

2023

Tesis doctoral

Asociaciones ecológicas en un
ambiente extremo: la relación
entre piojos y focas antárticas

LIC. FLORENCIA ANABELLA SOTO

Directora de Tesis: Dra. María Soledad Leonardi

Co-directora de Tesis: Dra. Florencia Cremonte



Universidad Nacional de la Patagonia San Juan Bosco
Facultad de Ciencias Naturales
Departamento de Biología General

**Asociaciones ecológicas en un ambiente extremo:
la relación entre piojos y focas antárticas**

Tesis para optar por el grado de Doctora en Ciencias Biológicas

Lic. Florencia Anabella Soto

Directora de Tesis: Dra. María Soledad Leonardi

Co-directora de Tesis: Dra. Florencia Cremonte

Lugar de trabajo: Instituto de Biología de Organismos Marinos,
Centro Nacional Patagónico, CONICET

2023

A mi viejito

Ya Andina

Resumen

Los piojos de la familia Echinophthiriidae (Phthiraptera: Anoplura) son ectoparásitos obligados y permanentes de pinnípedos y la nutria de río del Norte (*Lontra canadensis*). Entre los piojos de esta familia, los del género *Antarctophthirus* parasitan a una gran variedad de hospedadores, incluyendo a los lobos marinos de uno y dos pelos, las focas y la morsa. Siendo especies de origen terrestre, sus adaptaciones morfológicas, ecológicas y comportamentales les han permitido desarrollarse en hospedadores de vida anfibia. Son, además, los únicos insectos que han colonizado con éxito el medio marino. Sin embargo, presentan la limitación de que sus huevos no sobreviven bajo el agua, por lo que sólo pueden reproducirse cuando su hospedador permanece en tierra el tiempo suficiente. En consecuencia, las generaciones de piojos por año están limitadas por los patrones de entrada y salida del agua del hospedador. El objetivo principal de la presente Tesis fue estudiar la ecología parasitaria de tres especies de piojos presentes en focas asociadas a los bandejones de hielo en la Península Antártica. Para el abordaje del estudio de los parámetros de infestación, i.e. prevalencia (P), abundancia media (AM) e intensidad media (IM), se trabajó con las tres especies por separado. La prevalencia para las focas leopardo (*Hydrurga leptonyx*, FL) fue la más baja (P=14%) comparada con la foca cangrejera (*Lobodon carcinophaga*, FC) (P=50%) y la foca de Weddell (*Leptonychotes weddellii*, FW) (P=53,7%) y esto podría estar relacionado con el hábito solitario de las focas leopardo. Dada la baja prevalencia en las focas leopardo, los datos no pudieron ser modelados, pero se pudo estimar los parámetros de infestación, contando con datos de 50 focas leopardo y sus piojos (*A. ogmorhini*). La P fue mayor en machos que en hembras (15,8% vs 8,3). Mientras que la IM y AM fue mayor en hembras que machos, pero sólo se encontró una hembra con 48 piojos. Respecto a la clase de edad los juveniles presentaron mayor prevalencia (33,3% vs 12,8%) e IM (26,0 vs 14,0) que los adultos, aunque sólo se encontró un juvenil con 26 piojos. Para modelar los parámetros de infestación en función del sexo y la clase de edad del hospedador y la variación anual y analizar las estrategias reproductivas de los piojos, se trabajó con datos de 5 años de muestreo, analizando 54 focas cangrejeras con sus respectivos piojos (*A. lobodontis*), y 54 focas de Weddell con sus piojos (*A. carlinii*). En FC y FW el sexo no afecta la P ni la AM. Mientras que la clase de edad si es un factor determinante en la transmisión de piojos, siendo los juveniles los que presentan mayor P y AM que los adultos, probablemente debido al comportamiento de forrajeo y patrones de ingreso y salida del agua de los juveniles. A su vez, el 20,37% de las FC, tenían huevos potencialmente

viables, los tres estadios ninfales (N1, N2, N3) y adultos (P 50%, AM 81,7). En las FW se encontraron N3 y adultos (P 54%, AM 3,1), mientras que en las FL se encontraron todos los estadios (P 14%, AM 2,2). Estos resultados sugieren que *A. lobodontis* realizaría puestas de huevos que podrían resultar viables, lo cual no sucede en las otras dos especies. La transmisión de *A. carlinii* sería principalmente de piojos adultos debiendo completar una generación en poco tiempo, al menos durante la temporada de muda. No se pudieron establecer patrones de transmisión de *A. ogmorhini* debido a los bajos valores encontrados. Estas estrategias reproductivas demuestran que la dinámica de las poblaciones de piojos está determinada por el comportamiento de las focas, principalmente por los patrones de buceo y de entrada y salida del agua durante su ciclo de vida. Además, son evidencia del estrecho mecanismo de co-adaptación y co-evolución entre los piojos de la familia Echinophthiriidae y las focas antárticas. A futuro, se pretende estudiar experimentalmente el ciclo de vida de estas especies de piojos, para caracterizar las estrategias reproductivas que utilizan para garantizar su éxito reproductivo. Los resultados obtenidos a partir del análisis de la condición corporal, mostraron que existe una relación entre el recuento total de leucocitos y la presencia de piojos, siendo las especies con mayores prevalencias (focas cangrejera y Weddell) las que tuvieron un mayor número de leucocitos en 10 campos. Además, los individuos que tenían piojos mostraron una mayor proporción de linfocitos que los que no tenían. En el recuento diferencial de leucocitos se observó un predominio de los neutrófilos seguido de los linfocitos en las tres especies. Los resultados muestran un menor estrés (menor valor de Neutrófilos/Linfocitos, N/L) en las focas muestreadas los primeros años en comparación con las focas muestreadas los últimos años 2019 y 2020 y esto podría estar asociado a un mecanismo de respuesta ante los factores estresantes del ambiente, tales como presencia de patógenos, contaminantes, cambios en las condiciones ambientales y/o el efecto de la actividad antropogénica. Dadas las limitaciones que implican el acceso y la toma de muestras en ambientes antárticos, y la manipulación de individuos de gran tamaño como las especies estudiadas, los resultados aquí obtenidos pretenden brindar información de base sobre estas asociaciones parásito-hospedador de las que poco se conoce. En este sentido la información presentada en esta Tesis contribuye no solo con el conocimiento de estas asociaciones ecológicas entre focas y piojos, sino que también brinda una línea de base del estado sanitario de estos tres pinnípedos antárticos, que por ser predadores de niveles tróficos altos se consideran buenos centinelas del estado de salud del ecosistema antártico. Además, por ser especies longevas, con ciclos de reproducción lentos son

mucho más vulnerables que otras especies a perturbaciones ambientales, tales como como la alteración del hábitat, disponibilidad de presas y efectos antrópicos entre otros. Los resultados de esta Tesis refuerzan la importancia de los monitoreos a largo plazo de la salud de estas focas dependientes del hielo marino en la Península Antártica resultan esenciales, dado que esta región está experimentando un cambio ambiental sin precedentes.

Palabras clave: Antártida, Echinophthiriidae, ecología parasitaria, condición corporal, focas, parámetros de infestación, piojos

Abstract

Lice from the family Echinophthiriidae (Phthiraptera: Anoplura) are obligate and permanent ectoparasites from pinnipeds and the river otter (*Lontra canadensis*). Among them, *Antarctophthirus* lice specifically parasitize a great variety of hosts, including sea lions, fur seals, true seals, and walrus. They are terrestrial-origin species that developed morphological, ecological, and behavioral adaptations to thrive in amphibian life hosts. They have become the only insects to colonize the deep waters. However, the main restriction is related to the fact that their eggs do not survive underwater, so lice reproduction can only occur when hosts remain on land for enough time. Reproductive events and the number of lice generations per year, consequently, are constrained by the haul-out behavior of their host. The main objective of this thesis was to study the parasitic ecology of three lice species associated with pack ice seals in the Antarctic Peninsula. Infestation parameters, i.e. prevalence (P), mean abundance (MA), and mean intensity (MI), were studied for each seal specie. The prevalence for leopard seals (*Hydrurga leptonyx*, LS) was the lowest (P=14%) compared to crabeater seals (*Lobodon carcinophaga*, CS) (P=50%) and Weddell seals (*Leptonychotes weddellii*, WS) (P=53.7%) and this could be related to the leopard seal solitary habits. Given the low prevalence of leopard seals, the data could not be modeled. Even though infestation parameters were estimated based on data from 50 leopard seals and their lice (*A. ogmorhini*). The P was higher in males than in females (15.8% vs 8.3). While the MI and MA were higher in females than males, a single female carrying 48 lice was found. Regarding the age class, juveniles presented a higher prevalence (33.3% vs 12.8%) and MI (26.0 vs 14.0) than adults, although a single juvenile carrying 26 lice was found. To model the infestation parameters based on the sex and age class of the host and the annual variation and to analyze the reproductive strategies of the lice, data from 5 years were used. Analyzing 54 crabeater seals with their respective lice (*A. lobodontis*), and 54 Weddell seals with their lice (*A. carlinii*). Sex does not affect P nor mean MA in CS and WS. While, age class is a determining factor in lice transmission, with juveniles reaching higher P and MA than adults do, probably due to juveniles foraging behavior and haul-out patterns. In turn, 20.37% of the CS have potentially viable eggs, the three nymphal stages (N1, N2, N3), and adults (P 50%, MA 81.7). In the WS, N3, and adults were found (P 54%, MA 3.1), while in the LS all stages were found (P 14%, MA 2.2). These results suggest that *A. lobodontis* would carry out egg clutches that could be viable. The transmission of *A. carlinii* would be mainly from adult lice, having to complete a

generation in a short time, at least during the molting season. Transmission patterns of *A. ogmorhini* could not be established given the low values found. These reproductive strategies demonstrate that lice population dynamics are determined by seal behavior, mainly diving and haul-out patterns during their life cycle. In addition, they are evidence of the co-adaptation and co-evolution between lice of the family Echinophthiriidae and Antarctic seals. In the future, it is intended to study experimentally the life cycle of these species of lice, to characterize the reproductive strategies they use to guarantee their reproductive success. Body condition analysis showed a relationship between the total leukocyte count and the presence of lice, with the species with the highest prevalence (CS and WS) having the highest number of leukocytes in 10 fields. Furthermore, individuals carrying lice showed higher lymphocytes proportion than those who did not carry lice. The differential leukocyte count showed a predominance of neutrophils followed by lymphocytes in the three species. Fewer stress values (lower N/L value) were observed in the seals sampled in the first years compared to the seals sampled in the last years 2019 and 2020. This could be associated with a response mechanism to environmental stressors. Given the limitations implied by access and sampling in Antarctic environments, and the handling of large individuals such as the species studied, the results obtained here aim to provide basic information on these parasite-host associations which is little known. In this sense, the information presented here contributes not only to the knowledge of these ecological associations between seals and lice but also provides a baseline of the health status of these three Antarctic pinnipeds, which, being predators of high trophic levels, are considered good sentinels of the state of health of the Antarctic ecosystem. In addition, as they are long-lived species, with slow reproductive cycles, they are much more vulnerable than other species to environmental disturbances, such as habitat alteration, prey availability, and anthropic effects. Therefore, long-term monitoring studies of the health of these sea ice-dependent seals in the Antarctic Peninsula are essential, given that this region is experiencing unprecedented environmental change.

Key Words: Antarctica, Body condition, Echinophthiriidae, Infestation parameters, Lice, Parasitic ecology, Seals.

Gracias!

En primer lugar, quiero agradecer al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas, CONICET, por haberme becado para poder realizar mi doctorado. En especial al Centro Nacional Patagónico, Instituto de Biología de Organismos Marinos (IBIOMAR) por haberme brindado el lugar de trabajo y las facilidades logísticas para realizar esta Tesis.

A mis directores Dra. Soledad Leonardi, Dra. Florencia Cremonte y Dr. Javier Negrete, no sólo por brindarme las herramientas necesarias para desarrollar este trabajo, sino también por la confianza y dedicación con que lo hicieron.

A Sole “la dire” que decirle que no sepa, gracias infinitas por formarme con tanto entusiasmo y generosidad, por transmitirme tu amor por los piojis y por confiar en mí. Por regalarme tantas zanahorias en este largo camino, me siento privilegiada de tenerte como dire, gracias por entenderme y acompañarme en cada momento personal y profesional. Gracias por hacer de este doctorado una experiencia hermosa e inolvidable, por alentarme a viajar y a golpear todas las puertas que sean necesarias para seguir creciendo.

A Javi por haberme permitido conocer el mágico continente blanco y enseñarme el trabajo de campo, un privilegio haber compartido campaña. Gracias por la confianza y por dejarme seguir creciendo y aprendiendo de y con las foquitas.

A Flor por su generosidad para formarme y enseñarme los primeros pasos en la investigación y por alentarme a crecer siempre un poco más.

También quiero agradecer a todo el grupo de trabajo del LAPA: Flor, Carmen, Nuri, Caro, Anto, Emi, por sus valiosos aportes y por la asistencia en el trabajo de laboratorio. A Carmen Gilardoní en particular por enseñarme desinteresadamente las técnicas moleculares con tanta paciencia y entusiasmo.

A Marce y a Norber del laboratorio de histología y sala de óptica, por enseñarme y ayudarme a procesar los preparados histológicos y de MEB.

A Javi Klaich y José Crespo por enseñarme a comprender la estadística de una manera muy práctica, demostrándome que no era imposible aprender lenguaje de programación.

La realización de esta Tesis fue posible gracias a la Dirección Nacional del Antártico y al Instituto Antártico Argentino, que financiaron las campañas antárticas. Gracias también al personal de la Armada y el Ejército que brinda anualmente el apoyo logístico en cada campaña.

Agradezco profundamente al Dr. Andrés Barbosa Alcón, excelente investigador siempre dispuesto a orientarme, fue un privilegio haberlo conocido, mi más sincera admiración personal y profesional.

A Javi M y Bruno por las charlas y los mates compartidos entre análisis de muestras y de la vida. Mi paso por el laboratorio no hubiera sido lo mismo sin ustedes.

A Belén Rivera-Arroyo, por haberme enseñado con tanta paciencia y en tiempo record a procesar las muestras de suero y por darme todos sus tips con detalles cual receta de cocina.

A Juli C y Leti por ayudarme con los mapas de la Tesis.

A lo largo de estos años de doctorado hubo muchas personitas que de una u otra manera formaron parte de mi vida, es difícil resumir y expresar en pocas palabras mi agradecimiento para con ustedes y espero no olvidarme de nadie.

Antes que nada, agradezco a Dios por este regalo hermoso que es la vida y por permitirme vivirla rodeada de seres tan hermosos. Que me enseñaron que si el camino es difícil es porque voy en la dirección correcta. Y supieron acompañarme a su manera en cada nuevo desafío de la vida. En especial a mis papas por ser el pilar fundamental en mi

vida y por enseñarme a ser paciente y perseverante, apoyándome siempre en cada decisión. Por darme la libertad de elegir y la seguridad para encarar la vida sin miedos.

A vos MA gracias por enseñarme y ser el mejor ejemplo de que nada es imposible y de que los límites no existen cuando perseguimos sueños. Gracias por tu paciencia, por alentarme y acompañarme en todas las etapas de la vida. Te amo ma!

A vos viejito en especial, nunca imagine que no ibas a estar físicamente en este momento y en todos los vendrán, pero sé que a tu manera te las arreglas para estar cerquita siempre. A vos dedico cada párrafo de esta Tesis y cada logro de mi vida. Gracias por enseñarme con tanto amor y paciencia a valorar las pequeñas cosas y momentos de la vida. Te amo y te extraño mucho viejito!

A mi hermanito, mi par, el que me transmite su alegría y tranquilidad constantemente. Y me regaló el mejor título de la vida. ¡Ser tía! A Andina por supuesto la protagonista de nuestros días, la responsable de toda esta alegría. A Iru por dejarme compartir tantos momentos hermosos en familia y por las largas horas de charlas entre sueño, teta y pañales. Los amo!

A mi familia, muy numerosa por cierto, los que ya no están físicamente pero son guía y referentes constantes en este caminito de la vida, Abu Lidia, Nona Mercedes y Nonito Andino. Y a todos los tíos, primos, primitos, ahijados, que están siempre presentes compartiendo hermosos momentos y regalándome sonrisas.

A mi familia Madrynense, porque siempre dicen que la familia no se elige, pero yo a ustedes los elegí y volvería a elegir siempre! Mi hermanita de la vida Anto, gracias por ser tan incondicional amiga! Por los viajes, las charlas sin fin, las mejores comidas. A Pori por la música, los asaditos, los chistes, por cuidar a Trafu. Y a la pequeñita más hermosa de la familia, Evaluna, gracias por dejarme ser tu tía de corazón! Los quiero mucho!

A Juli, Ivancho y Bambu por regalarme un lugarcito en su hogar y compartir nuestras locuras viajeras, los asaditos en la playa y las risas inagotables.

A Cyn, Pablito, Santi y Sil por los lindos momentos compartidos y por ayudarme cuando los necesité.

A mis sobris del corazón las que me hicieron sentir ese cariño tan especial de tía, Rafi, Fran, Cloe, Evaluna y a sus mamás que ya van perdiendo protagonismo en esta historia.

A mis amigas de la vida las que entienden y saben estar presentes cada vez que las necesito. A Miri, Shas, Anto y Mari por compartir tantas charlas, mates y viajecitos y mudanzas por estar presentes en cada momento de la vida. A Juli D, que decirte que no sepas amiguita; gracias por tus palabras justas, por las charlas interminables, las caminatas con Trafu y nuestros rituales de luna llena. Gracias por transmitirme tanta paz y enseñarme a ver la vida desde otra óptica. A la Coquis que tiene las mejores recetas para comer y reírnos hasta el cansancio. A Bar y Lour, gracias por prenderse en todas desde mates, caminatas, playita, acampes, fueguitos o cualquier otra locura que se nos ocurra. A las ex gamelidas, que a pesar del paso de los años seguimos compartiendo momentos hermosos, Laly, Juli, Molli, y Caro. A mis amigas de cutral Yani, Ana, Yamy y As, aunque las circunstancias de la vida nos hayan separado varios kilómetros, cada vez que las veo es como si no hubiera pasado el tiempo. A todas ustedes gracias por ser parte de mi manada, las quiero mucho!

A mis amigos antárticos por todas las horas navegando entre hielos, mates y risas. A Ju, la mejor compa-amiga antártica, ejemplo de perseverancia y responsabilidad. Gracias por todo lo que compartimos, por más campañas juntas! A Pedrito, mi amiguero de músicas, libros y reflexiones cotidianas, cómplice de risas y psicólogo. A Pablito el ilustrador y fotógrafo de las portadas de cada capítulo de esta Tesis compa de kéfir, charlas, mates y buena música. A los grandes con los que tuve el privilegio de compartir

y aprender de su vasta experiencia antártica, Sebita, Javi, Pete, Mechita y Marian que
placer haber compartido campaña con todos ustedes. Y también a los pingüíferos de
Carlini, Yani, Aye, Leti, Tincho Goyo y Peque por hacer de mi primera campaña antártica
una experiencia inolvidable.

Finalmente, y no por eso menos importante, agradezco a mi compañerito de alegrías
y tristezas, de locuras y aventuras. Mi perri viajero, el mejor regalo de papá.. de la vida,
gracias por el aguante y por sacarme a pasear. Te amo Trafu de mi corazón!

Índice

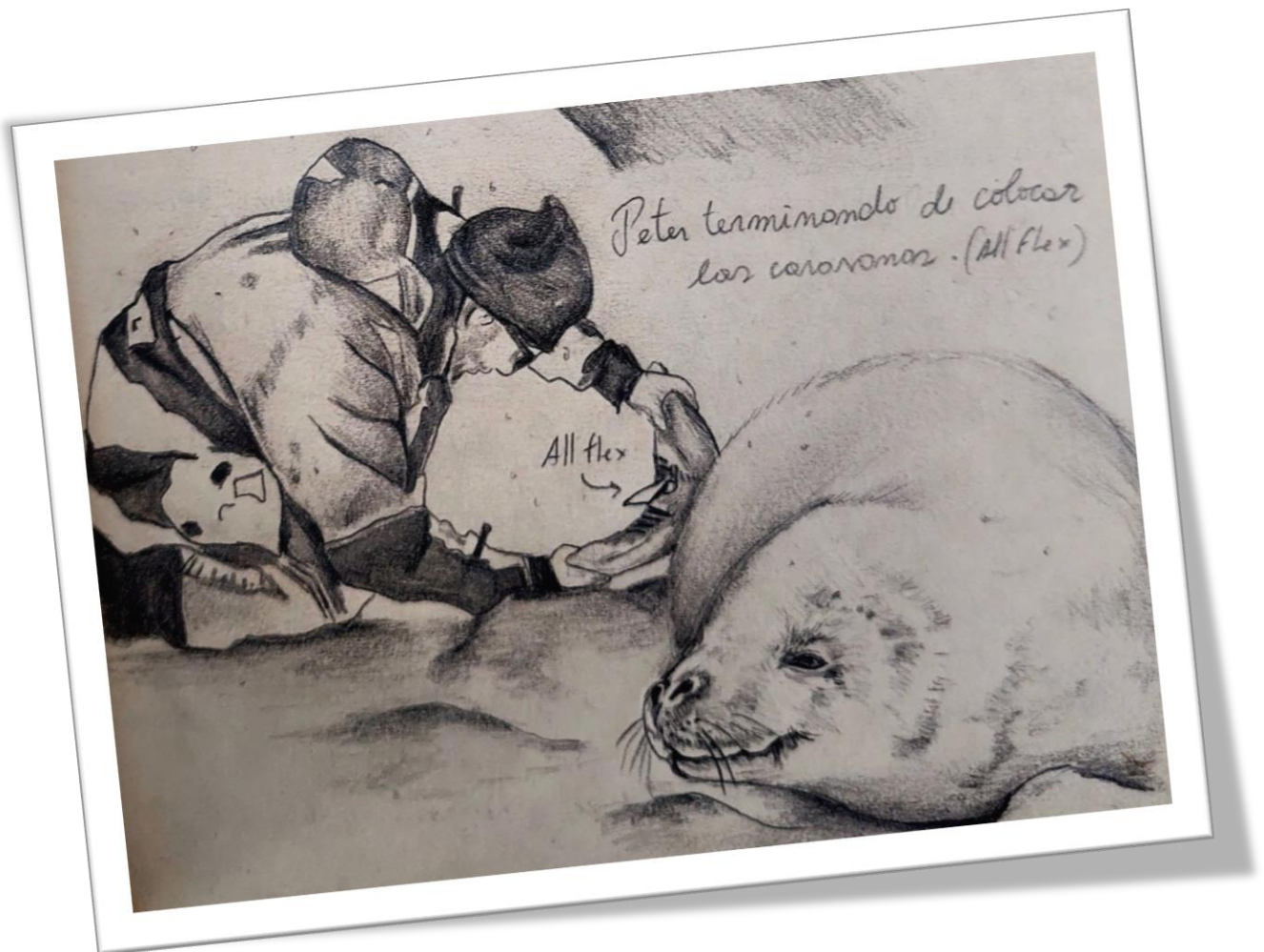
Capítulo I.....	1
Introducción general	1
Estructura de la Tesis	2
La Antártida como sitio de estudio	2
Pinnípedos y piojos	6
El sistema en estudio	10
Objetivo general	13
Objetivos específicos.....	13
Predicciones e hipótesis	13
Metodología general.....	14
Capítulo II.....	18
Juntos somos más felices: el comportamiento de las focas cangrejeras juveniles favorece la transmisión de los piojos	18
Introducción	19
Materiales y métodos	20
Resultados	20
Discusión.....	24
Capítulo III.....	28
¿Los juveniles son más piojosos? asociación entre focas de Weddell y sus piojos en la Península Antártica	28
Introducción	29

Materiales y métodos	31
Resultados	31
Discusión.....	34
Capítulo IV.....	37
El comportamiento del leopardo marino limita la transmisión de los piojos de <i>Antarctophthirus ogmorhini</i>	37
Introducción	38
Materiales y métodos	40
Resultados	40
Discusión.....	44
Capítulo V	48
Estrategias de supervivencia de los piojos del género <i>Antarctophthirus</i> según el comportamiento de sus hospedadores.....	48
Introducción	49
Materiales y métodos	50
Resultados	51
Discusión.....	54
Capítulo VI.....	57
Evaluación de la condición corporal de tres especies de focas: ¿existe relación entre los conteos leucocitarios y los parámetros de infestación?.....	57
Introducción	59
Materiales y métodos	61

Resultados	62
Discusión.....	65
Capítulo VII	69
Consideraciones finales: principales conclusiones, nuevos interrogantes y propuestas a futuro	69
Referencias bibliográficas	73
Anexo 1	85

Capítulo I

Introducción general



Estructura de la Tesis

A continuación, se enumeran los temas abordados en cada uno de los siete capítulos:

Capítulo I: Introducción general y marco teórico sobre este trabajo.

