



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

INSTITUTO DE ECOLOGÍA

**VARIACIÓN TEMPORAL DEL PARASITISMO Y
RESPUESTA INMUNE EN UNA COMUNIDAD
DE CABALLITOS DEL DIABLO
(INSECTA: ODONATA: ZYGOPTERA)**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE
MAESTRA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS
(BIOLOGÍA AMBIENTAL)**

P R E S E N T A

GUADALUPE HAYDEE PERALTA VÁZQUEZ

DIRECTOR DE TESIS:

DR. ALEJANDRO CÓRDOBA AGUILAR

MÉXICO, D. F.

AGOSTO, 2009



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

RECONOCIMIENTOS

Al Posgrado en Ciencias Biológicas de la Universidad Nacional Autónoma de México, por brindarme la oportunidad de estudiar mi Maestría en un recinto universitario de excelencia.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por favorecerme durante todos mis estudios de posgrado con una beca nacional y mixta.

Al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (PAPIIT IN 211506 e IN 230603) que financiaron económicamente los recursos importantes para la realización de este estudio.

Al Programa de Apoyos a los Estudios de Posgrado (PAEP) por otorgarme un estímulo económico necesario para la realización de una estancia de investigación en el extranjero.

A todos los miembros del Comité Tutoral que estuvieron muy pendientes de mi proyecto de investigación y mi formación científica: Dr. Cuauhtémoc Juan Humberto Lanz Mendoza del Instituto Nacional de Salud Pública, M. en C. Enrique González Soriano del Instituto de Biología y a mi asesor Dr. Alejandro Córdoba Aguilar.

AGRADECIMIENTOS

Todo mi amor, devoción y agradecimiento a mis padres María Eugenia Vázquez Díaz y Miguel Peralta Martínez que me han guiado con entrega absoluta, generosidad y confianza. Han sublimado mi caminar a través de estos años sin disuadirme la libertad de desplegar las alas.

A mis hermanos Alejandro y Miguel, que me han fortalecido a través de este proceso con sabiduría y denuedo. Todas las vicisitudes enfrentadas han sido parte del madurar, entender y aceptar nuestra individualidad. Gracias por todas las lecciones de vida que en estos momentos de nuestras vidas, se han traducido en amor y confianza absolutos.

A mi asesor Dr. Alejandro Córdoba Aguilar por atender a este proceso y brindarme día a día las herramientas que han forjado mi carácter científico. Todos estos años bajo su tutela han estado colmados de enseñanzas, que me han servido para vislumbrar de qué lado del andar científico quiero caminar.

A todos los miembros del Comité Tutoral y del Jurado: Dr. Cuauhtémoc Juan Humberto Lanz Mendoza, M. en C. Enrique González Soriano, Dr. Tila María Pérez Ortiz, Dr. Zenón Cano Santana y M. en C. Pilar Villeda Callejas, por toda la instrucción y valiosos comentarios que han enriquecido enormemente mi tesis.

Agradezco profundamente al Dr. Mark Forbes por haberme albergado en su laboratorio y haber emitido valiosas observaciones sobre mi trabajo de tesis. Por tratarme con respeto intelectual sin demeritar de ninguna forma mis esfuerzos y discernimientos. Por enseñarme que el quehacer científico es una labor trascendental e incorruptible.

Agradezco profundamente a mis entrañables amigas Gina Rayhani, Jimena y Tamara Arechavala Monterrubio, Rosa Linda Salgado García, Xochiquetzal Cortés Rodríguez, Marusia Estrada y Alis por la amistad invaluable y magnánima que me han dado a lo largo de este tiempo, la luminosidad con la que me han abrigado y redimido en los

instantes de ahogo, y todas las interminables discusiones filosóficas y existenciales que hemos tenido.

A los colegas del laboratorio de Ecología de la Conducta de Artrópodos del Instituto de Ecología de la UNAM, especialmente a: Guillermo Jiménez Cortés, Víctor Sánchez, Lizeth Abundis, Jorge Contreras, Nubia Caballero, Daniel González, Jesús Wong, Georgina Jiménez, y los nuevos colegas: Angelita, Tania, Isaac, Daniela, Adriana y Ale, por los momentos divertidos, la ayuda incondicional y desinteresada que me han manifestado a lo largo de todos estos años.

A Patricia Martínez Reyes, Lupita Caudillo Estrada, América De Lucio Ceballos y Consuelo Barrientos Piñón, por toda su amabilidad, paciencia y generosidad en el apoyo logístico.

A Giovanni Ramírez, que como sucedió hace algunos años atrás, me ha salvado nuevamente con detalles de la tesis y enseñarme que la amistad trasciende fronteras.

ÍNDICE

RESUMEN.....	6
1. INTRODUCCIÓN.....	7
1.1 Parasitismo y sistema inmune.....	7
1.2 Sistema inmune en invertebrados.....	9
1.3 Ecología evolutiva del parasitismo y sistema inmune en libélulas.....	10
1.4 Variación de parasitismo y su relación con la respuesta inmune en libélulas.....	19
2. OBJETIVOS.....	22
3. HIPÓTESIS.....	22
4. MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
4.1 Colecta de organismos y registro de parasitismo.....	23
4.2 Datos de parasitismo de 2004-2005.....	24
4.3 Medición de concentración de óxido nítrico.....	24
4.4 Análisis y pruebas estadísticas empleadas.....	27
5. RESULTADOS.....	28
5.1 Prevalencia de parasitismo por especie de libélula.....	28
5.2 Prevalencia por sexos.....	30
5.3 Comparación de prevalencias de gregarinas y ácaros entre los años de estudio 2004-2005 y 2006-2007.....	31
5.4 Intensidad.....	33
5.5 Intensidad por sexos.....	34
5.6 Comparación de intensidades de gregarinas y ácaros entre los años de estudio de 2004-2005 y 2006-2007.....	36
5.7 Abundancia.....	37
5.8 Abundancia por sexos.....	37
5.9 Concentración de óxido nítrico.....	39
5.10 Relación entre la concentración de óxido nítrico y la variación de parasitismo.....	40
6. DISCUSIÓN.....	42
6.1 Variación de parasitismo.....	42
6.2 Variación en el óxido nítrico.....	47
6.3 Perspectivas futuras de trabajo.....	49
6.4 Conclusiones.....	51
7. LITERATURA CITADA.....	52

RESUMEN

Peralta-Vázquez, G. H. 2009. Variación Temporal del Parasitismo y Respuesta Inmune en una Comunidad de Caballitos del Diablo (Insecta: Odonata: Zygoptera). Tesis de Maestría. Instituto de Ecología, Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 53 págs.

Relativamente pocos estudios han explorado la relación entre parasitismo y sistema inmune, en particular, de cómo es la variación del parasitismo en relación a la variación de la capacidad inmune. Esta variación podría ser entendida en términos de los altos costos que los hospederos estarían pagando por la presión ejercida por los parásitos. Así, se podría esperar que a cierta presión por parásitos, existirá una inversión en respuesta inmune coherente con las exigencias demandadas por aquellos y otros patógenos. Uno de los grupos de organismos que han mostrado ser excelentes modelos en el estudio sobre la interacción parásito-hospedero, los costos del parasitismo y del sistema inmune, han sido las libélulas. Dos tipos de parásitos se han estudiado en libélulas: los ácaros acuáticos y las gregarinas (Protozoa). Uno de los parámetros inmunológicos que se ha medido en libélulas es el óxido nítrico. En el presente estudio se estimó la tasa de parasitismo por gregarinas y ácaros en una comunidad de diez especies de Zygoptera adultos y se investigó si la variación de parasitismo encontrada en campo entre las especies de hospederos, es explicada por las diferencias en la intensidad de respuesta inmune medida como óxido nítrico. Los resultados indicaron variación de parasitismo en cuatro sentidos: tanto entre las especies para cada uno de los años (especies con mayor, poco o nada de parasitismo), entre años para cada una de las especies (significativa en dos especies por gregarinas: *A. harknessi* y *A. pulla*, y por ácaros: *A. pulla* y *T. salva*), y en relación a la persistencia de las mismas especies como las mayor y menor parasitadas entre los años (excepto por *H. americana* como una de las menos parasitadas por gregarinas y *T. salva* como la mayor parasitada por ácaros) y entre sexos dentro de cada especie. Esto sugiere que la relación parásito-hospedero no se mantiene estable. Por otra parte, la especie que presentó el mayor parasitismo, fue la que menor concentración de óxido nítrico tuvo. Esto sugiere que los animales muy probablemente están renunciando a la inversión en respuesta inmune, porque los parásitos tal vez son demasiado patogénicos. Esta situación es equivalente con los modelos de Godfray y Sasaki (1999), quienes encontraron que una de las respuestas por parte de los hospederos ante parásitos demasiado virulentos, es que los primeros se vean orillados a no invertir contra parásitos de este tipo, ya que esto les supone costos demasiado altos y por ende poco costeados. No obstante lo encontrado en este trabajo, hace falta más investigación al respecto, pues aquí sólo se muestra la perspectiva de la interacción parásito-hospedero desde la lente del hospedero quedando evidenciada la ausencia desde la posición de los parásitos. Sería interesante explorar en futuros trabajos la magnitud y consecuencia de las presiones ejercidas por parte de los hospederos y del ambiente hacia los parásitos, ya que en general, son desconocidas.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Parasitismo y sistema inmune

El parasitismo es una de las interacciones ecológicas más ampliamente difundidas en la naturaleza (Poulin y Morand 2000). En esta interacción, un organismo denominado parásito se beneficia de otro, el hospedero, al cual simultáneamente le causa daño. Es decir, que el parásito puede vivir parte de su vida dentro (endoparásitos) o sobre el cuerpo (ectoparásitos) del hospedero, del que obtiene los recursos necesarios para realizar diversas funciones biológicas como el desarrollo y la reproducción (Begon *et al.* 1986).

Más allá del tipo de parásito del que se trate, recientemente el estudio de la interacción parásito-hospedero ha tomado gran impulso debido a la variedad y magnitud de los efectos que los parásitos infringen sobre los hospederos y su papel como agentes de selección (Sheldon y Verhulst 1996; Poulin 1999; Zuk y Stoehr 2002; Forbes y Robb 2008). Se sabe que dichos efectos pueden ser directos e indirectos. Los efectos directos se refieren a todos aquellos que afectan la adecuación de los hospederos, a través de un efecto negativo en los rasgos de historia de vida, entre los que se puede mencionar la supervivencia, la longevidad, el crecimiento y la fecundidad (Thomas *et al.* 2000). Los efectos indirectos son los que tienen un alcance ecosistémico, es decir, en este caso los parásitos inducen de forma indirecta cambios en la morfología o conducta de los hospederos, cuya modificación puede diferenciar la disponibilidad de los recursos para otros organismos (Poulin 1999). Todos estos efectos de una forma u otra revelan y acentúan cómo la respuesta de los hospederos a parásitos, ha moldeado la historia de vida de los hospederos, por lo tanto, si la presión de selección ejercida por los parásitos

es importante, se esperaría que la habilidad para resistir a enfermedades sea un componente crítico de la historia de vida de los hospederos (Zuk y Stoehr 2002).

De acuerdo con la teoría de historias de vida y los recientes hallazgos en el nuevo campo de la ecología del sistema inmune, la respuesta inmune es costosa y está sujeta a disyuntivas con otras características (ver Schmid-Hempel 2005). Una disyuntiva en estos términos ocurre cuando al invertir considerablemente en defensa inmune, el organismo no puede hacerlo en otras funciones que también suponen costos de operación y mantenimiento (Sheldon y Verhulst 1996). Los hospederos durante su vida se enfrentan a diversas presiones de selección bióticas o abióticas, (p. ej., cambios ambientales o presión por patógenos) que los hacen tomar decisiones con respecto a la dirección y prioridad de asignación de los recursos a características que virtualmente generan disyuntivas y por lo tanto costos. En un sentido amplio, hay dos tipos de costos asociados a la inmunidad relacionados a su utilización y mantenimiento: los costos evolutivos y los costos fisiológicos (Rolff y Siva-Jothy 2003; Schmid-Hempel 2003). Los costos evolutivos suceden cuando la expresión de cierto componente del sistema inmune puede afectar simultáneamente alguna otra característica importante en términos de adecuación. Es decir, que la ventaja selectiva del incremento de la función inmune conduzca a una pérdida irremediable de algún otro componente de la adecuación (pleiotropía antagonista) (Rolff y Siva-Jothy 2003). El segundo tipo de costos está asociado a las consecuencias fisiológicas negativas de mantener preparado el sistema inmune ante cualquier ataque por patógenos y a la inmediatez de montar una respuesta (Schmid-Hempel 2003).

1.2 Sistema inmune en invertebrados

El sistema inmune de los invertebrados típicamente se divide en dos: la defensa humoral y la defensa celular (Vilmos y Kurucz 1998). Dentro de la defensa humoral se encuentran los péptidos antimicrobianos, los intermediarios reactivos de oxígeno y nitrógeno y la coagulación o melanización de la hemolinfa, mientras que la defensa celular incluye la fagocitosis, la nodulación y el encapsulamiento (Gillespie *et al.* 1997; Vilmos y Kurucz 1998; Lavine y Strand 2002; Schmid-Hempel 2005). Los componentes o variables inmunológicas medidas en insectos son: la fagocitosis (Joop *et al.* 2006), la melanización o encapsulamiento (Armitage *et al.* 2003; Canales-Lazcano *et al.* 2005; Klemola *et al.* 2007), la fenoloxidasa (Siva-Jothy *et al.* 2001; Córdoba-Aguilar *et al.* 2006) y recientemente el óxido nítrico (Nappi *et al.* 2000; Contreras-Garduño *et al.* 2009).

