



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Licenciatura en Biología

Dimorfismo sexual en la importancia de los polimorfismos del MHC del lobo marino de California para la susceptibilidad a enfermedades en el contexto de las anomalías climáticas

Tesis Individual

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Licenciada en
Biología

Presenta:

Verónica Torres Solórzano

Dirigida por:

Dra. Karina Alethya Acevedo Whitehouse

Querétaro, Qro,
marzo 2023



Dirección General de Bibliotecas y Servicios Digitales de
Información



Dimorfismo sexual en la importancia de los
polimorfismos del MHC del lobo marino de California
para la susceptibilidad a enfermedades en el contexto
de las anomalías climáticas

por

VERÓNICA TORRES SOLÓRZANO

se distribuye bajo una [Licencia Creative Commons
Atribución-NoComercial-SinDerivadas 4.0 Internacional](#).

Clave RI: CNLIC-267474-0323-323



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Licenciatura en Biología

Dimorfismo sexual en la importancia de los polimorfismos del MHC del lobo marino de California para la susceptibilidad a enfermedades en el contexto de las anomalías climáticas

Tesis

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de Licenciada en Biología

Presenta:

Verónica Torres Solórzano

Dirigida por:

Dra. Karina Alethya Acevedo Whitehouse

SINODALES

Dra. Karina Alethya Acevedo Whitehouse
Directora

Dra. Mónica Elisa Queijeiro Bolaños
Asesor

Dr. Juan Manuel Malda Barrera
Asesor

Dra. Fabiola Guerrero de la Rosa
Asesor

Querétaro, Qro,
marzo 2023

Resumen

La capacidad del sistema inmune para reconocer antígenos depende de características del hospedero y de condiciones externas. En este trabajo se exploró la relación entre inmunidad, clima y susceptibilidad a patógeno usando como modelo de estudio al lobo marino de California (LMC), quien habita la costa del Pacífico nororiental, donde se han registrado anomalías climáticas que limitan la disponibilidad de alimentos y la supervivencia. El LMC es una especie sexualmente dimórfica y centinela que tiene un sistema inusual de generación de polimorfismos en el MHC: la poligenia. El MHC en LMC es empleado para evaluaciones aproximadas de la salud poblacional y, por ende, del ecosistema al revelar en la especie las secuelas a mediano plazo de las anomalías climáticas oceánicas. El objetivo es investigar si la conformación y expresión del MHC clase II y la salud de crías del Lobo marino de California es influida por la anomalía de la temperatura superficial del mar y por el sexo de las crías. La salud se estudió mediante el cálculo de la condición corporal, la determinación de la presencia de seis patógenos y la cuantificación de la diversidad constitutiva y expresada del MHC-DRB en 165 crías de LMC nacidas en Benito del Oeste entre 2014 y 2019. Además, se registró la anomalía en la temperatura superficial del mar (ATSM) en tres períodos de la gestación y en el periodo de neonatos. Para desafiar las hipótesis planteadas se construyeron modelos generalizados lineales. Se observó que la diversidad constitutiva del MHC-DRB de las crías fue menor al incrementar la ATSM, sugiriendo que en esas condiciones ambientales los machos adultos con mayor variabilidad genética fueron desplazados por individuos con menor diversidad. Igualmente, se encontró que la diversidad expresada del MHC-DRB cambió de acuerdo con la ATSM, lo que sugiere una remodelación epigenética por la vulnerabilidad a los factores ambientales por parte de las madres de las cuales dependen las crías para su alimentación y supervivencia. Además, se encontró que las reservas energéticas de los cachorros se asociaron con el número de genes del MHC-DRB expresados, lo que refleja el alto costo de implementar respuestas inmunes. También, se observó que la presencia de los patógenos fue influenciada por la diversidad del MHC-DRB, y por la presencia de genes específicos, de forma diferente entre sexos, lo que sugiere que existe dimorfismo sexual inmune neonatal en esta especie. Concluimos que el impacto del clima altera la conformación del MHC y que se diversidad esta relaciona con la

susceptibilidad a patógenos de forma diferencial entre sexos. Este es el primer estudio que examina aspectos de inmunogenética de un mamífero marino en un contexto de historia de vida temprana y cambios ambientales.

