentración espermática sin evaluar los otros rasgos de la calidad espermática. Es evidente que los resultados son contradictorios y que se necesita convenir respecto a las variables que determinan la calidad espermática para estandarizar el estudio de este rasgo tan importante en el éxito reproductivo de los machos.

Los resultados obtenidos en nuestro estudio muestran por primera ocasión el efecto de *Gyrodactylus* sobre la viabilidad, movilidad y velocidad de los espermatozoides de los machos parasitados. Dado que los guppies sufren alta competencia espermática, cualquier deficiencia en la capacidad de mantener la calidad de los espermatozoides puede afectar negativamente en el éxito reproductivo de los machos (Pilastro y cols. 2002). En peces con fecundación interna, la movilidad y la velocidad total de los espermatozoides está directamente relacionado con el éxito de fertilización de los huevos de la hembra (Boschetto y cols. 2011). En guppies, la movilidad de los espermatozoides es *in situ*, y una

vez en el tracto reproductor de la hembra adquieren mayor movilidad y velocidad (Huang y cols. 2009), por lo que aquellos espermatozoides que posean una movilidad y velocidad óptimas para encontrar y penetrar en el óvulo de la hembra tendrán un mayor éxito de fertilización (Houde 1997, Huang y cols. 2009).

El diseño experimental que se utilizó para este estudio fue establecido para poner a prueba dos tratamientos diferentes, machos sanos sin parásitos y machos parasitados con dos parásitos inicialmente. Sin embargo, debido a que los parásitos en cada macho se reprodujeron, y también porque los machos varían entre ellos en su capacidad de resistencia al parasitismo (Stephenson y cols. 2016, Cable y Van Oosterhout 2007), al momento de las pruebas de comportamiento los machos presentaron cargas parasitarias diferentes (2-7 parásitos), donde el 0.32% tuvieron 2 parásitos, el 1.6% tuvieron 3, el 3.52% tuvieron 4, el 2.56% tuvieron 5, el 1.6% tuvieron 6 y el 2.24% tuvieron 7 parásitos (Anexo 1). Debido a que se esperaba que la carga parasitaria esté positivamente relacionada con el costo del parasitismo, decidimos también analizar si existe una correlación entre el esfuerzo de apareamiento y el número de parásitos en los machos en cada uno de los comportamientos medidos (ver Anexo 2).

Sin embargo, la cantidad de parásitos solamente se correlacionó con una disminución en el tiempo cerca de las hembras y la longitud total de los espermatozoides (Anexo 2 y 3, Figura 6 y 7 respectivamente), todos los demás efectos del parasitismo se observaron solamente si se analizaban los datos tomando en cuenta los dos tratamientos de machos no parasitados y parasitados. Entonces, cuando analizamos al parasitismo como una variable continua (i.e. número de parásitos) no encontramos patrones significativos que expliquen los cambios en la mayoría de las variables, a diferencia de cuando se analizó al parasitismo como una variable nominal (i.e. dos tratamientos). Proponemos tres explicaciones a esto: 1) Como nuestros peces parecieran no haber sido previamente parasitados por *Gyrodactylus* (peces “naive”), se esperaba que carecieran de memoria inmunitaria capaz de repeler de forma efectiva a los parásitos, como se ha observado en trabajos previos (Madhavi y Anderson 1985, Matthews y cols. 1997, Stein 2001, Cobbold y cols. 2007, Aiello y cols. 2016, Stephenson y cols. 2016). 2) Sabemos que hay una diferencia en la resistencia y la tolerancia al parásito entre diferentes individuos, por lo que el efecto de un número determinado de parásitos no necesariamente será el mismo para diferentes machos (Stephenson y cols. 2016, Cable y Van Oosterhout 2007). 3) Alternativamente, es posible

que exista una diferencia en la virulencia de los parásitos, por lo cual el efecto de una carga parasitaria particular no necesariamente sería el mismo en todos los hospederos (Able 1996, Stephenson 2016).

En conclusión, observamos la existencia de un daño a nivel pre y postcopulatorio del parasitismo por *Gyrodactylus* en guppies machos. Interesantemente, encontramos un efecto diferencial del parasitismo sobre diferentes componentes de la calidad espermática, pues el número de espermatozoides no se vio afectado mientras que todas las otras variables cambiaron ante el costo del parasitismo. En guppies, así como en la mayoría de los machos, producir un mayor número de espermatozoides incrementa la posibilidad de fertilización (Cattelan y cols. 2016), pero es posible que exista una disyuntiva entre el número de espermatozoides y otros rasgos de la calidad espermática, lo que debe ser evaluado en estudios subsecuentes. Los resultados del presente estudio incrementan nuestro conocimiento de los efectos del parasitismo sobre rasgos que están directamente relacionados con el éxito de apareamiento y el éxito reproductivo de los machos (Andersson 1994). Además de que por primera vez estudiamos el efecto de *Gyrodactylus* sobre machos de una población de peces guppies mexicanos, lo cual nos permitirá hacer comparaciones diferentes a los resultados que previamente se han obtenido solamente con peces originarios de Trinidad o Australia.

7.2. ¿Cuál es la relación entre el comportamiento sexual de los machos y la transmisión de Gyrodactylus de machos parasitados a hembras sanas?

Durante las pruebas de comportamiento sexual, cada macho parasitado interactuó libremente con dos hembras sanas cuyo tamaño difirió por 5mm. Estas pruebas nos permitieron estudiar con detalle cómo se lleva la transmisión de *Gyrodactylus* de machos parasitados a hembras sanas. Se esperaba que entre mayor fuera la interacción entre los individuos, mayor sería la probabilidad de contagio. Sin embargo, contrario a nuestra predicción, los comportamientos sexuales del macho no tuvieron una relación con la carga parasitaria de las hembras posterior a haber interactuado con el macho.

La transmisión de *Gyrodactylus* se puede dar por contacto directo entre hospederos (Cable y cols. 2002, Johnson y cols. 2011) y hay reportes informales de que puede llevarse a cabo a través del contacto con la superficie del agua (Soleng y cols. 1999, Cable y cols. 2002). El presente estudio demuestra por primera vez que *Gyrodactylus* sí puede

transmitirse a un hospedero nuevo a través del agua y no necesariamente con contacto físico entre hospederos (ver Metodología, Figura 6A). Los machos parasitados en nuestro experimento mostraron muy bajo esfuerzo de apareamiento en comparación con machos sanos, y, además, no mostraron elección de pareja. Esto explica la ausencia de una relación significativa entre el comportamiento del macho y el número de parásitos transmitidos a las hembras.

Los guppies son una especie con alta sociabilidad, y este comportamiento ha sido estudiado para evaluar la relación con la capacidad de transmisión de *Gyrodactylus*. Van Oosterhout y cols. (2007) y King y Cable (2007) observaron una relación significativa entre una mayor interacción social y la transmisión de *Gyrodactylus* a individuos no parasitados, lo que obviamente tiene implicaciones en la dinámica poblacional de ambas especies. Una de las interacciones sociales más frecuentes es la que existe entre sexos diferentes. Machos y hembras interactúan constantemente con la finalidad de obtener éxito de apareamiento. Sin embargo, a pesar de su importancia, pocos son los estudios que se han enfocado a elucidar cómo dichas interacciones sexuales están relacionadas con la transmisión de parásitos entre hospederos. En guppies no se había estudiado la transmisión de parásitos por interacción sexual antes del presente estudio, pero en tres especies más (*Phasianus colchicus*, *Gopherus agassizii* y *Apis mellifera*), ya se conoce un poco más de este fenómeno (Hillgarth 1990, Roberts y cols. 2015, Aiello y cols. 2016). Valdría la pena realizar experimentos futuros *in situ* o con redes sociales más similares a lo que ocurre en poblaciones de guppies silvestres para validar los resultados negativos de transmisión del parásito por interacción sexual.

A pesar de que no encontramos una relación significativa entre el comportamiento sexual y la transmisión de *Gyrodactylus* en guppies, nuestros resultados arrojan un patrón interesante que está relacionado con la morfología de las hembras. La talla de las hembras resultó un predictor del contagio parasitario durante una interacción con un conespecífico infectado ya que las hembras más pequeñas fueron las que tuvieron una carga parasitaria mayor. Este resultado es sorprendente dado que en la literatura se ha reportado lo contrario, que existe una relación entre la talla y la carga parasitaria en machos y en hembras, pues los peces más grandes tienden a desarrollar cargas letales (>30 parásitos) en comparación con peces más pequeños (Van Oosterhout y cols. 2007). King y Cable (2007) y Johnson y cols. (2011), además observaron que, dado que las hembras presentan mayor talla y son más

sociales que los machos, la carga parasitaria que pueden presentar es mayor que en peces de menor tamaño. Por eso en la literatura se asumía que peces con mayor masa resultarían un objetivo más fácil de alcanzar para los parásitos, sin embargo, nuestros resultados muestran lo contrario (Figura 31).

Se proponen tres explicaciones próximas para explicar por qué las hembras chicas resultaron con mayor número de parásitos que las hembras grandes. Sugerimos: **1)** Las hembras chicas son de menor tamaño que las hembras grandes, por lo que podríamos estar viendo diferencias relacionadas al tamaño de las hembras (ver Cable y Van Oosterhout 2007), **2)** Es posible que las hembras que difieren en tamaño también tengan comportamientos divergentes que facilitaron de diferente manera la transmisión del parásito del macho. En nuestro experimento usamos hembras no receptivas, por lo que ambas fueron homogéneas en su respuesta sexual a los machos; sin embargo, no monitoreamos si las hembras se acercaron a los machos de forma diferente o si las de un tamaño fueron más activas que el otro, y **3)** Finalmente, es posible que ambas hembras, chicas y grandes, se contagiaron con igual número de parásitos, sin embargo, después de 24 horas, las hembras grandes fueron más resistentes a la transmisión de parásitos que las hembras chicas (ver Jones 2001, Cable y Van Oosterhout 2007). Sin embargo, al menos en nuestra población, durante las pruebas piloto (20 machos) y con los machos del experimento (n=32) el 100% de los individuos que estuvieron en contacto con *Gyrodactylus* lo mantuvieron 24 horas después de la infección, por lo que creemos que nuestra población tiene poca resistencia a este parásito.

El presente estudio demuestra que la interacción sexual no resultó un predictor de la transmisión de parásitos a hembras de tamaño distinto debido a que el comportamiento de los machos fue escaso, por lo que no fue posible hacer inferencias sobre los mecanismos implicados en el conflicto sexual entre ambos sexos. Sin embargo, pudimos observar que el tamaño corporal de las hembras juega un papel crucial en la capacidad de albergar parásitos, lo cual posiblemente se relacione con la capacidad inmune para evitar parasitarse.

8. CONCLUSIÓN GENERAL

En este estudio se demostró la existencia de un efecto negativo del ectoparásito *Gyrodactylus* tanto del comportamiento sexual (rasgo precopulatorio) como en la calidad espermática (rasgo postcopulatorio). Se observó un efecto negativo en el esfuerzo de apareamiento, a diferencia de la elección de pareja, pues nuestros machos experimentales no mostraron preferencia por las hembras con base en su tamaño. Además, se demostró el efecto negativo de *Gyrodactylus* sobre los espermatozoides en guppies, solamente sobre la velocidad, movilidad y viabilidad de los mismos, ya que la concentración espermática no se vio afectada. Nuestro diseño experimental no nos permite validar las causas próximas de los cambios que los machos parasitados experimentaron, no obstante, probablemente el parásito está generando costos en el hospedero que ultimadamente afectan tanto su comportamiento como su calidad espermática.

Al estudiar ambos rasgos, comportamiento y calidad espermática, de manera simultánea, corroboramos que el parasitismo afecta tanto a caracteres precopulatorios como a postcopulatorios en el mismo macho, por lo que es plausible que se estén llevando a cabo procesos internos de asignación diferencial de recursos (i.e. disyuntivas biológicas)

Finalmente, se observó que el comportamiento sexual no influyó en la carga parasitaria que se cuantificó en las hembras chicas y grandes posterior a su encuentro con un macho parasitado. Sin embargo, el tamaño en las guppies hembras sanas influyó significativamente en la transmisión de parásitos cuando interactuaron sexualmente con machos parasitados, ya que las hembras chicas tuvieron mayor carga parasitaria comparado con hembras grandes, lo cual tiene implicaciones importantes en la dinámica poblacional generada por el parásito *Gyrodactylus*.