La fagocitosis involucra el aniquilamiento de los microorganismos (virus, bacterias y hongos) por parte de un hemocito a través de su engullimiento (Gillespie *et al.* 1997; Lavine y Strand 2002). La melanización forma parte de los procesos de defensa humoral y se refiere a la formación de capas de melanina que rodean una herida o a un parásito (P. eje. protozoarios); una enzima importante en su catálisis es la fenoloxidasa (Gillespie *et al.* 1997; Schmid-Hempel 2005). La fenoloxidasa es una enzima clave en la formación de melanina e importante en la pigmentación y esclerotización de varios tejidos (Cerenius y Söderhäll 2004). Y el óxido nítrico, que es un gas libre altamente reactivo que aniquila patógenos con un amplio espectro de acción (Rivero 2006).

La medición del óxido nítrico recientemente ha tomado gran ímpetu debido a dos características principales que lo distinguen del resto de los mecanismos inmunes en

invertebrados. Es un mecanismo ubicuo, letal para los patógenos y es una respuesta generalista (no específica) a infecciones (Rivero 2006). Ha mostrado inhibir el crecimiento y desarrollo de varios tipos de patógenos desde virus hasta helmintos (James 1995). El óxido nítrico es producido por la actividad enzimática de la óxido nítrico sintasa, a través de la oxidación de arginina a citrulina (Woods *et al.* 1994; Jacklet 1997). En invertebrados se han descrito tres isoformas de la enzima óxido nítrico sintasa, dos constitutivas (ONSc) y otra inducible (ONSi) (Nappi y Ottaviani 2000).

Las isoformas constitutivas, la neuronal (ONSn) y la endotelial (ONSe), forman parte del metabolismo basal de las células y son importantes en la transmisión de señales celulares (James 1995; Nappi y Ottaviani 2000). La otra isoforma, la inducible (ONSi), es regulada por lipopolisacáridos o citoquinas pro-inflamatorias en enfermedades infecciosas agudas. Esta isoforma produce más niveles de óxido nítrico que las isoformas enzimáticas constitutivas (James 1995). La alta concentración de óxido nítrico inducible, la reactividad que posee con el oxígeno y los intermediarios reactivos del oxígeno, le proveen de gran toxicidad ya que promueven numerosos tipos tóxicos que tienen propiedades enzimáticas perjudiciales para el ADN de los parásitos (James 1995; Rivero 2006).

1.3 Ecología evolutiva del parasitismo y sistema inmune en libélulas

De los organismos que han mostrado ser excelentes modelos de estudio sobre la interacción parásito-hospedero, los costos del parasitismo y del sistema inmune, han sido las libélulas (Forbes y Robb 2008). Estos estudios se han conducido en relación a dos tipos de parásitos que les afectan principalmente: los ácaros acuáticos, que parasitan

a los adultos durante el período prereproductivo (Corbet 1999), y las gregarinas (Protozoa), que afectan esencialmente durante la etapa adulta (Åbro 1976).

A las gregarinas se les encuentra como endoparásitos del intestino de las libélulas. La forma en la que los zigópteros adquieren a las gregarinas se da durante el curso de la vida adulta, principalmente en la etapa prereproductiva (Noble *et al.* 1989; Corbet 1999). El primer contacto ocurre cuando los hospederos consumen predominantemente dípteros quironómidos y ceratopogónidos, cuyas sedas tarsales se ha demostrado pueden servir como portadoras de oocitos de gregarinas (Åbro 1976). Los parásitos una vez ingeridos, se desarrollan en el intestino medio, donde se reproducen (Åbro 1976). La infección inicia cuando los oocitos germinan y liberan los esporozoítos infectivos, los cuales se establecen en el epitelio del intestino medio del hospedero y se desarrollan dando lugar a los trofozoítos. Los trofozoítos crecen en el intestino, y eventualmente se fusionan antes de ser expulsados del hospedero como un gametocisto, el cual contiene miles de oocitos infectivos (Hecker *et al.* 2002). Se ha destacado que los trofozoítos son el estado alimentario de las gregarinas, durante el cual absorben los nutrientes ingeridos por el hospedero ocasionándole daño en menor o mayor grado (Zuk 1987b; Åbro 1990; Siva-Jothy y Plaistow 1999; Córdoba-Aguilar 2002; Córdoba-Aguilar *et al.* 2003). Los hospederos adultos por consiguiente, ingieren y sueltan oocitos como parte del ciclo natural de infección que tiene una duración aproximada de dos semanas. Se sabe que éste podría ser un modo de infección pero presuntamente no el único (Åbro 1976, 1990; Hecker *et al.* 2002).

El otro tipo de parásito de las libélulas son los ácaros acuáticos del orden Hydrachnidia (también denominado Hydrachnellae o Hydracarina). Éstos son adquiridos

principalmente en la etapa larvaria de las libélulas como organismos foréticos que al emerger el adulto, se reubican como parásitos (Smith 1988).

La familia de ácaros acuáticos que parasita a las libélulas es la familia Arrenuridae (Corbet 1999). El ciclo de vida típico de un arrenúrido comienza en el huevo, cuya eclosión puede ocurrir en el lapso de una a tres semanas. Del huevo se libera una larva hexápoda que busca un hospedero en el último estado larval al cual adherirse foréticamente. Inmediatamente después de que emerge el adulto teneral de la libélula, la larva del ácaro se reubica y permanece en el hospedero como un ectoparásito, del cual absorbe fluidos corporales durante su periodo prereproductivo (Smith 1988). Para lograr esto, el ácaro perfora la cutícula del teneral con sus quelíceros, y posteriormente, se forma un tubo alimentario de consistencia gelatinosa, pero resistente denominado estilostoma, de aproximadamente un milímetro de largo. El estilostoma alberga un canal delgado con un poro subapical por el cual es absorbida la hemolinfa del interior del hemocele del teneral, lo cual genera serios daños como la destrucción del tejido muscular de las alas (Smith 1988; Corbet 1999). Una vez que el hospedero ha madurado y regresa al agua para la reproducción u oviposición, la larva hexápoda, ahora más grande, retorna al agua para completar su ciclo (Corbet 1999).

Los estudios que se han conducido con estos dos tipos de parásitos, documentan diversos efectos directos e indirectos en la adecuación de las libélulas. A continuación se mencionan algunos de los más relevantes. En un estudio conducido por Forbes (1991) se encontró que el éxito de apareamiento de los machos de la especie *Enallagma ebrium* se vio reducido en aquellos individuos que presentaron fuertes cargas parasitarias de ácaros acuáticos. En su estudio halló que machos solitarios sexualmente

maduros estuvieron significativamente más parasitados que los capturados en tándem; que aquellos machos fuertemente parasitados, fueron menos competitivos, es decir, que respondieron menos a conductas asociadas a la competencia por el acceso a parejas, que los ligeramente parasitados; estos últimos además presentaron tácticas de apareamiento energéticamente menos costosas y de menor duración (Forbes 1991).

Andrés y Cordero (1998), con una población de la especie *Ceriagrion tenellum*, hallaron efectos negativos ocasionados por ácaros acuáticos en el éxito de apareamiento masculino. Encontraron que casi todos los teneales estuvieron parasitados, incrementándose la carga parasitaria a lo largo de la temporada y cuya agregación se concentró principalmente sobre algunos individuos. A pesar de que los machos fuertemente parasitados vivieron significativamente más tiempo que los ligeramente parasitados, su probabilidad de apareamiento fue significativamente menor y ésta fue mayor para los machos ligeramente parasitados, además de que se aparearon más a menudo.

Rolff y colaboradores (2000) no encontraron una correlación significativa entre parasitismo por ácaros acuáticos y éxito de apareamiento en machos de *Coenagrion puella*. En su estudio no hallaron diferencias en la carga parasitaria entre machos capturados en tándem y machos solitarios, tampoco detectaron correlación alguna entre el número de apareamientos y la carga parasitaria. Esto lo atribuyeron a que el sistema de apareamiento de éste coenagrionido no territorial, pudo diferir en aspectos importantes con especies territoriales como la densidad poblacional y el comportamiento territorial, por ejemplo menor competencia. Sin embargo, encontraron una correlación negativa entre el contenido de grasa corporal y la carga parasitaria por

ácaros, es decir, que el contenido de grasa corporal se vio reducido por el ectoparasitismo.

Por su parte, Braune y Rolff (2001) demostraron que el parasitismo incrementó la mortalidad de los hospederos de *Coenagrion puella*. En su estudio hicieron manipulaciones experimentales de la carga parasitaria por ácaros, en donde encontraron que tanto hembras como machos mostraron una reducción significativa de la supervivencia. Sin embargo, notaron que, al parecer, la consecuencia del parasitismo podría ser más fuerte para las hembras.

Siva-Jothy y Plaistow (1999) encontraron que la infección por gregarinas estuvo relacionada con la cantidad de grasa muscular en adultos y generó costos en la adecuación en *Calopteryx splendens xanthostoma*, especie cuyos machos son territoriales y defienden sitios donde las hembras llegan a copular y poner huevos. En este estudio, la infección por gregarinas durante el estadio de teneral sugirió reducciones significativas en la cantidad de grasa muscular masculina empleada en el vuelo para la defensa de los territorios.

Córdoba-Aguilar (2002) también documenta efectos perjudiciales de las gregarinas en machos. En este trabajo se investigó la relación entre la carga parasitaria, la edad y la pigmentación alar (un atributo utilizado durante el cortejo para inducir la cópula en las hembras) en machos de *Calopteryx haemorrhoidalis*. Se detectó una relación negativa entre la carga parasitaria y la pigmentación. Además, los machos con mayor pigmentación alar sobrevivieron, permanecieron y defendieron territorios por más tiempo, tuvieron menos parásitos y obtuvieron mayor número de apareamientos.

En otro, estudio Córdoba-Aguilar y colaboradores (2003), encontraron que el parasitismo por gregarinas conduce al agotamiento de las reservas de grasa en las hembras de *C. haemorrhoidalis*. Durante la etapa adulta las hembras se alimentan abundantemente para incrementar las reservas de grasa, importantes por ejemplo en la producción de huevos, lo que a su vez aumenta la probabilidad de infección por parásitos. Debido a que las gregarinas se alimentan de los nutrientes ingeridos por las libélulas, esto se ve reflejado en la reducción de la acumulación de grasa corporal, cuyo efecto se manifiesta en el decremento de la supervivencia de las hembras, la producción de huevos, las decisiones de apareamiento y las tácticas de oviposición, las cuales pueden estar asociadas a las decisiones de fertilización. En este estudio se encontró una correlación negativa entre la cantidad de pigmentación alar en las hembras y el número de gregarinas presentes. De este modo hembras con más parásitos presentaron menos pigmentación alar, produjeron menos huevos, sobrevivieron menos días, dedicaron menos tiempo durante el cortejo e inspeccionaron menos machos antes del apareamiento.

El efecto negativo del parasitismo por gregarinas también se ha demostrado en especies polimórficas, como en el caso del estudio conducido por Tsubaki y Hooper (2004) con *Mnais costalis*. Estos autores demostraron la existencia de efectos sobre la longevidad en esta especie. En su estudio compararon los costos del parasitismo sobre la supervivencia de machos territoriales (un morfo con pigmentación alar) y machos no territoriales (un segundo morfo sin pigmentación alar), a través de la relación entre abundancia de gregarinas y la longevidad de individuos mantenidos bajo tres regímenes alimentarios en condiciones de cautiverio. Sus resultados revelaron que tanto para un

grupo de bajo régimen alimenticio como para un grupo sin alimento, los machos pigmentados mostraron menor longevidad comparada con la de machos de alas no pigmentadas. Además encontraron que la supervivencia de ambos morfos estuvo correlacionada negativamente con la abundancia parasitaria. En contraste, los machos de ambos morfos mantenidos bajo un alto régimen alimentario no mostraron diferencia en su longevidad, ni correlación entre la supervivencia y la abundancia parasitaria. Sus resultados sugieren que la abundancia de gregarinas ejerce un costo importante asociado con el mantenimiento de las estrategias alternativas de apareamiento en esta especie.

Canales-Lazcano *et al.* (2005) señalaron un sesgo sexual en el grado de infección y efectos negativos de las gregarinas sobre algunas características relacionadas con la adecuación de hembras y machos de la especie no territorial, *Enallagma praevarum*. Encontraron que las hembras presentaron mayor carga parasitaria que los machos. Sin embargo, ambos sexos no difirieron en respuesta inmune. Encontraron también que hubo una relación negativa entre el número de huevos y la carga parasitaria en hembras. No obstante, en machos la cantidad de masa espermática no estuvo relacionada con el número de parásitos, aunque los machos más parasitados sobrevivieron menos. A pesar de que en este estudio se encontró que el número de parásitos no estuvo asociado a las reservas de grasa en ambos sexos, los resultados muestran que la producción de huevos en las hembras y la supervivencia en machos son aspectos al parecer afectados por las gregarinas.

En otro estudio, Joop y Rolff (2004) exploraron cómo el riesgo de parasitismo y depredación afectó la inversión inmune durante el desarrollo larvario de *Coenagrion puella*. En su estudio midieron la cantidad de hemocitos y la actividad de fenoloxidasas

de cuatro grupos experimentales de larvas después de haberlas expuesto a parásitos y/o depredadores. Estos autores encontraron que en las hembras, la expresión de ambos componentes inmunológicos fue mayor ante la presencia de enemigos naturales, mientras que en machos ninguno de ambos componentes se vio afectado. Los autores argumentaron que las hembras probablemente hayan mostrado tal reacción debido a diferencias en la plasticidad de la respuesta inmune y a la diferencia de componentes que maximizan su adecuación.