Capítulo II: Asociación entre focas cangrejas (*Lobodon carcinophaga*) y sus piojos, *Antarctophthirus lobodontis*.

Capítulo III: Asociación entre focas de Weddell (*Leptonychotes weddelli*) y sus piojos, *Antarctophthirus carlinii*.

Capítulo IV: Asociación entre focas leopardo (*Hydrurga leptonyx*) y sus piojos, *Antarctophthirus ogmorhini*.

Capítulo V: Estructura poblacional de los piojos *A. lobodontis* y *A. carlinii*, así como de las estrategias reproductivas de estos piojos.

Capítulo VI: Condición corporal de las focas y su relación con los parámetros de infestación.

Capítulo VII: Conclusiones principales de la tesis y nuevos interrogantes que serán abordados en futuros estudios.

La Antártida como sitio de estudio

La presencia humana en el continente Antártico es un acontecimiento relativamente reciente. Desde 1904 Argentina ejerce soberanía en el continente blanco, mostrando su presencia permanente e ininterrumpida, que comenzó ocupando un observatorio meteorológico, actualmente conocido como Base Orcadas. Esta última es una de las 13 bases argentinas en la Península Antártica (PA), algunas son permanentes y otras temporales. Todos los trabajos de investigación desarrollados por Argentina en Antártida son dirigidos y coordinados por el Instituto Antártico Argentino (IAA) que fue creado en 1951, y representa la primera institución mundial dedicada exclusivamente a estudios

científicos antárticos (<https://www.cancilleria.gob.ar/es/iniciativas/dna/instituto-antartico-argentino>).

El primer paso para trabajar en Antártida fue la creación del Tratado Antártico firmado en Washington el 1° de diciembre de 1959 por 12 países, entre ellos Argentina. En el mismo se establece como norma principal que se considera al continente Antártico como un territorio consagrado a la paz y a la ciencia, en el cual sólo se pueden realizar actividades científicas en colaboración con el ejército. Los lineamientos principales de la Política Nacional Antártica están definidos por el Decreto 2316/90 y su objetivo principal es el afianzamiento de los derechos argentinos de soberanía en la región. Para lo cual se han establecido diversos convenios que apuntan a promover la protección del medio ambiente antártico y sus ecosistemas dependientes y asociados.

Entre las medidas de protección medioambiental planteadas e inherentes a este trabajo se encuentra la Convención para la Conservación de las Focas Antárticas (CCFA o CCAS), firmado en 1972 con el fin de establecer el protocolo de trabajo con focas antárticas. En el mismo se acuerda que *“las focas no serán sacrificadas o capturadas dentro del área de la convención excepto conformidad con las disposiciones de dicha convención”*. En la actualidad solo se trabaja mediante sedación temporal no existiendo capturas o sacrificios de ninguna foca.

En 1991, se firma en Madrid el Protocolo al Tratado Antártico sobre Protección del Medioambiente. En este último se establecen los criterios para la evaluación del impacto sobre el medioambiente, la conservación de flora y fauna antárticas, el tratamiento y eliminación de residuos, la prevención de la contaminación marina, la protección y gestión de zonas protegidas y la responsabilidad ante emergencias ambientales. Las tareas desarrolladas durante nuestras campañas cumplen con el Protocolo de Madrid y se realizaron con los permisos necesarios para ingresar a la Zona Antártica Especialmente

Protegida N°134 (ZAEP N°134), Punta Cierva e Islas offshore, Costa de Danco (Fig.1.1), Península Antártica, otorgados por la Dirección Nacional del Antártico.

La PA es una de las regiones del mundo más afectadas por el cambio climático (IPCC 2022, Siegert et al., 2019), dado que allí el calentamiento global ha sido uno de los más rápidos y mayores del planeta (Barbosa et al., 2013; Coetzee & Chown, 2016; Ducklow et al., 2013; Stammerjohn et al., 2008; Steig et al., 2009; Turner et al., 2021; Vaughan et al., 2003). Registrándose importantes aumentos de la temperatura atmosférica y oceánica (Ferster et al., 2019). Estos cambios afectan la disponibilidad de hielo marino y, en consecuencia, alteran también la disponibilidad del fitoplancton, que sirve como alimento al krill antártico (Atkinson et al., 2004).

Por su parte, las perturbaciones antrópicas han tenido influencias ambientales sobre la fauna, como la escasez de recursos tróficos y cambios en la aparición y distribución de parásitos y patógenos (Cimino et al., 2013; Flores et al., 2012; Grimaldi et al., 2015; Harvell et al., 2002; Jones et al., 2008; Trivelpiece et al., 2011). Estos cambios generan además un claro impacto en el medio, en cuanto al aumento de los niveles del mar y la disminución de la cubierta de hielo marino (Learmonth et al., 2006).

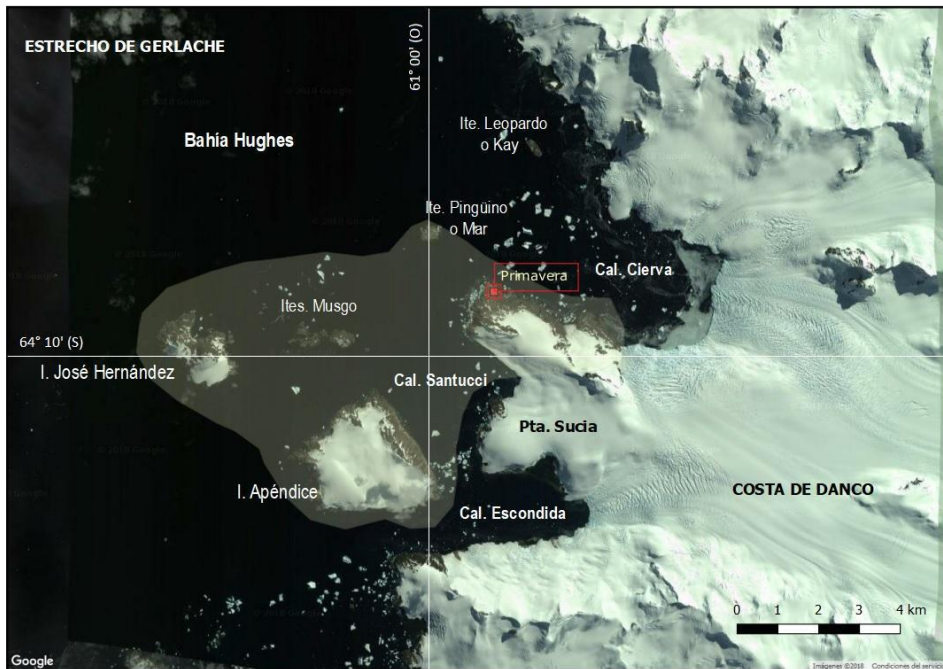
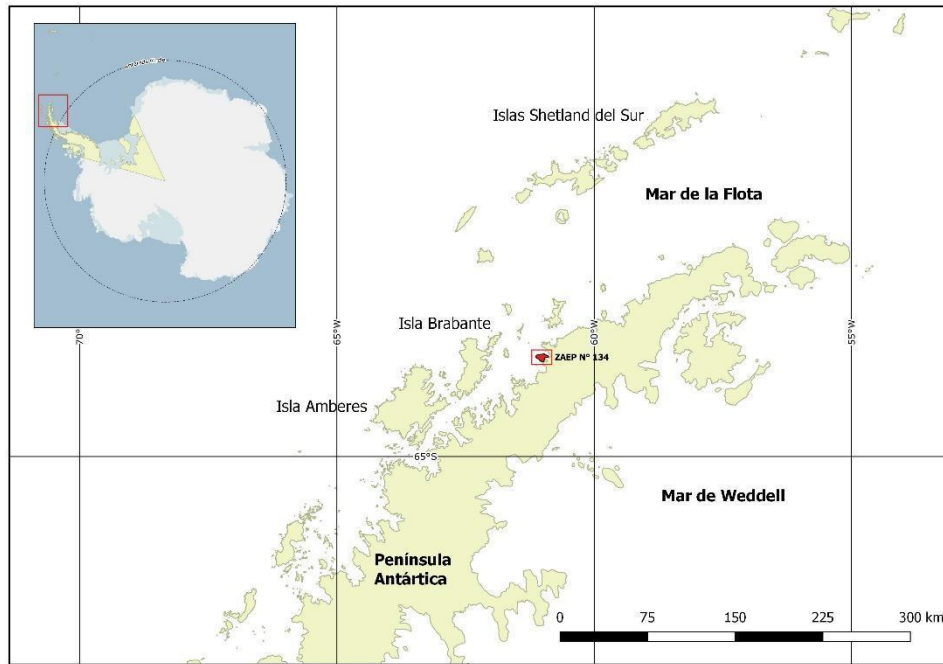


Fig. 1.1 Arriba: Continente Antártico y detalle de la ubicación de Zona Antártica Especialmente Protegida N°134 (ZAEP N°134), Costa de Danco, Península Antártica. Abajo: Detalle de las Caletas e Islas offshore y de Punta Cierva, donde se encuentra la Base Primavera.

Pinnípedos y piojos

La megafauna antártica, i.e. cetáceos y pinnípedos, está compuesta principalmente por especies longevas y con una reproducción lenta, lo cual las hace vulnerables al cambio climático (Siniff et al., 2008). Entre los pinnípedos antárticos son cuatro las especies que están íntimamente asociadas a los bandejones de hielo y se las conoce como “*pack-ice seals*”: la foca cangrejera *Lobodon carcinophaga*, la foca de Weddell *Leptonychotes weddelli* la foca leopardo *Hydrurga leptonyx* y la foca de Ross *Ommatophoca rossi*.

Durante las últimas décadas, se ha observado un notable y acelerado aumento de la temperatura en la región de la PA, lo cual ha tenido consecuencias significativas. Esta situación ha llevado a la pérdida masiva de plataformas de hielo y al retroceso de los glaciares (Sahade et al., 2015). Estas focas dependen del hielo marino a lo largo de todo su ciclo de vida, por lo cual resultan particularmente sensibles al cambio climático (Siniff et al., 2008). Dado que, al ser predadores topos, son el último eslabón de la cadena trófica antártica, resultan ser adecuados indicadores del estado del ecosistema (Cappozzo et al., 2013). Aunque es esperable que estos cambios afecten de diferente manera a cada especie de foca en concordancia con su historia de vida (Siniff et al., 2008).

En lo que respecta a su parasitofauna los pinnípedos son infestados por diversas especies de parásitos, tanto endoparásitos como ectoparásitos, entre ellos los piojos del orden Phthiraptera. Estos últimos son los únicos insectos parásitos obligados y permanentes a lo largo de todo su ciclo de vida, viviendo como ectoparásitos en la superficie de los hospedadores (Bush et al., 2001; Kim, 1985). La familia Echinophthiriidae (Suborden Anoplura) incluye a las especies de piojos que infestan a los pinnípedos y a la nutria de río del Norte (*Lontra canadensis*) (Durdin & Musser, 1994). Entre los piojos de esta familia, los del género *Antarctophthirus* parasitan específicamente a lobos marinos comunes, lobos de dos pelos del norte, morsas, y focas antárticas (ver

recuadro 1.1, Leonardi & Palma, 2013). Los equinoftridos son peculiares entre los anopluros, debido a sus adaptaciones morfológicas, fisiológicas, comportamentales y ecológicas a la vida anfibia de sus hospedadores (Kim, 1971; Mehlhorn et al., 2002; Murray, 1976), siendo uno de los pocos insectos capaces de adaptarse al medio marino (Leidenberger et al., 2007). El ciclo de vida de los piojos comprende los estadios de: huevo, ninfa (tres estadios) y adulto (macho o hembra), dura aproximadamente 17 a 28 días (Fig. 1.2), aunque en climas más cálidos son ciclos más cortos (Kim, 1975; Murray et al., 1965; Murray & Nicholls, 1965).

Recuadro 1.1- Clasificación sistemática de los piojos del género *Antarctophthirus* y sus hospedadores pinnípedos.

Clase: Insecta

Orden: Phthiraptera

Suborden: Anoplura

Familia: Echinophthiriidae

Géneros*:

Antarctophthirus

A. callorhini (*Otaria flavescens*-lobo fino del norte)

A. lobodontis (*Lobodon carcinophaga*-foca cangrejera)

A. mawsoni (*Ommatophoca rossi*-foca de Ross)

A. microchir (*Phocarctos hookeri*-lobo marino de Nueva Zelanda; *Neophoca cinérea*-lobo marino de Australia; *Eumetopias jubatus*-lobo marino de Steller; *Zalophus californianus*-lobo marino de California; *Otaria flavescens*-lobo marino común o de un pelo; *Arctocephalus spp*-lobos s finos o de dos pelos; *Callorhinus ursinus*-lobo fino del norte)

A. ogmorhini (*Leptonychotes weddelli*-foca de Weddell)

A. trichechi (*Odobenus rosmarus*-morsa)

* Entre paréntesis figura el o los hospedadores

La transmisión vertical parece ser la principal vía de contagio en los equinoftíridos (Murray et al. 1965; Leonardi et al. 2013; Soto et al. 2022). La transmisión vertical implica el movimiento de los piojos de la madre a su descendencia, mientras que la transmisión horizontal ocurre entre hermanos o durante el apareamiento (de Brooke 2010). Las etapas de desarrollo y el sexo de los piojos que se transmiten dependen de la situación de compromiso (del inglés *trade-off*) que experimenta cada etapa que, a su vez, están vinculadas a la biología y el comportamiento del hospedador.

Uno de los mayores desafíos que deben afrontar estos parásitos es completar su ciclo de vida y optimizar el número de generaciones en un periodo de tiempo corto, que ocurre principalmente durante la época de muda o reproducción de sus hospedadores. Estas características son la evidencia de un largo proceso evolutivo que comenzó cuando los antepasados de los pinnípedos ingresaron en el océano (Kim, 1975). Resultando así en un estrecho mecanismo de coevolución y coadaptación entre piojos y focas.

Particularmente entre las características morfológicas más importantes de los piojos anopluros de ésta familia se destacan la presencia de escamas, espiráculos con un sistema exclusivo de cierre y cutícula o exoesqueleto de espesor reducido lo que permitiría el intercambio gaseoso (Kim, 1985; Leonardi et al., 2021; Mehlhorn et al., 2002). Las escamas están ausentes en las ninfas 1 (N1) (Kim, 1975; Leonardi et al., 2012) y aumentan de densidad y tamaño durante el desarrollo de las ninfas (N2 y N3) (Kim, 1971; Leonardi et al., 2012; Mehlhorn et al., 2002; Murray, 1976). La función de las escamas estaría asociada con la supervivencia bajo el agua (Aznar et al., 2009; Kim, 1975; Leonardi et al., 2013). Según Murray (Murray, 1976) las escamas servirían para proteger

la cutícula de daños mecánicos y contra la desecación, mientras que para Hinton (Hinton, 1976) actuarían como un plastrón que retiene el aire y permite la respiración bajo el agua. No obstante, aún no existe evidencia suficiente que determine la función específica de las escamas (Leonardi et al., 2021).

La interacción parásito-hospedador resulta un modelo biológico ideal al momento de estudiar los diversos procesos ecológicos (de Meeûs et al., 1998). Es por eso que, en este contexto, se pretende realizar un análisis ecológico de los piojos parásitos de fócidos para, a largo plazo, evaluar su rol como indicadores del estrés ambiental y de la historia de vida de sus hospedadores (Lafferty, 1997; Lafferty et al., 2008; Marcogliese & Cone, 1997).

Los parásitos son buenos indicadores del estrés ambiental, de la estructura de las redes tróficas y de la biodiversidad (Lafferty 1997, Lafferty et al. 2008). A su vez, el estudio comparativo de especies filogenéticamente relacionadas, parasitando diferentes taxa de hospedadores, permite determinar los factores que modelan las especializaciones ecológicas, los mecanismos de especiación y la diversificación (de Meeûs et al., 1998).

Además, por el hecho de ser ectoparásitos obligados y permanentes, con una alta especificidad por su hospedador y relativamente fáciles de coleccionar, los piojos son el modelo ideal para inferir la historia poblacional de sus hospedadores, dado que su historia de vida y evolutiva se encuentran íntimamente asociadas a la de su hospedador (Whiteman & Parker, 2005).

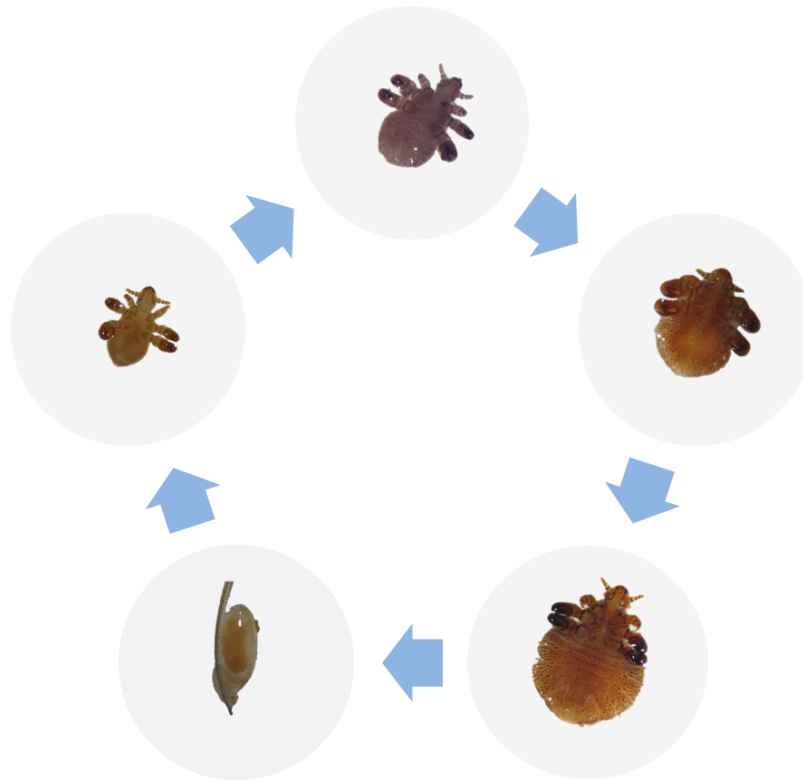


Fig. 1.2 Ciclo de vida de un piojo de la familia Echinophthiriidae, que comienza con huevo que hacia la derecha eclosiona a ninfa 1, ésta crece desarrollando espinas y escamas para dar una ninfa 2 que crece a ninfa 3 desarrollando escamas y espinas más densas, para dar finalmente el adulto, en este caso una hembra.

El sistema en estudio

1-Hospedador-Parásito: *Lobodon carcinophaga* - *Antarctophthirus lobodontis*

Las focas cangrejeras suelen dispersarse por una vasta área antártica, ocupando uno de los hábitats más remotos y son, en consecuencia, difíciles de estudiar (Laws et al., 2003). En lo que refiere a la dieta, son depredadores especialistas, consumen casi exclusivamente krill, *Euphausia superba* (Adam, 2005; Siniff et al., 2008). La reproducción ocurre entre los meses de octubre y diciembre, registrándose el máximo de nacimientos a mediados de octubre (Southwell et al., 2003; Southwell, 2004). Se caracterizan por formar grupos familiares constituidos por un macho, una hembra y un cachorro (Bengston, 2009). Después de parir, la hembra amamanta al cachorro de 2 a 3 semanas. Luego del destete,

el macho y la hembra permanecen juntos por 1 o 2 semanas más (Bengston, 2009; Shaughnessy & Kerry, 1989). El estro, la ovulación y la concepción se producen aproximadamente 4 días después del destete (Laws et al., 2003). Finalizada la temporada reproductiva, es común ver estas focas congregadas en decenas de animales sobre los bandejones de hielo, comportamiento que estaría asociado a las migraciones y/o al forrajeo (Bengston, 2009). En cuanto a la ectoparasitología, están asociadas con el piojo anopluro *Antarctophthirus lobodontis*, exclusivo de esta especie de focas (Dailey & Brownell, 1972). Se han registrado altas prevalencias e intensidades de *A. lobodontis* en eventos de mortalidad masiva de focas (Harder et al., 1991).

2-Hospedador-Parásito: *Leptonychotes weddelli*- *Antarctophthirus carlinii*

Las focas de Weddell también están ampliamente distribuidas en el continente antártico (Hückstädt, 2014). Es la única especie de pinnípedo que habita en el hielo marino durante todo el año (Burns & Kooyman, 2001). Dado que tienen la capacidad de generar orificios en el mar congelado, pueden ocupar los sectores más inhóspitos del hielo marino, es decir, aquellos que se unen a la costa (Thomas & Terhune, 2009). La reproducción de las focas ocurre durante la primavera, ocurriendo los nacimientos desde fines de septiembre hasta principios de noviembre. En general, los partos ocurren en grupos de hasta 50 hembras con sus respectivas crías. El período de amamantamiento es de 7 a 8 semanas y durante éste la hembra no se alimenta. Luego del destete, se produce la cópula, y madre y cría parten en viaje de alimentación tan pronto el campo de hielo comienza a derretirse (Thomas & Terhune, 2009). Esta especie está infectada con *Antarctophthirus carlinii*, la especie de la que se cuenta con mayor información (Leonardi et al., 2014). Estudios previos observaron que sólo las crías pasan suficiente tiempo en tierra (aproximadamente cuarenta días) para que se reproduzcan sus piojos; con un tiempo generacional de 3 a 4 semanas, *A. carlinii* produciría dos generaciones anuales. Las infestaciones se propagan

únicamente de las hembras a sus crías por la transferencia de piojos adultos, y son frecuentes y abundantes en crías de 1 año de edad y en focas inmaduras (Murray et al., 1965). Los piojos usualmente se limitan a las aletas posteriores y delanteras, aunque los orificios anales y peneanos de los machos también pueden estar infestados, y ocasionalmente las axilas de las aletas delanteras. La adaptación fisiológica principal de *A. carlini* para la supervivencia es la habilidad para volverse activa y reproducirse entre 5 y -15°C. Los huevos pueden desarrollarse y eclosionar a temperaturas constantes tan bajas que oscilan entre 0 y -4°C (Murray et al., 1965).

3-Hospedador-Parásito: *Hydrurga leptonyx*- *Antarctophthirus ogmorhini*

La foca leopardo es una especie de hábitos solitarios, íntimamente asociada al hielo marino (Southwell et al., 2003). Las hembras son de mayor tamaño que los machos y la especie es considerada una importante depredadora del ecosistema antártico, dado que su dieta puede incluir krill, peces, aves, e incluso crías de otras focas (Rogers, 2009; Southwell et al., 2012). Debido a que no tiene que volver a los bandejones de hielo para reproducirse, puede evitar la falta de alimentos durante el invierno dispersándose hacia el norte (van der Linde et al., 2022). De acuerdo a la escasa información disponible, los nacimientos ocurrirían desde finales de octubre hasta mediados de noviembre y la lactancia se prolongaría por cuatro semanas (Southwell et al., 2003). La cópula ocurre bajo el agua luego del destete, el cual se cree tendría una duración de alrededor de 4 semanas. Durante la temporada reproductiva, madre y cría permanecen sobre los témpanos en forma solitaria (Rogers, 2009). Esta especie está parasitada por *Antarctophthirus ogmorhini* (Enderlein, 1906); es poco lo que se conoce sobre su biología y comportamiento.

Objetivo general

Estudiar la ecología parasitaria de tres especies de piojos (Anoplura: Echinophthiriidae), presentes en focas (Carnivora: Phocidae) asociadas a bandejones de hielo en la Península Antártica. El sistema de estudio propuesto está formado por tres especies de focas: foca cangrejera; foca de Weddell; foca leopardo y sus respectivos piojos: *Antarctophthirus lobodontis*; *Antarctophthirus carlinii*; *Antarctophthirus ogmorhini*.