Abstract

The ability of the immune system to recognize antigens depends on host characteristics and external conditions. In this work, the relationship between immunity, climate and susceptibility to pathogens was explored using the California sea lion (LMC) as a study model, which inhabits the northeastern Pacific coast, where climatic anomalies have been recorded that limit the availability of food and survival. The LMC is a sexually dimorphic and sentinel species that has an unusual system of generation of polymorphisms in the MHC: polygenicity. The MHC in LMC is used for approximate assessments of population health and, therefore, of the ecosystem by revealing in the species the medium-term sequelae of oceanic climate anomalies. The objective is to investigate whether the conformation and expression of MHC class II and the health of California sea lion pups is influenced by the sea surface temperature anomaly and by the sex of the pups. Health was studied by calculating body condition, determining the presence of six pathogens, and quantifying the constitutive and expressed diversity of the MHC-DRB in 165 LMC pups born in Benito del Oeste between 2014 and 2019. In addition, The anomaly in the sea surface temperature (ATSM) was recorded in three gestation periods and in the neonate period. To challenge the hypotheses, generalized linear models were built. It was observed that the constitutive diversity of the MHC-DRB of the pups was lower with increasing ATSM, suggesting that in these environmental conditions adult males with greater genetic variability were displaced by individuals with less diversity. Likewise, it was found that the expressed diversity of the MHC-DRB changed according to the ATSM, which suggests an epigenetic remodeling due to the vulnerability to environmental factors on the part of the mothers on whom the pups depend for their feeding and survival. Furthermore, pup energy reserves were found to be associated with the number of MHC-DRB genes expressed, reflecting the high cost of implementing immune responses. Also, it was observed that the presence of the pathogens was influenced by the diversity of the MHC-DRB, and by the presence of specific genes, differently between sexes, which suggests that there is neonatal immune sexual dimorphism in this species. We conclude that the impact of climate alters the conformation of the MHC and that its diversity is related to the susceptibility to pathogens in a differential way between sexes. This is the first study to examine aspects

of marine mammal immunogenetics in the context of early life history and environmental changes.

“Cuando uno jala una sola cosa en la naturaleza, se encuentra que está agarrada del resto del mundo”

John Muir

Dedicatorias

A los lobitos, por acercarme a entender más de su impresionante biología y fomentar en mi un pensamiento crítico y creativo, y porque se dejaron picar la nalguita y cortar un pedacito de aleta, por ellos...

Agradecimientos

A la Universidad Autónoma de Querétaro y a la Facultad de Ciencias Naturales por formarme y apoyarme para la participación en congresos y encuentros.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por el proyecto (A1-S-16417-4354) que me permitió desarrollar esta tesis.

A Karina, por la calidez, el cariño y la calidad en lo que haces. Tus conocimientos, experiencia, orientación y tutoría me inspiraron a desarrollar una de mis mayores pasiones: investigar. He aprendido tantas cosas académicas y personales que me han mejorado como bióloga, siempre gracias.

A Moni, por enseñarme a resolver de manera sencilla los temas complejos.

A Malda, por mostrarme el dominio de la curiosidad y la sabiduría, que la ciencia y el arte no son excluyentes.

A Faby, que, con cuidado y alegría, volviste amenas las lecturas y me mostraste valiosas oportunidades.

A Ceci y Zyan, que estuvieron ahí para discutir cualquier cosa de la que no estaba segura, por toda la amabilidad para enseñarme.

A Carly, Pau, Carlos, Marina, Luis y Ceci, gracias por compartir sus conocimientos, esta tesis también es fruto de sus esfuerzos, ideas y enseñanzas.

A Fidel por amablemente leer cada borrador y ayudarme en la escritura.

A toda mi familia, por la confianza y el amor. Son una columna en mi cuerpo.

A mis padres, por siempre ayudarme a alcanzar mis sueños.

A mis hermanos y Fer, gracias por acompañarme en cada decisión y compartir todos los momentos felices.

A mis amigos Cacomixtles y Pollitos por el cariño y por todos los momentos felices, los quiero muchísimo. Y en especial al Equipo Umizoomi (Judy, Saúl, Joseph y Gachuzo) por aprender juntos.

¡Gracias, Totales!