Córdoba-Aguilar y colaboradores (2006) efectuaron un estudio en el que compararon la habilidad inmune (medido en dos componentes: fenoloxidasa y enzimas hidrolíticas) de tórax y abdomen, supervivencia e intensidad de parasitismo, entre los sexos de dos especies de libélulas *Hetaerina americana* y *Argia tezpi*. Su trabajo indicó que las actividades de ambos componentes inmunológicos medidos fueron mayores en hembras que en machos. Sin embargo, sólo las hembras de *H. americana* presentaron mayor actividad inmunológica en el abdomen que los machos y que en la otra especie. En cuanto a la carga parasitaria, fue mucho mayor para ambos sexos de *A. tezpi* que en *H. americana*.

Existen otros pocos trabajos con libélulas que se han enfocado únicamente en la cuantificación de la variación de parasitismo intra e inter-específica de los hospederos. Ábro (1990) documentó la variación de la carga parasitaria por ácaros y gregarinas en adultos de cuatro especies, donde además señaló que las gregarinas afectaron su longevidad. En el estudio encontró que *Enallagma cyathigerum* y *Coenagrion hastulatum* fueron las más parasitadas por larvas de ácaros acuáticos. En las dos especies restantes, *Pyrrhosoma nymphula* y *Lestes sponsa*, la infección por ácaros fue

mínima durante la emergencia y solo aumentó durante las visitas al agua realizadas para la reproducción. La infección por gregarinas fue general y más fuerte en los adultos de las cuatro especies de zigópteros, cuya carga parasitaria aumentó conforme la edad adulta aumentó. Se encontró además, que solamente la infección por gregarinas tuvo efectos en la longevidad de *E. cyathigerum* y *C. hastulatum* (Ábro 1990).

Ábro (1996) halló que las hembras de la especie *Calopteryx virgo* se encontraron más parasitadas que los machos. El autor menciona que el alto nivel de infección por gregarinas en las hembras, probablemente se debió a su conducta y sitios de actividad diferentes a los de los machos. Las hembras de esta especie coexisten y comparten el mismo comportamiento y sitios de actividad que los adultos de *Pyrrhosoma nymphula* cuya carga parasitaria también fue muy alta.

Lajeunesse y colaboradores (2004) encontraron un sesgo hacia una especie y sesgo sexual en el ectoparasitismo por ácaros para dos especies. En su estudio hallaron que en el medio natural, el anisóptero *Leucorrhinia frigida* (la especie más numerosa) presentó mayor prevalencia de parasitismo que el anisóptero *Nannothemis bella*. Asimismo, los machos de ambas especies presentaron la mayor prevalencia de parasitismo. Los autores observaron que la intensidad de parasitismo también difirió entre especies, siendo *L. frigida* la que tuvo más ácaros. No obstante los resultados en campo, hallaron que en infecciones experimentales para ambas especies, no hubo diferencias en el éxito de agregación y solo *N. bella* obtuvo la mayor probabilidad de tener ácaros muertos.

Finalmente, un estudio conducido por Peralta-Vázquez (2006) documentó la variación de parasitismo en nueve especies de zigópteros. En este trabajo se halló que *Argia pulla*

y *A. tezpi* fueron las especies más parasitadas por gregarinas y *Telebasis salva* por ácaros, mientras que las menos o nunca parasitadas por gregarinas fueron *H. americana* y *Protoneura cara*, y por ácaros *P. cara* y *Enallagma novaehispaniae*. En este estudio se pudo detectar, además, que el registro de más de la mitad de las especies de zigópteros colectadas durante todo el año coincide con los meses en que se registraron los mayores porcentajes de ocurrencia relativa de gregarinas. Los resultados sugieren que la mayor presencia de gregarinas podría estar asociada a los meses de invierno que es cuando hay menos lluvias y la mortalidad ha disminuido. Por otra parte, no se encontraron sesgos sexuales en la probabilidad de ser o no infectados por gregarinas y ácaros, excepto por *A. anceps* y *E. novaehispaniae* donde la mayoría en ambos sexos no estuvieron parasitados. Tampoco se encontraron diferencias en la intensidad de parasitismo.

1.4 Variación de parasitismo y su relación con la respuesta inmune en libélulas

A pesar de la gran cantidad de estudios que documentan los efectos del parasitismo en la adecuación de los hospederos, existen otras preguntas igualmente notables que se han esbozado poco. Una de estas advierte la relación entre el parasitismo y la inversión en sistema inmune en diferentes especies. Se sabe que distintas especies varían en parasitismo (ver por ejemplo: Åbro 1990, 1996; Lajeunesse *et al.* 2004; Peralta-Vázquez 2006); sin embargo, la mayoría de los trabajos que han vinculado la variación de parasitismo y de sistema inmune en diferentes especies de hospederos, han sido pocos y se han realizado bajo la premisa de que la variación de parasitismo explica o predice la variación en sistema inmune (Kraaijeveld y Van Alphen 1995; Yourth *et al.* 2001; Moller *et al.* 2003; Lindström *et al.* 2004). Si bien este acercamiento no es errado, no ha ofrecido argumentos contundentes. Existe un estudio guiado por Contreras-

Garduño *et al.* (2008), donde investigaron si las diferencias en sistema inmune correlacionarían de algún modo con la carga parasitaria de las libélulas *H. americana* y *A. tezpi*. Específicamente, que la inversión en sistema inmune se viera reflejada del mismo modo en la carga parasitaria. En su trabajo, midieron dos componentes del sistema inmune: fenoloxidasa y enzimas hidrolíticas, y la intensidad de parasitismo por gregarinas y ácaros, y encontraron que, a diferencia de lo que esperaban, *A. tezpi* que tuvo más carga parasitaria por ambos tipos de parásitos, no mostró respuestas inmunes notablemente más altas que *H. americana*, que tuvo menos carga parasitaria. Los autores discutieron que estos resultados probablemente se debieron a que los componentes del sistema inmune medidos, enfrenten disyuntivas con otras funciones no inmunes en las que ambas especies difieran en la prioridad de las inversiones (Contreras-Garduño *et al.* 2008). De acuerdo a la teoría de historias de vida la respuesta inmune es una característica costosa, dichos costos provienen de invertir en la función inmune más que en otras funciones, es decir, que la respuesta inmune demande mayor asignación de recursos, lo que genera disyuntivas con otras características. De forma más detallada, la historia de vida de cada una de las especies de hospederos es distinta y ello involucra que tienen diferentes prioridades en la asignación de los recursos a las diversas funciones, incluida la función inmune. Esto supone que los hospederos no habrían de responder inmunológicamente igual a la presión por parásitos, por lo tanto, ello explicaría la variación de parasitismo entre especies. Es decir, que contrario a la predicción que tradicionalmente se ha tratado de probar, en este caso, la variación en sistema inmune sea predictora de la variación en parasitismo. Esta variación podría ser entendida en términos de los altos costos que los hospederos estarían pagando por la fuerte presión ejercida por los parásitos a tal grado que los primeros renuncien a la inversión en defensa (Sasaki y Godfray 1999; fig. 1). Así, por ejemplo, se podría

esperar que a una menor respuesta inmune se prevea una mayor intensidad de parasitismo. En este tenor, resulta necesario ahondar en este tipo de estudios principalmente sobre aquellos donde las tasas de parasitismo estén bien establecidas.

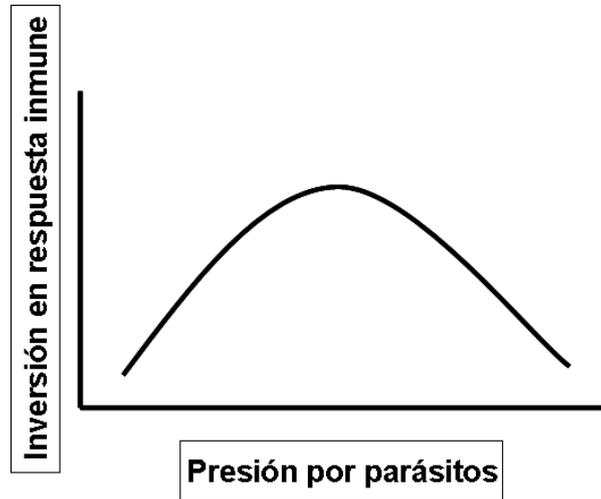


Figura 1. Costos de la respuesta inmune en función de la presión por parásitos (tomado de Sasaki y Godfray, 1999).

2. OBJETIVOS

Los objetivos del presente trabajo fueron los siguientes:

1. Evaluar el parasitismo por gregarinas y ácaros en una comunidad de diez especies de Zygoptera adultos del 2006 al 2007 y compararlo con un año previo de parasitismo 2004-2005.
2. Investigar si la variación de parasitismo encontrada en campo entre las especies de hospederos, es explicada por las diferencias en la intensidad de respuesta inmune medida como óxido nítrico.

3. HIPÓTESIS

Se establecieron dos hipótesis:

1. Existe variación estacional en la intensidad de parasitismo por gregarinas y ácaros en la comunidad de Zygoptera estudiada.
2. La variación del parasitismo entre especies se relaciona negativamente con la capacidad inmunológica, de modo que, aquellas especies con mayor número de parásitos tendrán una respuesta inmune en forma de óxido nítrico menos intensa.

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Colecta de organismos y registro de parasitismo

Se estudiaron diez especies de zigópteros: *Argia anceps*, *A. extranea*, *A. harknessi*, *A. pulla*, *A. tezpi*, *A. sp.*, *Enallagma novaehispaniae*, *Hetaerina americana*, *Protoneura cara* y *Telebasis salva* (cuadro 1). Se colectaron hembras y machos sexualmente maduros de cada especie; los insectos se reconocieron por presentar coloración corporal total e intensa, exoesqueleto endurecido y encontrarse en los sitios de reproducción al momento de la colecta. Las colectas se llevaron a cabo mensualmente a lo largo de un año (mayo de 2006 a abril de 2007), en una sección del río Amacuzac ubicada en la comunidad de Tehuixtla, Morelos (18° 36' 39' norte y 99°10'52' oeste a 890 msnm). Los individuos se preservaron en etanol al 70%, hasta su revisión y disección en laboratorio.

El primer paso para el registro de parasitismo en el laboratorio fue la inspección del exoesqueleto de cada uno de los individuos con la ayuda de un microscopio estereoscópico (Olympus SZH10) para el conteo de ectoparásitos ácaros y cicatrices de ácaros. Posteriormente se procedió con la disección de los abdómenes de los organismos previamente revisados, para la cuantificación de endoparásitos gregarinos presentes en el intestino. Se realizó un corte longitudinal en la parte ventral del abdomen, con la ayuda de dos pares de pinzas entomológicas. Posteriormente se retiró el intestino y se procedió a su revisión. El contenido intestinal fue examinado para cuantificar el número de gregarinas. Finalmente se tomó nota de la especie y el sexo de cada libélula, y el número de gregarinas, ácaros y cicatrices de ácaros de cada individuo.

Cuadro 1. Listado de especies y número de individuos de ambos sexos colectados durante los 12 meses.

ESPECIE	MAY 2006		JUN 2006		JUL 2006		AGO 2006		SEP 2006		OCT 2006		NOV 2006		DIC 2006		ENE 2007		FEB 2007		MAR 2007		ABR 2007	
	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀	♂	♀
<i>Argia anceps</i>	2	3	0	0	0	0	0	0	0	0	15	2	3	1	18	3	27	2	16	1	17	2	20	1
<i>A. extranea</i>	1	0	5	1	6	4	5	0	3	0	2	2	0	0	2	0	8	0	3	3	0	0	5	0
<i>A. harknessi</i>	5	1	23	11	11	8	23	0	21	0	29	13	0	0	15	1	1	0	1	0	1	3	11	4
<i>A. pulla</i>	30	11	10	1	38	10	30	7	26	2	34	21	5	0	30	9	23	1	20	8	14	7	33	11
<i>A. tezpi</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	2	0	26	5	10	0	5	0	6	0
<i>A. sp.</i>	4	3	7	1	4	1	12	2	5	0	11	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0
<i>Enallagma novaehispaniae</i>	21	5	2	0	11	3	1	0	0	0	2	0	9	1	30	4	24	7	3	0	4	0	5	1
<i>Hetaerina americana</i>	7	8	14	9	16	7	18	20	24	20	29	18	23	5	29	8	31	15	6	6	4	9	6	10
<i>Protoneura cara</i>	18	5	18	7	18	11	18	15	21	4	15	1	0	0	2	2	10	0	14	0	21	2	19	1
<i>Telebasis salva</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	11	3	15	3	4	0	8	1

4.2 Datos de parasitismo de 2004-2005

Se empleó la base de datos de un registro previo de parasitismo generado de septiembre de 2004 al mes de agosto de 2005 (Peralta-Vázquez 2006), para determinar la variación de parasitismo entre años. Esos datos se obtuvieron con los mismos métodos aplicados en la sección anterior.

4.3 Medición de concentración de óxido nítrico

Los organismos destinados para la medición de concentración de óxido nítrico fueron colectados en mayo y junio de 2008. Las especies con las que fue posible trabajar

fueron: *A. pulla* (17 réplicas), *P. cara* (18 réplicas), *A. harknessi* (17 réplicas), *H. americana* (17 réplicas), *E. novaehispaniae* (seis réplicas) y *A. extranea* (dos réplicas). Cada una de las réplicas consistió de cuatro organismos pertenecientes a una misma especie, los cuales se mantuvieron vivos a 4° C en el laboratorio durante el procedimiento de obtención de hemolinfa. Este procedimiento se basó en lo siguiente: a cada individuo se le hizo una incisión en el lado ventral entre el segmento abdominal siete y ocho e inmediatamente se inyectó buffer en la parte ubicada antes del primer par de patas. Se colectó la primera gota que salió de la incisión realizada y se conservó en un tubo eppendorf. De este modo se obtuvieron cuatro gotas de hemolinfa, una por organismo, y la cantidad resultante se completó con 130 µl de buffer. Las muestras recolectadas se congelaron a -70° C hasta su uso. Previo a la determinación de óxido nítrico, se efectuó la relativización por concentración de proteína para cada una de las muestras. Para la cuantificación de proteína se siguió el protocolo de medición de proteína por BCA de Pierce (Smith *et al.* 1985), que a continuación se detalla.