Objetivos específicos

- 1- Determinar los parámetros de infestación, i.e., abundancia, prevalencia e intensidad media, de cada una de las especies de piojos en sus respectivos hospedadores.
- 2- Analizar las posibles variaciones interanuales, comparando los parámetros de infestación y la estructura poblacional de cada una de las especies de piojos.
- 3- Modelar los factores ambientales asociados al hospedador (clase de edad, sexo, variación anual) que determinarían los parámetros de infestación en las focas.
- 4- Evaluar la relación entre la condición corporal del hospedador y los parámetros de infestación.

Predicciones e hipótesis

1- Hipótesis sobre la dinámica poblacional de cada especie de piojo: los parámetros de abundancia, prevalencia e intensidad media son más altos cuanto mayor es el grado de sociabilidad de sus hospedadores ya que a mayor sociabilidad del hospedador, mayor será la infestación por piojos por contacto entre las focas.

Predicción 1: los parámetros de infestación serán mayores en las especies de focas de hábitos sociales, tales como la foca cangrejera y en cierta medida la de Weddell, y menores en la foca leopardo.

2- Hipótesis sobre el ciclo reproductivo: el proceso de reproducción se ve limitado por el corto tiempo que pasan los hospedadores en tierra, por lo que optimizarían el número de generaciones en este periodo.

Predicción 2: se espera encontrar una proporción de sexos distinta de 1:1, con una mayor puesta de hembras, que incrementaría el éxito reproductivo en cada especie parásita.

3- Hipótesis sobre la condición corporal: existe una correlación negativa entre la condición corporal del hospedador y los valores de los parámetros de infección; los hospedadores con mayor prevalencia e intensidad serán los que presenten una condición corporal desfavorable ya que una mayor cantidad de piojos alimentándose de su hospedador conllevaría un gasto energético.

Predicción 3: La menor condición corporal de focas con mayores valores en los parámetros de infestación se verá reflejado en valores bajos de glóbulos rojos y hemoglobina.

Metodología general

Se realizaron 5 campañas antárticas de verano, los años 2014, 2015, 2016, 2019 y 2020. La técnica de muestreo consistió en recorrer diariamente las principales caletas (Cierva, Santuchi y Escondida) en busca de focas sobre bandejones de hielo o bien en las costas libres de hielo. Para la obtención de muestras se procedió a la inmovilización de los animales con una dosis de entre 0,8 y 1mg/kg de Clorhidrato de Tiletamina y Clorhidrato de Zolazepam conocido comercialmente como Zoletil® (Wheatley et al., 2006). Cuando el animal se encontraba sedado, se recolectaron los ectoparásitos con un peine plástico de dientes finos. Las focas se peinaron hasta que no se colectaron más piojos y, una vez finalizado el procedimiento, se guardaron los peines utilizados en bolsas tipo Ziploc® con etanol 96% para conservar los ejemplares hasta su análisis en el laboratorio (Leonardi, 2014).

Adicionalmente en todos los casos se registró la especie de hospedador, el sexo y se determinó la clase de edad. Las focas se midieron y pesaron y se les tomó una muestra de 20 ml de sangre (Fig.1.3). Si bien se tomaron medidas morfométricas y de peso no fue posible utilizar esos datos para esta Tesis.



Fig. 1.3 Resumen de la metodología: figura central que muestra el pesaje de las focas, utilizando trípode, camilla y balanza digital. A la derecha toma de muestra de sangre. A la izquierda recolección de piojos de las aletas traseras con peine de piojos plástico.

Para la determinación de los parámetros de infestación se siguieron las definiciones propuestas por Bush y colaboradores (Bush et al., 1997):

Prevalencia

Dada la definición de prevalencia como la proporción de hospedadores infestados en la población (Bush et al., 1997), este parámetro se modeló como la probabilidad de que un hospedador presente piojos. Siguiendo esta lógica, la prevalencia es el parámetro de éxito para cada ensayo individual siguiendo una distribución de Bernoulli como:

$$y_i \sim \text{Bernoulli}(p)$$

donde y_i es una variable aleatoria que toma valores de 1 si el i -ésimo individuo está infestado o 0 si el individuo no está infestado y p es el parámetro de éxito (es decir, la prevalencia). Investigamos el efecto del sexo y la clase de edad del hospedador y la variación anual. El efecto de la variación anual se incluyó en el modelo como variación de la prevalencia a lo largo de los años en que se realizó el estudio. Por lo tanto, la prevalencia se modeló utilizando modelos con una transformación de función de enlace logit:

$$\ln \frac{p}{1-p} = \beta X$$

donde p es la prevalencia, X es la matriz de diseño del modelo lineal y β es un vector de parámetros a estimar.

Abundancia media

La abundancia media es el número medio de parásitos por hospedador, considerando hospedadores infestados y no infestados (Bush et al., 1997). Por lo tanto, para modelar datos individuales, una distribución de Poisson es generalmente la primera y más simple opción. Sin embargo, debido a la sobredispersión de los datos, se decidió utilizar la distribución binomial negativa para los modelos estimando los principales efectos sobre la abundancia media (Lindén & Mäntyniemi, 2011). También se investigó el efecto del sexo y la clase de edad del hospedador, así como la variación anual de la abundancia media utilizando modelos lineales generalizados a partir de una transformación de función de enlace logarítmico:

$$\ln \lambda = \alpha X$$

donde λ es la abundancia media, X es el diseño del modelo lineal matriz, y α es un vector de parámetros a estimar.

Intensidad media

Dada la definición de intensidad media como el número medio de parásitos por hospedador, considerando sólo los infestados en la población y siendo que la abundancia media es equivalente a la intensidad media multiplicada por la prevalencia (Bush et al., 1997), para la construcción de los modelos se trabajó con abundancia media y prevalencia.

Estimación de parámetros y selección de modelos

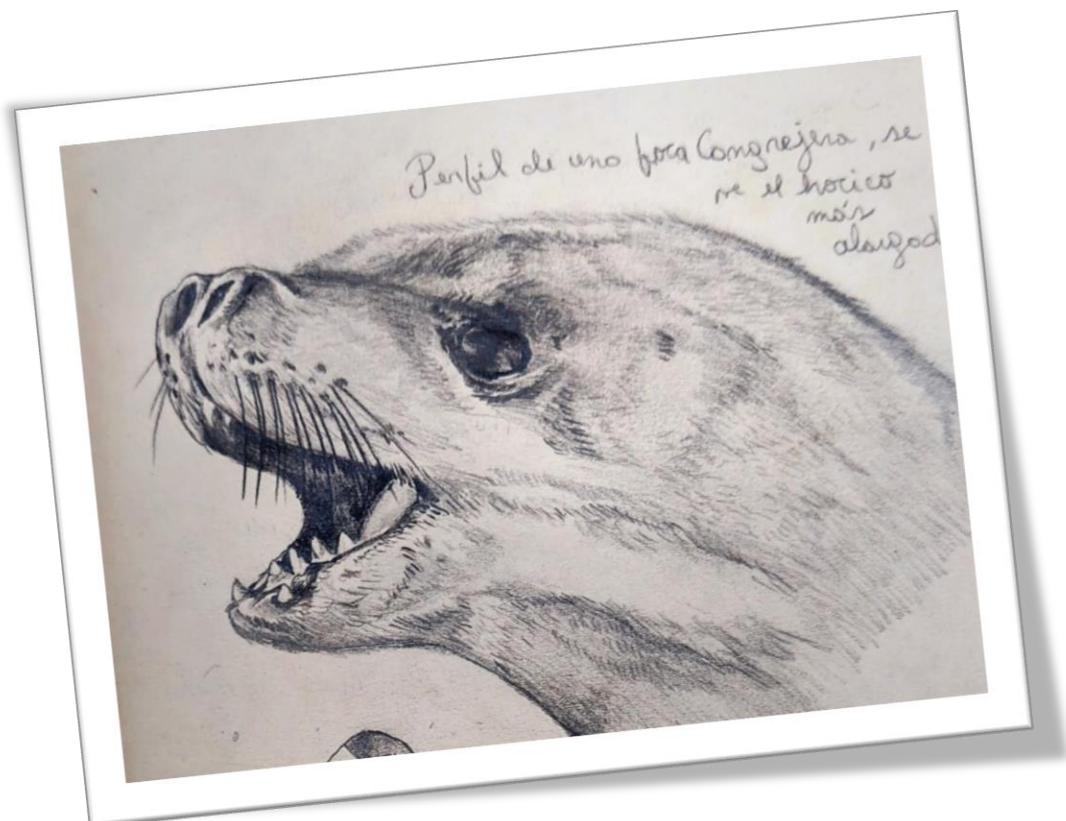
A partir de una combinación del efecto de los factores, se puso a prueba un conjunto de modelos en competencia para estudiar el efecto del sexo, la clase de edad (juvenil o adulto) y la variación anual (años 2014, 2015, 2016, 2019 y 2020) de la prevalencia y abundancia media, respectivamente. La estimación de parámetros se basó en el método de máxima verosimilitud y el procedimiento de selección del modelo se basó en el Criterio de Información de Akaike usando la corrección por muestra pequeña (AICc) (Akaike, 1985; Hurvich & Tsai, 1989). Todos los análisis se realizaron utilizando el software de código abierto R versión 3.6.1 (R. Core Team, 2020). El modelo mejor soportado por los datos fue elegido siguiendo a Burnham y Anderson (Burnham & Anderson, 2002). Estos autores argumentan que un método crítico de selección exige comparar modelos que a priori puedan ser plausibles. En este trabajo se adopta esta filosofía, limitando el número máximo de parámetros de cualquier modelo de acuerdo con el tamaño muestral disponible y eligiendo los predictores biológicamente justificados. Los modelos se realizaron con los piojos colectados en focas cangrejera y de Weddell, ya que para la foca leopardo los parámetros de infestación (prevalencia y abundancia) fueron muy bajos.

Capítulo II

Juntos somos más felices: el comportamiento de las focas cangrejeras juveniles favorece la transmisión de los piojos

Los contenidos parciales del presente capítulo han sido publicados en:

Soto FA, Klaich MJ, Negrete J y Leonardi MS. So happy together: juvenile crabeater seal behavior improves lice transmission. *Parasitology Research*, 119(7), 2059-2065. 2020. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06704-5>



Introducción

Los piojos de la familia Echinophthiriidae son de los pocos insectos que han colonizado con éxito el medio marino y dado que los huevos no sobreviven bajo el agua (Leonardi, 2014; Murray et al., 1965; Murray, 1987; Murray & Nicholls, 1965), sólo pueden reproducirse cuando su hospedador permanece en el bandejón de hielo el tiempo suficiente. Por lo tanto, los eventos de reproducción están restringidos por la duración de los períodos en tierra de sus hospedadores (Aznar et al., 2009), lo que da como resultado la reproducción sincrónica del parásito y su hospedador. En este sentido, estudiar diferentes sistemas foca-piojo permite comprender cómo la historia evolutiva de la asociación ha ido moldeando el ciclo de vida de cada especie.

Diferentes autores concluyeron que el ciclo de vida de los equinofthíridos se ajusta precisamente al de sus hospedadores, por lo que la reproducción y posiblemente la transmisión de piojos sólo podría ocurrir cuando los hospedadores están en tierra (Aznar et al., 2009; Kim, 1971, 1972, 1975; Murray et al., 1965; Murray & Nicholls, 1965). En este capítulo analizamos la asociación entre *Antarctophthirus lobodontis* y la foca cangrejera, *Lobodon carcinophaga*. La historia de vida de foca cangrejera fue descrita en la introducción de esta Tesis. El objetivo en este capítulo es estudiar los efectos del sexo y la clase de edad del hospedador, como así también la variación anual de la prevalencia y abundancia media de *A. lobodontis* en focas cangrejas en la costa de Danco, Península Antártica. En base a las hipótesis generales planteadas en el primer capítulo sobre la dinámica poblacional de cada especie de piojo, se plantearon tres hipótesis no exclusivas relacionadas con la interacción hospedador-parásito que podrían explicar los parámetros de infestación. Nuestra primera hipótesis se basa en que la transmisión de piojos ocurre principalmente de hembras adultas a crías durante la lactancia, y las crías se infestan pocas horas después del nacimiento. Por tanto, las

hembras actúan como reservorio de la especie y estarán más infestadas que los machos. En segundo lugar, postulamos que los juveniles están más infestados que los adultos. Debido a que los juveniles pasan más tiempo en tierra, los piojos tienen más tiempo para reproducirse y más posibilidades de sobrevivir. En tercer lugar, las focas cangrejas son particularmente sensibles a la abundancia de zooplancton y la disponibilidad de hielo, lo que condiciona su ciclo de vida. En este sentido, si el krill es más abundante, las focas gastan menos tiempo buscando comida en el mar, favoreciendo tanto la transmisión de piojos como su reproducción.

Materiales y métodos

El área de estudio y metodología empleada es la misma para las tres especies bajo estudio y fue descrita en el primer capítulo. Así como también se mencionó lo referido al análisis de datos y modelado de los parámetros de infestación.

Resultados

Se muestrearon 54 focas cangrejas, los parámetros de infestación de *A. lobodontis* encontrados en focas cangrejas en la Costa Danco se muestran en la Tabla 2.1. La intensidad media de la especie fue de 83,5, sin embargo, considerando que sólo un individuo albergaba 2317 piojos, este resultado está sobrevalorado. De hecho, el cálculo de la IM sin tener en cuenta a este único individuo, se reduce prácticamente a la mitad (IM= 38,8).



Fig. 2.1 Grupo de juveniles de foca cangrejera descansando sobre un bandejón de hielo, durante el verano austral en la Costa Danco, Península Antártica.

Prevalencia

La selección del modelo basado en AICc indicó un modelo con la clase de edad y el año de muestreo como las variables que afectan los niveles de prevalencia de *A. lobodontis* en *Lobodon carcinophaga*, según nuestros datos (Tabla 2.2). La media de prevalencia estimada para juveniles y adultos fue 88,5% y 14,3%, respectivamente. El intervalo de confianza del 95% muestra una alta variación para la clase de edad. Para los juveniles [7,6 - 100,7] mientras que para los adultos arrojó una menor variación [1,3 - 27,2]. Respecto al efecto de la variación anual, el último año la prevalencia fue del 100% pero esto se debe a que ese año por complicaciones logísticas sólo se muestrearon 3 focas juveniles (2 machos y 1 hembra) que resultaron infestadas y eso podría estar sobrestimando el efecto. Sin embargo, al eliminar los 3 individuos muestreados en 2020 el resultado es el mismo, siendo el modelo que evalúa clase de edad y el año de muestreo el que sigue teniendo efecto sobre los niveles de prevalencia.

Abundancia media

El modelo seleccionado incluyó la clase de edad como la única variable que afecta la abundancia media (Tabla 2.2). Si bien el valor de AICc más bajo es el del modelo que tiene a la clase de edad y el sexo como factores, este modelo no fue seleccionado dado que presenta errores estándar iguales y muy grandes. Basado en el modelo seleccionado, la abundancia media estimada (Figura 2.2) para los juveniles (171,32) fue superior a la estimada para adultos (1,11). El intervalo de confianza del 95% mostró una alta variación para la abundancia media estimada para los juveniles [42,64 – 300,03] mientras que para los adultos arrojó una variación menor [17,45 – 25,66].

Tabla 2.1. Parámetros de infestación de *Antarctophthirus lobodontis* según sexo y clase de edad del hospedador, *Lobodon carcinophaga*, y según año de muestreo en la Costa Danco, Península Antártica.

	Sexo		Clase de edad		Año de muestreo				
	Hembra (n=28)	Macho (n=24)	Adultos (n=28)	Juveniles (n=26)	2014 (n=10)	2015 (n=21)	2016 (n=10)	2019 (n=10)	2020 (n=3)
Prevalencia (%)	53,6 (33,8- 72,5)	45,8 (25,5- 67,2)	14,3 (4,0- 32,7)	88,5 (69,8- 97,6)	40,0 (15,0- 70,9)	33,3 (14,6- 56,9)	50,0 (22,2- 77,7)	80,0 (44,4- 97,5)	100,0 (29,2- 100)
Abundancia media	129,8 (34,4- 434,9)	28,29 (9,9- 85,0)	1,1 (0,1- 4,6)	168,5 (62,1- 556,1)	50,40 (16,6- 120,9)	6,9 (2,7- 14,3)	11,6 (3,1- 27,2)	349,3 (78,8- 110,9)	51,3 (22,0- 68,3)
Intensidad media	242,3 (82,5- 717,6)	61,7 (24,3- 185,8)	7,5 (1,0- 18,2)	190,5 (72,5- 590,5)	126,0 (51,0- 252,0)	20,7 (10,1- 31,0)	23,2 (7,4- 42,4)	436,6 (7,5- 1326,0)	51,3 (22,0- 68,3)

Tabla 2.2 Resultados de la selección del modelo para los modelos propuestos para estudiar los efectos del sexo y clase de edad del hospedador y la variación anual de prevalencia y abundancia media de *Antarctophthirus lobodontis* en focas cangrejeras en la Costa Danco, Península Antártica.

	Efectos del modelo	AICc	N° de parámetros
Prevalencia (Pr)	Pr ~ Variación anual	66,57	2
	Pr ~ Sexo	75,77	2
	Pr ~ Clase de edad	44,99	2
	Pr ~ Clase de edad + Sexo	46,47	3
	Pr ~ Clase de edad * Sexo	42,41	4
	Pr ~ Clase de edad + Variación anual	39,22	3
	Pr ~ Clase de edad * Variación anual	41,06	4
	Pr ~ Variación anual + Sexo	66,94	3
	Pr ~ Variación anual * Sexo	67,96	4
Abundancia media (Am)	Am ~ Variación anual	354,56	3
	Am ~ Sexo	358,76	3
	Am ~ Clase de edad	333,30	3
	Am ~ Clase de edad + Sexo	334,71	4
	Am ~ Clase de edad * Sexo	325,21	5
	Am ~ Clase de edad + Variación anual	332,41	4
	Am ~ Clase de edad * Variación anual	334,89	5
	Am ~ Variación anual + Sexo	353,60	4
	Am ~ Variación anual * Sexo	355,31	5

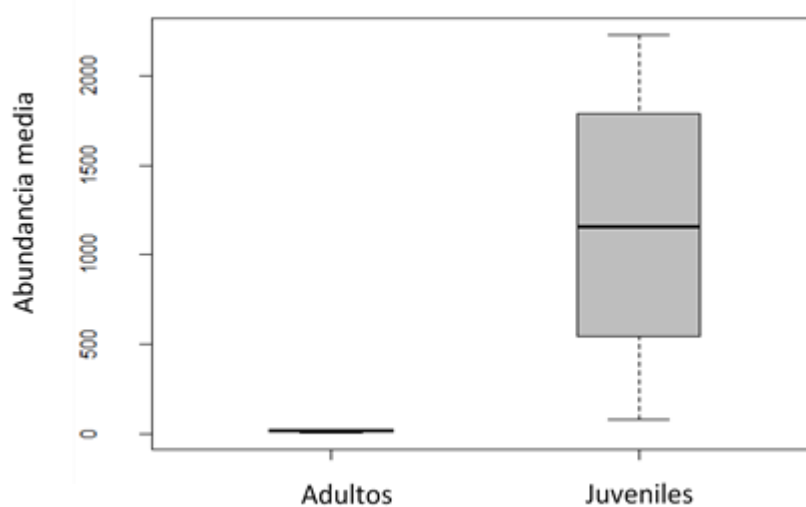


Figura 2.2. Abundancia media de *Antarctophthirus lobodontis* por clase de edad de las focas cangrejeras. Las barras verticales indican 95% intervalos de confianza.

Discusión

A principios de la década de 1960, Murray y colaboradores llevaron a cabo los primeros trabajos sobre piojos de focas antárticas (Murray, 1976; Murray et al., 1965; Murray, 1958, 1987; Murray & Nicholls, 1965). A pesar de ser un aporte excepcional, estos estudios se basaron únicamente en recuentos de piojos en un momento particular. Aquí se presentan los resultados del modelado de los parámetros de infestación de un equinoftrido antártico utilizando réplicas de muestras en condiciones naturales. De esta manera, se demostró que los parámetros de infestación de *Antartophthirus lobodontis* en las focas cangrejeras dependen de la clase de edad de los hospedadores. Como resultado, los juveniles presentan mayor prevalencia y abundancia que los adultos. Además, otro hallazgo interesante es que las hembras adultas analizadas no estuvieron infestadas. En cuanto a las hipótesis puestas a prueba, las hipótesis dos y tres fueron corroboradas, pero no así la primera hipótesis, la cual proponía que la principal vía de transmisión para *A. lobodontis* es de adultos a sus crías (Kim, 1972, 1975; Leonardi et al., 2013).

La transmisión de piojos entre los hospedadores solo es posible cuando las focas están en tierra, es decir, durante el apareamiento, descanso o muda (Kim, 1975; Leidenberger et al., 2007). Por lo tanto, las oportunidades para que los piojos se propaguen dependen de este comportamiento (Kim, 1972, 1975; Murray et al., 1965; Murray & Nicholls, 1965). Estudios preliminares reportaron que la forma principal de transmisión de los piojos equinoftridos ocurre de las madres a las crías durante la lactancia (Aznar et al., 2009; Leonardi et al., 2013; Thompson et al., 1998). En consecuencia, las crías parecen infestarse unas pocas horas después de su nacimiento (Kim, 1972). Sin embargo, para *A. lobodontis*, la vía principal de transmisión parece ser entre juveniles, por lo que la clase de edad tendría un papel crucial en la dispersión de *A. lobodontis*, y los juveniles actuarían como reservorios.

Para comprender las razones por las que la transmisión parece ser horizontal para *A. lobodontis*, es importante analizar la historia de vida del hospedador, especialmente durante la época reproductiva. A pesar de ser el pinnípedo más abundante del mundo, es poco lo que se conoce sobre su comportamiento (Shaughnessy & Kerry, 1989). Durante la temporada reproductiva, las focas forman grupos familiares, sobre el témpano de hielo, compuestos por una hembra, una cría y un macho reproductor (Shaughnessy & Kerry, 1989; Siniff et al., 1979). El tiempo que permanecen juntos es incierto, pero se estima entre 14 a 21 días (Shaughnessy & Kerry, 1989). El período de cría es el más breve conocido entre los pinnípedos (Siniff, 1991). Las crías de foca cangrejera nacen con un lanugo que mudan a las 2 semanas de edad (Bengtson, 2009). La renovación del pelaje coincide con el final del periodo de lactancia. Por lo tanto, es probable que incluso si la madre tuviera piojos, la cría los pierda durante la muda. Por esta razón, la transmisión vertical no sería la principal vía de propagación, aunque se necesitarían otros muestreos para demostrarlo.

La segunda hipótesis, que planteaba que los juveniles están más infestados que los adultos, encontró apoyo en los resultados. Esto concuerda con diferencias reportadas en el comportamiento de buceo y forrajeo entre las diferentes clases de edad. Los juveniles se encuentran típicamente en grandes agregaciones en los bandejones de hielo (Fig. 2.1), mientras que los adultos permanecen en el témpano de hielo durante los periodos de cría y reproducción (Burns et al., 2004; Øritsland, 1970; Shaughnessy & Kerry, 1989; Siniff, 1991; Siniff et al., 1979; Wall et al., 2007). Durante la temporada de verano, es frecuente ver grandes grupos (> 50) de focas cangrejeras juveniles en los bandejones de hielo (Poljak et al., 2017). En este contexto, podríamos esperar un aumento potencial de oportunidades para la transmisión horizontal de *A. lobodontis* a través del contacto estrecho entre individuos. Además, los juveniles permanecen en tierra más tiempo que

los adultos (Adam, 2005), lo que también favorece el desarrollo de los huevos. Sin embargo, como ocurre con la mayoría de los equinoptiridos, el ciclo de vida de *A. lobodontis* sigue siendo desconocido. El desarrollo de más investigaciones y experimentos de campo permitirían elucidar esta cuestión.