9. PERSPECTIVAS

El presente trabajo arrojó resultados sobre el efecto del parasitismo en la condición corporal y componentes de la reproducción a nivel pre y postcopulatorio (comportamiento sexual y calidad espermática respectivamente), por lo que a futuro se podrían medir los compromisos que se generan en la historia de vida de organismos durante la parasitación, controlando la medición de sus rasgos sexuales durante su desarrollo ontogenético y evaluando las variables de forma simultánea.

Además, es necesario estudiar posibles causas relacionadas a los recursos energéticos y procesos fisiológicos de la asignación de recursos a rasgos pre y postcopulatorios, lo que permitiría estudiar a las disyuntivas generadas entre estos dos niveles desde un punto de vista de causas próximas.

Con los resultados obtenidos de la evaluación de la calidad espermática, se plantea un campo amplio de trabajo futuro para poder comprender los efectos las consecuencias evolutivas de del parasitismo sobre los guppies, para ello es imprescindible evaluar cómo la baja calidad espermática repercute en oportunidades de éxito de fertilización de los machos y ultimadamente sobre la adecuación en guppies.

Además, sería interesante en el futuro evaluar los procesos de desarrollo espermático en machos parasitados para incrementar el conocimiento sobre los rasgos postcopulatorios, que han sido tradicionalmente descuidados en el estudio del parasitismo.

Con relación a los resultados obtenidos en la transmisión de parásitos, sería importante que en el futuro se plantearan estudios que evalúen tal efecto en poblaciones silvestres y particularmente en grupos de guppies que asemejen la realidad social de estos peces en estado natural. Dado que los comportamientos sexuales de los machos parasitados no resultaron significativos para explicar la transmisión del parásito, se abre la posibilidad del estudio de los factores relacionados con la transmisión de parásitos entre sexos y sobre los procesos desencadenantes del conflicto sexual generado por el parasitismo.

10. REFERENCIAS

- Able J. 1996. The contagion indicator hypothesis for parasite-mediated sexual selection. *Proc Natl Acad Sci* 93: 2229-2233.
- Aiello CM, Nussear KE, Esque TC, Emblidge PG, Sah P, Bansal S y Hudson PJ. 2016. Host contact and shedding patterns clarify variation in pathogen exposure and transmission in threatened tortoise *Gopherus agassizii*: implications for disease modelling and management. *J Anim Ecol* 85:829-842.
- Andersson M. 1994. Sexual selection. Editorial Princeton University Press. Nueva Jersey.
- Anderson RM y May RM. 1982. Coevolution of hosts and parasites. *Parasitology* 85:411-426.
- Ávila G, Valero A y Macías-García C. 2011. Componentes conductuales del cortejo incrementan la exposición a parásitos en el pez vivíparo *Xenophorus captivus*. *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* 14:83-89.
- Baerends GP, Brouwer R y Waterbolk HT. 1955. Ethological studies on *Lebistes reticulatus* (Peters). I. An analysis of the male courtship pattern. *Behaviour* 8: 249-334.
- Baeta R, Faivre B, Motreuil S, Gaillard M y Moreau J. 2008. Carotenoid trade-off between parasitic resistance and sexual display: an experimental study in the blackbird (*Turdus merula*). *Proc R Soc B* 275: 427-434.
- Bakke TA, Cable J y Harris PD. 2007. The biology of gyrodactylid monogeneans : The “Russian-Doll Killers”. *Adv Parasitol* 64: 161-376.
- Barrantes G y Weng JL. 2007. Natural History, courtship, feeding behaviour and parasites of *Theridion evexum* (Aranae: Theridiidae). *Brit Arachnol Soc.* 14:61-65.

Barber I, Hoare D y Krause J. 2000. Effects of parasites on fish behaviour: a review and evolutionary perspective. *Rev Fish Biol Fish* 10:131-165.

Barber I, Huntingford FA y Crompton DWT. 1995. The effect of hunger and cestode parasitism on the shoaling decisions of small freshwater fish. *J Fish Biol* 47:524-536.

Bendich A. 1989. Effects of antioxidant vitamins on cellular immune functions. En: *Antioxidant Nutrients and Immune Functions*. Bendich A, Phillips M y Tengerdy A (eds.) Editorial Pergamon Press. Nueva York pp 35-55.

Billard R y Cosson MP. 1992. Some problems related to the assessment of sperm motility in freshwater fish. *J Exp Zool* 261: 122-131.

Birkhead TR, Moller AP y Sutherland WJ. 1993. Why do females make it so difficult for males to fertilize their eggs? *J Theor Biol* 16:51-60.

Bischoff RJ, Gould JL y Rubenstein DI. 1985. Tail size and female choice in the guppy *Poecilia reticulata*. *Behav Ecol Sociobiol* 17:253-255.

Blount JD, Metcalfe NB, Birkhead TR y Surai PF. 2003. Carotenoid modulation of immune function and sexual attractiveness in zebra finches. *Science* 300:125-127.

Bonneaud C, Mazuc J, Gonzalez G, Haussy C, Chasterl O, Faivre B y Sorci G. 2003. Assessing the cost of mounting an immune response. *Am Nat* 161:367-379.

Borgia G y Collis K. 1989. Female choice for parasite-free male satin bowerbirds and the evolution of bright male plumage. *Behav Ecol Sociobiol* 25:445-454.

Boschetto C, Gasparini C y Pilastro A. 2011. Sperm number and velocity affect sperm competition success in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Behav Ecol Sociobiol* 65:813-821.

Bozynski CC y Liley NR. 2003. The effect of female presence on spermiation, and of male sexual activity on 'ready' sperm in the male guppy. *Anim Behav* 65:53-58.

Brazil B. 2004. Application of denitrification in aquaculture. *Aquacult Mag* 30:44-47.

Burley N, Tidemann SC y Halupka, K. 1991. Bill colour and parasite levels of zebra finches. En: *Bird- Parasite Interactions: Ecology, evolution and behaviour*. Loye, JE y Zuk M (eds.) Editorial Oxford Univ Press4. Reino Unido pp. 359-376.

Cable J y Van Oosterhout C. 2007. The impact of parasites on the life history evolution of guppies (*Poecilia reticulata*): the effects of host size on parasite virulence. *Int J Parasitol* 37:1449-58.

Cable J, Scott ECG, Tinsley RC y Harris PD. 2002. Behavior favoring transmission in the viviparous monogenean *Gyrodactylus turnbulli*. *J Parasitol* 88:183-184.

Clayton DH. 1991. Coevolution of avian grooming and ectoparasite avoidance En: *Bird - parasite Interactions: Ecology, Evolution and Behaviour*. Loye JE y Zuk M (eds.) Editorial Oxford Univ Press. Reino Unido pp 258-289.

Clark E y Aronson LR. 1951. Sexual behavior in the guppy, *Lebistes reticulatus* (Peters). *Zoologica* 36: 49-66.

Croft DP, Krause J y James R. 2004. Social networks in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Proc R Soc Biol Sci. (Suppl)* 271:516-519.

Cobbold RN, Hancock DD, Rice DH, Berg J, Stillborn R, Hovde CJ y Besser TJ. 2007. Rectoanal junction colonization of feedlot cattle by *Escherichia coli* O157:H7 and its association with supershedders and excretion dynamics. *Appl Environ Microbiol* 73:1563-1568.

Cooper TG. 2007. Sperm maturation in the epididymis: a new look at an old problem. *Asian J Androl* 9:533-539.

Dargent F, Scott ME, Hendry AP y Fussman GF. 2013. Experimental elimination of parasites in nature leads to the evolution of increased resistance in hosts. *Proc R Soc B* 280:1773.

Darwin C. 1871. *The descent of man, and selection in relation to sex*. John Murray Londres.

Devigili A, Doldán-Martelli V y Pilastro A. 2015. Exploring simultaneous allocation to mating effort, sperm production, and body growth in male guppies. *Behav Ecol* 26 1203-1211.

Devigili A, Kelley JL, Pilastro A y Evans JP. 2012. Expression of pre- and postcopulatory traits under different dietary conditions in guppies. *Behav Ecol* 24:740-749.

Dowling DK y Simmons LW. 2012. Ejaculate economics: testing the effects of male sexual history on the trade-off between sperm and immune function in Australian crickets. *Plos One* 7: e3017.

Ebert D. 1994. Virulence and Local Adaptation of a Horizontally Transmitted Parasite. *Science* 265: 1084-1086.

Ebert D y Mangin KL. 1997. The influence of host demography on the evolution of virulence of a microsporidian gut parasite. *Evolution* 51: 1828-1837.

Evans JP y Pilastro A. 2011. Postcopulatory sexual selection. En: *Ecology and evolution of poeciliid fishes*. Evans JP, Pilastro A y Schlupp AI (eds). Editorial Chicago Univ. Press. Chicago pp 395-423.

Fabian D y Flatt T. 2012. Life History Evolution. *Nat Ed Knowledge* 3:24.

Farr JA. 1980. The effects of sexual experience and female receptivity on courtship-rape decisions in male guppies, *Poecilia reticulata* (Pisces: Poeciliidae). *Anim Behav* 28:1195-1201.

Fisher RA. 1930. *The Genetical Theory of Natural Selection*. Clarendon Press. Oxford. Reino Unido.

Fitzgerald GJ, Fournier M y Morrisette J. 1993. Sexual selection in an anadromous population of threespine sticklebacks- no role for parasites. *Evol Ecol* 8:348-356.

Freeland WJ. 1986. Pathogens and the evolution of primate sociality. *Biotropica* 8:12-24.

Friard O y Gamba M. 2016. BORIS: a free, versatile open-source event-logging software for video/audio coding and live observations. *Methods Ecol Evol* 7:1325-1330.

Friberg J. 1982. Immunological infertility in men: clinical and therapeutic considerations. En: *Treatment of male infertility*. Bain J, Schill W y Schwarmein L (eds.). Editorial Springer. Berlin pp. 153-168.

Froese R. 2006. Cube law, condition factor and weight-length relationships: history, meta-analysis and recommendations. *J App Ichth* 22: 241-253.

Folstad I y Karter AJ. 1992. Parasites, bright males, and the immunocompetence handicap. *Am Nat* 139:603-622.

García-Vásquez A, Razo-Mendivil U y Rubio-Godoy M. 2015. Morphological and molecular description of eight new species of *Gyrodactylus* von Nordmann, 1832 (Platyhelminthes: Monogenea) from poeciliid fishes, collected in their natural distribution range in the Gulf of Mexico slope, Mexico. *Parasitol Res* 114: 3337-3355.

Gasparini C, Kelley JL y Evans JP. 2014. Male sperm storage compromises sperm motility in guppies. *Biol Lett* 10: 20140681.

Getty T. 2002. Signaling health versus parasites. *Am Nat* 159:363-371.

Grenfell BT y Dobson AP. 1995. Ecology of infectious diseases in natural populations. Editorial Cambridge Univ. Reino Unido.

Grether GF, Millie DF, Bryant MJ, Reznick DN y Mayea W. 2001. Rain forest canopy cover, resource availability, and life history evolution in guppies. *Ecology* 82:1546-1559.

Guevara-Fiore P, Skinner A y Watt PJ. 2010. Do male guppies distinguish virgin females from recently mated ones? *Anim Behav*, 77: 425-431.

Guevara-Fiore P, Stapley J y Watt PJ. 2010. Mating effort and female receptivity: how do male guppies decide when to invest in sex? *Behav Ecol Sociobiol* 64:1665-1672.

Hamilton WD. 1990. Mate choice: Near or far, for now or later. *Amer Zool* 30: 341-352.

Hamilton WD y Zuk M. 1982. Heritable true fitness and bright birds: a role for parasites? *Science* 218: 384-387.

Harris PD, Soleng A y Bakke TA. 2000. Increased susceptibility of salmonids to the monogenean *Gyrodactylus salaris* following administration of hydrocortisone acetate. *Parasitology* 120: 57-64.

Helfenstein F, Losdat S, Møller AP, Blount JD y Richner H. 2010. Sperm of colourful males are better protected against oxidative stress. *Ecol Lett* 13:213-222.