Primero se combinaron los reactivos A y B del Kit tomando 5 partes de A por 1 de B. Después en una placa de cultivo de 96 pozos, se colocaron por duplicado las muestras control para obtener la curva estándar de acuerdo con el cuadro 2.

Cuadro 2. Curva estándar para medición de concentración de proteína por BCA de Pierce.

Curva	Posición en placa	Albúmina 2mg/ml	H ₂ O
0 µg	A	0 µl	50 µl
5 µg	B	2.5 µl	47.5 µl
10 µg	C	5.0 µl	45.0 µl
15 µg	D	7.5 µl	42.5 µl
20 µg	E	10.0 µl	40.0 µl
25 µg	F	12.5 µl	37.5 µl
40 µg	G	20.0 µl	30.0 µl
60 µg	H	30.0 µl	20.0 µl

Se colocaron 10 µl de cada una de las muestras por duplicado y se completaron con 40 µl de buffer. Se depositaron 150 µl de la combinación previa de los reactivos A y B en cada poza que contenga muestra, incluyendo los controles. Posteriormente la placa se incubó a 37° C, de 15 a 30 minutos, a temperatura ambiente. La placa se “leyó” en un lector de ELISA a 562 nm. Los datos se obtuvieron como absorbancia contra concentración de proteína en µg donde se calculó la concentración de proteína para cada una de las muestras. Esta concentración permitió estandarizar la concentración mínima necesaria de ésta en µg para cada muestra, y poder realizar la medición de óxido nítrico. El método empleado para la medición de óxido nítrico es indirecto, por lo tanto, lo que se obtiene es la concentración de nitritos y nitratos. Una forma de obtener dicha medición es a través de la reacción de Griess que a continuación se describe.

Para la obtención de la curva estándar, se colocan en una placa de cultivo de 96 pozos por duplicado, las cantidades indicadas en el cuadro 3.

Cuadro 3. Curva estándar para medición de óxido nítrico por medio de la reacción de Griess.

Posición en placa	[] µM	NaNO ₂ 0.1 µM	PBS	Sulfanilamida 1%	Naftilenetilamida 0.1%
A	0	0 µl	50 µl	50 µl	50 µl
B	1	0.5 µl	49.5 µl	50 µl	50 µl
C	5	2.5 µl	47.5 µl	50 µl	50 µl
D	10	5 µl	45 µl	50 µl	50 µl
E	20	10 µl	40 µl	50 µl	50 µl
F	40	20 µl	30 µl	50 µl	50 µl
G	60	30 µl	20 µl	50 µl	50 µl
H	100	50 µl	0 µl	50 µl	50 µl
			Curva	Curva y muestra	

Se depositaron 50 µl de sulfanilamida al 1% y 50 µl de naftilenetilamida al 0.1% y la cantidad de muestra resultante de la estandarización por concentración de proteína por duplicado. Se incubó la placa a temperatura ambiente por 10 minutos y se tomaron

lecturas en el lector de Elisa a 540 nm. Se determinó la concentración de óxido nítrico (nitritos y nitratos) de las muestras.

4.4 Análisis y pruebas estadísticas empleadas

Se emplearon tres análisis para la evaluación del parasitismo (Bush *et al.* 1997). La *prevalencia*, que es el número de hospederos infectados entre el número de hospederos examinados; la *intensidad promedio*, que se refiere al número promedio de un tipo de parásitos entre el número de hospederos infectados y la *abundancia*, que es el número promedio de un tipo de parásitos entre el número de hospederos examinados. Los datos de parasitismo y de concentración de óxido nítrico no presentaron una distribución normal por lo tanto se utilizaron pruebas no paramétricas (Kolmogorov-Smirnof). Para hacer las comparaciones entre prevalencias y entre intensidades de parasitismo se utilizaron las pruebas de χ^2 y *U* de Mann-Whitney respectivamente, y Kruskal-Wallis para la variación en concentración de óxido nítrico.

5. RESULTADOS

5.1 Prevalencia de parasitismo por especie de libélula

En general, todas las especies estuvieron parasitadas por gregarinas durante el año de estudio, pero éste no fue el caso para los ácaros (fig. 2 y 3). Las especies con mayor prevalencia de parasitismo por gregarinas fueron *Argia sp.* y *A. anceps* (15.1% y 12.8%, respectivamente), mientras que las especies menos parasitadas fueron *Telebasis salva* y *Hetaerina americana* (0% y 3.22% respectivamente). En cambio, se observó que únicamente dos especies fueron parasitadas por ácaros, *T. salva* (40.4%) y *A. pulla* (0.51%). Mientras que la especie más parasitada por ácaros (*T. salva*) fue la única que no presentó parasitismo por gregarinas (cuadro 4).

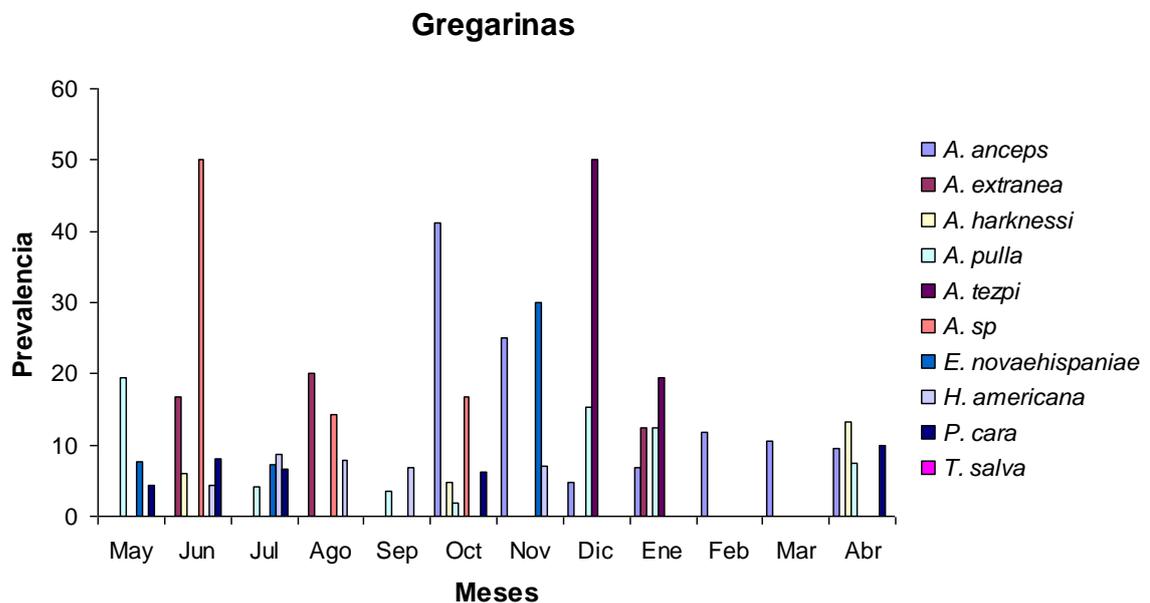


Figura 2. Variación temporal de las prevalencias de gregarinas de diez especies de zigópteros de 2006-2007, de Tehuixtla, Morelos.

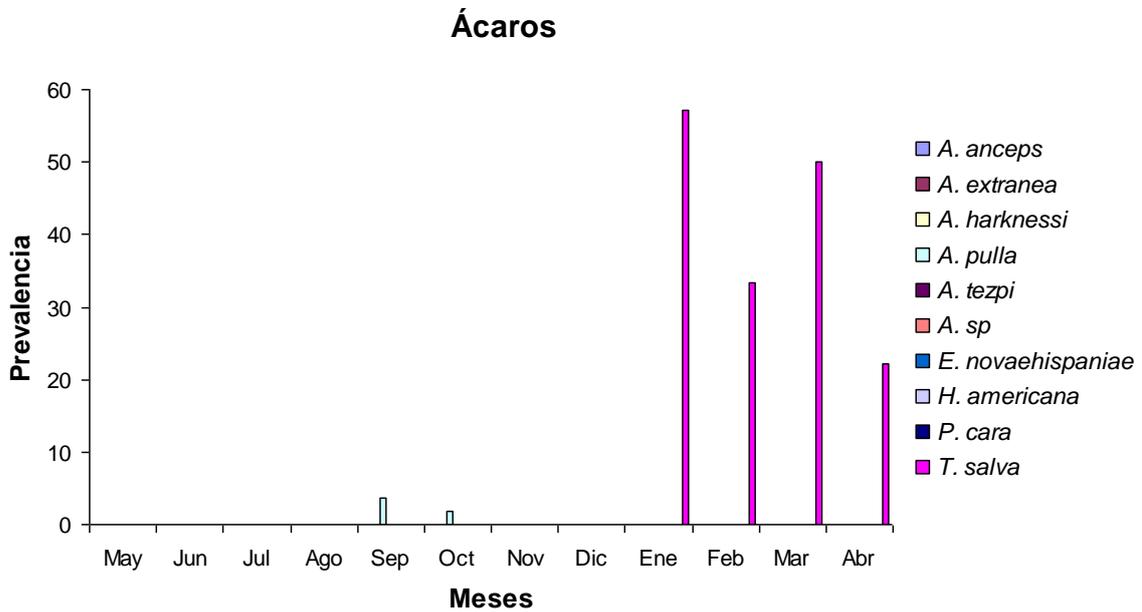


Figura 3. Variación temporal de las prevalencias de ácaros de diez especies de zigópteros de 2006-2007, de Tehuixtla, Morelos.

Cuadro 4. Prevalencia de gregarinas y ácaros de diez especies de zigópteros del año de estudio 2006-2007, de Tehuixtla, Morelos.

ESPECIE	N	GREGARINAS		ÁCAROS	
		Núm. De infectados	% Prevalencia	Núm. De infectados	% Prevalencia
<i>Argia anceps</i>	133	17	12.8	0	0
<i>A. extranea</i>	50	3	6	0	0
<i>A. harknessi</i>	182	6	3.3	0	0
<i>A. pulla</i>	391	25	6.4	2	0.51
<i>A. tezpi</i>	55	7	12.7	0	0
<i>A. sp.</i>	53	8	15.1	0	0
<i>Enallagma novaehispaniae</i>	133	6	4.5	0	0
<i>Hetaerina americana</i>	342	11	3.22	0	0
<i>Protoneura cara</i>	222	10	4.5	0	0
<i>Telebasis salva</i>	47	0	0	19	40.4

5.2 Prevalencia por sexos

Las especies de machos con mayor prevalencia de gregarinas fueron: *A. sp.* y *A. anceps* (17.8% y 11.9%, respectivamente) y los menos parasitados *T. salva* y *H. americana* (0% y 3.4% respectivamente). Las hembras más parasitadas fueron de la especie *A. tezpi* y *A. anceps* (20% ambos casos), mientras que las que nunca presentaron infección por gregarinas fueron las hembras de *A. sp.* y *T. salva*. En relación a la prevalencia de ácaros, se encontró que los machos de *T. salva* estuvieron más infectados que los de *A. pulla* (37.5% y 0.66%, respectivamente). Las hembras de *T. salva* presentaron más carga parasitaria que los machos y el resto de las especies de hembras y machos jamás presentaron infección por ácaros, excepto por los machos de *A. pulla* (cuadro 5).

Cuadro 5. Prevalencia de gregarinas y ácaros de ambos sexos de diez especies de zigópteros del año de estudio 2006-2007, de Tehuixtla, Morelos

ESPECIE	N		GREGARINAS				ÁCAROS			
	♂	♀	♂		♀		♂		♀	
			Núm. de infectados	% Prev						
<i>Argia anceps</i>	118	15	14	11.9	3	20	0	0	0	0
<i>A. extranea</i>	40	10	2	5	1	10	0	0	0	0
<i>A. harknessi</i>	141	41	5	3.6	1	2.4	0	0	0	0
<i>A. pulla</i>	303	88	19	6.3	6	6.8	2	0.66	0	0
<i>A. tezpi</i>	50	5	6	12	1	20	0	0	0	0
<i>A. sp</i>	45	8	8	17.8	0	0	0	0	0	0
<i>Enallagma novaehispaniae</i>	112	21	5	4.5	1	4.8	0	0	0	0
<i>Hetaerina americana</i>	207	135	7	3.4	4	3	0	0	0	0
<i>Protoneura cara</i>	174	48	7	4	3	6.3	0	0	0	0
<i>Telebasis salva</i>	40	7	0	0	0	0	15	37.5	4	57.1

5.3 Comparación de prevalencias de gregarinas y ácaros entre los años de estudio

2004-2005 y 2006-2007

Se encontró que en la prevalencia de gregarinas de tres de las diez especies estudiadas, hubo diferencias significativas entre los años de estudio: *A. harknessi* ($\chi^2 = 5.81$, $p = 0.016$), *A. pulla* ($\chi^2 = 5.91$, $p = 0.015$) y *T. salva* ($\chi^2 = 4.30$, $p = 0.038$) (cuadro 6).

Cuadro 6. Comparación de prevalencia de gregarinas para cada una de las diez especies de zigópteros entre los años de estudio de 2004-2005 y 2006-2007, de Tehuixtla, Morelos.