Las focas cangrejas son, probablemente, el mayor consumidor de krill en la Antártida (Hewitt & Lipsky, 2002). En este sentido, el aumento de abundancia media de piojos durante el 2014 podría asociarse a un aumento inusual en el número de focas durante ese año (Poljak et al., 2017). Este patrón también se observó en 2019, aunque no se cuenta con información poblacional de los hospedadores, por cual no es posible establecer una relación entre los valores de abundancia y la densidad de focas. Esta especie es particularmente sensible a la abundancia de zooplancton y a la disponibilidad de hielo que condiciona su ciclo de vida (Burns et al., 2004). Durante 2013, la abundancia promedio de krill fue significativamente más abundante en la Península Antártica Occidental (Atkinson et al., 2017) y este incremento pudo haber sido la causa de un incremento en la abundancia observada de focas cangrejas durante el verano de 2014 (Poljak et al., 2017). A su vez, la inusual abundancia de focas cangrejas podría asociarse con la alta prevalencia y abundancia de *A. lobodontis* en ese año. Estudios teóricos (Anderson & May, 1978; Arneberg, 1998; May & Anderson, 1978) y de campo (Whiteman et al., 2004) han demostrado una relación positiva entre el tamaño del grupo de hospedadores y la intensidad de los piojos y nuestros resultados parecen apuntar a esa dirección.

Este es el primer estudio que involucra a las focas cangrejas y sus piojos muestreados en condiciones naturales y replicadas en el tiempo. Es importante señalar que trabajar con focas antárticas implica grandes limitaciones logísticas, resultando difícil muestrear más de 10 focas por temporada de trabajo. Por esta razón, nuestras conclusiones se limitan a

estos muestreos realizados bajo estas condiciones de solo acceder a las focas en el periodo de muda y con la limitación de no poder hacer un seguimiento diario de cada individuo muestreado, y así estudiar el desarrollo del ciclo de vida del piojo.

En un contexto del cambio climático, los estudios epidemiológicos nos brindan información esencial, especialmente cuando se trata de animales que viven en lugares en constante cambio, como lo es la Antártida. Considerando que se trata de focas que dependen del hielo marino para reproducirse, los piojos consecuentemente también dependen del hielo marino para garantizar su éxito reproductivo y transmisión. Por lo tanto, cualquier cambio ambiental que reduzca el tamaño y grosor de los témpanos de hielo o extensión del hielo marino (IPCC, 2022; Sahade et al., 2015) tendrá efectos directos, tanto en las poblaciones de pinnípedos antárticos (Siniff et al., 2008) como de sus piojos. Por esta razón, los análisis a largo plazo nos permitirán inferir procesos asociados con la historia de vida de las focas utilizando a los piojos como posibles indicadores de estrés ambiental.

Capítulo III

¿Los juveniles son más piojosos? asociación entre focas de Weddell y sus piojos en la Península Antártica

Los contenidos parciales del presente capítulo han sido publicados en:

Soto FA, Negrete J, Klaich MJ y Leonardi MS. 2022. Effect of host age, sex and life stage on the prevalence and abundance of sucking lice on Weddell seal in the Antarctic Peninsula. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 94.



Introducción

La foca de Weddell (*Leptonychotes weddellii*) se distribuye prácticamente en todo el Sector Antártico Argentino, aunque según reportes (Hückstädt, 2014) estaría ausente en el noroeste del Mar de Bellingshausen. Es la única especie de pinnípedo que habita en el hielo marino durante todo el año (Burns & Kooyman, 2001). Como todas las focas dependientes del hielo, la distribución de las focas de Weddell está influenciada por la disponibilidad de sitios de hielo marino para salir del agua; el cual le proporciona un sustrato estable para dar a luz, amamantar a las crías y descansar (Siniff et al., 2008; Southwell et al., 2012; Thomas & Terhune, 2009). Algunos individuos mantienen agujeros en el hielo durante todo el invierno, mientras que otros frecuentan las áreas de forrajeo o el hielo flotante en alta mar, y regresan a descansar en el hielo fijo (Thomas & Terhune, 2009). Esta variabilidad en el comportamiento de salida del agua podría tener un fuerte impacto en la dinámica de la población de ectoparásitos de éstas focas. Cuando los hospedadores salen del mar, los piojos quedan expuestos a cambios drásticos en la humedad, la presión, la temperatura y la radiación solar (Thompson et al., 1998), lo que podría afectar y modelar su población.

A lo largo del tiempo evolutivo, los equinoftridos han desarrollado adaptaciones morfológicas, de comportamiento y ecológicas únicas para hacer frente al estilo de vida marino de sus hospedadores (Leonardi et al., 2012; Leonardi & Lazzari, 2014; Leonardi & Palma, 2013; Mehlhorn et al., 2002; Murray, 1976). Además, los equinoftridos son de los pocos insectos adaptados para sobrevivir en el mar (Leidenberger et al., 2007; Leonardi et al., 2020). Algunas adaptaciones fisiológicas de *Antarctophthirus carlinii*, fueron descritas por Murray y colaboradores (Murray et al., 1965). Este piojo puede volverse activo y reproducirse a 5-15°C y sus huevos pueden desarrollarse y eclosionar a temperaturas constantes tan bajas como 0-4°C. Sin embargo, los huevos parecen no

sobrevivir sumergidos, lo que constituye la principal restricción en la historia de vida de los equinoftíridos como parásitos de anfibios (Leonardi & Lazzari, 2014). Respecto al mecanismo de transmisión en el trabajo de Murray y colaboradores (Murray et al., 1965) observaron que la propagación de piojos ocurre únicamente de focas hembras a sus crías por la transferencia de piojos adultos. Estas transmisiones, a su vez, fueron más frecuentes y más intensas en focas de un año de edad y en individuos inmaduros más que en maduros. Esto permitió conocer el ciclo de vida de *A. carlinii*, que dura aproximadamente 3-4 semanas. Sin embargo, este trabajo se realizó durante la temporada reproductiva de las focas por lo que no resulta comparable con los resultados aquí obtenidos.

Resulta evidente que la reproducción de los piojos solo podría ocurrir cuando sus hospedadores permanecen fuera del agua durante el tiempo suficiente para garantizar su desarrollo. Es decir, que el número de generaciones de piojos por año estaría limitado por la duración de los períodos en tierra de sus hospedadores. De esta manera, las variaciones en el tiempo que invierten los individuos a descansar, mudar o reproducirse influirían directamente en la dinámica de los piojos equinoftíridos (Aznar et al., 2009; Thompson et al., 1998). Es más, las condiciones ambientales podrían modificar el comportamiento de los hospedadores y, en consecuencia, la dinámica poblacional de los piojos, lo que resultaría en variaciones geográficas y/o anuales en la asociación parásito-hospedador (Thompson et al., 1998).

El objetivo en este capítulo es estudiar los efectos del sexo del hospedador y la clase de edad y el año de muestreo, sobre la prevalencia y abundancia media de *Antarctophthirus carlinii*, que infestan a las focas de Weddell, *Leptonychotes weddelli*, en la Costa Danco, Península Antártica. Basados en la premisa de que la dinámica de la población de *A. carlinii* está determinada por el comportamiento de las focas, y conociendo lo que sucede con los piojos de *A. lobodontis* en focas cangrejeras (Soto et al.,

2020) se espera que: los parámetros de infestación varíen en función de la clase de edad de las focas, siendo los juveniles los más infestados; la transmisión de piojos de *A. carlinii* sea principalmente de piojos adultos tal como describió Murray y colaboradores en 1965.

Materiales y métodos

El área de estudio y metodología empleada es la misma para las tres especies bajo estudio y fue descrita en el primer capítulo. Como se mencionó anteriormente, las muestras fueron tomadas durante el verano austral, que coincide con el periodo de muda de las focas. El análisis de datos y modelado de los parámetros de infestación sigue lo descrito en el capítulo introductorio.

Resultados

Se muestrearon 54 focas de Weddell en la Costa de Danco, los parámetros de infestación de *A. carlinii* recolectados de focas de Weddell se muestran en la Tabla 3.1. La selección de modelos utilizados se resume en la Tabla 3.2.

Prevalencia

El mejor modelo basado en AICc incluyó la clase de edad y la variación anual como variables explicativas que afectan los niveles de prevalencia de *A. carlinii* en *L. weddellii* (Fig. 3.1). Dado el modelo mejor respaldado, la prevalencia estimada fue mayor en los juveniles (73,3 %) que en los adultos (46,6 %). Aunque el factor variación anual formó parte del mejor modelo, no se observaron diferencias significativas entre años ($p = 0,6991$).

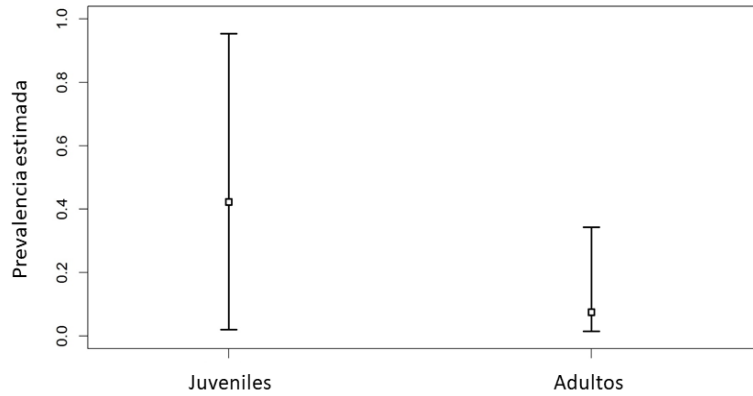


Figura 3.1 Prevalencia de *Antarctophthirus carlinii* por clase de edad de las focas de Weddell. Las barras verticales indican 95% intervalos de confianza.

Abundancia media

El modelo mejor sustentado mostró el efecto de la clase de edad y la variación anual sobre la abundancia media (Fig. 3.2). La abundancia media estimada fue mayor en juveniles (4,7) que en adultos (2,5) ($p = 0,0002$).

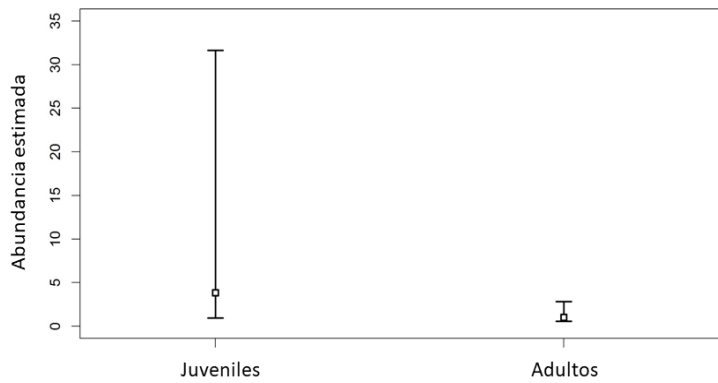


Figura 3.2 Abundancia media de *Antarctophthirus carlinii* por clase de edad de las focas de Weddell. Las barras verticales indican intervalos de confianza del 95%.

Tabla 3.1 Parámetros de infestación de *Antarctophthirus carlinii* según sexo y clase de edad del hospedador, *Leptonychotes wedelli*, y según año de muestreo en la Costa Danco, Península Antártica.

	Sexo		Clase de Edad		Año de muestreo				
	Hembras (n=24)	Machos (n=26)	Adultos (n=37)	Juveniles (n=17)	2014 (n=8)	2015 (n=20)	2016 (n=10)	2019 (n=10)	2020 (n=6)
Prevalencia (%)	50,0	50,0	43,6	73,3	75,0	25,0	60,0	50,0	100,0
IC 95%	(28,2-71,8)	(29,9-70,1)	(27,8-60,4)	(44,9-92,2)	(34,9-96,8)	(8,6-49,1)	(26,2-87,8)	(18,7-81,3)	(54,1-100,0)
Abundancia media	3,3	3,3	2,5	4,7	5,7	1,1	3,4	1,3	9,0
IC 95%	(1,64-6,2)	(1,7-6,2)	(1,3-4,7)	(2,6-6,7)	(2,4-12,4)	(0,3-2,5)	(1,5-6,5)	(0,4-2,4)	(4,3-18,2)
Intensidad media	6,5	6,6	5,7	6,4	7,7	4,4	5,7	2,6	9,0
IC 95%	(4,1-10,7)	(4,1-11,4)	(3,3-10,2)	(4,4-8,5)	(3,8-4,7)	(2,0-6,6)	(3,3-9,7)	(1,6-3,6)	(4,3-18,2)

Tabla 3.2 Resultados de la selección del modelo para los modelos propuestos para estudiar los efectos del sexo y clase de edad del hospedador y la variación anual de prevalencia y abundancia media de *Antarctophthirus carlinii* en focas de Weddell en la Costa Danco, Península Antártica.

	Efectos del modelo	AICc	N° de parámetros
Prevalencia (Pr)	Pr ~ Variación anual	63,91	2
	Pr ~ Sexo	73,16	2
	Pr ~ Clase de edad	66,12	2
	Pr ~ Clase de edad + Sexo	68,06	3
	Pr ~ Clase de edad * Sexo	67,15	4
	Pr ~ Clase de edad + Variación anual	56,36	3
	Pr ~ Clase de edad * Variación anual	62,74	4
	Pr ~ Variación anual + Sexo	65,50	3
	Pr ~ Variación anual * Sexo	66,71	4
Abundancia media (Am)	Am ~ Variación anual	210,12	3
	Am ~ Sexo	217,17	3
	Am ~ Clase de edad	215,96	3
	Am ~ Clase de edad + Sexo	217,95	4
	Am ~ Clase de edad * Sexo	219,50	5
	Am ~ Clase de edad + Variación anual	201,94	4
	Am ~ Clase de edad * Variación anual	202,09	5
	Am ~ Variación anual + Sexo	210,90	4
	Am ~ Variación anual * Sexo	207,07	5

Discusión

En esta sección se analizaron los diferentes factores que podrían afectar los parámetros de infestación de los piojos de las focas de Weddell. Tanto la prevalencia como la abundancia media de *Antarctophthirus carlinii* dependen principalmente de la clase de edad del hospedador, siendo la variación anual un factor asociado que afectaría también a los parámetros. No obstante, dado que son muchos los factores que pueden influenciar las variaciones anuales, por ejemplo, disponibilidad de hielos, presas, factores antrópicos, entre otros, y los mismos no fueron medidos directamente, no es posible atribuir la variación anual detectada a un único efecto

Los modelos indicaron que los juveniles presentan mayor prevalencia y abundancia media que los adultos. Probablemente actúen como reservorios de piojos y sean los principales encargados de la transmisión, ya que se desplazan por diferentes colonias hasta alcanzar la edad reproductiva; mientras que las focas adultas a menudo regresan a la misma colonia, mostrando un alto grado de fidelidad al sitio (Davis et al., 2000; Stirling, 1969; Stirling & Greenwood, 1972). En este sentido, los mecanismos dependientes de la densidad o la dinámica de cada colonia podrían afectar la dinámica de infestación de piojos.

Estudios previos sugieren que los parámetros de infestación en los equinoftíridos estarían relacionados principalmente con la clase de edad del hospedador, siendo mayor en los individuos juveniles. Por ejemplo, la prevalencia e intensidad media de *Echinophthirius horridus* en la foca común, *Phoca vitulina* varía con la edad del hospedador, pero no con el sexo, siendo mayor en focas inmaduras (Thompson et al., 1998). Un patrón similar se describió para *A. lobodontis* en los juveniles de foca cangrejera, durante la época de muda (Capítulo 2); lo mismo para cachorros de lobo

marino de un pelo, *Otaria flavescens* (Aznar et al., 2009; Leonardi et al., 2013), y para el lobo marino de dos pelos del norte, *Callorhinus ursinus* (Kim, 1975).

Respecto a la variación anual registrada, se observa una tendencia de aumento de la prevalencia y abundancia media, que podría estar asociado con la disponibilidad de bandejonas de hielo marino. Las áreas de hielo fijo muestran una alta variabilidad entre años (Fan et al., 2014; Fraser et al., 2012) y cualquier reducción en la disponibilidad de este sustrato alteraría la dinámica de las focas y su patrón de entrada y salida del agua (Siniff et al., 2008; Stirling & Greenwood, 1972), ya sea para mudar o reproducirse. Como así también la reducción de la abundancia y disponibilidad de sus presas (Atkinson et al., 2004; Siniff et al., 2008), cambios en la aparición y distribución de parásitos y patógenos (Jones et al., 2008), y efectos antrópicos (Barbosa et al., 2013).

Además, el entorno local también puede influir en el comportamiento de las focas, ya que tienden a salir más del agua en condiciones de baja velocidad del viento y mayores temperaturas mientras que permanecen sumergidas cuando hay fuertes vientos y menor temperatura (Andrews-Goff et al., 2010). Como se mencionó antes, la temperatura influye tanto en el desarrollo de huevos como en la movilidad de los piojos. En consecuencia, durante el verano antártico, que coincide con la temporada de muda de las focas, estas pasan más tiempo fuera del agua favoreciendo tanto la reproducción como la transmisión de piojos.

La estructura poblacional de los piojos y los posibles mecanismos de transmisión se describirán en el capítulo 5 pero aquí sólo se mencionará que, al igual que describieron Murray y colaboradores (Murray et al., 1965), se encontró principalmente piojos adultos. Aunque dicho trabajo se realizó durante la temporada reproductiva de las focas podríamos decir que la transmisión de piojos de *A. carlinii* es principalmente de piojos adultos, de esta manera transfiriendo piojos adultos completarían una generación en poco tiempo.

Estas estrategias reproductivas de los piojos estarían vinculadas con la historia de vida de sus hospedadores, principalmente con los hábitos de buceo y los patrones de entrada y salida al agua en las distintas etapas de su ciclo de vida.

Capítulo IV

El comportamiento del leopardo marino
limita la transmisión de los piojos de
Antarctophthirus ogmorhini



Introducción

Como se mencionó en el capítulo introductorio las focas leopardo tienden a vivir una vida solitaria, principalmente asociadas con el hielo marino (Southwell et al., 2003). Tienen una distribución circumpolar con las densidades más altas en la Península Antártica (PA) (Borsa, 1990; Rogers, 2009; Rounsevell & Eberhard, 1980). Durante el verano austral, que coincide con la temporada de muda de las focas, se las ve con frecuencia en el borde de los bandejones de hielo o cerca de plomos (grietas largas y estrechas en la banquisa de hielo marino) y polinias, cerca del continente antártico (Bester et al., 2002; Condy, 1977). Recientemente, se reportaron nuevas áreas de reproducción al norte de la convergencia antártica que incluyen sectores costeros de Chile y Nueva Zelanda (van der Linde et al., 2022).

El efecto del calentamiento global sobre la PA y áreas aledañas impacta a los pinnípedos antárticos, en especial aquellos dependientes o asociados al hielo marino, ya sea a través de cambios físicos en sus hábitats, como por ejemplo la reducción del hielo marino que las focas usan como sustrato, especialmente durante la reproducción, o bien por alteraciones en la abundancia y disponibilidad de sus presas (Learmonth et al., 2006; Siniff et al., 2008). Según el último Informe Especial del Panel Intergubernamental sobre el Cambio Climático (IPCC, 2022), el calentamiento global ha alcanzado 1°C por encima del nivel pre-industrial. Como consecuencia, el océano es más cálido, más ácido y menos productivo. Ante estos cambios, es esperable que estas alteraciones también puedan tener efectos indirectos en la población de focas y en el comportamiento de los piojos que las parasitan.

La foca leopardo es parasitada por el piojo *Antarctophthirus ogmorhini*, cuyo ciclo de vida aún es desconocido. Hasta hace relativamente poco tiempo se consideraba que *A. ogmorhini* era parásito también de la foca de Weddell (*Leptonychotes weddellii*)

(Mehlhorn et al., 2002), pero a partir de la revisión taxonómica, se determinó que se trataban de dos especies diferentes. De esta manera, se describió a *A. carlinii* como especie parásita de la foca de Weddell, mientras que los piojos pertenecientes a *A. ogmorhini* parasitan sólo a las focas leopardo (Leonardi et al., 2014). Si bien la presencia de los piojos parecería no tener un efecto negativo para las focas, podrían causar daños en la piel induciendo la producción de células fagocíticas que alteran su sistema inmunológico (Allen, 1994).

Diferentes factores y condiciones ambientales como la presencia de patógenos o parásitos (Mos et al., 2006), cambios en la condición corporal (Brock et al., 2013; Castellini et al., 1993), geografía (Cammen et al., 2011), el estado reproductivo (Deerenberg et al., 1997) o los contaminantes (de Swart et al., 1996) podrían alterar el sistema inmunológico de los animales (Davis et al., 2008). Los estudios sobre la evaluación de la salud de las focas leopardo sugieren que pueden ser sensibles a los cambios que les impone su entorno, así como a la presencia de piojos (Gray et al., 2009; Leonardi et al., 2019).

El objetivo en este capítulo es analizar la asociación parasito-hospedador entre la foca leopardo (*Hydrurga leptonyx*) y los piojos de *A. ogmorhini*, en la Costa Danco, Península Antártica. Para ello, se calcularon los parámetros de infestación, prevalencia, intensidad media (IM) y abundancia media (AM) en función del sexo y clase de edad del hospedador y de la variabilidad interanual. Además, se evaluó si existe algún efecto de la condición corporal del hospedador y los parámetros de infestación.

Materiales y métodos

El área de estudio y metodología empleada es la misma para las tres especies bajo estudio y fue descrita en el primer capítulo, por lo que aquí sólo se mencionará lo referido al análisis de datos. No se realizaron modelos debido a que los parámetros de infestación fueron muy bajos. Para evaluar la condición corporal se clasificó cualitativamente a las focas en tres clases: excelente, bueno y delgado siguiendo lo propuesto por (Gray et al., 2009), según fotografías tomadas durante el trabajo de campo (Figura 4.1). Si bien en el trabajo de Gray se describen cuatro clases de condición corporal, en este muestreo no hubo focas en la clase “pobre” condición corporal, por lo que sólo se utilizaron tres de las cuatro clases para su clasificación.

Resultados

Durante cuatro campañas de verano, se recolectaron piojos de 50 focas leopardo: 12 hembras y 38 machos, de los cuales 47 eran adultos y 3 juveniles (Tabla 4.1). La prevalencia fue mayor en machos que en hembras (6 machos infestados de 38 totales, $P=15,8\%$ vs 1 hembra infestada de 12 totales, $P=8,3\%$). Mientras que la IM y AM fue mayor en hembras que machos, pero sólo se encontró una hembra con 48 piojos. Respecto a la clase de edad los juveniles presentaron mayor prevalencia (33,3% vs 12,8%) e IM (26,0 vs 14,0) que los adultos, aunque sólo se encontró un juvenil con 26 piojos. En cuanto a la variación anual los parámetros de infestación más altos fueron en el 2019, con una prevalencia de 23,1%, IM de 13,0 y AM de 3,0.

Tabla 4.1 Información detallada del año de muestreo, el sexo y la clase de edad de las focas leopardo, *Hydrurga leptonyx*, e intensidad de piojos, *A. ogmorhini*, muestreados en la Costa de Danco, Península Antártica.