Herdman EJE, Kelly CD y Godin JJ. 2004. Male Mate Choice in the Guppy (*Poecilia reticulata*): Do Males Prefer Larger Females as Mates? *Ethology* 110: 97-111.

Hill GE. 1990. Female house finches prefer colourful males: sexual selection for a condition dependent trait. *Anim Behav* 40:563- 572.

Hillgarth N. 1990. Parasites and Female Choice in the Ringnecked Pheasant. *Am Zool* 30:227-33.

Hockley FA, Wilson CAME, Brew A y Cable J. 2014. Fish responses to flow velocity and turbulence in relation to size, sex and parasite load. *J R Soc Interface* 11:20130814.

Hogarth PJ. 1982. Immunological aspects of mammalian reproduction. Blackie and Son Ltd. Glasgow.

Huang C, Sun C, Su X, Zhao X, Miao M, Liu Y y Dong Q. 2009. Sperm cryopreservation in guppies and black mollies-A generalized freezing protocol for livebearers in Poeciliidae. *Cryobiology* 59:351-356.

Houde AE. 1997. Sex, Color, and Mate Choice in Guppies. Editorial Princeton University Press. Princeton Nueva Jersey.

Houde AE y Torio AJ. 1992. Effect of parasitic infection on male colour pattern and female choice in guppies. *Behav Ecol* 3:346-351.

Hosken DJ y O' Shea JE. 2001. Sperm production and immune function in two Australian bats, *Chalinolobus morio* and *Nyctophilus geoffroyi*. *Ethol Ecol Evol* 13:173-180.

Hunt J, Brooks R, Jennions MD, Smith MJ y Bentsen CL. 2004. High quality male field crickets invest heavily in sexual display but die young. *Nature* 432:1024-1027.

Hurd H. 1993. Reproductive disturbances induced by parasites and pathogens of insects. En: *Parasites and Pathogens of Insects*. Beckage NE, Thompson SE, Federici BA (eds). Editorial Academic Press. San Diego pp 25-57.

Jennions MD y Petrie M. 2000. Why do females mate multiply? A review of the genetic benefits. *Biol Rev* 75:21-64.

Johnson LL y Boyce MS. 1991. Female choice of males with low parasite loads in sage grouse. En: *Bird-Parasite interactions: Ecology, Evolution and Behaviour*. Loye, JE y Zuk M (eds.). Editorial Oxford Univ Press. Reino Unido pp. 377-388.

Johnson MB, Lafferty KD, Van Oosterhout C y Cable J. 2011. Parasite Transmission in Social Interacting Hosts: Monogenean Epidemics in Guppies. *PLoS ONE* 6: e22634.

Jones SRM. 2001. The occurrence and mechanisms of innate immunity against parasites in fish. *Dev Comp Immun* 25:841-852.

Kekäläinen J, Pirhonen J y Taskinen J. 2014. Do highly ornamented and less parasitized males have high quality sperm? an experimental test for parasite-induced reproductive trade-offs in European minnow (*Phoxinus phoxinus*). *Ecol Evol* 4:4237-4246.

Kelly CD. 2008. Why do male tree weta aggressively evict females from galleries after mating? *Ethology* 114:203-208.

Kennedy CEJ, Endler JA, Poynton SL y McMinn H. 1987. Parasite load predicts mate choice in guppies. *Behav Ecol Sociobiol* 21:291-295.

King TA y Cable J. 2007. Experimental infections of the monogenean *Gyrodactylus turnbulli* indicate that it is not a strict specialist. *Int J Parasitol* 37:663-672.

Kodrick-Brown A. 1985. Female preference and sexual selection for male colouration in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Behav Ecol Sociobiol* 17:199-205.

Kokko H, Klug H y Jennions MD. 2012. Unifying cornerstones of sexual selection: operational sex ratio, Bateman gradient and the scope for competitive investment. *Ecol Lett* 15:1340-1351.

Kolluru GR, Cardinali A, Liu L y Carapiet A. 2006. The effects of carotenoid and food availability on resistance to a naturally occurring parasite (*Gyrodactylus turnbulli*) in guppies (*Poecilia reticulata*). *Biol J Linn Soc* 89:301-309.

Kolluru GR, Gregory FG, Eric D y Sandra HS. 2008. Food availability and parasite infection influence mating tactics in guppies (*Poecilia reticulata*). *Behav Ecol* 20:131-137.

Kortet R, Hedrick AV y Vainikka A. 2010. Parasitism, predation and the evolution of animal personalities *Ecol Lett* 13:1449-1458.

Krebs JR, Davies NB 1993. *An introduction to behavioural ecology* 3a Ed. Cambridge, MA. Editorial Wiley-Blackwell. Reino Unido.

Kvarnemo C y Simmons LW. 2013. Polyandry as a mediator of sexual selection before and after mating. *Phil Trans R Soc B* 368:20120042.

Lango-Reynoso F, Castañeda Chávez M, Zamora-Castro JE, Hernández-Zárate G, Ramírez-Barragán MA y Solís-Morán E. 2012. La acuariofilia de especies ornamentales marinas: un mercado de retos y oportunidades. *Am J Aquat Res* 40: 12-21.

Leigh WS y Douglas JE. 2006. Evolutionary trade-off between weapons and testes. *PNAS* 103: 16346-16351.

Liley NR. 1966. Ethological isolating mechanisms in four sympatric species of poeciliid fishes. *Behaviour (Suppl.)* 13: 1-197.

Ligon JD, Thornhill R, Zuk M y Johnson K. 1990. Male-male competition, ornamentation, and the role of testosterone in sexual selection in red jungle fowl. *Anim Behav* 40: 367-373.

- Lipsitch M y Moxon RE. 1997. Virulence and transmissibility of pathogens: what is the relationship? *Trends Microbiol* 5: 31-37.
- Liljedal S, Folstad I y Skarstein F. 1999. Secondary sex traits, parasites, immunity and ejaculate quality in the Arctic charr. *Proc R Soc Lond B Biol Sci* 266: 1893-1898.
- Locatello L, Rasotto MB, Evans JP y Pilastro A. 2006. Colourful male guppies produce faster and more viable sperm. *J Evol Biol* 19: 1595-602.
- López S. 1998. Parasitized female guppies do not prefer showy males. *Anim Behav* 57: 1129-1134.
- Losdat S, Richner H, Blount JD y Helfenstein F. 2011. Immune activation reduces sperm quality in the great tit. *PLoS ONE* 6: e22221.
- Lüpold S, Tomkins JL, Simmons LW y Fitzpatrick JL. 2014. Female monopolization mediates the relationship between pre- and postcopulatory sexual traits. *Nat Commun* 5: 3184.
- Lyles AM. 1990. Genetic variation and susceptibility to parasites: *Poecilia reticulata* infected with *Gyrodactylus turnbulli*. Tesis de Doctorado. Universidad de Princeton.
- Mackinnon MJ y Read AF. 1999. Selection for high and low virulence in the malaria parasite *Plasmodium chabaudi*. *Proc R Soc Lond B* 266: 741-748.
- Madhavi R y Anderson RM. 1985. Variability in the susceptibility of the fish host, *Poecilia reticulata*, to infection with *Gyrodactylus bullatarudis* (Monogenea). *Parasitology* 91: 531-544.
- Magurran AE. 2005. Evolutionary ecology: The Trinidadian guppy. Oxford University Press. Reino Unido 206 pp.

Mahmoud NN, Boobol SK, Bilinski RT, Martucci C, Chadburn A y Bertagnolli MM. 1997. Apc gene mutation is associated with a dominant-negative effect upon intestinal cell migration. *Cancer Res* 57: 5045-5050.

Malo AF, Roldan ERS, Garde J, Soler AJ y Gomendio M. 2005. Antlers honestly advertise sperm production and quality. *Proc R Soc Lond B* 272: 149-157.

Martin CH y Johnsen S. 2007. A field test of the Hamilton-Zuk hypothesis in the Trinidadian guppy (*Poecilia reticulata*). *Behav Ecol Sociobiol* 61: 1897-1909.

Matthews IM, Evans JP y Magurran AE. 1997. Male Display Rate Reveals Ejaculate Characteristics in the Trinidadian guppy *Poecilia reticulata*. *Proc Roy Soc Lond B* 264: 695-700.

McCallum H, Fenton A, Hudson PJ, Lee B, Levick B, Norman R, Perkins SE, Viney M, Wilson AJ y Lello J. 2017. Breaking beta: deconstructing the parasite transmission function. *Phil Trans R Soc B* 372: 20160084.

Meinhard A y Hedger MP. 2011. Immunological, paracrine and endocrine aspects of testicular immune privilege. *Mol Cell Endocrinol* 335: 60-68.

Milinski M. 1984. Parasites determine a predator's optimal feeding strategy. *Behav Ecol Sociobiol* 15: 35-37.

Milinski M. 1990. Parasitism and host behavior. En: *Parasites and host decision-making*. C. Barnard J, Behnke JM (eds.). Editorial Taylor and Francis. Londres.

Milinski M y Bakker CM. 1990. Female sticklebacks use male coloration in mate choice and hence avoid parasitized males. *Nature* 344: 330-333.

Møller AP. 1990. Effects of a haematophagous mite on the barn swallow (*Hirundo rustica*): a test of the Hamilton and Zuk hypothesis. *Evolution* 44: 771-784.

Nicoletto PF. 1991. Female sexual response to condition-dependent ornaments in the guppy *Poecilia reticulata*. *Anim Behav* 46: 441-450.

Nicoletto PF. 1993. The influence of water velocity on the display behavior of male guppies, *Poecilia reticulata*. *Behav Eco* 7: 272-278.

Olsen OW. 1974. *Animal parasites: their life cycles and ecology*. Editorial University Park Press. Baltimore.

Olsson M, Andersson S y Wapstra E. 2011. UV-Deprived Coloration Reduces Success in Mate Acquisition in Male Sand Lizards (*Lacerta agilis*). *PLoS ONE* 6: e19360.

Olsson M, Madsen T y Shine R. 1997. Is sperm really so cheap? Costs of reproduction in male adders, *Vipera berus*. *Proc R Soc Lond B* 264: 455-459.

Ojanguren AF y Magurran AE. 2004. Uncoupling the links between male mating tactics and female attractiveness. *Proc R Soc Lond B (Suppl)* 271: 427-429.

Parker GA. 1970. Sperm competition and its evolutionary consequences in the insects. *Biol Rev* 45:525-567.

Parker GA. 1998. Sperm competition and the evolution of ejaculates: towards a theory base. En: Birkhead TR y Møller AP (Eds.). *Sperm competition and sexual selection* (pp. 3e54). Academic Press Londres. pp 3-54.

Parker GA, Lessells CM y Simmons LW. 2013. Sperm competition games: a general model for pre-copulatory male-male competition. *Evolution* 67: 95-109.

Paukku S y Kotiaho JS. 2005. Cost of reproduction in *Callosobruchus maculatus*: effects of mating on male longevity and the effect of male mating status on female longevity. *J Insect Physiol* 51: 1220-1226.

Pélabon C, Borg AA, Jens B, Belvenmark I, Forsgren E y Amundsen T. 2005. Do microsporidian parasites affect courtship in two-spotted gobies? *Marine Biol* 148: 189-196.

Perdikaris C, Nathanailides C, Gouva E, Gabriel U, Bitchava K, Athanasopoulou F, Paschou A y Paschos I. 2010. Size-related effectiveness of Clove oil as anaesthetic for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792) and goldfish (*Carassius auratus* Linnaeus, 1758). *Acta Veterinaria Brno* 79: 481-490.

Peters A, Delhey KK, Denk AG y Kempenaers B. 2004. Trade-offs between immune investment and sexual signaling in male mallards. *Epub* 164: 51-59.

Pilastro A, Evans JP, Sartorelli S y Bisazza A. 2002. Male phenotype predicts insemination success in guppies. *Proc R. Soc Lond B* 269: 1325–1330.

Pilastro A y Bisazza A. 1999. Insemination efficiency of two alternative male mating tactics in the guppy (*Poecilia reticulata*). *Proc R Soc B Lond* 266: 1887-1891.