Declaración de autoría

Declaro que el trabajo que se presenta en esta tesis fue realizado por mí, a excepción de aquellas secciones que formaron parte de colaboraciones, mismas que se indican explícitamente en el texto.

Confirmando que las ideas originales aquí presentadas son de mi autoría y que a lo largo de la tesis le he dado crédito al trabajo de otros mediante el uso adecuado de las referencias.

Esta copia se ha sometido a la Universidad Autónoma de Querétaro bajo el entendido de que constituye material con derechos de autor y que no puede citarse ningún pasaje de esta tesis sin darle el crédito adecuado.

Índice

Índice de figuras	12
Índice de tablas.....	13
1. Introducción	14
2. Antecedentes.....	15
2. 1. Anomalías climáticas oceánicas	15
2. 2. El complejo mayor de histocompatibilidad	17
2. 3. Teoría de compensaciones energéticas en especies sexualmente dimórficas	19
2. 4. Agentes patógenos que afectan al Lobo marino de California	21
2. 4. 1. Rotavirus lobo marino de California (CslRV)	21
2. 4. 2. <i>Zalophus californianus</i> papillomavirus 1 (ZcPV-1)	23
2. 4. 3. Gammaherpesvirus otarino tipo I (OthV-1)	24
2. 4. 4. Adenovirus otarino 1 (OtAdV-1).....	25
2. 4. 5. Parapoxvirus.....	27
2. 4. 6. <i>Streptococcus</i> beta hemolítico.....	28
Pregunta de investigación.....	30
3. Hipótesis.....	30
4. Objetivos	31
Objetivo general	31
Objetivos específicos.....	31
5. Métodos.....	32
5. 1. Modelo de estudio: El lobo marino de California	32
5. 2. Sitio de estudio: Archipiélago San Benito.....	33
5. 3. Muestras biológicas utilizadas.....	34
5. 4. Análisis de la conformación y expresión del MHC clase II	35
V. 4. 1. Extracción de ADN	35
V. 4. 2. Extracción de ARN y transformación a ADNc.....	36
V. 4. 3. Amplificación de Zaca-DRB y comprobación por electroforesis	37
5. 5. Detección de patógenos.....	38
5. 5. 1. Detección de ADN de OthV-1, ZcPV-1, OtAdV-1 y CslRV	38
5. 5. 2. Detección de Parapoxvirus.....	39
5. 5. 3. Detección de ADN de <i>Streptococcus</i> beta hemolítico	39

5. 6. Cálculo de la condición corporal	40
5. 7. Registro de las anomalías climáticas	41
5. 8. Análisis estadístico.....	41
6. Resultados	43
6. 1. Las anomalías climáticas oceanográficas y la conformación constitutiva y expresada del MHC clase II	43
6. 2. El sexo en la relación de la diversidad de genes expresados del MHC clase II y las anomalías climáticas	46
6. 3. La composición y diversidad del MHC clase II en relación con su condición corporal.....	48
6. 4. La diversidad de genes del MHC clase II constitutivos y expresados en los leucocitos circulantes con relación a la diversidad parasitaria	49
7. Discusión.....	54
7. 1. Las anomalías climáticas oceanográficas y la conformación constitutiva y expresada del MHC clase II	54
7. 2. El sexo en la relación de la diversidad de genes expresados del MHC clase II y las anomalías climáticas	56
7.3. La composición y diversidad del MHC clase II en relación con la condición corporal	57
7. 4. La diversidad de genes del MHC clase II constitutivos y expresados en los leucocitos circulantes en relación con la diversidad parasitaria y la presencia de parásitos específicos	58
8. Conclusión	62
9. Referencias	64
Anexo	77