Especie	Año	Sexo	Clase Edad	Intensidad	Cond.Corp
HI 1	2014	H	adulto	0	Buena
HI 2	2014	H	adulto	0	Buena
HI 3	2014	H	adulto	48	Buena
HI 4	2014	H	adulto	0	Buena
HI 5	2014	M	adulto	0	Buena
HI 6	2014	M	adulto	0	Buena
HI 7	2014	M	adulto	0	Buena
HI 8	2014	M	adulto	0	Buena
HI 9	2014	M	adulto	0	Buena
HI 10	2014	M	adulto	0	Buena
HI 11	2014	M	adulto	0	Buena
HI 12	2014	M	adulto	21	Buena
HI 13	2014	M	adulto	0	Buena
HI 38	2014	H	adulto	0	Excelente
HI 39	2014	M	adulto	0	Excelente
HI 45	2014	H	adulto	0	Sin foto
HI 14	2015	M	adulto	0	Buena
HI 15	2015	M	adulto	0	Buena
HI 16	2015	H	adulto	0	Buena
HI 17	2015	M	adulto	0	Buena
HI 18	2015	M	adulto	0	Buena
HI 19	2015	M	adulto	0	Buena
HI 20	2015	M	adulto	0	Buena
HI 40	2015	M	juvenil	0	Excelente
HI 41	2015	H	adulto	0	Excelente
HI 42	2015	M	adulto	0	Excelente
HI 43	2015	M	adulto	0	Excelente
HI 44	2015	M	adulto	0	Excelente
HI 46	2015	M	adulto	1	Sin foto
HI 21	2019	M	adulto	0	Buena
HI 22	2019	M	adulto	0	Buena
HI 23	2019	M	adulto	0	Buena
HI 24	2019	H	adulto	0	Buena
HI 25	2019	M	juvenil	0	Buena
HI 26	2019	M	adulto	0	Buena
HI 27	2019	M	juvenil	26	Buena
HI 28	2019	M	adulto	0	Buena
HI 29	2019	M	adulto	1	Buena
HI 30	2019	H	adulto	0	Buena

HI 31	2019	M	adulto	12	Buena
HI 36	2019	H	adulto	0	Delgado
HI 37	2019	M	adulto	0	Delgado
HI 32	2020	M	adulto	0	Buena
HI 33	2020	M	adulto	1	Buena
HI 34	2020	M	adulto	0	Buena
HI 35	2020	M	adulto	0	Buena
HI 47	2020	M	adulto	0	Sin foto
HI 48	2020	H	adulto	0	Sin foto
HI 49	2020	M	adulto	0	Sin foto
HI 50	2020	M	adulto	0	Sin foto

A partir de la asignación de condición corporal el 14% resulto tener una excelente condición corporal, el 70% buena, el 4% estaban delgados, y al restante 12% no fue posible asignarle condición corporal por falta de fotos de esos individuos. Si evaluamos la condición corporal por año de muestreo los individuos en menor condición corporal fueron los de año 2019, encontrándose en las clases bueno o delgado, mientras que durante el 2014 y 2015 el 14% y el 36% respectivamente fueron individuos en excelente condición corporal y los restantes estaban en buena condición corporal, siguiendo el criterio propuesto por Gray (Gray et al. 2009). En el 2020 por problemas de logística no se cuenta con las fotografías de todos los individuos por lo que solo se asignó condición corporal (buena) a 4 de las 8 focas muestreadas.



Figura 4.1 Clases de condición corporal de las focas leopardo: (a) excelente, (b) bueno, (c) delgado.

Discusión

Desde su descripción, hace más de 100 años (Enderlein, 1906), no hubo reportes ni trabajo alguno sobre *A. ogmorhini* en focas leopardo. En este capítulo se presentan los resultados de los primeros análisis referidos a parámetros de infestación de *A. ogmorhini* en focas leopardo. Durante 4 años se tomaron muestras de 50 individuos, esto implica un gran esfuerzo de muestreo debido al hábito solitario de las focas y a su comportamiento de entrada y salida del agua, principalmente en témpanos y bandejones de hielo que están a la deriva.

Por estos hábitos y por ser una especie de difícil acceso, el conocimiento sobre su ecología y biología general es escaso y limitado, al menos en comparación con otras especies de pinnípedos antárticos asociados al hielo, como las focas de Weddell o las focas cangrejeras. En este sentido, los estudios epidemiológicos nos brindan información esencial, de este sistema de estudio poco conocido y permite realizar inferencias sobre los efectos que generan cambios en el comportamiento, la ecología y la dinámica poblacional tanto del parásito como del hospedador, especialmente cuando se trata de una especie críptica que vive en un lugar en constante cambio, como lo es la Antártida.

La prevalencia para las focas leopardo fue del 14%, que en comparación con otras especies de pinnípedos antárticos como la foca cangrejera (P=50%) y la foca de Weddell (P=53,7%) resultó ser la más baja y esto podría estar relacionado con el hábito solitario de las focas leopardo. Aunque la prevalencia fue mayor en juveniles (P=33,3%) que en adultos (P=12,8%), solo uno de los tres juveniles muestreados tenía piojos. Es probable que esta diferencia en la clase de edad se sostenga e incluso aumente significativamente con un mayor número de individuos juveniles muestreados, tal como está reportado en otras especies de pinnípedos (Aznar et al., 2009; Soto et al., 2020, 2022). En cuanto a las diferencias en los parámetros entre los sexos de los individuos, se destaca que si bien

tanto la abundancia como la intensidad fue mayor en hembras la prevalencia fue menor dado que solo se registró una hembra con 48 piojos ($P=8,3$) mientras que la intensidad media para los machos fue de 10,3. No obstante, para un mejor entendimiento del sistema, se debería incrementar el número de animales muestreados, principalmente hembras.

Dado que las focas leopardo comparten algunos hábitos con las focas cangrejas y de Weddell, como por ejemplo su afinidad al hielo marino como sustrato para mudar, descansar y reproducir, es esperable una tendencia similar a lo observado en estas especies respecto a que los parámetros de infestación sean mayores en los juveniles y las hembras (ver capítulos 2 y 3). Sin embargo, las diferencias entre la cantidad de individuos adultos y juveniles e incluso entre sexos muestreados sugieren que los resultados pueden estar subestimados y es posible que sea necesario evaluar las tendencias muestreando más individuos juveniles y más hembras.

Al relacionar la condición corporal con los parámetros de infestación se encontró que la mayor prevalencia se observó en 2019 y esto podría asociarse con una menor condición corporal de los individuos analizados en ese periodo. Es decir, que los piojos parecerían infestar a hospedadores que están en buena condición corporal, ya que no encontramos piojos en individuos delgados o en excelente condición corporal. Sin embargo, la mayoría de los individuos de 2019 se encontraban en buena condición corporal, dado que solo se clasificaron 3 individuos con excelente condición y 2 delgados. Esto probablemente se deba a que en esta asociación parásito hospedador que ha coevolucionado a lo largo de los años, resulta conveniente y es suficiente que los hospedadores estén en buena condición corporal para que los piojos puedan alimentarse y desarrollar su ciclo correctamente.

Como se mencionó anteriormente, la transmisión de piojos sólo es posible cuando las focas están en tierra, o en este caso en hielo o fuera del mar, es decir, durante el

apareamiento, la muda o el descanso (Kim, 1975; Leidenberger et al., 2007). En principio, la transmisión de estos piojos entre focas parecería ser vertical, es decir, de la madre a sus crías y principalmente durante la etapa de amamantamiento. En este contexto sería esperable que, durante la temporada de muda, cuando la especie exhibe comportamientos más solitarios, la prevalencia sea mayor en hembras que en machos, sin embargo, los resultados exhiben lo opuesto. Esto podría estar asociado a un sesgo en el muestreo ya que sólo se encontraron 12 hembras de las cuales solo dos estaban infectadas (48 y 1). Para poder corroborarlo se debería incrementar el número de hembras muestreadas, ya que como se ha descrito en otras especies las hembras actuarían como reservorios de los piojos (Aznar et al., 2009; Kim, 1975; Murray & Nicholls, 1965).

Es probable que al igual que sucede con las focas cangrejeras (capítulo 2) la vía principal de transmisión de *A. ogmorhini* sea horizontal, al menos durante la temporada de muda. Precisamente, la estructura poblacional de los piojos que se encontraron dan cuenta de que todos los estadios de *A. ogmorhini* estuvieron presentes en las focas durante la etapa de muda, lo que sugiere además que los piojos se estarían reproduciendo con éxito incluso durante esta etapa del ciclo de vida del hospedador. Es posible que los piojos también se reproduzcan durante la temporada reproductiva de las focas, pero esta información se desconoce porque sólo se tiene acceso a las focas durante el verano antártico que coincide con la temporada de muda.

Por otro lado, la reproducción de los piojos esta sincronizada con los momentos de salida del agua de las focas, es decir con la frecuencia de entrada y salida del agua y con el comportamiento de buceo. Trabajos previos que exploran estos comportamientos en las focas, reportan que durante la temporada de muda los individuos pasan la mayor parte del tiempo fuera del agua, seguidos por periodos cortos de navegación y buceo (Kuhn et al., 2006) y que las inmersiones son en general a profundidades menores a los 100

metros (Southwell et al., 2012). En este sentido, las estrategias reproductivas de los piojos de *A. ogmorhini* parecen ser similares a las de *A. lobodontis* de las focas cangrejas (capítulo 5), ya que ambas especies de focas tienen un comportamiento de buceo similar (Southwell et al., 2012).

En este capítulo se describieron por primera vez los parámetros de infestación de los piojos de *A. ogmorhini* en la foca leopardo. Si bien la prevalencia de la especie resultó ser muy baja y esto no permitió modelar cuáles son los factores que afectan a los parámetros de infestación, se evidenció una respuesta similar de los piojos que se corresponde con el comportamiento y el hábito de sus hospedadores, marcando un claro mecanismo de coaptación y coevolución parásito-hospedador.

Capítulo V

Estrategias de supervivencia de los piojos del género *Antarctophthirus* según el comportamiento de sus hospedadores



Introducción

Las focas que viven sobre los bandejons de hielo, dependen del hielo marino para mudar y reproducirse, y alternan períodos de descanso con períodos de alimentación (Erickson & Hanson, 1990; Gilbert & Erickson, 1977). En el caso de las focas cangrejas, estas se alimentan de organismos pelágicos (Adam, 2005) y ocasionalmente se aventuran a aguas abiertas (Burns et al., 2004). Los adultos de ambos sexos pueden pasar de 8 minutos a 15 horas en tierra, mientras que los juveniles pasan más tiempo fuera del agua (Adam, 2005). Durante la temporada de muda, forman grupos mixtos, frecuentemente grupos de juveniles, pero también grupos de machos, hembras no gestantes, juveniles y crías (Bengtson et al., 2011; Casaux et al., 2011; Stirling, 1969). Conociendo las diferentes historias de vida de las focas dependientes del hielo marino, la pregunta que surge es si estas diferencias entre especies de focas filogenéticamente relacionadas se reflejan en diferencias ecológicas entre sus piojos.

En el presente capítulo, el objetivo es analizar la estructura poblacional de *Antarctophthirus lobodontis* en focas cangrejas y de *A. carlinii* en focas de Weddell, con el fin de comparar las estrategias reproductivas de los piojos en hospedadores que tienen diferentes comportamientos. Se espera que los piojos exhiban diferentes estrategias de transmisión y/o reproducción debido al comportamiento de buceo y forrajeo de los hospedadores. Para ponerlo a prueba, se evaluó si la probabilidad de tener piojos está relacionada con la etapa de desarrollo de los piojos (adultos o ninfas) entre ambas especies hospedadoras. Luego, se comparó la proporción de sexos de piojos entre las especies hospedadoras. Finalmente, se comparó la abundancia relativa de piojos entre las especies hospedadoras en relación con su etapa de desarrollo (adultos o ninfas), sexo y especie.

Materiales y métodos

El área de estudio y la metodología empleada son las mismas para las tres especies bajo estudio, encontrándose todas las focas en etapa de muda, durante el verano austral. La metodología empleada fue descrita en el primer capítulo, por lo que aquí sólo se mencionará lo referido al análisis de datos y al modelado de los parámetros de infestación. Una vez en el laboratorio, los piojos fueron sexados y clasificados como adultos o ninfas bajo microscopio estereoscópico.

Análisis estadísticos

Para modelar si la presencia de piojos en un hospedador depende del estadio del piojo (adultos o ninfas) y de la especie de hospedador, se utilizó un modelo mixto lineal generalizado (GLMM) binomial con función de enlace logit. La función de enlace logit garantiza valores ajustados entre 0 y 1, y la distribución binomial se usa normalmente para conteos. Los factores fijos fueron la especie de hospedador (categórica con dos niveles) y la etapa de desarrollo del hospedador (categórica con dos niveles). Para incorporar la dependencia entre las observaciones del mismo hospedador se incluyó al individuo hospedador como un factor aleatorio. Para cada hospedador, si se encontraba un piojo, se contaba como un éxito (anotado con un 1), de lo contrario, se registraba un 0 cuando no se encontraban piojos en ese individuo. Por lo tanto, este modelo incluyó tanto factores fijos con sus interacciones (especies de hospedador por etapa de desarrollo) como un factor aleatorio.

Luego, para comparar la proporción de sexos de piojos entre las especies hospedadoras, también se utilizó un GLMM binomial con función de enlace logit. El factor fijo fue la especie de hospedador (categórico con dos niveles). Para incorporar la dependencia entre las observaciones del mismo hospedador se incluyó al individuo hospedador como un

factor aleatorio. En este modelo, la variable respuesta se obtuvo contando el número de piojos hembras del número total de piojos por hospedador.

Todos los análisis se realizaron con el software R v3.6.3 “Holding the Windsock” (R. Core Team, 2020). Se utilizaron los paquetes `glmmTMB` y `nlme` para ajustar los modelos (Brooks et al., 2017; Pinheiro et al., 2021). Para probar los supuestos del modelo, usamos el paquete `DHARMA` (Hartig & Lohse, 2021). Los gráficos se realizaron utilizando el paquete `ggplot2` (Wickham, 2016). Los contrastes de Tukey se realizaron con la función `emmeans` del paquete `emmeans` (Lenth et al., 2020) y se muestran en las tablas los OR (Odds Ratio) de las comparaciones intratratamiento con los intervalos de confianza inferior y superior.

Resultados

La probabilidad de tener piojos en cada hospedador dependió tanto del estadio del piojo como de la especie de hospedador. Con respecto a la influencia de la etapa de desarrollo de los piojos (adultos o ninfas) entre ambas especies hospedadoras, se encontró que, para las focas cangrejas, la probabilidad de tener piojos adultos es marginalmente mayor que la de tener ninfas ($OR_{intraspecies}$ Tabla 5.1, ver Anexo 1). Por otro lado, para las focas de Weddell, se encontró que la probabilidad de tener piojos adultos es mucho mayor que la de tener ninfas ($OR_{intraespecies}$, Tabla 5.1).

Con respecto a la proporción de sexos de piojos en cada especie de hospedador, se encontró que existe una tendencia hacia a las hembras en ambas especies de hospedador, es decir que hubo una mayor proporción de piojos hembra (Tabla 5.2). Además, al comparar las especies de hospedador, se encontró que la probabilidad de tener piojos hembra es menor en las focas cangrejas en comparación con las focas de Weddell (Tabla 5.2).

Finalmente, la abundancia de piojos en los adultos de ambas especies de focas fue generalmente baja, con el notable resultado de que las focas cangrejeras adultas casi no tienen piojos. En hospedadores juveniles, se encontró que la abundancia de piojos en las focas cangrejeras fue mucho mayor (IC95%: 362,13-2116,00%, Tabla 5.3) en comparación con las focas de Weddell.

Respecto a los diferentes estadios de los piojos en cada especie hospedadora, se observó que para el caso de las focas cangrejeras se encontraron todos los estadios de *A.lobodontis* (N1, N2, N3 y adultos) mientras que para las focas de Weddell solo se encontraron N3 y adultos de *A. carlinii* (Fig. 5.1).

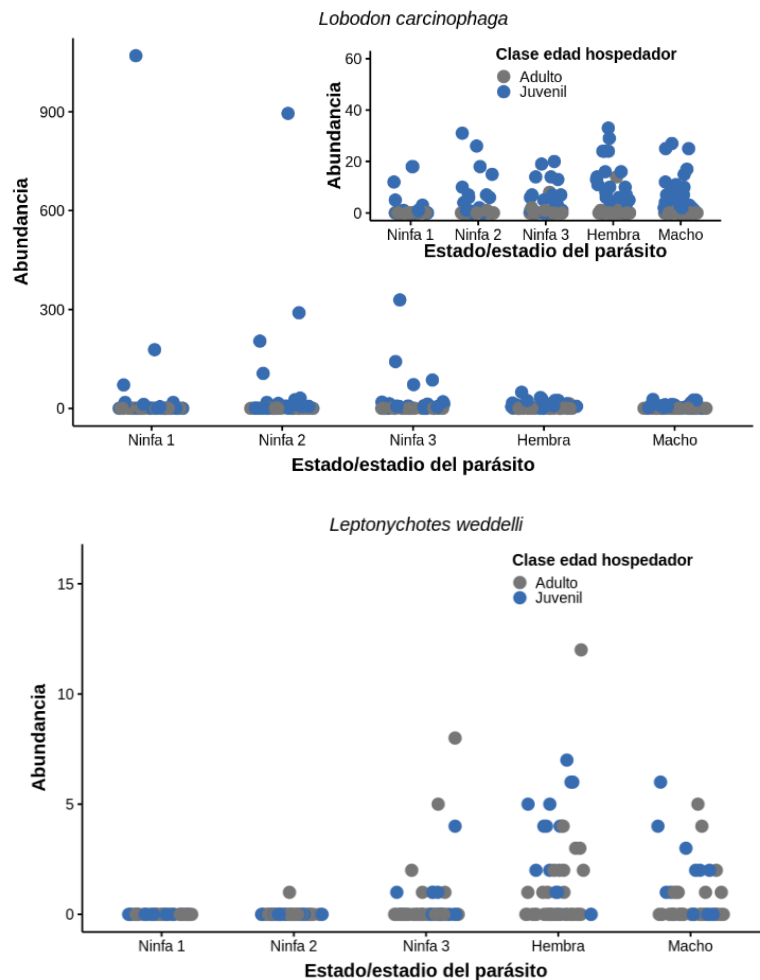


Figura 5.1. Distribución de la abundancia de los diferentes estadios de los piojos según la clase de edad del hospedador. Arriba, *A.lobodontis* en focas cangrejeras y a la derecha un detalle de la distribución de los estadios de los piojos; abajo *A.carlinii* en focas de Weddell.

Tabla 5.1 Resumen de los resultados del modelo para el efecto de la probabilidad de tener piojos en relación con la etapa de desarrollo de los piojos (adultos o ninfas) entre las focas cangrejera y de Weddell. gl: grados de libertad. ICI e ICS: Intervalos de confianza inferior y superior para la probabilidad estimada. OR_{intraespecies} (ICI; ICS): OR con intervalo de confianza inferior y superior para la relación de probabilidades entre piojos adultos/ninfas para cada especie de hospedador. OR_{interespecies} (ICI; ICS): OR con intervalo de confianza inferior y superior para la relación de probabilidades entre piojos adulto/adulto y ninfa/ninfa entre especies de hospedador. Cabe señalar que, si el intervalo de confianza incluye al 1, el OR es no significativo, por lo que no hay diferencia entre los grupos.

Especie de foca	Desarrollo piojo	Probabilidad	Error Estándar	gl	ICI	ICS	p	OR _{intraespecies} (ICI; ICS)	OR _{interespecies} (ICI; ICS)
Cangrejera	adulto	0,415	0,088	535	0,259	0,591	0,343	adulto/ninfa: 2,246	adulto/adulto: 1,443
	ninfa	0,240	0,063		0,138	0,384	0,001	(0,967;5,22)	(0,58;3,56)
Weddell	adulto	0,330	0,081		0,193	0,503	0,054	adulto/ninfa: 22,35	ninfa/ninfa: 14,360
	ninfa	0,022	0,010		0,008	0,054	<0,001	(6,809;73,39)	(4,73;43,61)

Tabla 5.2 Resumen de los resultados del modelo para comparar la proporción de sexos de piojos entre focas cangrejas y focas de Weddell. gl: grados de libertad. ICI e ICS: Intervalos de confianza inferior y superior para la probabilidad estimada. OR (ICI; ICS): Relación de probabilidades con intervalo de confianza inferior y superior para la relación de probabilidades de tener hembras en focas Cangrejera / Weddell. Cabe señalar que, si el intervalo de confianza incluye al 1, el OR no es significativo, por lo que no hay diferencia entre los grupos.

Especie de foca	Probabilidad de hembras	Error Estándar	gl	ICI	ICS	p	OR (ICI; ICS)
Cangrejera	0,629	0,027	105	0,574	0,680	<0,001	0,586
Weddell	0,743	0,039		0,658	0,813	<0,001	(0,373;0,919)

Tabla 5.3 Resumen de los resultados del modelo para comparar la abundancia relativa de piojos entre focas cangrejas y focas de Weddell en relación con su etapa de desarrollo y especie. gl: grados de libertad. ICI e ICS: Intervalos de confianza inferior y superior para la probabilidad estimada. OR (ICI; ICS): con intervalo de confianza inferior y superior para la razón de probabilidades de adultos y ninfas entre focas cangrejas/focas de Weddell. Cabe señalar que, si el intervalo de confianza incluye al 1, el OR no es significativo, por lo que no hay diferencia entre los grupos.

<i>Estado desarrollo piojo</i>	<i>Especie de foca</i>	<i>Abundancia</i>	<i>Error Estándar</i>	<i>gl</i>	<i>ICI</i>	<i>ICS</i>	<i>p</i>	<i>OR (ICI;ICS)</i>
Adulto	Cangrejera	5-0e-06	0,009	500	0,000	inf	0,994	3,80e-05
	Weddell	0,139	0,056		0,063	0	<0,001	(0,0;inf)
Ninfas	Cangrejera	5,966	2,143		2,946	12,0	<0,001	10,11
	Weddell	0,590	0,252		0,254	1,0	0,218	(4,62;22)

Discusión

La principal conclusión que se desprende del análisis de la estructura de la población de los piojos es que *A. lobodontis*, de las focas cangrejeras (FC), y *A. carlinii*, de las focas de Weddell (FW), presentan diferentes estrategias reproductivas. Los piojos de las focas cangrejeras se reproducirían durante la temporada de muda de las focas, mientras que la reproducción de los piojos de *A. carlinii* ocurriría principalmente durante la temporada reproductiva de las focas (Soto et al., 2022)

En las focas cangrejeras se encontraron todos los estadios de piojos (N1, N2, N3 y adultos) y huevos potencialmente viables. Un ensayo preliminar sobre huevos incubados simulando condiciones naturales (humedad y temperatura) resultó en una eclosión exitosa (resultados aún no publicados). Estos hallazgos estarían indicando que *A. lobodontis* se reproduce cada vez que las focas salen del agua durante la temporada de muda, ya que los tiempos de inmersión no serían lo suficientemente prolongados, como para matar los huevos. En este sentido, los piojos aprovecharían el comportamiento de buceo de su hospedador, ya que las FC se sumergen menos profundo y por menos tiempo que las FW. Según estudios previos, la profundidad de inmersión media de las FC fue de 61 m durante 3,8 min (Costa et al., 2010). En verano, suelen bucear durante la noche y salir del agua durante el día (ver detalles de buceo en Southwell et al., 2012), probablemente en respuesta a la disponibilidad de presas (Bengtson & Cameron, 2004). Por lo tanto, la combinación de inmersiones cortas y poco profundas y los patrones de salida continuos permitirían el desarrollo de los huevos. Esta idea se sustenta en el hecho de que la transmisión de *A. lobodontis* debería principalmente horizontal entre juveniles (Soto

et al., 2020). Los juveniles pasan más tiempo en tierra que los adultos. Sin embargo, esto necesita ser probado experimentalmente.

En cambio, en las focas de Weddell solo se encontraron N3 y adultos. En consecuencia, una de las estrategias de transmisión de *A. carlinii* podría ser a través de la movilidad principalmente de los piojos adultos, los cuales pueden reproducirse y completar una generación en un período corto. Además, las FW se sumergen más profundo y durante más tiempo que las FC (91 m durante 11,5 min; (Costa et al., 2010)), por lo que los piojos tendrían menos tiempo para reproducirse. Como se describió en un estudio previo (ver Capítulo 3), la principal forma de transmisión de *A. carlinii* parecería ser de focas hembras a sus crías. La transmisión vertical suele ser la principal vía de contagio en los equinoftridos (Leonardi et al., 2013; Murray et al., 1965; Soto et al., 2022).

Los piojos equinoftridos parecen tener diferentes estrategias reproductivas para garantizar su éxito reproductivo. Por ejemplo, *A. microchir* de los lobos marinos sudamericanos completa su ciclo cuando el hospedador pasa suficiente tiempo en tierra y solo las crías recién nacidas permanecen fuera del agua el tiempo suficiente (Aznar et al., 2009; Leonardi et al., 2014). En este contexto, al menos durante la temporada de muda del hospedador, *A. lobodontis* probablemente tenga más tiempo que *A. carlinii* para completar una generación, ya que su hospedador permanece más tiempo fuera del agua. Tales estrategias reflejan fuertes mecanismos de coadaptación y coevolución, de acuerdo con la historia de vida y el comportamiento de su hospedador.