Pitcher TE, Neff BD, Rodd FH y Rowe L. 2003. Multiple mating and sequential mate choice in guppies: females trade up. *Proc Biol Sci* 7,270: 1623-9.

Råberg L, Sim D y Read AF. 2007. Disentangling genetic variation for resistance and tolerance to infectious diseases in animals. *Science* 318: 812-814.

Rahman M, Kelley JL y Evans JP. 2013. Condition-dependent expression of pre- and postcopulatory sexual traits in guppies. *Ecol Evol* 3: 2197-2213.

Rantala MJ, Koskimaki J, Taskinen J, Tynkkynen K y Suhonen J. 2000. Immunocompetence, developmental stability and wingspot size in the damselfly *Calopteryx splendens*. *L Proc R Soc Lond B* 267: 245-2457.

Razo- Mendívil U, Mendoza-Garfias B, Pérez-Ponce de León G y Rubio-Godoy M. 2014. A new species of *Auriculostoma* (Digenea: Allocreadiidae) in the Mexican tetra *Astyanax*

mexicanus (Actinopterygii, Characidae) from central Veracruz, Mexico, described with the use of morphological and molecular data. *J Para* 100: 331-337.

Ressel S y Schall, JJ. 1989. Parasites and showy males: malarial infection and color variation in fence lizards. *Oecologia* 78: 158-164.

Reznick D, Nunney L y Tessier A. 2000. Big houses, big cars, superfleas and the costs of reproduction. *Trends Ecol Evol* 15: 421-425.

Richards GR y Chubb JC. 1996. Challenge infections, following treatment, of *Gyrodactylus bullatarudis* and *G. Turnbulli* (Monogenea) on the guppy (*Poecilia reticulata*). *Parasitol Res* 82: 242-247.

Roberts KE, Evison SEF, Baer B, Hughes WHO. 2015. The cost of promiscuity: sexual transmission of *Nosema* microsporidian parasites in polyandrous honey bees. *Nature Sci Rep* 5: 10982.

Rodd FH y Sokolowski MB. 1995. Complex origins of variation in the sexual behaviour of male Trinidadian guppies. *Poecilia reticulata*: Interactions between social environment, heredity, body size, and age. *Anim Behav* 49: 1139-1159.

Rolff J y Siva-Jothy MT. 2002. Copulation corrupts immunity: a mechanism for a cost of mating in insects. *Proc Natl Acad Sci* 99: 9916-9918.

Roitt I, Brostoff J y Male D. 1993. *Immunology*. London: Mosby 482 pp.

Rubio-Godoy M, Paladini G, García-Vasquez A y Shinn AP. 2010. *Gyrodactylus jarocho* sp. nov. and *G. xalapensis* sp. nov. (Platyhelminthes: Monogenea) from Mexican poeciliids (Teleostei: Cyprinodontiformes), with comments on the known gyrodactylid fauna infecting poeciliid fish. *Zootaxa* 2509: 1-29.

Rubio-Godoy M, Paladini G, Freeman MA, García-Vásquez A y Shinn AP. 2012. Morphological and molecular characterization of *Gyrodactylus salmonis* (Platyhelminthes, Monogenea) isolates collected in Mexico from rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum). *Vet Parasitol* 186: 289-300.

Rushbrook BJ y Barber I. 2006. Nesting, courtship and kidney hypertrophy in *Schistocephalus*-infected male three-spined stickleback from an upland lake. *J Fish Biol* 69: 870-882.

Santiago-Moreno J, Luzón M, Coloma MA, Pulido-Pastor A, Gómez-Guillamón F, Ricardo Salas de la Vega R, Toledano-Díaz A y López-Sebastián A. 2010. Relationship between Iberian ibex (*Capra pyrenaica*) sperm quality and level of parasitism. *Eur J Wildl Res* 56: 605-611.

Scott ME y Nokes DJ. 1984. Temperature-dependent reproduction and survival of *Gyrodactylus bullatarudis* (Monogenea) on guppies (*Poecilia reticulata*). *Parasitology* 89: 221-229.

Scott PW. 1987. A fishkeeper's guide to livebearing fishes. Editorial Salamander. Londres.

Schultz ET, Topper M y Heins DC. 2006. Decreased reproductive investment of female threespine stickleback *Gasterosteus aculeatus* infected with the cestode *Schistocephalus solidus*: parasite adaptation, host adaptation, or side effect? *Oikos* 114: 303-310.

Sheldon BC y Verhulst S. 1996. Ecological immunology: costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends Ecol Evol* 11: 317-321.

Shiadeh MN, Niyayati M Fallahi S y Rostami A. 2016. Human parasitic protozoan infection to infertility: a systematic review. *Parasitol Res* 115: 469-477.

Simmons LW. 2011. Resource allocation trade-off between sperm quality and immunity in the field cricket, *Teleogryllus oceanicus*. *Behav Ecol* 23: 168-173.

Slatyer RA, Mautz BS, Backwell PRY y Jennions MD. 2012. Estimating genetic benefits of polyandry from experimental studies: a meta-analysis. *Biol Rev* 87:1-33.

Sorci GA, Møller P y Boulinier T. 1997. Genetics of host-parasite interactions. *Trends Ecol Evol* 12: 196-199.

Soleng A, Jansen PA y Bakke TA. 1999. Transmission of the monogenean *Gyrodactylus salaris*. *Fol Parasitol.* 46: 179-184.

Stein RA. 2011. Super-spreaders in infectious diseases. *Int J Inf Dis* 15: e510-e513.

Stephenson JF, Van Oosterhout C y Cable J. 2015. Pace of life, predators and parasites: predator-induced life history evolution in Trinidadian guppies predicts decrease in parasite tolerance. *Biol Lett* 11:20150806.

Stephenson JF, Kinsella C, Cable J y Van Oosterhout C. 2016. A further cost for the sicker sex? Evidence for male-biased parasite-induced vulnerability to predation. *Ecol Evol* 6: 2506-2515.

Suttili FJ, Gressler LT y Baldisserotto B. 2014. Anthelmintic activity of the phytochemical eugenol against the fish parasite *Gyrodactylus* sp. and acute toxicity in *Daphnia pulex*. *Pan-Am J Aqua Sci* 9: 223-227.

Tadiri CP, Dargent F y Scott ME. 2013. Relative host body condition and food availability influence epidemic dynamics: a *Poecilia reticulata-Gyrodactylus turnbulli* host-parasite model. *Parasitology* 140: 343-351.

Tierney JF. 1994. Effects of *Schistocephalus solidus* (Cestoda) on the food intake and diet of the three-spined stickleback, *Gasterosteus aculeatus*. *J Fish Biol* 44: 731-735.

Van Oosterhout C, Harris PD y Cable J. 2003. Marked variation in parasite resistance between two wild populations of the Trinidadian guppy, *Poecilia reticulata* (Pisces: Poeciliidae). *Biol. J. Linn. Soc.* 79: 645-651.

Van Oosterhout C, Mohammed RS, Hansen H, Archard GA, McMullan M, Weese DJ y Cable J. 2007. Selection by parasites in spate conditions in wild Trinidadian guppies (*Poecilia reticulata*). *Int J Parasitol* 37: 805-812.

Van Voorhies WA. 1992. Production of sperm reduces nematode life-span. *Nature* 360: 456-458.

Velando A, Torres R y Alonso-Alvarez C. 2008. Avoiding bad genes: oxidatively damaged DNA in germ line and mate choice. *Bioessays* 30: 1212-1219.

Wilson-Leedy JG e Ingermann RL. 2007. Development of a novel CASA system based on open source software for characterization of zebrafish sperm motility parameters. *Theriogenology* 67: 661-672.

Xavier R, Faria PJ, van Oosterhout C, Johnson MB y Cable J. 2015. Evidence for cryptic speciation in directly transmitted gyrodactylid parasites of Trinidadian guppies. *PLoS ONE* 10: e0117096.

Zini A. y A. Agarwal (eds.). 2011. *Sperm Chromatin: Biological and Clinical Applications in Male Infertility and Assisted Reproduction*. Editorial Springer. Nueva York.

Zuk M, Kim T, Robinson SI y Johnsen TS. 1998. Parasites influence social rank and morphology, but not mate choice in female red junglefowl, *Gallus gallus*. *Anim Behav* 56: 493-499.

11. ANEXO 1: *Pruebas piloto*

Pruebas piloto de parasitación

Se utilizaron machos provenientes de la población colectada, los cuales se mantuvieron aislados en grupos de 4 individuos en tanques de 3 L bajo condiciones estándar. Posteriormente se parasitaron siguiendo la técnica utilizada en los peces experimentales (ver Metodología). Observamos que el 65% de los machos murió a partir de los 8 días de parasitismo (Figura 1), con una prevalencia del 100% y un incremento de más del 900% en la carga parasitaria (de 2 a 37 parásitos).

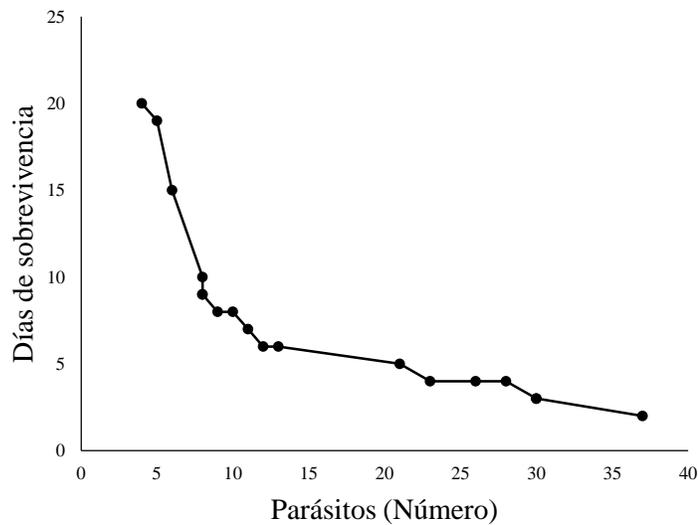


Figura 1. Carga final y días de supervivencia de machos observados en pruebas piloto (n=20).

Carga parasitaria de los machos

Se cuantificó la carga parasitaria de los machos antes de iniciar las pruebas de comportamiento sexual. Observamos que la carga máxima fue de 7 parásitos y la mínima de 2 (Figura 2), siendo una carga parasitaria de 4 *Gyrodactylus* la más prevalente en los machos (3.52%; Figura 2; Cuadro 1).

Cuadro 1. Variación de la carga parasitaria y proporción de machos parasitados (%).

Número de parásitos	Machos parasitados (%)
2	3.1
3	15.6
4	34.3
5	25
6	15.6
7	6.2

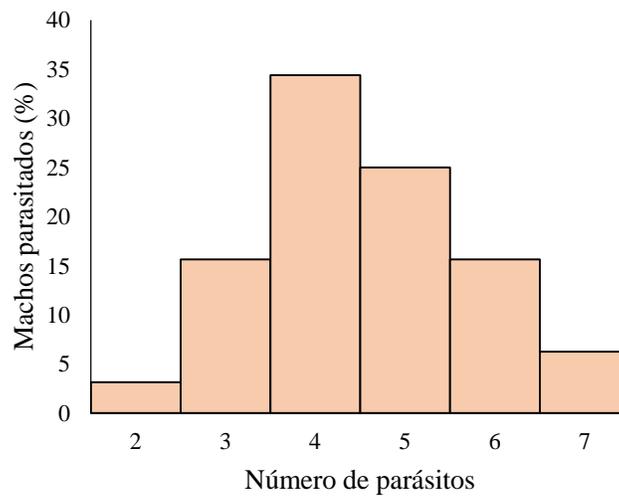


Figura 2. Variación en la carga parasitaria de los machos utilizados en las pruebas de comportamiento sexual (n=32).

12. ANEXO 2: Efecto del número de parásitos sobre el comportamiento sexual.

Análisis utilizando el parasitismo como una variable continua

Latencia al comportamiento

No se observó una relación positiva entre el número de parásitos y la latencia al comportamiento sexual ($z= 0.51$, $P= 0.60$; Figura 1; Cuadro 1).