Gregarinas					
Especie	No infectados	Infectados	% Prevalencia	χ^2	P
<i>Argia anceps</i>					
2004-2005	104	11	9.57	0.64	0.425
2006-2007	116	17	12.8		
<i>A. extranea</i>					
2004-2005	130	9	6.47	0.01	0.906
2006-2007	47	3	6		
<i>A. harknessi</i>					
2004-2005	206	21	9.25	5.81	0.016
2006-2007	176	6	3.3		
<i>A. pulla</i>					
2004-2005	283	37	11.56	5.91	0.015
2006-2007	366	25	6.4		
<i>A. tezpi</i>					
2004-2005	103	32	23.70	2.89	0.089
2006-2007	48	7	12.7		
<i>A. sp</i>					
2004-2005	49	3	5.77	2.43	0.119
2006-2007	45	8	15.1		
<i>Enallagma novaehispaniae</i>					
2004-2005	144	9	5.88	0.27	0.604
2006-2007	127	6	4.5		
<i>Hetaerina americana</i>					
2004-2005	218	8	3.54	0.04	0.834
2006-2007	331	11	3.22		
<i>Protoneura cara</i>					
2004-2005	242	11	4.35	0.01	0.934
2006-2007	212	10	4.5		
<i>Telebasis salva</i>					
2004-2005	139	13	8.55	4.30	0.038
2006-2007	47	0	0		

Con respecto a la prevalencia de ácaros, se encontraron diferencias significativas entre años de estudio sólo en cuatro especies : *A. harknessi* ($\chi^2 = 6.24$, $p = 0.011$), *A. pulla* ($\chi^2 = 19.33$, $p < 0.000$), *A. tezpi* ($\chi^2 = 7.61$, $p = 0.006$) y *T. salva* ($\chi^2 = 8.08$, $p = 0.005$) (cuadro 7). Cabe mencionar que no fue posible hacer la comparación entre las especies *A. sp* y *E. novaehispaniae* por no haber presentado parasitismo por ácaros para ninguno de los dos años de registro.

Cuadro 7. Comparación de prevalencia de ácaros para cada una de las diez especies de zigópteros entre los años de estudio de 2004-2005 y 2006-2007, de Tehuixtla, Morelos.

Ácaros					
Especie	No infectados	Infectados	% Prevalencia	χ^2	P
<i>Argia anceps</i>					
2004-2005	114	1	0.87	1.16	0.281
2006-2007	133	0	0		
<i>A. extranea</i>					
2004-2005	137	2	1.44	0.73	0.394
2006-2007	50	0	0		
<i>A. harknessi</i>					
2004-2005	219	8	3.52	6.54	0.011
2006-2007	182	0	0		
<i>A. pulla</i>					
2004-2005	300	20	6.25	19.33	0.000
2006-2007	389	2	0.51		
<i>A. tezpi</i>					
2004-2005	118	17	12.59	7.61	0.006
2006-2007	55	0	0		
<i>A. sp</i>					
2004-2005	52	0	0	-	-
2006-2007	53	0	0		
<i>Enallagma novaehispaniae</i>					
2004-2005	153	0	0	-	-
2006-2007	133	0	0		
<i>Hetaerina americana</i>					
2004-2005	224	2	0.88	3.04	0.081
2006-2007	342	0	0		
<i>Protoneura cara</i>					
2004-2005	252	1	0.4	0.88	0.348
2006-2007	222	0	0		
<i>Telebasis salva</i>					
2004-2005	55	97	63.82	8.08	0.005
2006-2007	28	19	40.4		

5.4 Intensidad

La intensidad promedio de gregarinas para cada una de las especies no fue mayor a cinco. Las especies que presentaron mayor y menor intensidad promedio de parasitismo fueron *A. sp* (4.25) y *H. americana* (1.36), respectivamente. Mientras que la mediana de intensidad de parasitismo fue igual para todas las especies excepto por *A. sp* que presentó un valor más alto. Con respecto a la intensidad de ácaros, se encontró que de las dos especies que presentaron parasitismo, *T. salva* fue la que tuvo la mayor intensidad promedio y mediana de intensidad de ácaros (cuadro 8).

Cuadro 8. Intensidad promedio y mediana de intensidad de parasitismo de gregarinas y ácaros, para cada una de las diez especies de zigópteros del año de estudio 2006-2007, de la comunidad de Tehuixtla, Morelos.

Especie	N	Gregarinas				Ácaros			
		Núm. infectados	Media de intensidad	Mediana de intensidad	Mín. y máx.	Núm. infectados	Media de intensidad	Mediana de intensidad	Mín. y máx.
<i>Argia anceps</i>	133	17	3.71	1	1-33	0	-	-	-
<i>A. extranea</i>	50	3	1.67	1	1-3	0	-	-	-
<i>A. harknessi</i>	182	6	2.00	1	1-6	0	-	-	-
<i>A. pulla</i>	391	25	1.96	1	1-8	2	1.50	1.50	1-2
<i>A. tezpi</i>	55	7	3.14	1	1-8	0	-	-	-
<i>A. sp</i>	53	8	4.25	1.50	1-22	0	-	-	-
<i>Enallagma novaehispaniae</i>	133	6	1.83	1	1-4	0	-	-	-
<i>Hetaerina americana</i>	342	11	1.36	1	1-3	0	-	-	-
<i>Protoneura cara</i>	222	10	1.90	1	1-4	0	-	-	-
<i>Telebasis salva</i>	47	0	-	-	-	19	4.47	2.00	1-34

5.5 Intensidad por sexos

Los machos con la mayor intensidad promedio y mediana de intensidad de gregarinas fueron de las especies *A. sp* y *A. extranea*, respectivamente (4.25 y 2.00), mientras que los machos de *T. salva* fueron los de mayor intensidad promedio y mediana de intensidad de ácaros (cuadro 9).

Cuadro 9. Intensidad promedio y mediana de intensidad de parasitismo de gregarinas y ácaros de los machos de las diez especies de zigópteros del año de estudio 2006-2007, de la comunidad de Tehuixtla, Morelos.

Especie	Machos							
	Gregarinas				Ácaros			
	Núm. infectados	Media de intensidad	Mediana de intensidad	Mín. y máx.	Núm. infectados	Media de intensidad	Mediana de intensidad	Mín. y máx.
<i>Argia anceps</i>	14	1.79	1	1-5	0	-	-	-
<i>A. extranea</i>	2	2.00	2	1-3	0	-	-	-
<i>A. harknessi</i>	5	1.20	1	1-2	0	-	-	-
<i>A. pulla</i>	19	2.05	1	1-8	2	1.50	1.50	1-2
<i>A. tezpi</i>	6	2.33	1	1-7	0	-	-	-
<i>A. sp</i>	8	4.25	1.50	1-22	0	-	-	-
<i>Enallagma novaehispaniae</i>	5	2	1	1-4	0	-	-	-
<i>Hetaerina americana</i>	7	1.29	1	1-2	0	-	-	-
<i>Protoneura cara</i>	7	2.29	1	1-4	0	-	-	-
<i>Telebasis salva</i>	0	-	-	-	15	4.47	2.00	1-34

Las hembras con la mayor intensidad promedio y mediana de intensidad de gregarinas fueron de la especie *A. anceps*, mientras que las hembras de *T. salva* fueron las únicas parasitadas por ácaros con una intensidad promedio y mediana de intensidad de 4.50 y 4.00 respectivamente (cuadro 10).

Cuadro 10. Intensidad promedio y mediana de intensidad de parasitismo de gregarinas y ácaros, de las hembras de las diez especies de zigópteros del año de estudio 2006-2007, de la comunidad de Tehuixtla, Morelos.

Especie	Hembras							
	Gregarinas				Ácaros			
	Núm. infectados	Media de intensidad	Mediana de intensidad	Mín. y máx.	Núm. infectados	Media de intensidad	Mediana de intensidad	Mín. y máx.
<i>Argia anceps</i>	3	12.67	4	1-33	0	-	-	-
<i>A. extranea</i>	1	-	-	-	0	-	-	-
<i>A. harknessi</i>	1	-	-	-	0	-	-	-
<i>A. pulla</i>	6	1.67	1	1-5	0	-	-	-
<i>A. tezpi</i>	1	-	-	-	0	-	-	-
<i>A. sp</i>	0	-	-	-	0	-	-	-
<i>Enallagma novaehispaniae</i>	1	-	-	-	0	-	-	-
<i>Hetaerina americana</i>	4	1.50	1	1-3	0	-	-	-
<i>Protoneura cara</i>	3	-	-	1	0	-	-	-
<i>Telebasis salva</i>	-	-	-	-	4	4.50	4.00	1-9

5.6 Comparación de intensidades de gregarinas y ácaros entre los años de estudio de 2004-2005 y 2006-2007

No hubo diferencias significativas entre las intensidades de gregarinas de los dos años de estudio para ninguna de las diez especies de libélulas, en tanto, que sólo hubo diferencia significativa en la intensidad de ácaros de *T. salva* (cuadro 11).

Cuadro 11. Comparación de intensidad de gregarinas y ácaros para cada una de las diez especies de zigópteros entre los años de estudio de 2004-2005 y 2006-2007, de Tehuixtla, Morelos.

Especie	Gregarinas					Ácaros				
	Núm. infectados	Mediana	W	P	N	Núm. infectados	Mediana	W	P	N
<i>Argia anceps</i>										
2004-2005	11	1	150.5	0.630	28	1	-	-	-	-
2006-2007	17	1				-	-			
<i>A. extranea</i>										
2004-2005	9	1	57	0.716	12	2	-	-	-	-
2006-2007	3	1				-	-			
<i>A. harknessi</i>										
2004-2005	21	1	289	0.717	27	8	1	-	-	-
2006-2007	6	1				-	-			
<i>A. pulla</i>										
2004-2005	37	1	1160.5	0.933	62	20	1	20.5	0.755	22
2006-2007	25	1				2	1.50			
<i>A. tezpi</i>										
2004-2005	32	1	623	0.476	39	17	1	-	-	-
2006-2007	7	1				-	-			
<i>A. sp</i>										
2004-2005	3	14	39	0.059	11	-	-	-	-	-
2006-2007	8	1.50				-	-			
<i>Enallagma novaehispaniae</i>										
2004-2005	9	1	67.5	0.495	15	-	-	-	-	-
2006-2007	6	1				-	-			
<i>Hetaerina americana</i>										
2004-2005	8	1	110	1	19	2	-	-	-	-
2006-2007	11	1				-	-			
<i>Protoneura cara</i>										
2004-2005	11	1	114.5	0.539	21	1	-	-	-	-
2006-2007	10	1				-	-			
<i>Telebasis salva</i>										
2004-2005	13	1	-	-	-	97	6	736	0.005	116
2006-2007	0	-				19	2			

5.7 Abundancia

Las especies con la mayor y menor abundancia de gregarinas fueron *A. sp* y *H. americana* respectivamente (0.080 y 0.004). *T. salva* mostró mayor abundancia de ácaros que *A. pulla*. (0.100 y 0.004 respectivamente) (cuadro 12).

Cuadro 12. Abundancia de gregarinas y ácaros en diez especies de zigópteros del año de estudio 2006-2007, de Tehuixtla, Morelos.

Especie	N	Gregarinas		Ácaros	
		Media de intensidad	Abundancia	Media de intensidad	Abundancia
<i>Argia anceps</i>	133	3.71	0.030	-	-
<i>A. extranea</i>	50	1.67	0.033	-	-
<i>A. harknessi</i>	182	2.00	0.011	-	-
<i>A. pulla</i>	391	1.96	0.005	1.50	0.004
<i>A. tezpi</i>	55	3.14	0.060	-	-
<i>A. sp</i>	53	4.25	0.080	-	-
<i>Enallagma novaehispaniae</i>	133	1.83	0.014	-	-
<i>Hetaerina americana</i>	342	1.36	0.004	-	-
<i>Protoneura cara</i>	222	1.90	0.009	-	-
<i>Telebasis salva</i>	47	-	-	4.47	0.100

5.8 Abundancia por sexos

Los machos con mayor y menor abundancia de gregarinas fueron de *A. sp* (0.094) y *H. americana* (0.006), respectivamente. Asimismo, la abundancia de ácaros en machos de *T. salva* fue mayor que la de *A. pulla* (cuadro 13).

Cuadro 13. Abundancia de gregarinas y ácaros en machos de diez especies de zigópteros del año de estudio 2006-2007, de Tehuixtla, Morelos.

Especie	Machos				
	N	Gregarinas		Ácaros	
		Media de intensidad	Abundancia	Media de intensidad	Abundancia
<i>Argia anceps</i>	118	1.79	0.015	-	-
<i>A. extranea</i>	40	2.00	0.050	-	-
<i>A. harknessi</i>	141	1.20	0.009	-	-
<i>A. pulla</i>	303	2.05	0.007	1.50	0.005
<i>A. tezpi</i>	50	2.33	0.050	-	-
<i>A. sp</i>	45	4.25	0.094	-	-
<i>Enallagma novaehispaniae</i>	112	2	0.020	-	-
<i>Hetaerina americana</i>	207	1.29	0.006	-	-
<i>Protoneura cara</i>	174	2.29	0.013	-	-
<i>Telebasis salva</i>	40	-	-	4.47	0.112

Por otro lado, las hembras de *A. anceps* presentaron la mayor abundancia de gregarinas (cuadro 14). Con respecto a los ácaros, las hembras de *T. salva* mostraron mayor abundancia que los machos (cuadro 13 y 14).

Cuadro 14. . Abundancia de gregarinas y ácaros en hembras de diez especies de zigópteros del año de estudio 2006-2007, de Tehuixtla, Morelos.