En cuanto a los parámetros de infestación, las hembras de foca cangrejera alcanzaron una mayor abundancia media e intensidad media que las hembras de foca de Weddell. Por lo tanto, se asume que *A. lobodontis* se está reproduciendo mientras las focas están mudando. Como resultado de un estudio previo (Murray et al., 1965) se conoce que la dispersión de *A. carlinii* ocurriría mediante la transferencia de piojos adultos únicamente

de focas hembras a sus crías durante la temporada reproductiva, alcanzando una generación completa en 3-4 semanas. Dado que en los muestreos analizados en la presente tesis no se encontraron huevos, es necesario dilucidar cuándo *A. carlinii* tiene la oportunidad de poner huevos.

Como resultado de estudios previos (ver capítulos 2 y 3) se conoce que la prevalencia y la abundancia media dependen principalmente de la clase de edad de los hospedadores, siendo mayores en los juveniles que en los adultos. Además, este patrón también podría estar relacionado con el comportamiento de buceo del hospedador. Los juveniles suelen permanecer sumergidos durante menor tiempo que los adultos (Burns et al., 1999) y, en consecuencia, permanecen más tiempo en tierra, lo que mejora la dispersión de los piojos.

Un análisis filogenético reciente de los piojos de foca no mostró divergencias entre *A. lobodontis*, *A. carlinii* y *A. ogmorhini* (Leonardi et al., 2019). Algunos autores postulan que las diferencias genéticas entre ellas no son suficientes para ser consideradas como especies diferentes (Dong et al., 2022). Sin embargo, las diferencias ecológicas y las características morfológicas de cada especie de piojo (Leonardi et al., 2016) indicarían que son especies diferentes y ajustan su ciclo de vida de acuerdo con el comportamiento de buceo y forrajeo de sus hospedadores.

Como conclusión, el presente estudio evidencia que estudiar diferentes sistemas de piojos de focas permite comprender cómo la historia evolutiva moldeó el ciclo de vida de cada especie. Se requieren ensayos experimentales para conocer con certeza el ciclo de vida de ambas especies de piojos, y poder caracterizar las estrategias reproductivas que utilizan para garantizar su éxito reproductivo.

Capítulo VI

Evaluación de la condición corporal de tres especies de focas: ¿existe relación entre los conteos leucocitarios y los parámetros de infestación?

Los contenidos parciales del presente capítulo han sido publicados en:

Menéndez-Blázquez J, Soto FA, Negrete J, Colominas-Ciuró R, Marín-Sierra A, Ricca M, y Barbosa-Alcón, A. 2021. Leukocyte counts in blood smears of Antarctic seals and penguins: a new less time-consuming method. *Polar Biology*.
<http://dx.doi.org/10.1007/s00300-021-02950-0>



A la memoria del Dr. Andrés Barbosa Alcón
Con profunda admiración por su calidad humana y profesional

Introducción

El sistema inmune constituye un mecanismo de defensa frente a infecciones mejorando la supervivencia de los vertebrados (Lee, 2006; Sheldon & Verhulst, 1996). La respuesta inmune (RI) celular, está basada en la acción de los leucocitos o células blancas. Son variables en número y están divididos en dos grupos que actúan de forma integrada frente a las infecciones (Juul-Madsen et al., 2008; Norris & Evans, 2000). En mamíferos, los neutrófilos, eosinófilos y basófilos (también llamados granulocitos) forman parte de la RI celular innata actuando como primera barrera fagocítica no específica (Claver & Quaglia, 2009; Roitt et al., 1993). Los linfocitos y monocitos forman parte de la RI celular adquirida actuando a través del reconocimiento de los antígenos con sus anticuerpos.

Existen diversos métodos de análisis del sistema inmunológico para determinar la condición corporal de los mamíferos, como parámetros hematológicos, hormonas, inmunoglobulinas, entre otros. Su estimación permite evaluar la respuesta de los organismos ante factores estresantes del ambiente, tales como la presencia de patógenos, contaminantes, cambios en las condiciones ambientales y el efecto de la actividad antropogénica (Beldomenico et al., 2008; Brock et al., 2013; Davis et al., 2008; DeRango et al., 2019; Marcus et al., 2015). Particularmente para la fauna antártica la investigación sobre la respuesta inmune ha cobrado importancia en las últimas décadas debido a los diferentes escenarios de cambio climático (Norris & Evans, 2000; Roitt et al., 2001).

Para medir el estrés fisiológico uno de los análisis leucocitarios que se utiliza es el perfil leucocitario y consiste en el recuento total (RTL) y diferencial de leucocitos, que indica las proporciones relativas de cada tipo de leucocito, y la relación de neutrófilos/linfocitos (relación N/L). Esta relación, representa una medida indicadora de estrés debido la relación con los niveles de glucocorticoides en circulación (Davis et al., 2008). Los glucocorticoides son hormonas que alteran la redistribución de leucocitos

desde la sangre a otros compartimentos corporales (Dhabhar, 2002; Sapolsky et al., 2000), y estimulan la salida de neutrófilos desde la médula ósea hacia el torrente sanguíneo (Bishop et al., 1968; Dhabhar et al., 1995). Esto genera un cambio proporcional en la relación N/L, por lo cual se la considera una herramienta útil para evaluar estrés en los organismos (Davis et al., 2008).

Dado que los pinnípedos son predadores tope, excelentes buceadores y tienen una amplia distribución circumpolar, los cambios en su fisiología, comportamiento y dinámica poblacional, en respuesta a cambios en el ambiente, permiten considerarlos indicadores del estado del ecosistema marino (Bossart, 2011; Costa et al., 2010; Hindell et al., 2017; Marcus et al., 2015; McMahon & Burton, 2005; Siniff et al., 2008). Además, a lo largo de los años han afrontado variaciones tanto en la disponibilidad de hábitats, por ejemplo, buscando nuevos sitios de reproducción (van der Linde et al., 2022) o cambiando los recursos alimenticios (Costa, 1993; Forcada et al., 2008), evidenciando de este modo su capacidad de adaptarse a los cambios ambientales.

Los análisis leucocitarios son útiles en el campo de la ecofisiología de la conservación, dado que permiten un análisis del estado de salud en animales de vida libre y la evaluación del impacto de factores estresantes del entorno. En este contexto el objetivo en este capítulo es evaluar la relación entre los parámetros de infestación y la condición corporal del hospedador a partir de la evaluación del perfil leucocitario de cada especie de foca.

Materiales y métodos

El área de estudio y metodología empleada es la misma para las tres especies bajo estudio y fue descrita en el primer capítulo, así como la imposibilidad de disponer de los datos de morfometría y peso para esta Tesis, por lo cual el análisis de condición corporal se limitó a los conteos leucocitarios. Para los análisis leucocitarios las muestras fueron tomadas durante los años 2019- 2020.

Para la construcción de las matrices de correlación se trabajó con la abundancia media para evaluar las posibles relaciones entre los diferentes tipos de leucocitos, abundancia media de piojos.

Perfil leucocitario

Las muestras de sangre se obtuvieron de la vena intravertebral extradural en la región lumbar inferior, usando una aguja espinal de 18 G \times 31/2", siguiendo el método descrito por Geraci y Smith (Geraci & Smith, 1975). Posteriormente se utilizó una gota de sangre fresca, directamente de la jeringa, para realizar el extendido sobre un portaobjeto, el cual se secó al aire y se fijó durante 3 min con etanol al 96%. Los extendidos de sangre, conocidos como frotis sanguíneos, fueron coloreados bajo la técnica de tinción de May-Grünwald-Giemsa derivada del método de Romanowsky (Menéndez-Blázquez et al., 2021). Este método se basa en que los diversos elementos celulares y tisulares adquieren color violeta bajo la acción de una sustancia colorante, la cual se une a los tejidos por enlaces iónicos, covalentes o de hidrógeno.

Recuento total de leucocitos

El recuento total de leucocitos se basó en la técnica de conteo de leucocitos en 10 campos microscópicos, propuesta por Menéndez-Blázquez y colaboradores (2021). Los frotis sanguíneos fueron observados por la misma persona mediante microscopio óptico

(objetivo 40x), seleccionando campos donde las células se distribuían en monocapa y con densidad de eritrocitos similar (200 aproximadamente). Se contabilizó la cantidad de leucocitos observados en 10 campos a 400x en cada frotis sanguíneo.

Recuento diferencial de leucocitos

El recuento diferencial de leucocitos, implica la identificación y conteo de los diferentes tipos de leucocitos hasta alcanzar los 100 leucocitos a 1000x (Dufva & Allander, 1995), utilizando un objetivo de 100x con aceite de inmersión. Dicho conteo se realizó por triplicado, por la misma persona, para realizar el cálculo de repetibilidad. La relación N/L fue calculada a partir del recuento de neutrófilos y linfocitos observados en cada frotis sanguíneo.

Para determinar la proporción relativa de los distintos tipos de leucocitos: neutrófilos, linfocitos, eosinófilos, monocitos y basófilos, se realizó el cálculo de repetibilidad con el fin de corroborar la eficacia de los recuentos. Se consideraron valores repetibles aquellos que oscilaron entre 74% y 98%, según Lessells y Boag (1987).

Adicionalmente, se realizaron matrices de correlación para evaluar las posibles relaciones entre los diferentes tipos de leucocitos, la abundancia media de piojos, la relación N/L y el RTL. Para este análisis se utilizó el software R v3.6.3 “Holding the Windsock” (R. Core Team, 2020)

Resultados

Recuento total de leucocitos

La media de RTL por especie y por año fue en 2019, para focas cangrejas (n=10): $32,20 \pm 4,29$; focas de Weddell (n=10): $38,00 \pm 5,46$ y para las focas leopardo (n=13): $23,00 \pm 2,80$. Y en el 2020, focas cangrejas (n=3): $42,8 \pm 6,83$; focas de Weddell (n=6): $43,50 \pm 5,26$ y para las focas leopardo (n=8): $37,20 \pm 4,34$.

Recuento diferencial de leucocitos

Se identificaron los diferentes tipos de leucocitos según características morfológicas y colores de tinción (basófilos/acidófilos) observadas en microscopio óptico (Figura 6.1). Los neutrófilos y linfocitos fueron los leucocitos más abundantes para las tres especies de focas y a su vez fue mayor la proporción de neutrófilos que de linfocitos en todos los casos. La Tabla 6.2 resume el recuento diferencial de leucocitos para cada especie de foca. El recuento de cada tipo de leucocito, se corroboró con los valores de repetibilidad obtenidos. Estos fueron para neutrófilos $r= 0,85$, linfocitos $r= 0,81$ y eosinófilos $r= 0,83$; los cuales superaron el valor umbral de 0,70 propuesto (Lessells & Boag, 1987). Los monocitos y basófilos no fueron considerados para este cálculo debido a su baja frecuencia en los extendidos sanguíneos analizados. No se observaron relaciones significativas entre ninguno de los tipos de leucocitos y la abundancia media en ninguna de las especies (Tablas 6.3)

Tabla 6.2 Proporción media (rango) de leucocitos, relación N/L y prevalencia por especie de foca y por año de muestreo.

	Basófilos	Eosinófilos	Linfocitos	Monocitos	Neutrófilos	N/L	Prevalencia % (IC 95%)
Cangrejeras 2019 (n=10)	0,5 (0-2)	8,5 (3-14)	32 (17-40)	2 (0-3)	57 (45-78)	1,7 (1,1-4,5)	80,0 (44,4-97,5)
Cangrejeras 2020 (n=3)	3 (1-5)	7,5 (2-14)	29 (15-33)	2 (0-3)	58,5 (44-77)	2,0 (1,3-4,8)	100,0 (29,2-100)
Weddell 2019 (n=10)	1 (0-3)	16,5 (2-28)	34 (18-43)	2 (0-5)	49,5 (32-59)	1,6 (0,9-2,5)	50,0 (18,7-81,3)
Weddell 2020 (n=6)	3 (1-4)	9 (2-11)	29 (16-32)	3 (1-4)	56 (30-66)	1,9 (1,4-2,6)	100,0 (54,1-100,0)
Leopardo 2019 (n=13)	0	14 (2-26)	29 (18-40)	2 (0-4)	56 (31-65)	2,1 (0,9-3,6)	23,1 (5,0-53,8)
Leopardo 2020 (n=8)	3 (0-4)	12 (3-14)	28 (15-38)	3 (0-3)	54 (44-77)	1,9 (1,3-2,5)	13,5 (0,3-52,6)

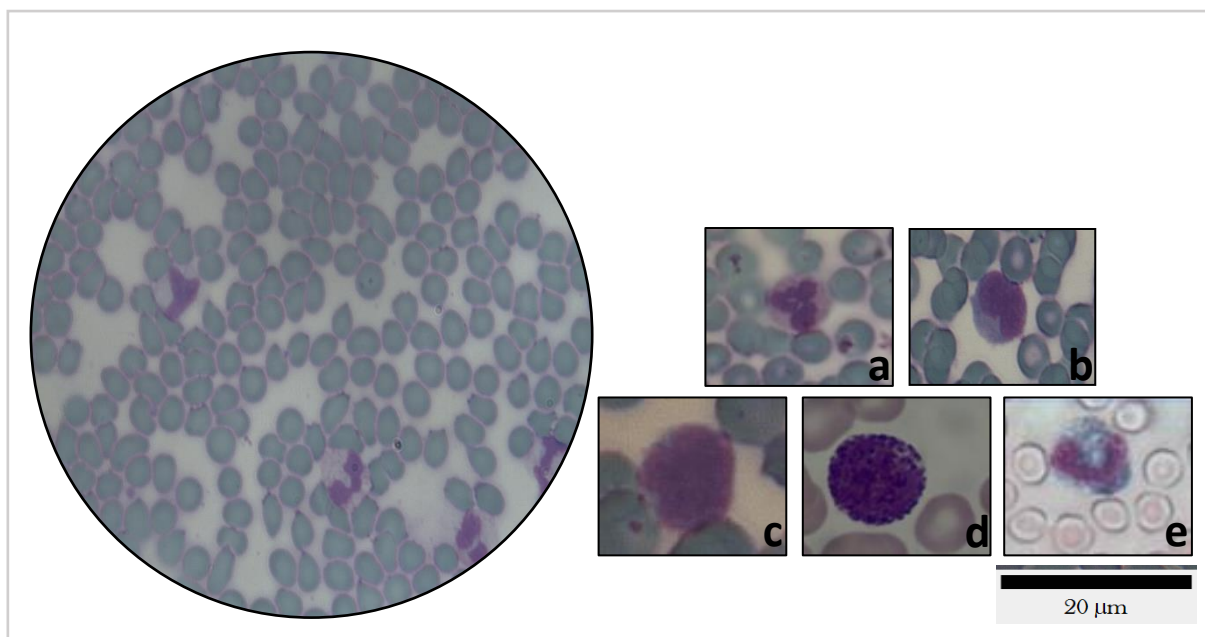


Figura 6.1 Foto de un campo de un frotis sanguíneo observado a 40X. Detalle de los diferentes tipos de leucocitos observados a 100X **a)** neutrófilo, **b)** monocito, **c)** linfocito, **d)** basófilo y **e)** eosinófilo. Células azules: eritrocitos.

Tabla 6.3 Matriz de correlación en conteos realizados en focas cangrejeras, para evaluar las posibles relaciones entre los diferentes tipos de leucocitos, la abundancia media de piojos, la relación N/L y el RTL.

	Ab. Media	Neutrófilos	Linfocitos	Eosinófilos	N/L	RTL
Ab. Media	1,000	-0,108	-0,189	0,398	0,077	-0,096
Neutrófilos	-0,108	1,000	-0,786	0,088	0,896	0,020
Linfocitos	-0,189	-0,786	1,000	-0,452	-0,906	0,335
Eosinófilos	0,398	0,088	-0,452	1,000	0,227	-0,229
N/L	0,077	0,896	-0,906	0,227	1,000	-0,187
RTL	-0,096	0,020	0,335	-0,229	-0,187	1,000

Tabla 6.4 Matriz de correlación en conteos realizados en focas de Weddell, para evaluar las posibles relaciones entre los diferentes tipos de leucocitos, la abundancia media de piojos, la relación N/L y el RTL

	Ab. Media	Neutrófilos	Linfocitos	Eosinófilos	N/L	RTL
Ab. Media	1,000	0,353	-0,109	-0,190	0,166	-0,485
Neutrófilos	0,353	1,000	-0,221	-0,618	0,512	-0,287
Linfocitos	-0,109	-0,221	1,000	-0,612	-0,921	-0,104
Eosinófilos	-0,190	-0,618	-0,612	1,000	0,300	0,331
N/L	0,166	0,512	-0,921	0,300	1,000	0,016
RTL	-0,485	-0,287	-0,104	0,331	0,016	1,000

Tabla 6.5 Matriz de correlación en conteos realizados en focas leopardo, para evaluar las posibles relaciones entre los diferentes tipos de leucocitos, la abundancia media de piojos, la relación N/L y el RTL

	Ab. Media	Neutrófilos	Linfocitos	Eosinófilos	N/L	RTL
Ab. Media	1,000	0,103	-0,130	-0,026	0,066	-0,061
Neutrófilos	0,103	1,000	-0,696	-0,544	0,791	-0,040
Linfocitos	-0,130	-0,696	1,000	-0,198	-0,962	-0,101
Eosinófilos	-0,026	-0,544	-0,198	1,000	0,046	0,225
N/L	0,066	0,791	-0,962	0,046	1,000	0,181
RTL	-0,061	-0,040	-0,101	0,225	0,181	1,000

Discusión

Los análisis leucocitarios son útiles en el campo de la ecofisiología de la conservación, dado que permiten un análisis del estado de salud en animales de vida libre y la evaluación del impacto de factores estresantes del entorno (DeRango et al., 2019; Marcus et al., 2015). Debido a esto, las evaluaciones inmunitarias resultan esenciales para monitorear el estado de salud de poblaciones animales. Si bien los parámetros hematológicos analizados fueron limitados, en este capítulo se exploraron los resultados basales que permiten monitorear la salud de estas especies de focas dependientes del hielo marino en la Península Antártica.

En el recuento total de leucocitos (RTL) la presencia de piojos fue un predictor positivo ya que las especies con mayores prevalencias de piojos (focas de Weddell y cangrejas) tuvieron un mayor número de leucocitos en 10 campos, que las focas leopardo, que tienen una prevalencia mucho más baja. Además, los individuos que tenían piojos, en las tres especies, mostraron una mayor proporción de linfocitos al igual que lo descrito para las focas de Weddell (Leonardi et al., 2019). Siendo la media de RTL en 2019 para focas cangrejas: $32,20 \pm 4,29$; para focas de Weddell: $38,00 \pm 5,46$ y para las focas leopardo:

23,00±2,80. Y en el 2020, focas cangrejas: 42,8 ± 6,83; focas de Weddell: 43,50 ± 5,26 y para las focas leopardo: 37,20 ± 4,34.

En el recuento diferencial de leucocitos se observó un predominio de los neutrófilos seguido de los linfocitos en las tres especies. Los valores medios obtenidos para dichos tipos de leucocitos, fueron relativamente más elevados en comparación con los valores hallados años anteriores en las mismas especies de focas, siendo para focas (Leonardi et al., 2019). Los resultados muestran un menor valor de N/L en las focas muestreadas por (Leonardi et al. 2019) en comparación con las focas muestreadas en los años 2019 y 2020. Siendo que los primeros años el N/L para focas cangrejas fue de 1,5 (0,6-3,8); para focas de Weddell 1,3 (0,3-2,5) y focas leopardo 1 (0,5-2,0) (Leonardi et al., 2019). Esto podría estar asociado a un mecanismo de respuesta ante factores estresantes del ambiente, ya que la circulación periférica de dichas células inmunológicas puede verse afectada por la presencia de glucocorticoides, las cuales incrementan los niveles de neutrófilos y reducen los niveles circulantes de linfocitos (Bishop et al., 1968; Sapolsky et al., 2000); aunque no es posible asegurarlo en un periodo tan corto de tiempo.

En esta muestra la proporción de eosinófilos fue mayor en focas de Weddell y leopardo que en focas cangrejas. Dado que los eosinófilos actúan principalmente en la defensa contra parásitos (Yamanishi et al., 2017), era esperable encontrar valores más altos en focas cangrejas y de Weddell que son las que presentan parámetros de infestación más elevados, pero no fue el caso. Lo mismo sucedió con las matrices de correlación, no encontrando relación entre el número de eosinófilos y el RTL o la relación N/L para ninguna de las especies. Esto podría estar indicando que la abundancia media de piojos no tiene un efecto en el número de eosinófilos, por lo que los piojos no generarían una respuesta que se vea reflejada en el perfil leucocitario.

No obstante, si se hubiera evaluado la carga de endoparásitos de todos los individuos la información de los perfiles leucocitarios sería más completa. En este caso no fue posible coleccionar las heces para evaluar endoparásitos de los mismos individuos a los que se tomó muestras sanguíneas porque eso implica que defecuen en el mismo momento en el que se toman las muestras, lo que es poco frecuente. Respecto a los conteos de monocitos y basófilos dieron valores muy bajos oscilando entre 1 y 3 por individuo, por lo que no es posible vincularlos con ningún tipo de infección. Respecto a los valores de prevalencia para las tres especies los valores más elevados estuvieron asociadas a valores más altos de N/L y esto podría asociarse con una menor condición corporal de los individuos analizados en ese periodo.

Cabe mencionar que tal como se sugiere en el trabajo de Whelan y colaboradores (1990), podría haber diferencias en la metabolización de los anestésicos y / o diferencias inherentes en la sensibilidad del tejido receptor del fármaco relacionadas con diferentes estados fisiológicos. Esto podría interferir en la redistribución de los leucocitos en circulación periférica, dado el tiempo que transcurre entre la sedación y la toma de la muestra sanguínea (aproximadamente 15 minutos). Por lo que a futuro se propone tomar las muestras de sangre utilizando la técnica de “*seal prick*” (Galimberti et al., 2007) para evitar la sedación de las focas y eliminar la respuesta de los glucocorticoides ante el efecto de los anestésicos utilizados.

Es importante destacar que ciertos análisis, como la determinación de concentración de inmunoglobulinas en el suero de las focas, no se pudieron realizar por las restricciones producto de la pandemia por COVID19. El sistema inmune, incluyendo las inmunoglobulinas como componente principal de la respuesta inmune humoral, es la principal vía por qué organismos se enfrentan a la infestación. Un alto nivel de inmunoglobulinas podría haber indicado un mayor impacto de parásitos y/o patógenos

(Barbosa et al., 2006). De todas formas, aunque hubiera sido ideal contar con más parámetros sanguíneos, la relación N/L ha sido ampliamente utilizada en ecología animal para detectar el estrés fisiológico (Davis et al., 2008; Dhabhar et al., 1995; Leonardi et al., 2019), por lo que resulta un buen estimador para evaluar el sistema inmune de estos pinnípedos e indirectamente su condición corporal.

Dadas las limitaciones que implican el acceso y la toma de muestras en ambientes antárticos, y la manipulación de individuos de gran tamaño como las especies estudiadas, los resultados aquí obtenidos pretenden brindar información de base sobre la condición corporal de estos pinnípedos. Realizando un monitoreo de la salud de estas focas dependientes del hielo marino en el rango norte de su distribución, la Península Antártica, ya que esta región está experimentando un cambio ambiental sin precedentes

Capítulo VII

Consideraciones finales: principales conclusiones, nuevos interrogantes y propuestas a futuro



Los piojos de la familia Echinophthiriidae son de los pocos insectos que han colonizado con éxito el medio marino. Sin embargo, sus huevos no sobreviven bajo el agua, por lo que sólo pueden reproducirse cuando su hospedador permanece en los bandejones de hielo el tiempo suficiente para garantizar su desarrollo. En consecuencia, las generaciones de piojos por año están limitadas por los patrones de entrada y salida al agua del hospedador. El objetivo principal de la presente Tesis fue estudiar la ecología parasitaria de tres especies de piojos presentes en focas asociadas a los bandejones de hielo en la Península Antártica. Para el abordaje del estudio de los parámetros de infestación se trabajó con las tres especies por separado; a continuación, se detallan las conclusiones más importantes.

Tal como se predijo en la primera hipótesis general, los parámetros de infestación estuvieron asociados al grado de sociabilización de sus hospedadores; fueron mayores en las especies de fócidos de hábitos sociales, es decir, la foca cangrejera y de Weddell, y menores en la foca leopardo.