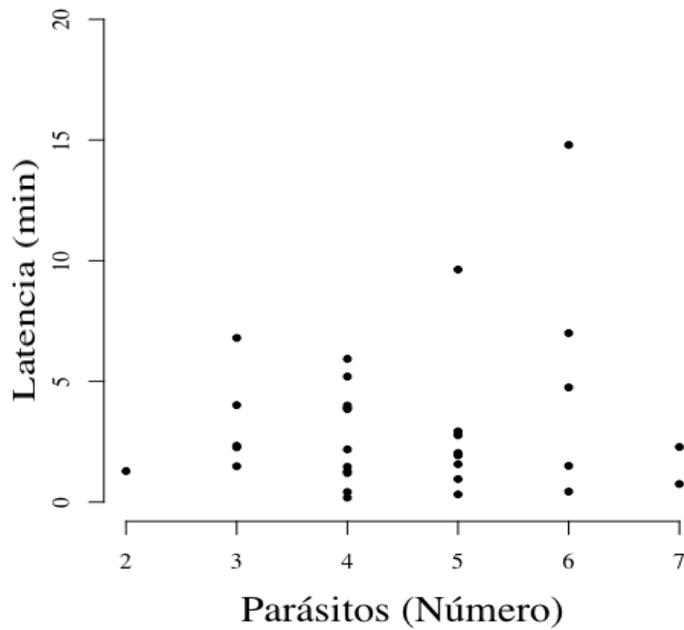


Figura 1. Relación entre el número de parásitos y la latencia al comportamiento de machos del tratamiento de guppies machos parasitados (n=32).

Esfuerzo de apareamiento

No se observó una relación entre el número de parásitos y el esfuerzo de apareamiento de los machos parasitados ($z = 1.70$, $P = 0.08$; Figura 2; Cuadro 1).

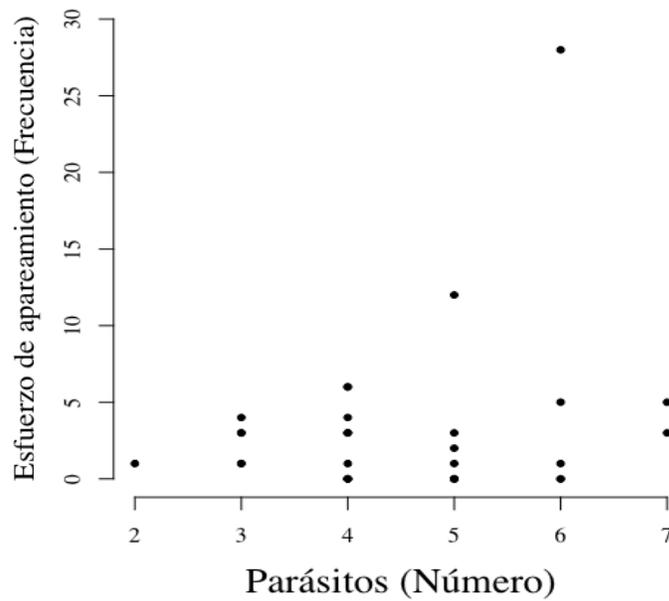


Figura 2. Relación entre el número de parásitos y el esfuerzo de apareamiento del tratamiento de machos parasitados (n=32).

Frecuencia de balanceo del gonopodio

Se observó una relación no significativa de la frecuencia de balanceos de gonopodio con la variación en el número de parásitos ($z= 0.42$, $P= 0.67$; Figura 3; Cuadro 1).

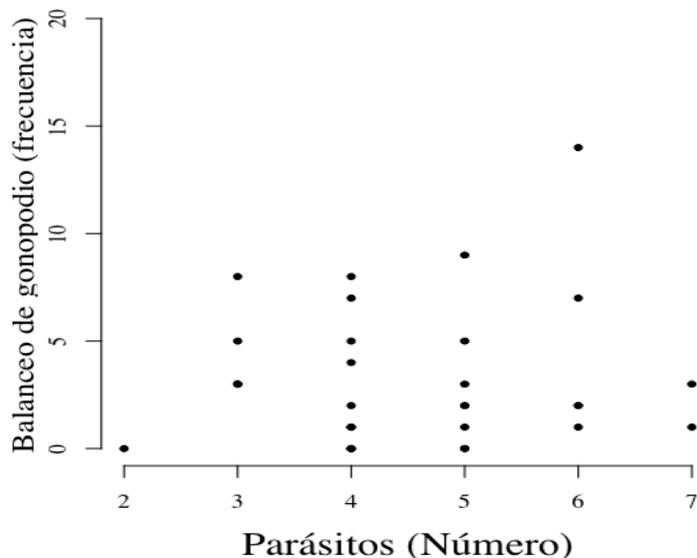


Figura 3. Relación entre el número de parásitos de machos y la frecuencia de balanceo de gonopodio del tratamiento de machos parasitados (n=32).

Frecuencia de mordidas

No se observó una relación entre la frecuencia de mordidas y el número de parásitos ($z= 0.08$, $P= 0.28$; Cuadro 1; Figura 4).

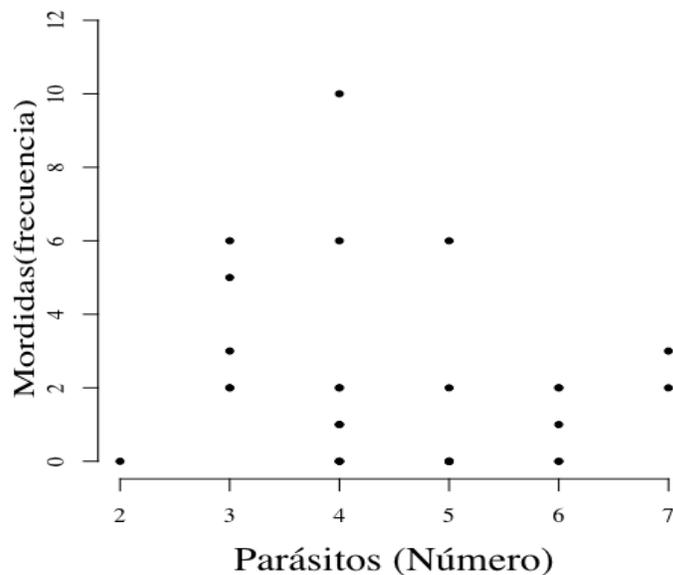


Figura 4. Relación entre la frecuencia de mordidas y el número de parásitos de machos del tratamiento de machos parasitados (n=32).

Tiempo cerca de la hembra

Observamos una relación negativa significativa de la duración del tiempo cerca de la hembra con la variación de parásitos en los machos. Los machos parasitados disminuyeron el tiempo de seguimiento a la hembra cuando el número de parásitos incrementó ($z = -2.0$, $P = 0.04$; Figura 5; Cuadro 1).

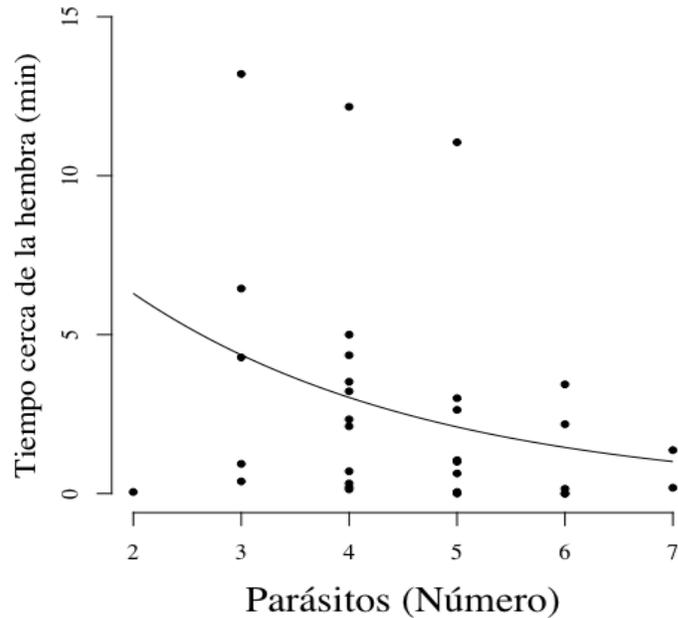


Figura 5. Relación entre el tiempo de duración del tiempo cerca de la hembra y el número de parásitos de machos del tratamiento de machos parasitados ($n=32$).

Elección de pareja

Cortejo

No se observó una relación significativa entre la frecuencia de cortejo que un macho desempeña a la hembra preferida y la carga parasitaria cuantificada ($t=0.44$, $P= 0.65$; Cuadro 1; Figura 6; Cuadro 1).

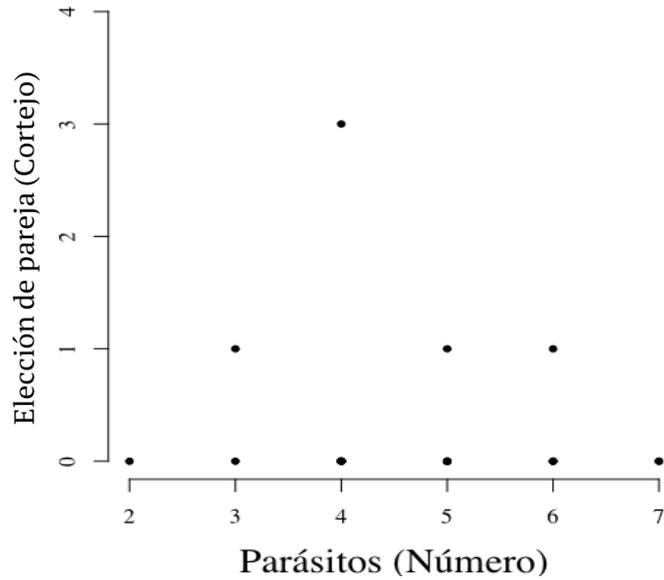


Figura 6. Relación entre el número de parásitos y la frecuencia en la elección de pareja (cortejo) de machos del tratamiento de machos parasitados (n=32).

Intentos de cópula forzada

No se observó una relación significativa entre la frecuencia de intentos de cópula forzada que un macho desempeña a la hembra preferida y la carga parasitaria cuantificada ($t=1.01$, $P= 0.37$; Figura 7; Cuadro 1).

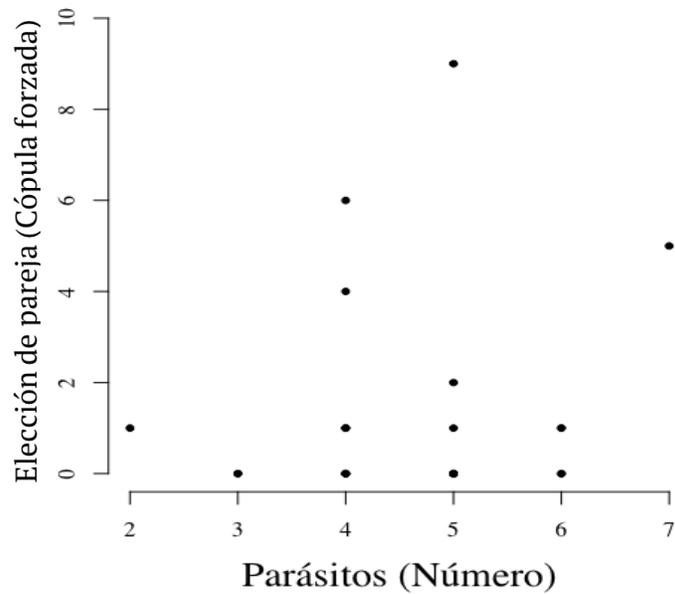


Figura 7. Relación entre el número de parásitos y la frecuencia en la elección de pareja (intentos de cópula forzada) de machos del tratamiento de machos parasitados (n=32).

Cuadro 1. Modelos generalizados para el comportamiento de machos del tratamiento Experimental y su relación con el número de parásitos.

Término	g.l.	Devianza(X^2)	P	%
Parásitos- Latencia al comportamiento	1	2.31	0.60	0.33
Parásitos- Esfuerzo de apareamiento	1	2.31	0.08	6.3
Parásitos- Balanceo de gonopodio	1	0.17	0.67	0.49
Parásitos- Mordidas	1	0.17	0.28	0.49
Parásitos- Duración tiempo cerca de la hembra (min)	1	2.25	0.04*	5.48
Parásitos- Elección de pareja (cortejo)	1	0.13	0.65	1.87
Parásitos- Elección de pareja (cópula forzada)	1	5.78	0.37	3.31

Se muestra la devianza residual, total y el porcentaje de explicación de cada variable en el modelo.