Especie	Hembras				
	N	Gregarinas		Ácaros	
		Media de intensidad	Abundancia	Media de intensidad	Abundancia
<i>Argia anceps</i>	15	12.67	0.845	-	-
<i>A. extranea</i>	10	-	-	-	-
<i>A. harknessi</i>	41	-	-	-	-
<i>A. pulla</i>	88	1.67	0.020	-	-
<i>A. tezpi</i>	5	-	-	-	-
<i>A. sp</i>	8	-	-	-	-
<i>Enallagma novaehispaniae</i>	21	-	-	-	-
<i>Hetaerina americana</i>	135	1.50	0.011	-	-
<i>Protoneura cara</i>	48	-	-	-	-
<i>Telebasis salva</i>	7	-	-	4.50	0.643

5.9 Concentración de óxido nítrico

Se detectó variación significativa en la concentración de óxido nítrico entre las especies (Kruskal-Wallis = 18.834, $p = 0.002$). La especie que presentó la mayor concentración de óxido nítrico fue *A. harknessi* y la de menor concentración *A. pulla* (fig. 3).

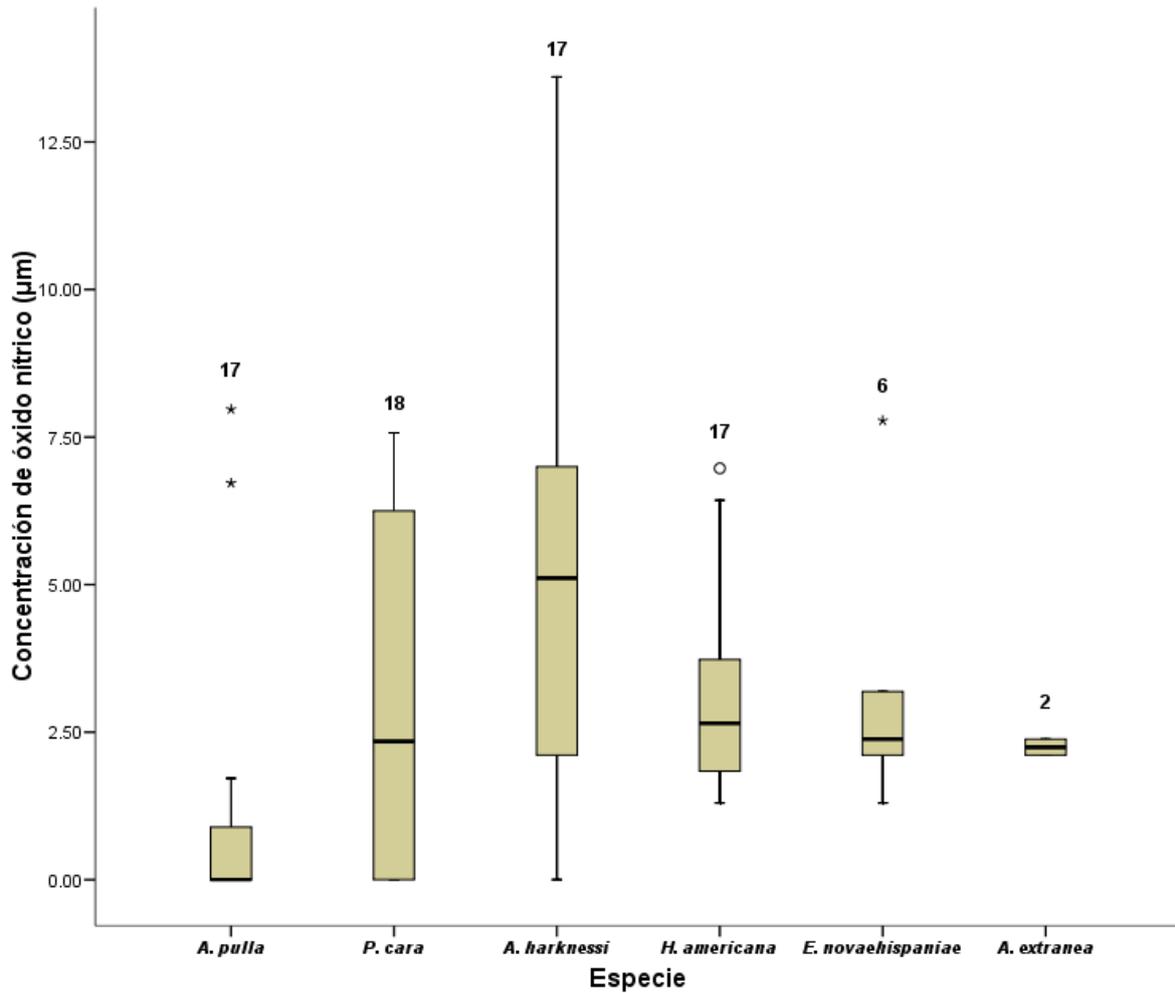


Figura 4. Concentración de óxido nítrico de seis especies de zigópteros de Tehuixtla Morelos. Los números arriba de cada una de las barras indican el número de replicas para cada especie. Los asteriscos indican los valores extremos.

5.10 Relación entre la concentración de óxido nítrico y la variación de parasitismo

Se detectó una correlación negativa entre la concentración de óxido nítrico y parasitismo por gregarinas del año de estudio 2006-2007 (Spearman $p = 0.008$) (fig. 4). El resto de las asociaciones entre concentración de óxido nítrico y parasitismo de gregarinas del año 2004-2005 y por ácaros de ambos años no mostraron ningún tipo de relación (cuadro 15).

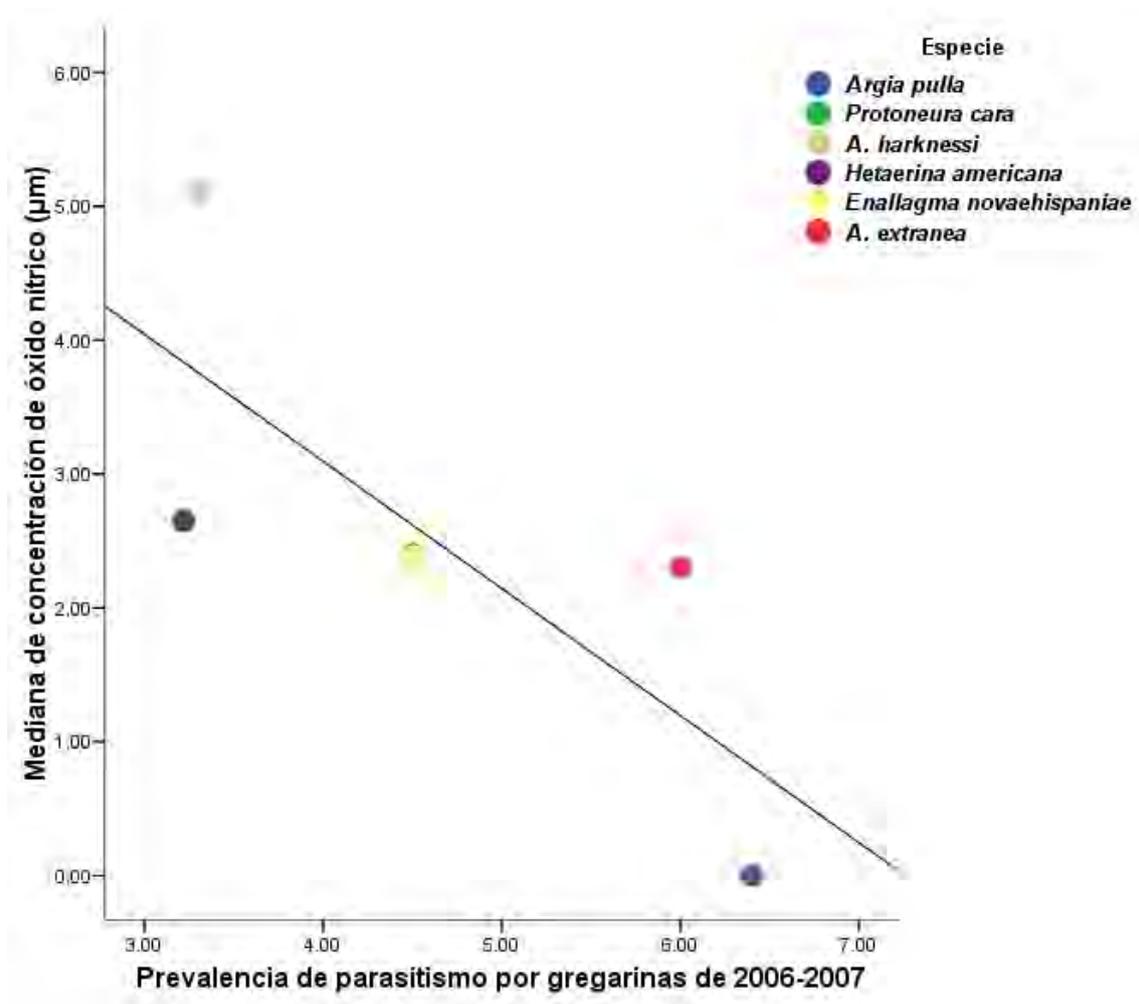


Figura 5. Relación negativa entre la concentración de óxido nítrico y prevalencia de parasitismo por gregarinas del año de estudio 2006-2007.

Cuadro 15. Relación entre concentración de óxido nítrico y parasitismo en ambos años de estudio. Se detectó una relación negativa entre la concentración de óxido nítrico y parasitismo por gregarinas del año de estudio 2006-2007.

Especie	Mediana de concentración de óxido nítrico μm	Prevalencia de parasitismo 2004-2005		Prevalencia de parasitismo 2006-2007	
		gregarinas	ácaros	gregarinas	ácaros
<i>A. pulla</i>	0	11.60	6.30	6.4 0	0.51
<i>P. cara</i>	2.40	4.40	0.40	4.50	0
<i>E. novaehispaniae</i>	2.40	5.90	0	4.50	0
<i>H. americana</i>	2.65	3.54	0.90	3.22	0
<i>A. harknessi</i>	5.11	9.30	3.52	3.33	0

6. DISCUSIÓN

6.1 Variación de parasitismo

Los resultados obtenidos apoyan la hipótesis de que existe variación de parasitismo por gregarinas y ácaros en las diez especies de libélulas. Esta variación fue posible detectarla en cuatro sentidos: entre las especies para cada uno de los años de estudio (especies con mayor, poco o nada de parasitismo), entre años para cada una de las especies (significativa en dos especies por gregarinas: *A. harknessi* y *A. pulla*, y por ácaros: *A. pulla* y *T. salva*), en relación a la constancia de las mismas especies como las mayor y menor parasitadas para ambos años de estudio (excepto por *H. americana* que en ambos años se mantuvo como la menos parasitada por gregarinas y *T. salva* como la más parasitada por ácaros) y entre sexos dentro de cada especie. En otros animales también se ha detectado variación. Por ejemplo, en la mosca *Stenodiplosis sorghicola*, se detectó gran variación de parasitismo en tres años de estudio (Lloyd *et al.* 2007). Sin embargo, también hay estudios que han registrado patrones específicos de parasitismo, como ha sucedido en otras especies (ver Haukisalmi y Hanski 2007; Skovgaard y Saiz 2006). Sería interesante saber si la ausencia de patrones típicos es común en odonatos. Los estudios a futuro deberían profundizar en esto ya que aportarían más información sobre las causas del parasitismo.

En general, la variación detectada aquí muestra una disminución en las cargas parasitarias por ambos tipos de parásitos, comparado con estudios previos que registran la variación de parasitismo en lugares más septentrionales del planeta, cuyos registros se mantienen en la misma medida para diferentes temporadas y especies; casos de no más de cuatro especies de hospederos y cargas parasitarias de hasta cientos de parásitos por individuo hospedero parasitado (Åbro 1996; Andrés y Cordero 1998; Forbes *et al.* 1999;

Hecker *et al.* 2002; Lajeunesse *et al.* 2004; Rolff 2000). De hecho, durante el registro del segundo año se observó, por ejemplo, que únicamente dos especies hospederas estuvieron parasitadas por ácaros. ¿Por qué el parasitismo se vio disminuido? Hay varias posibilidades que podrían explicar esto. Una explicación podría estar relacionada con el ambiente. Se observó que las condiciones del hábitat cambiaron de un año a otro. Aunque esto no se midió, en el segundo año hubo un deterioro ambiental notable (disminución de la vegetación ribereña, mayor rastro de pastoreo, disminución de la profundidad del río, incremento de contaminación), que pudo haber afectado procesos tales como la densidad de los vectores (para el caso de las gregarinas), impidiendo que éstos fueran consumidos por las libélulas, o haber ocasionado efectos directos sobre la adecuación de los parásitos (para el caso de los ácaros), tal como se ha demostrado en parásitos de peces (Valtonen *et al.* 1997). Por ejemplo, existe un estudio donde se evidenció el efecto de la fragmentación del hábitat sobre la interacción parásito-hospedero en la libélula *Calopteryx maculata* y sus parásitos gregarinos (Taylor y Merriam 1996). En ese trabajo se observó, por ejemplo, que individuos hospederos de sitios fragmentados tuvieron cargas parasitarias bajas, comparados con hospederos de sitios no fragmentados; de acuerdo a lo que los autores argumentan, la fragmentación podría tener una influencia directa sobre la dinámica poblacional de las gregarinas, disminuyendo la tasa de encuentro con sus vectores e indirectamente con los hospederos (Taylor y Merriam 1996). Este pudo haber sido el caso en el presente trabajo. No es de extrañarse que el deterioro del hábitat afecte también las tasas de parasitismo. Desde una perspectiva sinérgica, los odonatos igual que cualquier grupo animal, está afectado por cambios directos o indirectos en su red trófica. En un ejemplo a este respecto, se ha observado que los peces afectan la presencia de larvas de libélulas en un ecosistema, y las libélulas adultas afectan a su vez, la presencia de los polinizadores de los cuales se

alimentan y esto consecuentemente tiene influencia sobre las tasas de polinización (Knight *et al.* 2005). No obstante, sería conveniente ahondar más en esta posibilidad y medir algunos componentes del ambiente que permitan acreditar de forma numérica el grado de deterioro del sitio de estudio y el posible efecto en sus hospederos y parásitos. En los dos ejemplos anteriores, así como en los resultados aquí presentados, se manifiesta de alguna forma que un cambio en el ambiente puede tener serias implicaciones ecológicas al alterar de una u otra forma la respuesta de la interacción parásito-hospedero.