Respecto a la segunda hipótesis sobre el ciclo reproductivo de los piojos, se observó que su proceso de reproducción se ajusta exactamente al momento que los hospedadores pasan fuera del agua, en este caso durante el periodo de muda. Los piojos *Antarctophthirus lobodontis* de las focas cangrejas y *A. ogmorhini* de las focas leopardo se estarían reproduciendo, dado que se encontraron todos los estadios del ciclo de vida. Sin embargo, en el caso de *A. carlinii* de las focas de Weddell, no se reproducirían durante este momento del ciclo anual.

Es importante mencionar que se observaron huevos viables de *A. lobodontis*, por lo que se destaca la necesidad de seguir realizando estudios experimentales para determinar los tiempos de supervivencia de cada estadio del piojo bajo el agua.

En relación a la tercera hipótesis, la evaluación de la condición corporal, no se pudo abordar de la manera que se había planteado, ya que solo se analizaron los conteos leucocitarios. De todas maneras, los resultados obtenidos permiten determinar que la relación Neutrófilos/Linfocitos es un buen estimador para evaluar el sistema inmune de los pinnípedos e indirectamente su condición corporal. Mientras que, en el Recuento Total de Leucocitos, la presencia de piojos resultó un predictor positivo, siendo las focas con mayores prevalencias de piojos las que presentaron mayor proporción de leucocitos.

En las últimas décadas se han realizados numerosos estudios en el continente Antártico, los cuales han brindado información de calidad para la comprensión de su ecosistema; sin embargo, queda en evidencia que la Antártida ya no es un continente aislado y prístino.

En este sentido, la información presentada en esta Tesis contribuye, no solo con el conocimiento de estas asociaciones ecológicas entre focas y piojos, sino que también brinda una línea de base del estado sanitario de estos tres pinnípedos antárticos, que por ser predadores de niveles tróficos altos se consideran buenos centinelas del estado de salud del ecosistema antártico. Además, por ser especies longevas, con ciclos de reproducción lentos, son mucho más vulnerables que otras especies a las perturbaciones ambientales, tales como como la alteración del hábitat, disponibilidad de presas y efectos antrópicos entre otros. En lo que respecta al estudio sanitario de estas especies, la información disponible es escasa. Y una de las preguntas que surge ante este escaso conocimiento es ¿cómo afectará el cambio climático el riesgo de propagación de infecciones emergentes en la Antártida?

En este contexto, y dado que sigue siendo un desafío determinar cómo el cambio climático afectará el riesgo de propagación de enfermedades infecciosas emergentes en la Antártida, la propuesta a futuro es evaluar el estado sanitario de estos pinnípedos antárticos. Estos estudios permitirán conocer la magnitud de los daños causados por los

posibles patógenos e incluso evaluar su potencial riesgo zoonótico. Para ello son de gran utilidad los datos y las muestras obtenidos en esta Tesis, así como también las exploraciones futuras de la presencia de patógenos y vectores de patógenos, como herramienta para el monitoreo a largo plazo de la salud de estas poblaciones y del ecosistema de la Península Antártica.

Referencias bibliográficas

- Adam, P. J. (2005). Lobodon carcinophaga. *Mammalian Species*, 772, 1-14.
- Akaike, H. (1985). Prediction and entropy. *A celebration of statistics*.
- Allen, J. R. (1994). Host resistance to ectoparasites. *Revue Scientifique et Technique - Office International Des Épizooties*, 13(4), 1287-1303.
<https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19950504998>
- Anderson, R. M., & May, R. M. (1978). Regulation and stability of host-parasite population interactions. 1. Regulatory processes. *Journal of Animal Ecology*.
- Andrews-Goff, V., Hindell, M., Field, I., Wheatley, K., & Charrassin, J. (2010). Factors influencing the winter haulout behaviour of Weddell seals: Consequences for satellite telemetry. *Endangered Species Research*, 10, 83-92. <https://doi.org/10.3354/esr00257>
- Arneberg, P. (1998). Host densities as determinants of abundance in parasite communities: Comparative analyses of directly transmitted nematodes of mammals. *Ecography*, 25, 88-94.
- Atkinson, A., Hill, S. L., Pakhomov, E. A., Siegel, V., Anadon, R., Chiba, S., Daly, K. L., Downie, R., Fielding, S., & Fretwell, P. (2017). KRILLBASE: A circumpolar database of Antarctic krill and salp numerical densities, 1926–2016. *Earth System Science Data*, 9(1), 193-210.
- Atkinson, A., Siegel, V., Pakhomov, E., & Rothery, P. (2004). Long-term decline in krill stock and increase in salps within the Southern Ocean. *Nature*, 432(7013), 100-103. <https://doi.org/10.1038/nature02996>
- Aznar, F. J., Leonardi, M. S., Vera, B. B., Vales, D. G., Ameghino, S., Raga, J. A., & Crespo, E. A. (2009). Population dynamics of *Antarctophthirus microchir* (Anoplura: Echinophthiriidae) in pups from South American sea lion, *Otaria flavescens*, in Northern Patagonia. *Parasitology*, 136(3), 293-303.
- Barbosa, A., de Mas, E., Benzal, J., Diaz, J. I., Motas, M., Jerez, S., Pertierra, L., Benayas, J., Justel, A., Lauzurica, P., Garcia-Peña, F. J., & Serrano, T. (2013). Pollution and physiological variability in gentoo penguins at two rookeries with different levels of human visitation. *Antarctic Science*, 25(2), 329-338.
<https://doi.org/10.1017/S0954102012000739>
- Barbosa, A., Merino, S., Benzal, J., Martinez, J., & García-Fraile, S. (2006). Geographic variation in the immunoglobulin levels in pygoscelid penguins. *Polar Biology*, 30(2), 219-225. <https://doi.org/10.1007/s00300-006-0175-9>
- Beldomenico, P. M., Telfer, S., Gebert, S., Lukomski, L., Bennett, M., & Begon, M. (2008). The dynamics of health in wild field vole populations: A haematological perspective. *Journal of Animal Ecology*, 77(5), 984-997. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2008.01413.x>
- Bengston, J. (2009). *Encyclopedia of marine mammals* (W. Perrin, B. Würsig, & J. Thewissen, Eds.). Academic Press.

- Bengtson, J. L. (2009). Crabeater seal: *Lobodon carcinophaga*. En *Encyclopedia of marine mammals* (pp. 290-292). Elsevier.
- Bengtson, J. L., & Cameron, M. F. (2004). Seasonal haulout patterns of crabeater seals (*Lobodon carcinophaga*). *Polar Biology*, 27(6), 344-349. <https://doi.org/10.1007/s00300-004-0597-1>
- Bengtson, J. L., Laake, J. L., Boveng, P. L., Cameron, M. F., Bradley Hanson, M., & Stewart, B. S. (2011). Distribution, density, and abundance of pack-ice seals in the Amundsen and Ross Seas, Antarctica. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 58(9), 1261-1276. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2010.10.037>
- Bester, M. N., Ferguson, J. W. H., & Jonker, F. C. (2002). Population densities of pack ice seals in the Lazarev Sea, Antarctica. *Antarctic Science*, 14(2), 123-127. <https://doi.org/10.1017/S0954102002000676>
- Bishop, C. R., Athens, J. W., Boggs, D. R., Warner, H. R., Cartwright, G. E., & Wintrobe, M. M. (1968). Leukokinetic studies. *Journal of Clinical Investigation*, 47(2), 249-260. <https://doi.org/10.1172/JCI105721>
- Borsa, P. (1990). Seasonal occurrence of the leopard seal, *Hydrurga leptonyx*, in the Kerguelen Islands. *Canadian Journal of Zoology*, 68(2), 405-408. <https://doi.org/10.1139/z90-059>
- Bossart, G. D. (2011). Marine Mammals as Sentinel Species for Oceans and Human Health. *Veterinary Pathology*, 48(3), 676-690. <https://doi.org/10.1177/0300985810388525>
- Brock, P. M., Hall, A. J., Goodman, S. J., Cruz, M., & Acevedo-Whitehouse, K. (2013). Immune Activity, Body Condition and Human-Associated Environmental Impacts in a Wild Marine Mammal. *PLOS ONE*, 8(6), e67132. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0067132>
- Brooks, M. E., Kristensen, K., van Benthem, K. J., Magnusson, A., Berg, C. W., Nielsen, A., Skaug, H. J., Machler, M., & Bolker, B. M. (2017). GlmmTMB balances speed and flexibility among packages for zero-inflated generalized linear mixed modeling. *The R Journal*, 9(2), 378-400. <https://doi.org/10.3929/ethz-b-000240890>
- Burnham, K. P., & Anderson, D. R. (2002). Model selection and multimodel inference: A practical-theoretical approach. *J. Wildl. Manag.* <https://doi.org/10.1007/b97636>.
- Burns, J., & Kooyman, G. (2001). Habitat Use by Weddell Seals and Emperor Penguins Foraging in the Ross Sea, Antarctica. *American Zoologist*, 41(1), 90-98. <https://doi.org/10.1093/icb/41.1.90>
- Burns, J. M., Castellini, M. A., & Testa, J. W. (1999). Movements and diving behavior of weaned Weddell seal (*Leptonychotes weddellii*) pups. *Polar Biology*, 21(1), 23-36. <https://doi.org/10.1007/s0030000050329>
- Burns, J. M., Costa, D. P., Fedak, M. A., Hindell, M. A., Bradshaw, C. J., Gales, N. J., McDonald, B., Trumble, S. J., & Crocker, D. E. (2004). Winter habitat use and foraging

behavior of crabeater seals along the Western Antarctic Peninsula. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 51(17-19), 2279-2303.

Bush, A., Fernández, J., Gerald, W., & Richard Seed, J. (2001). *Parasitism: The diversity and ecology of animal parasites*. Cambridge University Press.

Bush, A., Lafferty, K., Lotz, J., & Shostak, A. (1997). Parasitology meets ecology on its own terms: Margolis et al. revisited. *The Journal of parasitology*, 575-583.

Cammen, K., Hoffman, J. I., Knapp, L. A., Harwood, J., & Amos, W. (2011). Geographic variation of the major histocompatibility complex in Eastern Atlantic grey seals (*Halichoerus grypus*). *Molecular Ecology*, 20(4), 740-752.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2010.04975.x>

Cappozzo, H., Panebianco, M., & Túnez, J. (2013). Marine Mammals in a Changing World. *Marine Ecology in a Changing World*. CRC Press, Boca Ratón, Florida, Estados Unidos, 219-259., 219-259.

Casaux, R., Bertolin, M. L., & Carlini, A. (2011). Feeding habits of three seal species at the Danco Coast, Antarctica: A re-assessment. *Polar Biology*, 34(10), 1615-1620.
<https://doi.org/10.1007/s00300-011-0994-1>

Castellini, M. A., Davis, R. W., Loughlin, T. R., & Williams, T. M. (1993). Blood chemistries and body condition of Steller sea lion pups at Marmot Island, Alaska. *Blood chemistries and body condition of Steller sea lion pups at Marmot Island, Alaska*, 9(2), 202-208.

Cimino, M. A., Fraser, W. R., Irwin, A. J., & Oliver, M. J. (2013). Satellite data identify decadal trends in the quality of *Pygoscelis* penguin chick-rearing habitat. *Global Change Biology*, 19(1), 136-148. <https://doi.org/10.1111/gcb.12016>

Claver, J. A., & Quaglia, A. I. E. (2009). Comparative Morphology, Development, and Function of Blood Cells in Nonmammalian Vertebrates. *Journal of Exotic Pet Medicine*, 18(2), 87-97. <https://doi.org/10.1053/j.jepm.2009.04.006>

Coetzee, B. W. T., & Chown, S. L. (2016). A meta-analysis of human disturbance impacts on Antarctic wildlife: Human disturbance impacts on Antarctic wildlife. *Biological Reviews*, 91(3), 578-596. <https://doi.org/10.1111/brv.12184>

Condy, P. R. (1977). *Results of the fourth seal survey in the King Haakon VII Sea, Antarctica*. <https://alp.lib.sun.ac.za:443/handle/123456789/26121>

Costa, D. P. (1993). *The relationship between reproductive and foraging energetics and the evolution of Pinnipedia* (In *Marine Mammals: Advances in Behavioural and Population Biology*., Vol. 66).

Costa, D. P., Huckstadt, L. A., Crocker, D. E., McDonald, B. I., Goebel, M. E., & Fedak, M. A. (2010). Approaches to Studying Climatic Change and its Role on the Habitat Selection of Antarctic Pinnipeds. *Integrative and Comparative Biology*, 50(6), 1018-1030. <https://doi.org/10.1093/icb/icq054>

Dailey, M., & Brownell, L. (1972). A checklist of marine mammal parasites. Charles C. Thomas, Springfield, Illinois. *Mammals of the sea: biology and medicine*, 528-589.

- Davis, A. K., Maney, D. L., & Maerz, J. C. (2008). The use of leukocyte profiles to measure stress in vertebrates: A review for ecologists. *Functional Ecology*, 22(5), 760-772. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2008.01467.x>
- Davis, C., Stirling, I., & Strobeck, C. (2000). *Genetic diversity of Antarctic pack-ice seals in relation to life history characteristics*. (In: W. Davison, C. HowardWilliams&P. Broady (eds.) Antarctic Ecosystems: Models for Wider Ecological Understanding.)
- de Meeûs, T., Michalakis, Y., & Renaud, F. (1998). Santa Rosalia Revisited: Or Why Are There So Many Kinds of Parasites in The Garden of Earthly Delights'? *Parasitology Today*, 14(1), 10-13.
- de Swart, R. L., Ross, P. S., Vos, J. G., & Osterhaus, A. D. (1996). Impaired immunity in harbour seals (*Phoca vitulina*) exposed to bioaccumulated environmental contaminants: Review of a long-term feeding study. *Environmental Health Perspectives*, 104(suppl 4), 823-828. <https://doi.org/10.1289/ehp.96104s4823>
- Deerenberg, C., Arpanius, V., Daan, S., & Bos, N. (1997). Reproductive effort decreases antibody responsiveness. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 264(1384), 1021-1029. <https://doi.org/10.1098/rspb.1997.0141>
- DeRango, E. J., Prager, K. C., Greig, D. J., Hooper, A. W., & Crocker, D. E. (2019). Climate variability and life history impact stress, thyroid, and immune markers in California sea lions (*Zalophus californianus*) during El Niño conditions. *Conservation Physiology*, 7(1), coz010. <https://doi.org/10.1093/conphys/coz010>
- Dhabhar, F. S. (2002). Stress-induced augmentation of immune function—The role of stress hormones, leukocyte trafficking, and cytokines. *Brain, Behavior, and Immunity*, 16(6), 785-798. [https://doi.org/10.1016/S0889-1591\(02\)00036-3](https://doi.org/10.1016/S0889-1591(02)00036-3)
- Dhabhar, F. S., Miller, A. H., McEwen, B. S., & Spencer, R. L. (1995). Effects of stress on immune cell distribution. Dynamics and hormonal mechanisms. *The Journal of Immunology*, 154(10), 5511-5527. <https://doi.org/10.4049/jimmunol.154.10.5511>
- Dong, Y., Zhao, M., & Shao, R. (2022). Fragmented mitochondrial genomes of seal lice (family Echinophthiriidae) and gorilla louse (family Pthiridae): Frequent minichromosomal splits and a host switch of lice between seals. *BMC Genomics*, 23(1), 283. <https://doi.org/10.1186/s12864-022-08530-8>
- Ducklow, H., Fraser, W., Meredith, M., Stammerjohn, S., Doney, S., Martinson, D., Saille, S., Schofield, O., Steinberg, D., Venables, H., & Amsler, C. (2013). West Antarctic Peninsula: An Ice-Dependent Coastal Marine Ecosystem in Transition. *Oceanography*, 26(3), 190-203. <https://doi.org/10.5670/oceanog.2013.62>
- Dufva, R., & Allander, K. (1995). Intraspecific Variation in Plumage Coloration Reflects Immune Response in Great Tit (*Parus major*) Males. *Functional Ecology*, 9(5), 785. <https://doi.org/10.2307/2390253>
- Durden, L., & Musser, G. (1994). THE SUCKING LICE (INSECTA, ANOPLURA) OF THE WORLD: A TAXONOMIC CHECKLIST WITH RECORDS OF MAMMALIAN HOSTS AND GEOGRAPHICAL DISTRIBUTIONS. *New York: American Museum of Natural History.*, 218, 90.

- Enderlein, G. (1906). Läusestudien. V. Schuppen als sekundäre Atmungsorgane, sowie über eine neue antarktische Echinophthiriiden-Gattung. *Zool Anz*, 29, 659-665.
- Erickson, A. W., & Hanson, M. B. (1990). Continental Estimates and Population Trends of Antarctic Ice Seals. En K. R. Kerry & G. Hempel (Eds.), *Antarctic Ecosystems* (pp. 253-264). Springer. https://doi.org/10.1007/978-3-642-84074-6_29
- Fan, T., Deser, C., & Schneider, D. P. (2014). Recent Antarctic sea ice trends in the context of Southern Ocean surface climate variations since 1950: FAN ET AL. *Geophysical Research Letters*, 41(7), 2419-2426. <https://doi.org/10.1002/2014GL059239>
- Ferster, B. S., Subrahmanyam, B., & Arguez, A. (2019). Recent Changes in Southern Ocean Circulation and Climate. *IEEE Geoscience and Remote Sensing Letters*, 16(5), 667-671. <https://doi.org/10.1109/LGRS.2018.2880589>
- Flores, H., Atkinson, A., Kawaguchi, S., Krafft, B., Milinevsky, G., Nicol, S., Reiss, C., Tarling, G., Werner, R., Bravo Rebolledo, E., Cirelli, V., Cuzin-Roudy, J., Fielding, S., van Franeker, J., Groeneveld, J., Haraldsson, M., Lombana, A., Marschoff, E., Meyer, B., ... Werner, T. (2012). Impact of climate change on Antarctic krill. *Marine Ecology Progress Series*, 458, 1-19. <https://doi.org/10.3354/meps09831>
- Forcada, J., Trathan, P. N., & Murphy, E. J. (2008). Life history buffering in Antarctic mammals and birds against changing patterns of climate and environmental variation: LIFE HISTORY BUFFERING TO ANTARCTIC CLIMATE. *Global Change Biology*, 14(11), 2473-2488. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2486.2008.01678.x>
- Fraser, A. D., Massom, R. A., Michael, K. J., Galton-Fenzi, B. K., & Lieser, J. L. (2012). East Antarctic Landfast Sea Ice Distribution and Variability, 2000–08. *Journal of Climate*, 25(4), 1137-1156. <https://doi.org/10.1175/JCLI-D-10-05032.1>
- Galimberti, F., Sanvito, S., Braschi, C., & Boitani, L. (2007). The cost of success: Reproductive effort in male southern elephant seals (*Mirounga leonina*). *Behavioral Ecology and Sociobiology*, 62(2), 159-171. <https://doi.org/10.1007/s00265-007-0450-y>
- Geraci, J. R., & Smith, T. G. (1975). Functional hematology of ringed seals (*Phoca hispida*) in the Canadian Arctic. *Journal of the Fisheries Board of Canada*, 32(12), 2559-2564.
- Gilbert, J. R., & Erickson, A. W. (1977). Distribution and abundance of seals in the pack ice of the Pacific sector of the Southern Ocean. *Adaptations within Antarctic ecosystems.*, 703-740.
- Gray, R. B., Rogers, T. L., & Canfield, P. J. (2009). Health Assessment of the Leopard Seal, *Hydrurga leptonyx*, in Prydz Bay, Eastern Antarctica and NSW, Australia. En K. R. Kerry & M. Riddle (Eds.), *Health of Antarctic Wildlife* (pp. 167-192). Springer Berlin Heidelberg. https://doi.org/10.1007/978-3-540-93923-8_10
- Grimaldi, W. W., Hall, R. J., White, D. D., Wang, J., Massaro, M., & Tompkins, D. M. (2015). First report of a feather loss condition in Adelie penguins (*Pygoscelis adeliae*) on Ross Island, Antarctica, and a preliminary investigation of its cause. *Emu - Austral Ornithology*, 115(2), 185-189. <https://doi.org/10.1071/MU14068>

- Harder, T. C., Plötz, J., & Liess, B. (1991). Antibodies against European phocine herpesvirus isolates detected in sera of Antarctic seals. *Polar Biology*, *11*, 509-512.
- Hartig, F., & Lohse, L. (2021). *DHARMA: Residual Diagnostics for Hierarchical (Multi-Level/Mixed) Regression Models*. Vienna: R Core Team.
- Harvell, C. D., Mitchell, C. E., Ward, J. R., Altizer, S., Dobson, A. P., Ostfeld, R. S., & Samuel, M. D. (2002). Climate Warming and Disease Risks for Terrestrial and Marine Biota. *Science*, *296*(5576), 2158-2162. <https://doi.org/10.1126/science.1063699>
- Hewitt, R. P., & Lipsky, J. D. (2002). Krill. *Encyclopedia of Marine Mammals*. Academic Press, San Diego, 676-684.
- Hindell, M. A., Sumner, M., Bestley, S., Wotherspoon, S., Harcourt, R. G., Lea, M.-A., Alderman, R., & McMahon, C. R. (2017). Decadal changes in habitat characteristics influence population trajectories of southern elephant seals. *Global Change Biology*, *23*(12), 5136-5150. <https://doi.org/10.1111/gcb.13776>
- Hinton, H. E. (1976). Respiratory adaptations of marine insects. *Marine insects*, *43*, 79. <https://www.cancilleria.gob.ar/es/iniciativas/dna/instituto-antartico-argentino>. (s. f.).
- Hückstädt. (2014). *Leptonychotes weddellii*: Hückstädt, L.: *The IUCN Red List of Threatened Species 2015: e.T11696A45226713* [Data set]. International Union for Conservation of Nature. <https://doi.org/10.2305/IUCN.UK.2015-4.RLTS.T11696A45226713.en>
- Hurvich, C. M., & Tsai, C.-L. (1989). Regression and time series model selection in small samples. *Biometrika*, *76*(2), 297-307.
- IPCC. (2022). *Climate Change 2022: Mitigation of Climate Change. Contribution of Working Group III to the Sixth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. <https://doi.org/10.1017/9781009157926>
- Jones, K. E., Patel, N. G., Levy, M. A., Storeygard, A., Balk, D., Gittleman, J. L., & Daszak, P. (2008). Global trends in emerging infectious diseases. *Nature*, *451*(7181), 990-993. <https://doi.org/10.1038/nature06536>
- Juul-Madsen, H. R., Viertlboeck, B., Smith, A. L., & Göbel, T. W. (2008). *Avian innate immune responses*. Davison F, Kaspers B, Schat KA (Eds) *Avian Immunology*, 1st edn. Oxford, UK, pp 129-158.
- Kim. (1975). Ecology and morphological adaptation of the sucking lice (Anoplura, Echinophthiriidae) on the northern fur seal. *Rapport et Procès verbaux des Réunions du conseil Permanent International pour l'Exploration de la Mer*, *169*, 504-515.
- Kim, K. (1971). The sucking lice (Anoplura: Echinophthiriidae) of the northern fur seal; descriptions and morphological adaptation. *Annals of the Entomological Society of America*, *64*(1), 280-292. <https://doi.org/10.1093/aesa/64.1.280>
- Kim, K. C. (1972). Louse populations of the northern fur seal (*Callorhinus ursinus*). *Amer J Vet Res*.
- Kim, K. C. (Ed.). (1985). *Coevolution of parasitic arthropods and mammals*. Wiley.