13. ANEXO 3: Efecto del número de parásitos sobre la calidad espermática. Análisis utilizando el parasitismo como una variable continua

Paquetes espermáticos

No se observó un efecto de la variación en el número de parásitos cuantificados en la segunda medición del número de paquetes espermáticos de los machos parasitados (GLM. $z= 1.42$, $P= 0.15$; Figura 1; Cuadro 1).

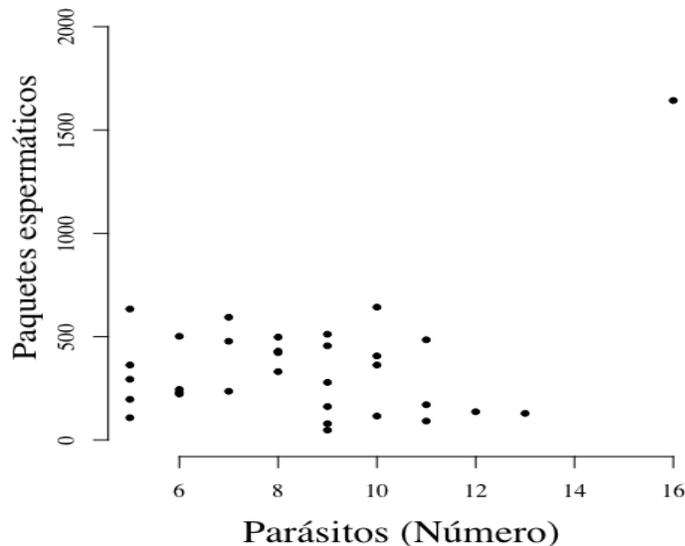


Figura 1. Relación entre el número de parásitos de guppies machos y el número de paquetes espermáticos después del tratamiento (n=32).

Concentración espermática

No se observó un efecto de la variación del número de parásitos cuantificados en la segunda medición del número de paquetes espermáticos de los machos parasitados (GLM. $z=0.61$, $P=0.53$; Figura 2; Cuadro 1).

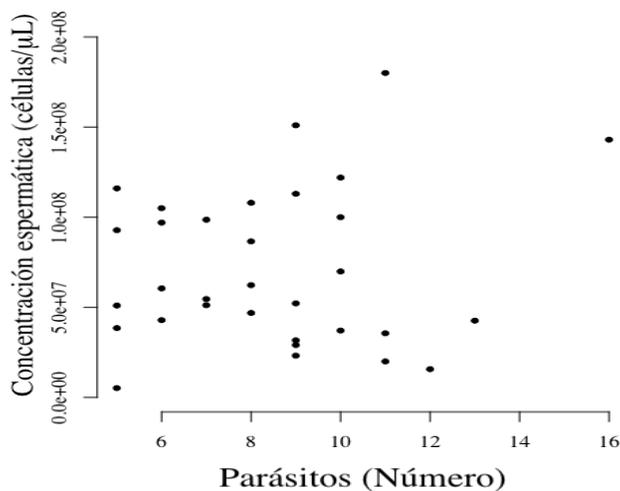


Figura 2. Relación entre el número de parásitos de guppies machos parasitados y la concentración de espermatozoides después del tratamiento (n=32).

Movilidad espermática

No se observó un efecto significativo del número de parásitos de los machos en el porcentaje de movilidad de los espermatozoides de los machos parasitados (GLM. $t=1.42$, $P=0.08$; Figura 3; Cuadro 1).

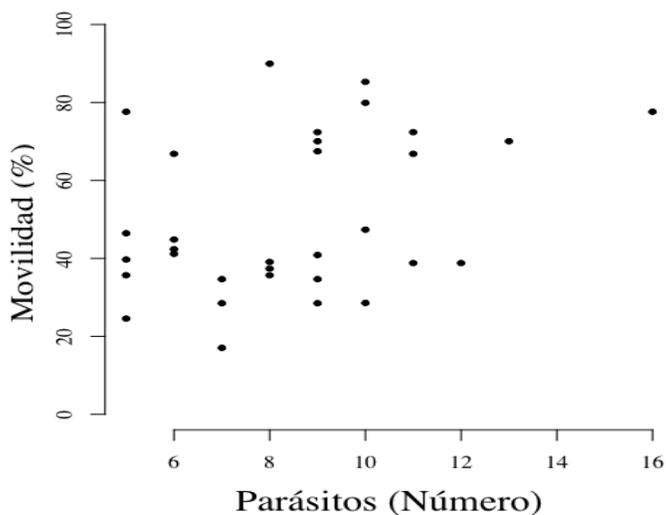


Figura 3. Relación entre el número de parásitos de guppies machos y el porcentaje de espermatozoides móviles después del tratamiento (n=32).

Viabilidad espermática

No se observó un efecto significativo entre el número de parásitos y la proporción de espermatozoides vivos de machos parasitados ($t=-1.05$, $P= 0.30$; Figura 4; Cuadro 1).

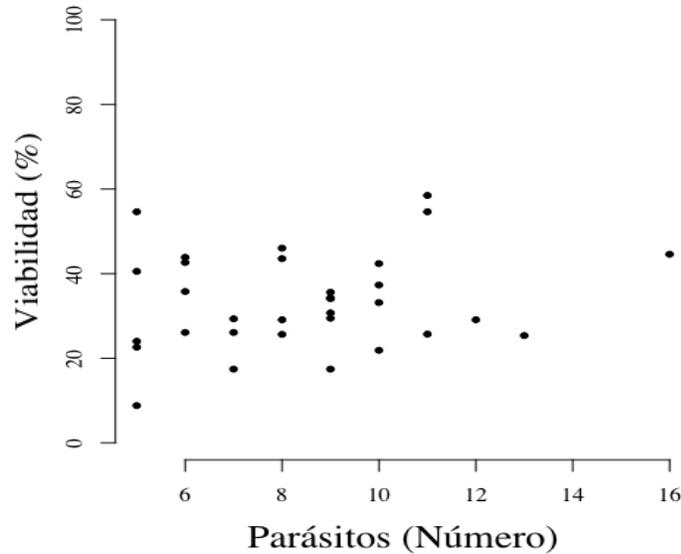


Figura 4. Relación entre el número de parásitos de guppies machos y el porcentaje de espermatozoides vivos después del tratamiento (n=32).

Velocidad espermática

Velocidad promedio (VAP)

No se observó un efecto de la variación del número de parásitos cuantificados en la velocidad promedio de los espermatozoides (VAP) (GLM. $t= -1.19$, $P= 0.24$; Figura 5; Cuadro 1).

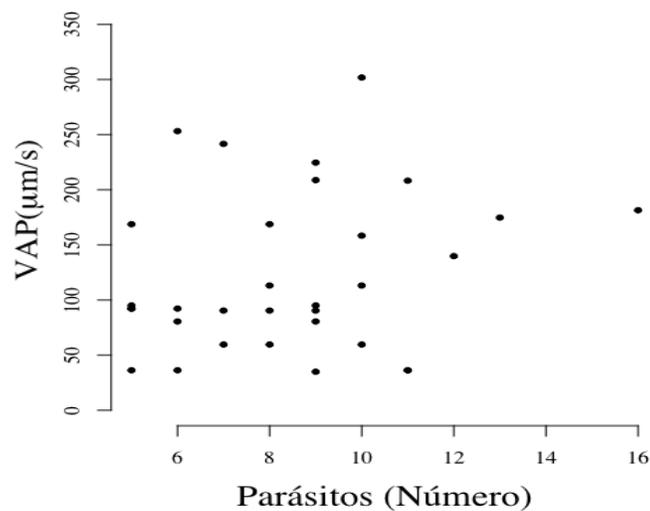


Figura 5. Relación entre el número de parásitos de guppies machos y la velocidad promedio (VAP) después del tratamiento (n=32).

Velocidad curvilinear (VCL)

No se observó un efecto de la variación del número de parásitos cuantificados en la segunda medición en la velocidad curvilinear de los espermatozoides (GLM, $t = -0.70$, $P = 0.48$; Figura 6; Cuadro 1).

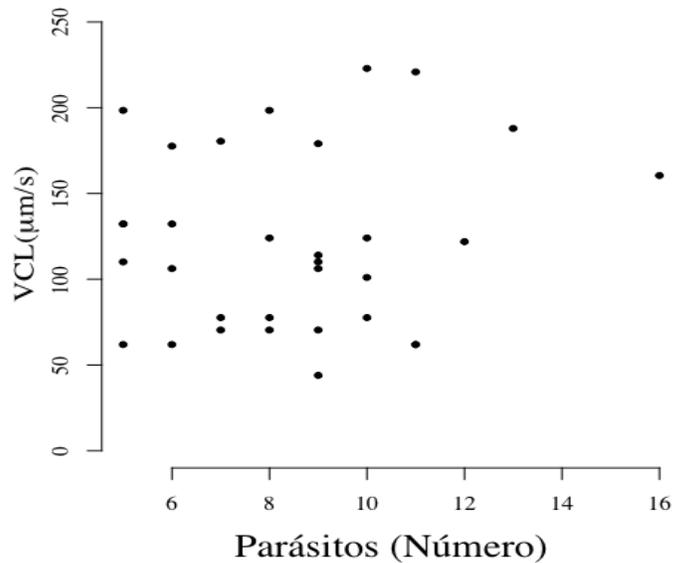


Figura 6. Relación entre el número de parásitos de guppies machos y la velocidad curvilinear (VCL) después del tratamiento (n=32).

Morfología espermática

Longitud total

Se observó un efecto significativo del número de parásitos de los machos en la longitud total de los espermatozoides. Los machos con una menor carga parasitaria tuvieron mayor longitud total en los espermatozoides (GLM, $t = 2.11$, $P = 0.04$; Figura 7; Cuadro 1).

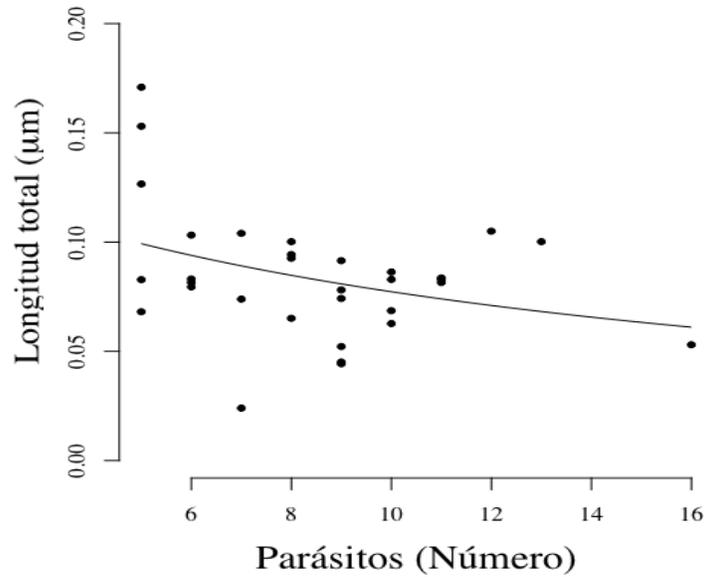


Figura 7. Relación entre el número de parásitos de guppies machos y la longitud total de los espermatozoides (μm) después del tratamiento ($n=32$).

Longitud de flagelo

No se observó un efecto significativo de la variación en el número de parásitos en la longitud de flagelo de los espermatozoides (GLM, $t= 0.33$, $P= 0.73$; Figura 8; Cuadro 1).