Otra idea que podría esclarecer la distribución del número de parásitos encontrada se refiere al proceso de mortalidad inducida por parásitos (Anderson y Gordon 1982). La mortalidad de hospederos ocasionada por los parásitos, podría explicar el porqué de las cargas parasitarias encontradas, ya que posiblemente no se logró registrar a todos los organismos parasitados, porque tal vez murieron antes del momento de la colecta. Aunque este proceso poblacional puede fácilmente enmascarar los registros de parasitismo de cualquier tipo de hospedero, se ha sugerido previamente que una forma de solucionar el sesgo ocasionado por este proceso demográfico, sea a través del registro de parasitismo al inicio de la época de vuelo, momento en que emergen los hospederos (Rolf 2000). Esto se pudo resolver, dado que los registros de parasitismo con los que se contó en este estudio, albergan información de individuos maduros pertenecientes a todas las épocas de vuelo y fechas de emergencia de cada una de las especies hospederas. Sin embargo, cabe la posibilidad de que los hospederos con gran carga parasitaria raramente hayan sobrevivido y por lo tanto no hubiesen sido colectados (Begon *et al.* 1986). De acuerdo con los costos del parasitismo a los que se enfrentan las libélulas (Åbro 1996; Siva-Jothy y Plaistow 1999; Córdoba-Aguilar 2002;

Hecker *et al.* 2002; Córdoba-Aguilar *et al.* 2003; Tsubaki y Hooper 2004; Canales-Lazcano *et al.* 2005) y al hecho de que a mayor edad la tasa de infección por gregarinas aumenta (Córdoba-Aguilar *et al.* 2003), es posible que en este estudio, haya sido poco común que los hospederos muy parasitados se colectaran, porque quizás ya habían muerto o estaban en sitios apartados de las áreas de reproducción.

No obstante, para el caso de los ácaros, en este estudio no afectó la posibilidad de que no se haya registrado el parasitismo previo, por la posibilidad de que aquellos ya hubieran abandonado a los hospederos para completar sus ciclos de vida al momento de la colecta (Smith 1988), dado que en este estudio se consideró también el conteo de las cicatrices de ácaros, ya que estas permiten tener información acerca de rastros preliminares de parasitismo (Forbes y Baker 1991).

Ya otros trabajos con libélulas habían encontrado variación de parasitismo entre especies, aunque no en un sentido amplio utilizando hasta diez especies de hospederos y a un plazo mayor, cómo aquí se hizo (Åbro 1990, 1996; Lajeunesse *et al.* 2004). Dentro de las aportaciones más importantes que han realizado trabajos previos, están aquellas que se refieren a la magnitud y uso que los parásitos hacen de las diferentes especies de hospederos y del alcance evolutivo que esto trae. Por ejemplo, se sabe que en pares de interacciones parásito-hospedero, la selección puede conducir a una sincronización de los ciclos de vida de ambos, a tal grado que los hospederos (principalmente los más comunes; Forbes *et al.* 1999) se ven grandemente infectados al inicio de las épocas de vuelo, disminuyéndose el parasitismo a lo largo del curso de la vida adulta de todos los individuos de una misma población hospedera, como se ha demostrado en la interacción ácaro-libélula de las libélulas *Coenagrion puella* y *C. hastulatum* (Rolf 2000). En este

sentido, uno de los hallazgos relevantes de mi trabajo, ha sido la ausencia de una sincronización evidente entre cualquiera de los interactuantes, es decir, que toda la variación encontrada y la disminución parasitaria entre un año y otro de estudio para cada una de las especies de libélulas hospederas, sugiere considerablemente que la relación parásito-hospedero no se mantiene estable. Esto tiene notables implicaciones evolutivas, ya que podría dar cuenta de la forma en que la selección natural estaría operando en este sistema de estudio. Una explicación en este sentido, podría ser que la interacción parásito-hospedero se encuentre en algún momento coevolutivo. La coevolución, *sensu stricto*, se refiere al cambio evolutivo que ocurre entre dos especies de manera recíproca, es decir, que el cambio que se da en una de las especies interactuantes, se verá contrarrestado por un cambio en la otra especie y así sucesivamente. Este proceso se ha demostrado en varios pares de interacciones, incluida la interacción parásito-hospedero. Sin embargo, recientemente se ha sugerido que no todas las interacciones se dan de un modo tan absolutista, es decir, que no sólo ocurren entre pares de especies, sino que podrían estar además influidas por otras especies presentes en el medio, motivando que la selección actúe holgadamente sobre unas u otras especies o sobre todas, a esta idea se le conoce como coevolución difusa (Forbes y Robb 2008).

Aunque la mayoría de los trabajos que han documentado la coevolución difusa, se han concentrado en la interacción planta-herbívoro, la premisa es aplicable a cualquier sistema de interacciones que involucren más de dos especies interactuantes (Inouye y Stinchcombe 2001). Específicamente en el caso de parásitos y hospederos, se podrían encontrar tanto casos donde se trate de un solo tipo de hospedero interactuando con varios tipos de parásitos como casos donde un solo tipo de parásito interactúe con varios

tipos de hospederos (Dybdahl y Storfer 2003). Este último es el panorama que advierte el presente trabajo, si se asume que tanto las gregarinas como los ácaros registrados responden a un solo tipo para ambos casos. Si esto es así, entonces la explicación más probable se refiere a que la exposición de un tipo de parásito hacia diversas especies de hospederos, debilita de alguna forma la selección específica de las especies interactuantes y se llegue al grado de que la habilidad del parásito para adaptarse a cualquier tipo de hospedero se vea flaqueada (Lajeunesse y Forbes 2002) y se observen casos como el aquí documentado. Ya anticipadamente en otros trabajos se ha sugerido de forma sutil o en gran medida la coevolución difusa en la interacción parásito-hospedero (ver Baker y Smith 1997; Forbes *et al.* 1999; Lajeunesse y Forbes 2002; Lajeunesse *et al.* 2004; Rutherford *et al.* 2007).

6.2 Variación en el óxido nítrico

Los estudios de ecología evolutiva donde se ha medido el óxido nítrico son escasos, a pesar de que se ha propuesto a este componente como vital en la respuesta inmune (Rivero 2006). Los pocos estudios donde se ha analizado este componente han indicado que puede estar asociado con la condición del individuo; libélulas en buena condición producen más óxido nítrico (Contreras-Garduño 2009; Córdoba-Aguilar *et al.* 2009). En ellos se ha señalado que *H. americana* muestra que el óxido nítrico es un componente que probablemente no siempre puede ser producido ya que está más o menos presente en distintas temporadas del año, lo que sugiere costos de producción (Córdoba-Aguilar *et al.* 2009). Aunque en estos estudios midieron la supervivencia ante retos inmunes con la bacteria *Serratia marcescens* en machos (machos con más óxido nítrico sobreviven más tiempo), no han asociado la producción de óxido nítrico con la intensidad de parasitismo.

Los resultados de variación de óxido nítrico en mi estudio respaldan la hipótesis sobre la relación negativa con la variación de parasitismo (figura 5 y cuadro 15), y sugieren costos del parasitismo sobre la respuesta inmune de los hospederos. Por ejemplo, la especie *A. pulla* que presentó el mayor parasitismo, fue la que menor concentración de óxido nítrico tuvo. Esto sugiere que los animales muy probablemente están renunciando a la inversión en respuesta inmune, porque los parásitos tal vez son demasiado virulentos. Esta situación es análoga con los modelos de Godfray y Sasaki (1999), quienes encontraron que una de las respuestas por parte de los hospederos ante parásitos demasiado virulentos, es que los primeros se vean orillados a no invertir contra parásitos de este tipo, ya que esto les supone costos demasiado altos y por ende poco costeables. No obstante, la relación encontrada podría ser explicada por la historia filogenética de los organismos, por lo tanto sería conveniente tomar con cautela lo encontrado aquí y considerar realizar una corrección filógenética, que bien podría ser explorado como parte de algún estudio a futuro. Otro punto importante que cabe mencionar, es que en el presente trabajo la medición de óxido nítrico sólo se efectuó con las especies que hubo la posibilidad de medir el parámetro inmunológico durante esa temporada, ya que no todas las especies están presentes todo el año. De cualquier forma, sería muy importante tener conocimiento de cuál sería el caso para el resto de las especies hospederas con las que no se midió el óxido nítrico y corroborar lo encontrado. Algo importante de mencionar también, es que lo hallado ajusta bien para el caso de las gregarinas, aunque no así para el caso de los ácaros, pues no es muy clara la relación que existe para estos últimos. En este sentido, tal vez convendría explorar con más detalle la relación que guarda el sistema inmune, en este caso el óxido nítrico, con la carga parasitaria por ácaros, especialmente en *T. salva*, ya que fue la única especie que

indicó ser más constante en relación al grado de parasitismo por ácaros, con altas prevalencias durante toda la época de vuelo de los adultos pero una de las especies a la que no se le midió el óxido nítrico, por no estar presente durante la colecta de organismos para dicha medición.

6.3 Perspectivas futuras de trabajo

Mi estudio a pesar de haber comparado un par de años de colectas, ha ofrecido más preguntas que respuestas. La ausencia de un patrón de parasitismo conmina a que más años debieran ser investigados. Si esto se realizara, posiblemente se daría cuenta de patrones, y se vislumbraría más conocimiento sobre procesos ecológicos y evolutivos como el hecho de advertir si las especies más parasitadas son encaminadas a la extinción local, si las estrategias sexuales dentro de las especies se modifican gracias a las tasas de parasitismo [por ejemplo, si las especies muy parasitadas viven poco y pongan por lo tanto su mayor inversión reproductiva (huevos, espermatozoides) al comienzo de la vida adulta], si la territorialidad no sea una estrategia conveniente ya que los gastos en defensa inmune son demasiado altos, o si algunas especies ajustan sus periodos de reproducción cuando los parásitos son menos frecuentes, entre otras. No obstante, queda también la posibilidad de que no necesariamente haya un patrón de parasitismo al menos en estas especies hospederas, como se ha demostrado en otros trabajos y sea que más bien los procesos ecológicos y evolutivos, estén operando en otros componentes de historia de vida de los organismos y también no únicamente sobre los hospederos, sino además sobre los parásitos.

Mi estudio se realizó desde la perspectiva del hospedero y queda evidenciada la ausencia desde la posición de los parásitos. Sería interesante explorar la magnitud y

consecuencia de las presiones ejercidas por parte de los hospederos y del ambiente hacia los parásitos, ya que en general, son desconocidas. Estas inquietudes deben ser abordadas en el futuro. Por ejemplo, ¿por qué los ácaros no infectan a otras especies o en mayor número tanto como las gregarinas?, ¿cuáles son las limitantes ambientales (p. ej.: temperatura, humedad relativa) que pudieran estar afectando a las especies de parásitos?, ¿de cuántas especies y cuáles es la comunidad de gregarinas y ácaros?, ¿compiten entre sí estas especies en caso de haber más de una de gregarina y ácaro?

Los estudios de respuesta inmune apenas han tomado forma en los años recientes (Schulenburg *et al.* 2009). Yo he hecho una investigación muy preliminar en este sentido. Sería importante que otros tipos de respuestas sean exploradas a lo largo de la temporada. Por ejemplo, la actividad de la fenoloxidasa como enzima clave en el inicio de la respuesta inmune (Gillespie *et al.* 1997; Söderhäll y Cerenius 1998) y la melanización (la envoltura de un patógeno por medio de hemocitos y su posterior encapsulación por melanina (Gillespie *et al.* 1997; Schmid-Hempel 2005)). Estos datos complementarían las interpretaciones de lo hallado con óxido nítrico.

6.4 Conclusiones

1) Se investigó el parasitismo de diez especies de zigópteros y su relación con el óxido nítrico. Se encontró que el parasitismo varió en cuatro sentidos y en general disminuyó de un año de estudio a otro. Esto sugiere que la interacción parásito-hospedero no se mantiene estable y posiblemente esta sujeta a un proceso de coevolución difusa.

2) La relación con el óxido nítrico fue clara para el caso de las gregarinas; donde se halló que la especie que presentó mayor parasitismo fue la que menor concentración de óxido nítrico tuvo; situación equivalente con los modelos de Godfray y Sasaki (1999). Sin embargo, esto no fue coincidente para el caso de los ácaros, ya que no se encontró una relación clara para estos últimos.

3) Este estudio se realizó desde la perspectiva del hospedero sin considerar la posición de los parásitos. Sería interesante explorar la magnitud y consecuencia de las presiones ejercidas por parte de los hospederos y del ambiente hacia los parásitos, ya que en general, son desconocidas.