- Kuhn, C. E., McDonald, B. I., Shaffer, S. A., Barnes, J., Crocker, D. E., Burns, J., & Costa, D. P. (2006). Diving physiology and winter foraging behavior of a juvenile leopard seal (*Hydrurga leptonyx*). *Polar Biology*, 29(4), 303-307. <https://doi.org/10.1007/s00300-005-0053-x>
- Lafferty, K. D. (1997). Environmental parasitology: What can parasites tell us about human impacts on the environment? *Parasitology today*, 13(7), 251-255.
- Lafferty, K. D., Allesina, S., Arim, M., Briggs, C. J., De Leo, G., Dobson, A. P., Dunne, J. A., Johnson, P. T. J., Kuris, A. M., Marcogliese, D. J., Martinez, N. D., Memmott, J., Marquet, P. A., McLaughlin, J. P., Mordecai, E. A., Pascual, M., Poulin, R., & Thielges, D. W. (2008). Parasites in food webs: The ultimate missing links: Parasites in food webs. *Ecology Letters*, 11(6), 533-546. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2008.01174.x>
- Laws, R. M., Baird, A., & Bryden, M. M. (2003). Breeding season and embryonic diapause in crabeater seals (*Lobodon carcinophagus*). *REPRODUCTION-CAMBRIDGE-*, 126(3), 365-370.
- Learmonth, J., Maclead, C., Santos, M., Pierce, G., Crick, H., & Robinson, R. (2006). *Oceanography and Marine Biology: An Annual Review, Volume 44* (Vol. 44). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420006391>
- Lee, K. A. (2006). Linking immune defenses and life history at the levels of the individual and the species. *Integrative and Comparative Biology*, 46(6), 1000-1015. <https://doi.org/10.1093/icb/icl049>
- Leidenberger, S., Harding, K., & Härkönen, T. (2007). Phocid seals, seal lice and heartworms: A terrestrial host-parasite system conveyed to the marine environment. *Diseases of Aquatic Organisms*, 77, 235-253. <https://doi.org/10.3354/dao01823>
- Lenth, R., Singmann, H., Love, J., Buerkner, P., & Herve, M. (2020). *Emmeans: Estimated Marginal Means, Aka Least-Squares Means*.
- Leonardi, M. S. (2014). Faster the better: A reliable technique to sample anopluran lice in large hosts. *Parasitology research*, 113, 2015-2018. <https://doi.org/10.1007/s00436-014-3890-0>
- Leonardi, M. S., Bobinac, M., & Negrete, J. (2016). Redescription of *Antarctophthirus lobodontis* (Anoplura: Echinophthiriidae) from the crabeater seal and identification key for Antarctic lice. *Polar Biology*, 39(4), 671-676. <https://doi.org/10.1007/s00300-015-1822-9>
- Leonardi, M. S., Crespo, E. A., Raga, J. A., & Aznar, F. J. (2013). Lousy mums: Patterns of vertical transmission of an amphibious louse. *Parasitology research*, 112, 3315-3323.
- Leonardi, M. S., Crespo, E. A., Raga, J. A., & Fernández, M. (2012). Scanning electron microscopy of *Antarctophthirus microchir* (Phthiraptera: Anoplura: Echinophthiriidae): Studying morphological adaptations to aquatic life. *Micron*, 43(9), 929-936. <https://doi.org/10.1016/j.micron.2012.03.009>

- Leonardi, M. S., Crespo, J. E., Soto, F. A., Vera, R. B., Rua, J. C., & Lazzari, C. R. (2020). Under pressure: The extraordinary survival of seal lice in the depth of the sea. *Journal of Experimental Biology*, jeb.226811. <https://doi.org/10.1242/jeb.226811>
- Leonardi, M. S., Crespo, J. E., Soto, F., & Lazzari, C. R. (2021). How Did Seal Lice Turn into the Only Truly Marine Insects? *Insects*, 13(1), 46. <https://doi.org/10.3390/insects13010046>
- Leonardi, M. S., D'Amico, V. L., Márquez, M. E., Rogers, T. L., & Negrete, J. (2019). Leukocyte counts in three sympatric pack-ice seal species from the western Antarctic Peninsula. *Polar Biology*, 42(10), 1801-1809. <https://doi.org/10.1007/s00300-019-02551-y>
- Leonardi, M. S., & Lazzari, C. R. (2014). Uncovering deep mysteries: The underwater life of an amphibious louse. *Journal of Insect Physiology*, 71, 164-169. <https://doi.org/10.1016/j.jinsphys.2014.10.016>
- Leonardi, M. S., & Palma, R. L. (2013). Review of the systematics, biology and ecology of lice from pinnipeds and river otters (Insecta: Phthiraptera: Anoplura: Echinophthiriidae). *Zootaxa*, 3630(3), 445-466. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.3630.3.3>
- Leonardi, M. S., Poljak, S., Carlini, P., Galliari, J., Bobinac, M., Santos, M., Márquez, M. E., & Negrete, J. (2014). *Antarctophthirus carlinii* (Anoplura: Echinophthiriidae), a new species from the Weddell seal *Leptonychotes weddelli*. *Parasitology research*, 113, 3947-3951.
- Leonardi, M. S., Virrueta Herrera, S., Sweet, A., Negrete, J., & Johnson, K. P. (2019). Phylogenomic analysis of seal lice reveals codivergence with their hosts. *Systematic Entomology*, 44(4), 699-708. <https://doi.org/10.1111/syen.12350>
- Lessells, C. M., & Boag, P. T. (1987). Unrepeatable Repeatabilities: A Common Mistake. *The Auk*, 104(1), 116-121. <https://doi.org/10.2307/4087240>
- Lindén, A., & Mäntyniemi, S. (2011). Using the negative binomial distribution to model overdispersion in ecological count data. *Ecology*, 92(7), 1414-1421.
- Marcogliese, D., & Cone, D. (1997). Food webs: A plea for parasites. *Trends in ecology & evolution (Amsterdam)*, 12(8), 320-325.
- Marcus, A. D., Higgins, D. P., & Gray, R. (2015). Health assessment of free-ranging endangered Australian sea lion (*Neophoca cinerea*) pups: Effect of haematophagous parasites on haematological parameters. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 184, 132-143. <https://doi.org/10.1016/j.cbpa.2015.02.017>
- May, R. M., & Anderson, R. M. (1978). Regulation and stability of host-parasite population interactions: II. Destabilizing processes. *The Journal of Animal Ecology*, 249-267.
- McMahon, C. R., & Burton, H. R. (2005). Climate change and seal survival: Evidence for environmentally mediated changes in elephant seal, *Mirounga leonina*, pup

survival. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 272(1566), 923-928. <https://doi.org/10.1098/rspb.2004.3038>

Mehlhorn, B., Mehlhorn, H., & Plötz, J. (2002). Light and scanning electron microscopical study on *Antarctophthirus ogmorhini* lice from the Antarctic seal *Leptonychotes weddellii*. *Parasitology Research*, 88(7), 651-660. <https://doi.org/10.1007/s00436-002-0630-7>

Menéndez-Blázquez, J., Soto, F., Negrete, J., Colominas-Ciuró, R., Marín-Sierra, A., Ricca, M., & Barbosa, A. (2021). Leukocyte counts in blood smears of Antarctic seals and penguins: A new less time-consuming method. *Polar Biology*, 44(11), 2195-2198. <https://doi.org/10.1007/s00300-021-02950-0>

Mos, L., Morsey, B., Jeffries, S. J., Yunker, M. B., Raverty, S., De Guise, S., & Ross, P. S. (2006). CHEMICAL AND BIOLOGICAL POLLUTION CONTRIBUTE TO THE IMMUNOLOGICAL PROFILES OF FREE-RANGING HARBOR SEALS. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 25(12), 3110. <https://doi.org/10.1897/06-027R.1>

Murray, M. (1976). *Marine insects*. North-Holland Publ. Co.

Murray, M. D. (1958). Ecology of the louse *Lepidophthirus macrorhini* Enderlein 1904 on the elephant seal *Mirounga leonina* (L.). *Nature*, 182, 404-405.

Murray, M. D. (1987). Arthropods—The pelage of mammals as an environment. *International journal for parasitology*, 17(1), 191-195.

Murray, M. D., & Nicholls, D. G. (1965). Studies on the ectoparasites of seals and penguins. 1. The ecology of the louse *Lepidophthirus macrorhini* Enderlein on the southern elephant seal, *Mirounga leonina* (L.). *Australian Journal of Zoology*, 13(3), 437-454.

Murray, M., Smith, M., & Soucek, Z. (1965). Studies on the ectoparasites of seals and penguins. 2. The ecology of the louse *Antarctophthirus ogmorhini* enderlein on the weddell seal, *Leptonychotes weddellii* lesson. *Australian Journal of Zoology*, 13(5), 761-772.

Norris, K., & Evans, M. R. (2000). Ecological immunology: Life history trade-offs and immune defense in birds. *Behavioral Ecology*, 11(1), 19-26. <https://doi.org/10.1093/beheco/11.1.19>

Øritsland, T. (1970). Sealing and seal research in the southwest Atlantic pack ice, Sept-Oct 1964. *Antarctic ecology*, 1, 367-376.

Pinheiro, J., Bates, D., Debroy, S., & Sarkar, D. (2021). *Nlme: Linear and Nonlinear Mixed Effects Models*. R Core, T.

Poljak, S., Sánchez, J., Selzer, L., Lizarralde, M., & Negrete, J. (2017). ¿Unusual abundance of crabeater seals around Punta Cierva, Antarctic peninsula? Speculations on the importance of food resources vs. The presence of pack/fast ice for this species. Guaiquil I, Leppe M, Rojas P, Canales R Eds. Visiones de Ciencia Antártica, Libro de

Resúmenes, IX Congreso Latinoamericano de Ciencias Antártica, Punta Arenas-Chile. Publicación del Instituto Antártico Chileno.

R. Core Team. (2020). R: A language and environment for statistical computing. Vienna, Austria: R Found. *Stat. Comput.*

Rogers, T. L. (2009). Leopard seal: *Hydrurga leptonyx*. En *Encyclopedia of marine mammals* (pp. 673-674). Elsevier.

Roitt, I., Brostoff, J., & Male, D. (2001). *Immunology*. Mosby, London.

Roitt, I., Brostoff, J., & Male, D. (1993). *Regulation of the immune response*. In Roitt I, Brostoff J, Male D (Eds) *Immunology*. Mosby-Year Book, 3 ed, London, pp 1-12.

Rounsevell, D., & Eberhard, I. (1980). Leopard Seals, *Hydrurga leptonyx* (Pinnipedia), at Macquarie Island from 1949 to 1979. *Wildlife Research*, 7(3), 403.
<https://doi.org/10.1071/WR9800403>

Sahade, R., Lagler, C., Torre, L., Momo, F., Monien, P., Schloss, I., Barnes, D. K., Servetto, N., Tarantelli, S., & Tatián, M. (2015). Climate change and glacier retreat drive shifts in an Antarctic benthic ecosystem. *Science Advances*, 1(10), e1500050.

Sapolsky, R. M., Romero, L. M., & Munck, A. U. (2000). How Do Glucocorticoids Influence Stress Responses? Integrating Permissive, Suppressive, Stimulatory, and Preparative Actions*. *Endocrine Reviews*, 21(1), 55-89.
<https://doi.org/10.1210/edrv.21.1.0389>

Shaughnessy, P. D., & Kerry, K. R. (1989). Crabeater seals *Lobodon carcinophagus* during the breeding season: Observations on five groups near Enderby Land, Antarctica. *Marine Mammal Science*, 5(1), 68-77.

Sheldon, B. C., & Verhulst, S. (1996). Ecological immunology: Costly parasite defences and trade-offs in evolutionary ecology. *Trends in Ecology & Evolution*, 11(8), 317-321. [https://doi.org/10.1016/0169-5347\(96\)10039-2](https://doi.org/10.1016/0169-5347(96)10039-2)

Siegert, M., Atkinson, A., Banwell, A., Brandon, M., Convey, P., Davies, B., Downie, R., Edwards, T., Hubbard, B., Marshall, G., Rogelj, J., Rumble, J., Stroeve, J., & Vaughan, D. (2019). The Antarctic Peninsula Under a 1.5°C Global Warming Scenario. *Frontiers in Environmental Science*, 7, 102. <https://doi.org/10.3389/fenvs.2019.00102>

Siniff, D. B. (1991). An overview of the ecology of Antarctic seals. *American Zoologist*, 31(1), 143-149.

Siniff, D. B., Garrott, R. A., Rotella, J. J., Fraser, W. R., & Ainley, D. G. (2008). Opinion: Projecting the effects of environmental change on Antarctic seals. *Antarctic Science*, 20(5), 425-435. <https://doi.org/10.1017/S0954102008001351>

Siniff, D. B., Stirling, I., Bengtson, J. L., & Reichle, R. A. (1979). Social and reproductive behavior of crabeater seals (*Lobodon carcinophagus*) during the austral spring. *Canadian Journal of Zoology*, 57(11), 2243-2255.

- Soto, F. A., Klaich, M. J., Negrete, J., & Leonardi, M. S. (2020). So happy together: Juvenile crabeater seal behavior improves lice transmission. *Parasitology Research*, 119(7), 2059-2065. <https://doi.org/10.1007/s00436-020-06704-5>
- Soto, F. A., Negrete, J., Klaich, M. J., & Leonardi, M. S. (2022). Effect of host age, sex and life stage on the prevalence and abundance of sucking lice on Weddell seal in the Antarctic Peninsula. *Anais Da Academia Brasileira de Ciências*, 94(suppl 1), e20210566. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202220210566>
- Southwell, C. (2004). Satellite-linked dive recorders provide insights into the reproductive strategies of crabeater seals (*Lobodon carcinophagus*). *Journal of Zoology*, 264(4), 399-402.
- Southwell, C., Bengston, J., Bester, M., Blix, A. S., Bornemann, H., Boveng, P., Cameron, M., Forcada, J., Laake, J., & Nordøy, E. (2012). A review of data on abundance, trends in abundance, habitat use and diet of ice-breeding seals in the Southern Ocean. *Ccamlr Science*, 19, 49-74.
- Southwell, C., Kerry, K., Ensor, P., Woehler, E. J., & Rogers, T. (2003). The timing of pupping by pack-ice seals in East Antarctica. *Polar Biology*, 26, 648-652.
- Stammerjohn, S. E., Martinson, D. G., Smith, R. C., & Iannuzzi, R. A. (2008). Sea ice in the western Antarctic Peninsula region: Spatio-temporal variability from ecological and climate change perspectives. *Deep Sea Research Part II: Topical Studies in Oceanography*, 55(18-19), 2041-2058. <https://doi.org/10.1016/j.dsr2.2008.04.026>
- Steig, E. J., Schneider, D. P., Rutherford, S. D., Mann, M. E., Comiso, J. C., & Shindell, D. T. (2009). Warming of the Antarctic ice-sheet surface since the 1957 International Geophysical Year. *Nature*, 457(7228), 459-462. <https://doi.org/10.1038/nature07669>
- Stirling, I. (1969). Ecology of the Weddell Seal in McMurdo Sound, Antarctica. *Ecology*, 50(4), 573-586. <https://doi.org/10.2307/1936247>
- Stirling, I., & Greenwood, D. J. (1972). Observations on a stabilizing population of weddell seals. *Australian Journal of Zoology*, 20(1), 23-25. <https://doi.org/10.1071/zo9720023>
- Thomas, J. A., & Terhune, J. (2009). Weddell seal: *Leptonychotes weddellii*. En *Encyclopedia of marine mammals* (pp. 1217-1220). Elsevier.
- Thompson, P. M., Corpe, H. M., & Reid, R. J. (1998). Prevalence and intensity of the ectoparasite *Echinophthirius horridus* on harbour seals (*Phoca vitulina*): Effects of host age and inter-annual variability in host food availability. *Parasitology*, 117(4), 393-403.
- Trivelpiece, W. Z., Hinke, J. T., Miller, A. K., Reiss, C. S., Trivelpiece, S. G., & Watters, G. M. (2011). Variability in krill biomass links harvesting and climate warming to penguin population changes in Antarctica. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(18), 7625-7628. <https://doi.org/10.1073/pnas.1016560108>
- Turner, J., Lu, H., King, J., Marshall, G. J., Phillips, T., Bannister, D., & Colwell, S. (2021). Extreme Temperatures in the Antarctic. *Journal of Climate*, 34(7), 2653-2668. <https://doi.org/10.1175/JCLI-D-20-0538.1>

- van der Linde, K., Visser, I. N., Bout, R., Krause, D. J., Forcada, J., Siniff, D., Stone, S., Fyfe, J., Fernández-Ferrada, N., & Macallan, K. (2022). A review of leopard seal (*Hydrurga leptonyx*) births and pups using a standardised age-class classification system. *Polar Biology*, *45*(7), 1193-1209.
- Vaughan, D. G., Marshall, G. J., Connolley, W. M., Parkinson, C., Mulvaney, R., Hodgson, D. A., King, J. C., Pudsey, C. J., & Turner, J. (2003). RECENT RAPID REGIONAL CLIMATE WARMING ON THE ANTARCTIC PENINSULA. *Climatic Change*, *60*, 243-274. <https://doi.org/10.1023/A:1026021217991>
- Wall, S. M., Bradshaw, C. J., Southwell, C. J., Gales, N. J., & Hindell, M. A. (2007). Crabeater seal diving behaviour in eastern Antarctica. *Marine Ecology Progress Series*, *337*, 265-277.
- Wheatley, K. E., Bradshaw, C. J., Harcourt, R. G., Davis, L. S., & Hindell, M. A. (2006). Chemical immobilization of adult female Weddell seals with tiletamine and zolazepam: Effects of age, condition and stage of lactation. *BMC veterinary research*, *2*, 1-8.
- Whelan, E., Wood, A. J., Shay, S., & Wood, M. (1990). Lack of effect of spinal anesthesia on drug metabolism. *Anesthesia & Analgesia*, *34*(3), 149.
- Whiteman, N. K., & Parker, P. G. (2005). Using parasites to infer host population history: A new rationale for parasite conservation. *Animal Conservation*, *8*(2), 175-181. <https://doi.org/10.1017/S1367943005001915>
- Whiteman, N. K., Santiago-Alarcon, D., Johnson, K. P., & Parker, P. G. (2004). Differences in straggling rates between two genera of dove lice (Insecta: Phthiraptera) reinforce population genetic and cophylogenetic patterns. *International Journal for Parasitology*, *34*(10), 1113-1119.
- Wickham, H. (2016). *Ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis*. Springer Science+Business Media, LLC.
- Yamanishi, Y., Miyake, K., Iki, M., Tsutsui, H., & Karasuyama, H. (2017). Recent advances in understanding basophil-mediated Th2 immune responses. *Immunological Reviews*, *278*(1), 237-245. <https://doi.org/10.1111/imr.12548>

Anexo 1

Tabla A1. Datos crudos por especie de piojo-hospedador. Se detalla el sexo y la clase de edad del hospedador como así también los diferentes estadios del piojo. Siendo N1: ninfa1; N2: ninfa2; N3: ninfa3 M: macho y H: hembra. Primera tabla, *A. lobodontis* en focas cangrejeras segunda tabla correspondiente a los datos de *A. carlinii* en focas de Weddell.

Especie	Sexo	Clase Edad	Intensidad	N1	N2	N3	M	H
Lc 1	ND	Juvenil	99	0	18	7	25	49
Lc 2	H	Adulto	0					
Lc 3	H	Adulto	0					
Lc 4	M	Adulto	0					
Lc 5	H	Adulto	0					
Lc 6	H	Juvenil	303	0	204	86	6	7
Lc 7	H	Juvenil	0					
Lc 8	ND	Adulto	0					
Lc 9	M	Juvenil	67	3	31	19	3	11
Lc 10	H	Juvenil	35	0	7	13	5	10
Lc 11	M	Juvenil	0					
Lc 12	H	Adulta	0					
Lc 13	M	Adulto	0					
Lc 14	M	Adulto	0					
Lc 15	H	Juvenil	35	0	15	14	1	5
Lc 16	H	Juvenil	2	0	0	1	0	1
Lc 17	M	Juvenil	0					
Lc 18	H	Adulto	0					
Lc 19	H	Juvenil	7	0	0	0	4	3
Lc 20	M	Adulto	0					
Lc 21	M	Adulto	0					
Lc 22	M	Adulto	0					
Lc 23	H	Adulto	0					
Lc 24	H	Adulto	0					
Lc 25	H	Juvenil	8	0	0	3	3	2
Lc 26	M	Adulto	0					
Lc 27	M	Adulto	0					
Lc 28	H	Juvenil	28	0	4	2	12	10
Lc 29	H	Adulto	0					
Lc 30	H	Juvenil	41	0	1	14	10	16
Lc 31	M	Adulto	24	0	0	8	2	14
Lc 32	M	Juvenil	56	1	2	7	17	29
Lc 33	H	Juvenil	15	1	1	5	2	6
Lc 34	H	Adulto	0					
Lc 35	H	Adulto	0					
Lc 36	M	Adulto	0					

Lc 37	H	juvenil	7	0	0	0	3	4
Lc 38	M	Adulto	0					
Lc 39	M	Adulto	1	0	0	0	0	1
Lc 40	H	Juvenil	37	0	1	5	15	16
Lc 41	H	Adulto	0					
Lc 42	M	Juvenil	9	0	0	1	2	6
Lc 43	M	Adulto	1	0	0	1	0	0
Lc 44	M	Juvenil	56	18	7	6	11	14
Lc 45	H	Juvenil	65	18	26	6	7	8
Lc 46	M	Adulto	0					
Lc 47	H	Juvenil	661	178	290	142	27	24
Lc 48	M	Juvenil	380	71	106	72	25	24
Lc 49	H	Juvenil	2317	1070	895	329	10	13
Lc 50	H	Adulto	0					
Lc 51	M	Adulto	4	0	1	2	0	1
Lc 52	H	Juvenil	73	12	10	20	7	24
Lc 53	M	Juvenil	22	1	6	5	2	8
Lc 54	M	Juvenil	59	5	6	7	8	33

Especie	Sexo	Clase Edad	Intensidad	N1	N2	N3	M	H
Lw 1	ND	Adulto	2	0	0	0	0	2
Lw 2	ND	Adulto	6	0	0	1	1	4
Lw 3	ND	Adulto	1	0	0	0	1	0
Lw 4	ND	Adulto	0					
Lw 5	M	Juvenil	9	0	0	1	4	4
Lw 6	H	Adulto	0					
Lw 7	H	Adulto	21	0	0	1	4	16
Lw 8	H	Adulto	7	0	1	2	0	4
Lw 9	M	Adulto	0					
Lw 10	M	Juvenil	0					
Lw 11	H	Adulto	0					
Lw 12	M	Adulto	0					
Lw 13	H	Adulto	1	0	0	0	0	1
Lw 14	H	Adulto	0					
Lw 15	H	Adulto	0					
Lw 16	H	Juvenil	9	0	0	0	3	6
Lw 17	M	Adulto	0					
Lw 18	H	Adulto	0					
Lw 19	M	Juvenil	0					
Lw 20	H	Juvenil	5	0	0	0	0	5
Lw 21	H	Adulto	0					
Lw 22	H	Adulto	0					
Lw 23	H	Juvenil	5	0	0	0	1	4

Lw 24	H	Adulto	2	0	0	0	0	2
Lw 25	M	Adulto	0					
Lw 26	H	Adulto	0					
Lw 27	H	Adulto	0					
Lw 28	M	Juvenil	0					
Lw 29	M	Juvenil	4	0	0	0	0	4
Lw 30	M	Juvenil	13	0	0	0	6	7
Lw 31	H	Adulto	0					
Lw 32	H	Adulto	0					
Lw 33	M	Juvenil	8	0	0	0	2	6
Lw 34	M	Adulto	0					
Lw 35	H	Adulto	2	0	0	0	1	1
Lw 36	M	Adulto	0					
Lw 37	M	Adulto	3	0	0	0	0	3
Lw 38	M	Adulto	4	0	0	0	2	2
Lw 39	H	Adulto						
Lw 40	M	Adulto	2	0	0	1	0	1
Lw 41	M	Juvenil						
Lw 42	M	Juvenil	4	0	0	1	2	1
Lw 43	M	Adulto						
Lw 44	M	Adulto	1	0	0	0	0	1
Lw 45	M	Juvenil						
Lw 46	H	Juvenil	2	0	0	0	0	2
Lw 47	M	Adulto						
Lw 48	H	Adulto	4	0	0	0	0	4
Lw 49	H	Juvenil	5	0	0	1	1	2
Lw 50	M	Adulto	25	0	0	8	5	12
Lw 51	M	Juvenil	1	0	0	0	0	1
Lw 52	M	Adulto	8	0	0	5	1	2
Lw 53	M	Adulto	4	0	0	0	1	3
Lw 54	H	Juvenil	11	0	0	4	2	5