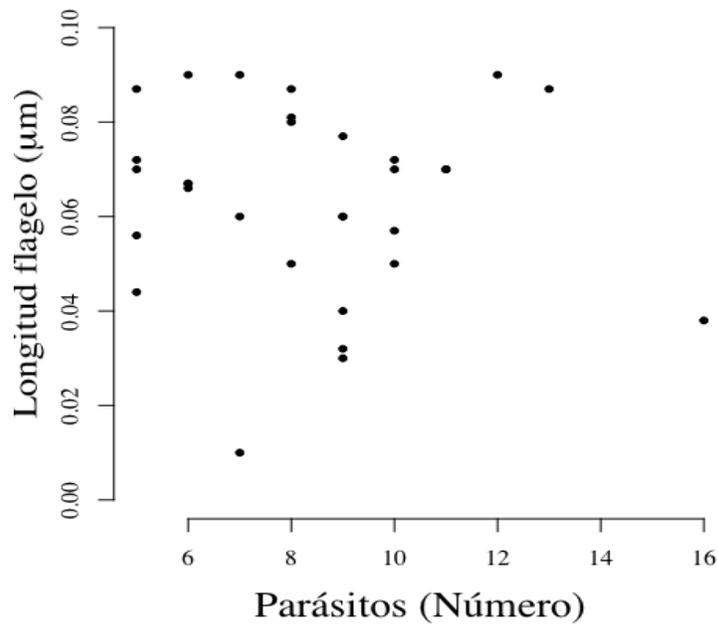


Figura 8. Relación entre el número de parásitos de guppies machos y la longitud total de los espermatozoides (μm) después del tratamiento ($n=32$).

Cuadro 1. Cuadro de modelos generalizados para las variables de calidad espermática de machos del tratamiento Experimental y su relación con el número de parásitos.

Término	g.l.	Devianza(X^2)	P	%
Parásitos-Paquetes espermáticos	1	3.03	0.15	8.13
Parásitos-Número de espermatozoides	1	0.41	0.53	1.18
Parásitos-Movilidad	1	0.62	0.08	11.89
Parásitos-Viabilidad	1	0.12	0.30	2.88
Parásitos-VAP	1	0.45	0.24	3.99
Parásitos-VCL	1	0.08	0.48	1.52
Parásitos-Longitud total	1	0.45	0.04*	11.54
Parásitos-Longitud de flagelo	1	0.01	0.73	0.22

Se muestra la devianza residual, total, el valor de P y el porcentaje de explicación de cada variable en el modelo.

14. PUBLICACIONES

14.1. XX Curso de Bases Biológicas de la Conducta

¿COLOR O ESPERMA?: EFECTO DEL PARASITISMO SOBRE LA CALIDAD DE CARACTERÍSTICAS PRE Y POST CÓPULA

Luis Enrique Muñoz Atonal¹, Fausto René Beamonte-Barrientos², Palestina Guevara Fiore³

¹ Maestría en Ciencias Biológicas, UATx. ² Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UATx. ³ Laboratorio de Biología Evolutiva, BUAP.

Las disyuntivas entre dos rasgos que están en conflicto por recursos son un tema central en la biología evolutiva; entenderlas permite conocer los factores asociados a la evolución de atributos morfológicos, fisiológicos y conductuales. Ante una infestación parasitaria crónica, los hospederos deben asignar más recursos a funciones de mantenimiento como la respuesta inmune, la cual involucra una serie de procesos demandantes de energía y nutrientes específicos que no serán utilizables en funciones reproductivas (e.g. coloración, cópula, cuidado parental). Consecuentemente, los organismos enfrentan una disyuntiva de asignación de recursos disponibles entre la defensa inmune y la reproducción. A pesar de que en diferentes taxa se ha documentado una disminución de la calidad de rasgos reproductivos en machos parasitados (e.g. menor cortejo), pocas veces se ha puesto a prueba el efecto del parasitismo simultáneamente en más de una característica reproductiva, y particularmente, no se ha estudiado cómo la disyuntiva entre defensa inmune y reproducción determina las características que se encuentran bajo diferentes fuerzas de selección sexual. El presente estudio propone evaluar de forma experimental el efecto del parasitismo intestinal sobre la coloración y la calidad espermática de manera simultánea en machos guppies (*Poecilia reticulata*).

La coloración y la calidad espermática son características regidas por selección que opera a dos escalas diferentes: pre y post- cópula respectivamente. Estudiar rasgos implicados en procesos pre (i.e. coloración) y postcopulatorios (i.e. calidad espermática) aportará información relevante para ampliar nuestro entendimiento sobre la teoría de historias de vida, además de aportar evidencia de cómo los parásitos intestinales afectan el éxito reproductivo en machos.

El objetivo de este estudio es poner a prueba el efecto del parasitismo sobre la coloración y la calidad espermática en guppies machos, para lo cual primeramente se

identificará a nivel de especie el parásito intestinal que infesta a la población de guppies del presente proyecto, y se desarrollará un método para la inoculación por vía oral de los huevos del parásito. La carga parasitaria se estudiará en cuatro tratamientos: sin parasitismo, parasitismo bajo, parasitismo medio y parasitismo alto. Se evaluará la coloración (brillo, tono y cromaticidad) y calidad espermática (morfología, viabilidad, movilidad, concentración y fragmentación de ADN) entre individuos de los diferentes tratamientos durante seis meses, en los cuales se evaluará la mortandad y la disminución tanto en la intensidad de los ornamentos sexuales (coloración) como en la calidad espermática entre los machos más y menos parasitados. Se predice que los rasgos postcopulatorios se afectarán mayormente que los precopulatorios ante una carga parasitaria mayor ya que evolutivamente se espera que éstos últimos tengan una selección más fuerte que los postcopulatorios ya que sin ellos no se podría llevar a cabo la cópula.

Este estudio aportará evidencia novedosa sobre el efecto de las cargas parasitarias intestinales a mediano plazo en dos rasgos clave para la reproducción al ser evaluados simultáneamente. Además, el diseño de una técnica de inoculación directa puede ser de utilidad para futuros estudios en distintas áreas enfocadas en interacciones hospedero-parásito y parasitología clínica.

EFFECTO DEL PARASITISMO EN RASGOS PRE Y POST COPULATORIOS DE MACHOS GUPPIES

Luis Enrique Muñoz Atonal ¹, Jorge Vázquez Pérez ², Palestina Guevara Fiore ³

¹ Maestría en Ciencias Biológicas, UATx. ² Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UATx. ³ Laboratorio de Biología Evolutiva, BUAP.

La selección sexual es una fuerza que tiende a seleccionar rasgos que funcionan como señales honestas de la condición de los organismos, ya que implican un costo energético. Diversos factores, como el parasitismo, reducen los recursos disponibles para diferentes requerimientos, comprometiendo así la expresión de dichos rasgos. Estos compromisos entre diferentes requerimientos se conocen como disyuntivas biológicas, y su estudio nos permite entender los factores asociados a la evolución de atributos morfológicos, fisiológicos y conductuales, complementando así la Teoría de Historias de Vida.

La mayoría de los estudios de las disyuntivas reproductivas se han enfocado en relacionar cómo un costo para un organismo genera una disminución en alguno de sus rasgos sexuales. Por ejemplo, los machos parasitados tienden a ser menos coloridos o a cortejar en menor frecuencia que los machos sanos. Sin embargo, pocas veces se han puesto a prueba las disyuntivas medidas simultáneamente en más de una característica reproductiva. Es por ello que decidimos estudiar cómo el parasitismo, una de las fuerzas selectivas más ubicuas en la naturaleza, afecta tres características sexuales en machos guppies (*Poecilia reticulata*).

En particular, quisimos entender las disyuntivas que se generan a partir del parasitismo entre rasgos implicados en la selección sexual a nivel precopulatorio (comportamiento y coloración) y post copulatorio (calidad espermática). Los guppies son un modelo de estudio idóneo para este proyecto, ya que sus características sexuales se han estudiado ampliamente debido a que exhiben patrones de variación cuando se someten a presiones selectivas.

El objetivo de este estudio es determinar si el ectoparásito monogéneo *Gyrodactylus* modifica en machos guppies: 1) El comportamiento sexual (cortejo, cópula forzada, seguimiento a la hembra y movimiento gonopodial), 2) La coloración (brillo, tono y cromaticidad), y 3) La calidad espermática (morfología, viabilidad, movilidad y concentración). Predijimos que las características sexuales medidas sólo disminuirán en los

machos del tratamiento experimental posterior a su parasitación, además de que las postcopulatorias se verán más afectadas que las precopulatorias. Además, los machos parasitados podrían cambiar su comportamiento sexual mostrando menos cortejo (que es costoso de realizar) y más cópulas forzadas (posiblemente menor demanda energética), que cuando no estaban parasitados o en comparación con los machos del tratamiento control.

Se pusieron a prueba dos tratamientos: a) Control, en donde los machos fueron expuestos a agua sin parásitos, y b) Experimental, en donde los machos fueron expuestos a agua con cuatro parásitos, los cuales se extrajeron a través de un cepillado de peces parasitados. Se midieron los tres rasgos sexuales un día antes (tiempo uno) y dos semanas después (tiempo dos) de la exposición. Para el comportamiento se colocó a cada macho con un par de hembras de tamaño distinto, y se midió la latencia, la frecuencia y duración de cortejo, así como el número de cópulas forzadas y seguimiento a las hembras usando el programa JWatcher®.

Para medir la coloración naranja (Reflectancia, valor de luminosidad, cromaticidad y matiz) se obtuvieron imágenes digitales de cada macho utilizando el programa ColourWorker®. Para evaluar la calidad espermática, se extrajeron dos muestras de esperma por cada macho para medir el número de paquetes espermáticos, movilidad (porcentaje de espermatozoides móviles e inmóviles), viabilidad (porcentaje de espermatozoides vivos y muertos) y concentración de espermatozoides (número de espermatozoides por micro litro). Además de los rasgos sexuales, se midió la condición corporal de los machos y su mortandad a lo largo del experimento.

Se presentarán los primeros resultados de este experimento (n=10) en el XXI Curso Bases Biológicas de la Conducta. Los resultados que obtengamos en el presente proyecto serán fundamentales para entender las disyuntivas reproductivas que ocurren simultáneamente a distintos niveles del éxito reproductivo como consecuencia del parasitismo.

EFFECTO DEL PARASITISMO SOBRE RASGOS PRE- Y POST-CÓPULA DE GUPPIES MACHOS

Luis Enrique Muñoz Atonal¹, Dra. Rosalina María de Lourdes Reyes Luna,² René Beamonte-Barrientos³, Palestina Guevara-Fiore⁴

¹ Maestría en Ciencias Biológicas, UATx. ² Laboratorio de Biología de la Reproducción. Facultad de Ciencias Biológicas, BUAP. ³ Centro Tlaxcala de Biología de la Conducta, UATx. ⁴ Laboratorio de Ecología Evolutiva. Facultad de Ciencias Biológicas, BUAP.

Generalmente, los efectos del parasitismo sobre la selección sexual de machos se estudian correlacionando la carga parasitaria con la expresión de un rasgo precopulatorio del hospedero, como la coloración. Sin embargo, a pesar de que los rasgos poscopulatorios, como la calidad espermática, también son costosos, poco interés se ha generado para entender cómo el parasitismo los afecta. Se esperaría que el costo del parasitismo fuera igual o más fuerte para rasgos poscopulatorios que precopulatorios, ya que la inversión precopulatoria asegura el éxito de apareamiento, mientras que la calidad de los rasgos poscopulatorios sólo benefician al macho si ya se ha apareado.

El parasitismo compromete múltiples rasgos del hospedero, por lo que además de estudiar diferentes tipos de características también es necesario estudiarlas simultáneamente, de modo que se genere información que nos permita interpretar la resolución de disyuntivas biológicas y así entender mejor la coevolución entre hospederos y parásitos.

Usamos al guppy, *Poecilia reticulata*, para estudiar el efecto del parasitismo sobre el esfuerzo de apareamiento (la suma de los cortejos y los intentos de cópula forzada), y la calidad espermática (concentración espermática, velocidad, morfología, viabilidad) de los machos. Los machos se asignaron a dos tratamientos: 1) Control, en el que machos sanos fueron inoculados con agua, y 2) Parasitismo, en el que machos sanos fueron infectados con 2 adultos del ectoparásito *Gyrodactylus*. El comportamiento sexual de los machos se midió solamente una vez, posterior al tratamiento, de modo que se compararon machos sanos con machos parasitados. La medición de la calidad espermática se realizó dos veces, antes y después del tratamiento.

El esfuerzo de apareamiento fue menor en machos parasitados que en machos control (GLM. g.l.= 5, $\chi^2 = 57.7$, % exp. = 14.1, P = 0.001, Figura 1). Además, los machos control no cambiaron ningún aspecto de su calidad espermática antes o después del tratamiento, pero los machos parasitados mostraron diferencias posteriores al tratamiento.