7. LITERATURA CITADA

- Åbro A. 1976.** The mode of gregarine infection in Zygoptera (Odonata). *Zoologica Scripta* 5: 265-275.
- Åbro A. 1990.** The impact of parasites in adult populations of Zygoptera. *Odonatologica* 19: 223-233.
- Åbro A. 1996.** Gregarine infection of adult *Calopteryx virgo* (Odonata: Zygoptera). *Journal of Natural History* 30: 855-859.
- Anderson R. M. y D. M. Gordon. 1982.** Processes influencing the distribution of parasite numbers within host populations with special emphasis on parasite-induced host mortalities. *Parasitology* 85: 373-398.
- Andrés J. A., y A. Cordero. 1998.** Effects of water mites on the damselfly *Ceriagrion tenellum*. *Ecological Entomology* 23: 103-109.
- Armitage S. A. O., J. J.W. Thompson, R. Rolff y M. T. Siva-Jothy. 2003.** Examining costs of induced and constitutive immune investment in *Tenebrio molitor*. *Journal of Evolutionary Biology*. 16: 1038-1044.
- Baker R. L. y B. P. Smith. 1997.** Conflict between antipredator and antiparasite behaviour in larval damselflies. *Oecologia* 109: 622–628.
- Begon M., J. L. Harper y C. R. Townsed. 1986.** *Ecology: individuals, populations and communities*. Blackwell Scientific Publications. Osney Mead, Oxford. 876 págs.
- Braune P. y J. Rolff. 2001.** Parasitism and survival in a damselfly: does host sex matter?. *Proceedings of the Royal Society of London B* 268: 1133-1137.
- Bush A. O., K. D. Lafferty, J. M. Lotz y A. W. Shostak. 1997.** Parasitology Meets Ecology on Its Own Terms: Margolis *et al.* Revisited. *The Journal of Parasitology* 83: 575-583

- Canales-Lazcano J., J. Contreras-Garduño, A. Córdoba-Aguilar. 2005.** Fitness-related attributes and gregarine burden in a non-territorial damselfly *Enallagma praevarum* Hagen (Zygoptera: Coenagrionidae) *Odonatologica* 34: 123-130.
- Cerenius L. y K. Söderhäll. 2004.** The prophenoloxidase-activating system in invertebrates. *Immunological Reviews* 198: 116-126.
- Corbet P. S. 1999.** *Dragonflies: behavior and ecology of Odonata*. Cornell University Press. Ithaca, New York. 829 págs.
- Córdoba-Aguilar A. 2002.** Wing pigmentation in territorial male damselflies, *Calopteryx haemorrhoidalis*: a possible relation to sexual selection. *Animal Behaviour* 63: 759-766.
- Córdoba-Aguilar A., J. C. Salamanca-Ocaña y M. López-Araiza. 2003.** Female reproductive decisions and parasite burden in a calopterygid damselfly (Insecta: Odonata). *Animal Behaviour* 66: 81-87.
- Córdoba-Aguilar A., J. Contreras-Garduño, H. Peralta-Vázquez, A. Luna-González, A. I. Campa-Córdova y F. Ascencio. 2006.** Sexual comparisons in immune ability, parasite intensity and survival in two damselfly species. *Journal of Insect Physiology* 52: 861-869.
- Contreras-Garduño J., A. Córdoba-Aguilar, H. Peralta-Vázquez, J. G. Jiménez-Cortés, A. Luna-Gonzalez y A. I. Campa-Córdova. 2008.** Differences in immune ability do not correlate with parasitic burden in two Zygoptera species (Calopterygidae, Coenagrionidae). *Odonatologica* 37: 111-118.
- Contreras-Garduño J., J. Canales-Lazcano, J. G. Jiménez-Cortés, N. Juárez-Valdéz, H. Lanz-Mendoza, A. Córdoba-Aguilar. 2009.** Spatial and temporal population differences in male density and condition in the American rubyspot, *Hetaerina Americana* (Insecta: Calopterygidae). *Ecological Research* 24: 21-29.

- Dybdahl M. F. y Storfer A. 2003.** Parasite local adaptation: red queen versus suicide king. *Trends in Ecology and Evolution* 18: 523-530.
- Forbes M. R. L. 1991.** Ectoparasites and mating success of male *Enallagma ebrium* damselflies (Odonata: Coenagrionidae). *Oikos* 60: 336-342.
- Forbes M. R. L. y R. L. Baker. 1991.** Condition and fecundity of the damselfly, *Enallagma ebrium* (Hagen): the importance of ectoparasites. *Oecologia* 86: 335-341.
- Forbes M. R., K. E. Muma y B. P. Smith. 1999.** Parasitism of *Sympetrum* dragonflies by *Arrenurus planus* mites: maintenance of resistance particular to one species. *International Journal for Parasitology* 29: 991-999.
- Forbes M. R. y T. Robb. 2008.** Testing hypotheses about parasite-mediated selection using odonate hosts. En: *Dragonflies and damselflies: model organisms for ecological and evolutionary research* (A. Córdoba-Aguilar eds.). Oxford University Press, New York. 175-188 págs.
- Gillespie J. P., M. R. Kanost y T. Trenczek. 1997.** Biological mediators of insect immunity. *Annual Review of Entomology*. 42: 611-643.
- Haukisalmi V. y I. K. Hanski. 2007.** Contrasting seasonal dynamics in fleas of the Siberian flying squirrel (*Pteromys volans*) in Finland. *Ecological Entomology* 32: 333-337.
- Hecker K. R., M. R. Forbes y N. J. Léonard. 2002.** Parasitism of damselflies (*Enallagma boreale*) by gregarines: sex biases and relations to adult survivorship. *Canadian Journal of Zoology* 80: 162-168.
- Inouye B. y J. R. Stinchcombe. 2001.** Relationships between ecological interaction modifications and diffuse coevolution: similarities, differences, and causal links. *Oikos* 95: 353-360.

- Jacklet J. W. 1997.** Nitric oxide signaling in invertebrates. *Invertebrates Neuroscience* 3: 1-14.
- James S. L. 1995.** Role of nitric oxide in parasitic infections. *Microbiological Reviews* 59: 533-547.
- Joop G. y J. Rolff. 2004.** Plasticity of immune function and condition under the risk of predation and parasitism. *Evolutionary Ecology Research* 6: 1051-1062.
- Joop G., A. Mitschke, J. Rolff y M. Siva-Jothy. 2006.** Immune function and parasite resistance in male and polymorphic female *Coenagrion puella*. *Evolutionary Biology* 6:19.
- Klemola T., N. Klemola, T. Andersson, K. Ruohomäki. 2007.** Does immune function influence population fluctuations and level of parasitism in the cyclic geometrid moth?. *Population Ecology* 49: 165-178.
- Knight T. M., J. A. Steets, J. C. Vamosi, S. J. Mazer, M. Burd, D. R. Campbell, M. R. Dudash, M. O. Johnston, R. J. Mitchell y T-L Ashman. 2005.** Pollen limitation of plant reproduction: pattern and process. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 36: 467-497.
- Kraaijeveld A. R. y J. J. M. van Alphen. 1995.** Foraging behavior and encapsulation ability of *Drosophila melanogaster* larvae: correlated polymorphisms? (Diptera: Drosophilidae). *Journal of Insect Behavior* 8: 305-314.
- Lajeunesse M. J. y M. R. Forbes. 2002.** Host range and local parasite adaptation. *Proceedings of the Royal Society of London B* 269: 703-710.
- Lajeunesse M. J., M. R. Forbes y B. P. Smith. 2004.** Species and sex biases in ectoparasitism of dragonflies by mites. *Oikos* 106: 501-508.
- Lavine M. D. y M. R. Strand. 2002.** Insect hemocytes and their role in immunity. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 32: 1295-1309.

- Lindström K. M., J. Foufopoulos, H. Pärn y M. Wikelski. 2004.** Immunological investments reflect parasite abundance in island populations of Darwin's finches. *Proceedings of the Royal Society of London B* 271: 1513-1519.
- Lloyd R. J., B. A. Franzman y M. P. Zalucki. 2007.** Seasonal incidence of *Stenodiplosis sorghicola* (Coquillett) (Diptera: Cecidomyiidae) and its parasitoids on *Sorghum halepense* (L.) Pers. in south-eastern Queensland, Australia. *Australian Journal of Entomology* 46: 23-28.
- Moller A. P., J. Erritzøe y N. Saino. 2003.** Seasonal changes in immune response and parasite impact on hosts. *American Naturalist* 161: 657-671.
- Nappi A. J. y E. Ottaviani. 2000.** Cytotoxicity and cytotoxic molecules in invertebrates. *BioEssays* 22: 469-480.
- Nappi A. J., E. Vass, F. Frey y Y. Carton. 2000.** Nitric oxide involvement in *Drosophila* immunity. *Nitric Oxide: Biology and Chemistry* 4: 423-430.
- Noble E. R., G. A. Noble, G. A. Schad y A. J. Maginnes. 1989.** *Parasitology: the biology of animal parasites*. 6 ed. Lea and Febiger. Philadelphia, USA. 551 págs.
- Peralta-Vázquez G. H. 2006.** Parasitismo por gregarinas (Protozoa) y ácaros (Acari) en nueve especies de Zygoptera (Insecta: Odonata). Tesis de Licenciatura. Facultad de Biología. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Morelia, Mich. México. 49 págs.
- Poulin R. 1999.** The functional importance of parasites in animal communities: many roles at many levels?. *International Journal for Parasitology* 29: 903-914.
- Poulin R. y S. Morand. 2000.** The diversity of parasites. *The Quarterly Review of Biology* 75: 277-293.

- Rivero A. 2006.** Nitric oxide: an antiparasitic molecule of invertebrates. *Trends in Parasitology* 22: 219-225.
- Rolff J. 2000.** Water mite parasitism in damselflies during emergence: two hosts, one pattern. *Ecography* 23: 273-282.
- Rolff J., H. Antvogel y I. Schrimpf. 2000.** No correlation between ectoparasitism and male mating success in a damselfly: why parasite behavior matters. *Journal of Insect Behavior* 13: 563-571.
- Rolff J. y M. T. Siva-Jothy 2003.** Invertebrate ecological immunology. *Science* 301: 472-475.
- Rutherford P. L., R. L. Baker y M. R. Forbes. 2007.** Do larval damselflies make adaptive choices when exposed to both parasites and predators? *Ethology* 113: 1073-1080.
- Sasaki A. y H. C. J. Godfray. 1999.** A model for the coevolution of resistance and virulence in coupled host-parasitoid interactions. *Proceedings of the Royal Society of London B* 266: 455-463.
- Schmid-Hempel P. 2003.** Variation in immune defense as a question of evolutionary ecology. *Proceedings of the Royal Society of London B* 270: 357-366.
- Schmid-Hempel P. 2005.** Evolutionary ecology of insect immune defenses. *Annual Review of Entomology* 50: 529-551.
- Sheldon B. C. y S. Verhulst. 1996.** Ecological immunology: Costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends in Ecology and Evolution* 11: 317-321.
- Siva-Jothy M. T. y S. J. Plaistow. 1999.** Fitness cost of eugregarine parasitism in a damselfly. *Ecological Entomology* 24: 465-470.

- Siva-Jothy M. T., Y. Tsubaki, R. E. Hooper, S. J. Plaistow. 2001.** Investment in immune function under chronic and acute immune challenge in an insect. *Physiological Entomology* 26: 1–5.
- Skovgaard A. y E. Saiz. 2006.** Seasonal occurrence and role of protistan parasites in coastal marine zooplackton. *Marine Ecology Progress Series* 327: 37-49.
- Smith B. P. 1988.** Host-parasite interaction and impact of larval water mites on insects. *Annual Review of Entomology* 33: 487-507.
- Smith P. K., R. I. Krohn, G. T. Hermanson, A. K. Mallia, F. H. Gartner, M. D. Provenzano, E. K. Fujimoto, N. M. Goeke, B. J. Olson y D. C. Klenk. 1985.** Measurement of protein using bicinchoninic acid. *Analytical Biochemistry* 150:76-85.
- Söderhäll K., y L. Cerenius. 1998.** Role of the prophenoloxidase-activating system in invertebrate immunity. *Current Opinion in Immunology* 10: 23-28.
- Taylor P. D. y G. Merriam. 1996.** Habitat fragmentation and parasitism of a forest damselfly. *Landscape Ecology* 11: 181-189.
- Thomas F., R. Poulin, J. F. Guégan, Y. Michalakis y F. Renaud. 2000.** Parasites and host life-history traits: implications for community ecology and species co-existence. *International Journal for Parasitology* 30: 669-674.
- Tsubaki Y. y R. E. Hooper. 2004.** Effects of eugregarine parasites on adult longevity in the polymorphic damselfly *Mnais costalis* Selys. *Ecological Entomology* 29: 361-366.
- Valtonen E. T., J. C. Holmes y M. Koskivaara. 1997.** Eutrophication, pollution and fragmentation: effects on parasite communities in roach (*Rutilus rutilus*) and perch (*Perca fluviatilis*) in four lakes in central Finland. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54: 572–585.

- Vilmos P. y E. Kurucz. 1998.** Insect immunity: evolutionary roots of the mammalian innate immune system. *Immunology Letters* 62: 59-66.
- Woods M. S., J. Mayer, T. G. Evans y J. B. Hibbs Jr. 1994.** Antiparasitic effects of nitric oxide in an in vitro model of *Chlamydia trachomatis* infection and an in vivo murine model of *Leishmania major* infection. *Immunology Series*. 60: 179-195.
- Yourth C. P., M. R. Forbes y B. P. Smith. 2001.** On understanding variation in immune expression of the damselflies *Lestes spp.* *Canadian Journal of Zoology* 79: 815-821.
- Zuk M. 1987b.** The effects of gregarine parasites on longevity, weight loss, fecundity and developmental time in the field crickets *Gryllus veletis* and *G. Pennsylvanicus*. *Ecological Entomology* 12: 349-354.
- Zuk M. y A. M. Stoehr. 2002.** Immune defense and host life history. *The American Naturalist* 160: S9-S22.