En machos parasitados, el número de espermatozoides/ μL fue similar antes y después de ser infectados (GLMM. Tratamiento: g.l.= 1, $\chi^2 = 1.34$, % exp. = 0.27, P = 0.31, tiempo: g.l.= 1, $\chi^2 = 0.02$, % exp. = 0.40, P= 0.54, tratamiento x tiempo: g.l.= 1, $\chi^2 = 0.04$, % exp. = 0.81, P = 0.61. Figura 2), pero su viabilidad (GLMM. Tratamiento: g.l.= 1, $\chi^2 = 20.5$, % exp. = 1.88, P = 0.001, tiempo: g.l.= 1, $\chi^2 = 10.38$, % exp. = 0.95, P = 0.01, tratamiento x tiempo: g.l.= 1, $\chi^2 = 53.08$, % exp. = 4.88, P= 0.01. Figura 3), velocidad promedio (VAP) (GLMM. Tratamiento: g.l.= 1, $\chi^2 = 2.47$, % exp. = 0.16, P = 0.13, tiempo: g.l.= 1, $\chi^2 = 2.64$, % exp. = 0.17, P= 0.001, tratamiento x tiempo: g.l.= 1, $\chi^2 = 15.28$, % exp. = 1.02, P = 0.01. Figura 4), y longitud total (mm) (GLMM. Tratamiento: g.l.= 1, $\chi^2 = 9.45$, % exp. = 1.34, P= 0.01, tiempo: g.l.= 1, $\chi^2 = 5.41$, % exp. = 0.77, P = 0.001, tratamiento x tiempo: g.l.= 1, $\chi^2 = 1.93$, % exp. = 0.27, P = 0.016. Figura 5) disminuyeron, por lo que se evidencia por primera vez el efecto negativo del parasitismo sobre la calidad espermática en guppies.

El hecho de que la cantidad de espermatozoides no se comprometa sugiere que la espermatogénesis no se ve dañada por el parasitismo, sino que el daño en la calidad espermática se genera en etapas posteriores del desarrollo de los espermatozoides que posiblemente son más costosas para el macho.

En conclusión, evaluamos simultáneamente el esfuerzo de apareamiento (rasgo pre-copulatorio) y la calidad espermática (rasgo post-copulatorio) en machos guppies, encontrando que ambos se ven altamente comprometidos ante el parasitismo.

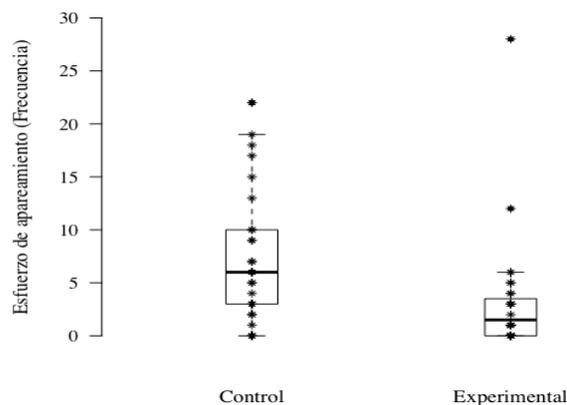


Figura 1. Esfuerzo de apareamiento de machos guppies en el tratamiento control (n=32) y experimental (n=32).

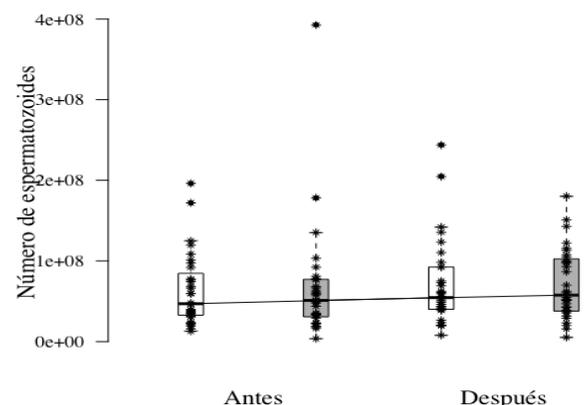


Figura 2. Concentración espermática (células/ μL) de machos del tratamiento Control (n=32. Cajas blancas) y Experimental (n=32. Cajas grises), antes y después de los tratamientos.

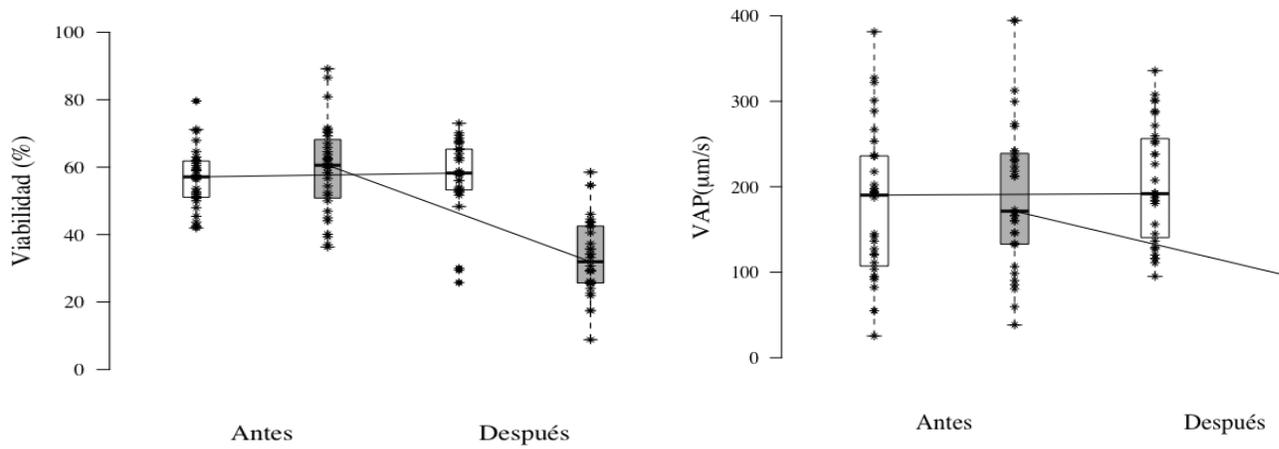


Figura 3. Porcentaje de espermatozoides móviles de machos del tratamiento Control (n=32. Cajas blancas) y Experimental (n=32. Cajas grises), antes y después de los tratamientos.

Figura 4. Velocidad promedio (VAP, μ/s) de los espermatozoides de machos del tratamiento Control (n=32. Cajas blancas) y Experimental (n=32. Cajas grises), antes y después de los tratamientos.

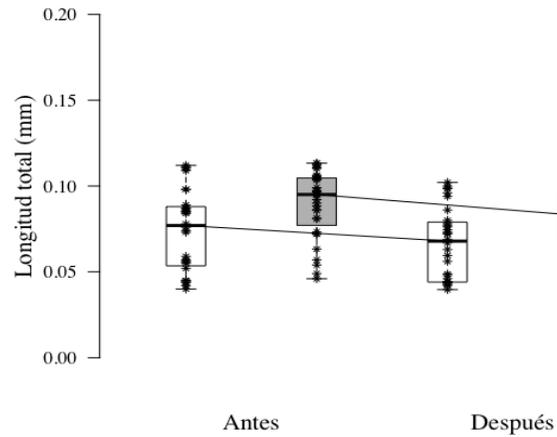


Figura 5. Longitud total (mm) de los espermatozoides de los machos del tratamiento Control (Cajas blancas) y Experimental (Cajas grises), antes y después de los tratamientos (n=32).

TRANSMISIÓN DE PARÁSITOS DE GUPPIES MACHOS A HEMBRAS POR INTERACCIÓN SEXUAL

Luis Enrique Muñoz Atonal¹, Karla Stephany Martínez Nicolás², Palestina Guevara-Fiore²

¹Maestría en Ciencias Biológicas, UATx. ²Laboratorio de Ecología Evolutiva, Facultad de Ciencias Biológicas, BUAP.

Una disyuntiva que los organismos enfrentan es el contagio por parásitos cuando interactúan sexualmente, ya que la cópula es indispensable para el éxito reproductivo, sin embargo, el contacto con el sexo opuesto puede aumentar el riesgo de contagio de patógenos, como los parásitos. A pesar de ello, son pocos los trabajos que han evaluado la relación que existe entre la interacción entre ambos sexos y la infección parasitaria, y en aquellos que sí se han estudiado sus resultados son contradictorios.

En este trabajo usamos al guppy para evaluar si la preferencia de apareamiento de los machos afecta la transmisión del ectoparásito *Gyrodactylus* de machos a hembras. Para ello, realizamos pruebas en las que un macho parasitado (Longitud estándar (LS): 12.92 ± 2.035 mm. $n = 32$) interactuó libremente con un par de hembras de diferente tamaño (pequeñas: 12.92 ± 2.04 mm; grandes: 18.42 ± 2.04 mm), y registramos los siguientes comportamientos dirigidos a cada una de ellas: frecuencia de cortejo, frecuencia de intentos de cópula forzada y acercamientos a la hembra. 24 horas después, se cuantificó el número de parásitos en cada una de las hembras, para realizar una correlación entre los comportamientos del macho y la carga parasitaria final de la hembra.

Contrario a lo que esperábamos, los comportamientos sexuales no tuvieron una relación con la carga parasitaria de las hembras. Sin embargo, los machos parasitados mostraron muy bajo esfuerzo de apareamiento (frecuencia de cortejos y cópulas forzadas) en comparación con machos sanos; además, no mostraron elección de pareja, un comportamiento que en machos sanos favorece a las hembras grandes.

No obstante, al analizar el efecto del tamaño de las hembras sobre la carga parasitaria, encontramos que las hembras pequeñas tuvieron una carga parasitaria mayor (Número de parásitos: 1-6, promedio=2.65) que las hembras grandes (Número de parásitos: 0-4, promedio=1.18), posterior al contacto con un macho parasitado (Número de parásitos: 2-7, promedio=4.53; Figura 1).

Nuestros resultados sugieren que el comportamiento del macho no facilita la transmisión del parásito, posiblemente porque su actividad sexual es muy baja, pero la talla de la hembra parece ser un buen predictor del contagio parasitario que una hembra sufre durante una interacción intersexual. Es posible que las hembras que difieren en tamaño, también tengan comportamientos divergentes que facilitaron la transmisión del parásito del macho. Otra explicación es que las hembras grandes tengan mayor resistencia a los parásitos, de modo que nuestros resultados pueden haber medido resistencia al parásito en lugar de una diferencia de su transmisión. Sin embargo, al menos en los machos experimentales, el 100% de los individuos que estuvieron en contacto con *Gyrodactylus* lo mantuvieron 24 h después de la infección, por lo que creemos que nuestra población tiene poca resistencia a este parásito. Ambas posibilidades deberán ser exploradas en futuras investigaciones.

El parasitismo impone costos en diferentes rasgos de los organismos, lo que puede generar una disminución en la adecuación del hospedero. Los resultados obtenidos en este proyecto muestran que las hembras pequeñas son más susceptibles a parasitarse, lo cual puede tener implicaciones importantes en la dinámica poblacional generada por el parásito *Gyrodactylus*.

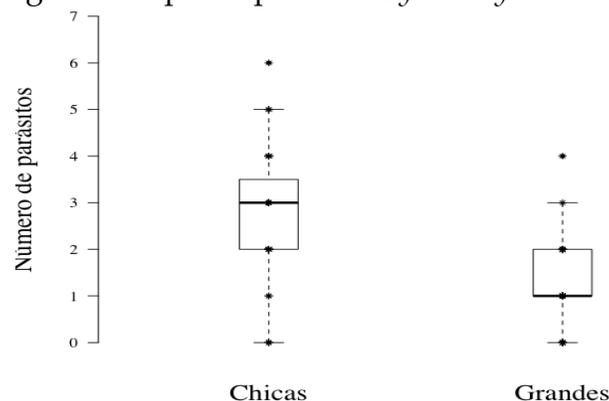


Figura 1. Número de parásitos en las hembras chicas y grandes expuestas a machos parasitados en las pruebas de comportamiento (n=64).