Índice de figuras

Figura 1. Hembra y macho de Lobo marino de California.....	33
Figura 2. Islas del Archipiélago San Benito.....	34
Figura 3. Número de genes constitutivos y expresados del MHC clase II por años de muestreo.....	43
Figura 4. Modelos que explican el número de genes constitutivos y expresados del MHC clase II en relación con las ATSM registradas durante etapas de gestación y neonatos.	45
Figura 5. Expresión del MHC clase II de acuerdo al sexo de las crías de lobo marino de California.....	46
Figura 6. Impacto de las ATSM de enero-febrero y de septiembre-octubre sobre la diversidad de la expresión del MHC clase II de crías machos de lobo marino de California.....	48
Figura 7. Relación entre la condición corporal y la expresión del MHC clase II....	49
Figura 8. Relación entre la ocurrencia de la infección y la expresión del MHC clase II	50
Figura 9. Prevalencia de genes A, B, E, G y J del MHC constitutivos presentes y ausentes en crías hembras, con relación a las infecciones por Parapoxvirus, CslRV, ZcPV1 y <i>Streptococcus</i> beta hemolítico.....	52
Figura 10. Prevalencia de genes G, F e I del MHC expresados en crías hembras, con relación a la infección por Parapoxvirus, CslRV y OtHV-1.....	52
Figura 11. Prevalencia del gen B del MHC constitutivo en crías macho, al haber infección por OtHV-1.....	53
Figura 12. Prevalencia de genes C, D, F, H y J expresados y no expresados en machos, cuando fue detectado CslRV, OtHV-1 y ZcPV1.....	53

Índice de cuadros

Cuadro 1 Patógenos detectados en Lobo marino de California.....	29
Cuadro 2. Secuencias de oligonucleótidos específicos para la amplificación de genes del MHC clase II.....	37
Cuadro 3. Secuencias de oligonucleótidos específicos para la amplificación de genes de patógenos identificados por PCR.....	40
Cuadro 4. Genes constitutivos y expresados en relación a las ATSM.....	44
Cuadro 5. Modelo lineal generalizado construido para explorar la relación de cada sexo y la diversidad expresada del MHC clase II en cada etapa de la ATSM.	47
Cuadro 6. Patógenos que se relacionaron estadísticamente con la diversidad expresada del MHC en crías de lobo marino de California.....	50
Cuadro 7. Posibilidad en que la presencia de un gen se relacione con la ocurrencia de patógenos específicos de las crías de Lobo marino de California.	51

1. Introducción

La variabilidad genética permite la plasticidad fenotípica frente a circunstancias ambientales cambiantes (Hangartner et al., 2022). En el contexto inmune y ecológico, la variabilidad genética se puede estudiar a través de los polimorfismos del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), un grupo de genes que se encargan del reconocimiento específico de antígenos y que responden a las presiones ambientales (Sommer, 2005).

El MHC se organiza principalmente en la clase I y II. Los genes MHC clase I, codifican glicoproteínas expresadas en todas las células nucleadas, mientras que los genes MHC clase II, codifican glicoproteínas expresadas en células presentadoras de antígenos que median la respuesta inmune adaptativa (Janeway et al., 2001). En los vertebrados, la secuencia DRB del MHC clase II codifica al sitio de unión al antígeno y es de las regiones genéticas más polimórficas, por ende, su diversidad puede abordar la susceptibilidad a patógenos (Acevedo-Whitehouse et al., 2003).

Como modelo de estudio silvestre, el lobo marino de California (*Zalophus californianus*) es una especie centinela con dimorfismo sexual y un mecanismo inusual de generación de polimorfismos en el MHC: la poliginia (Bowen et al., 2004; CONANP, 2013). Este mecanismo permite estudiar, a través de la técnica de amplificación por cebadores específicos, la configuración de la diversidad del DRB, conocido para esta especie como Zaca-DRB (Bowen et al., 2004). De este modo, el lobo marino de California nos permite contrastar la configuración del Zaca-DRB entre periodos con anomalías climáticas y el registro de infecciones de acuerdo con el sexo.

Así, esta tesis aborda el primer estudio eco-inmunológico con lobo marino de California que brinda una amplia y mejor comprensión del impacto de los desafíos ambientales en la importancia de la diversidad del MHC entre sexo para la

susceptibilidad a patógenos virales y bacterianos, lo que ofrece una alerta anticipada de las posibles amenazas para otras especies silvestres.

En esta tesis se investigó la influencia de las anomalías de la temperatura superficial del mar en la constitución y expresión de genes Zaca-DRB del MHC clase II y la salud de crías hembras y machos del Lobo marino de California nacidos entre 2014 y 2019 en el Archipiélago Benito del oeste de la península de Baja California.

2. Antecedentes

2. 1. Anomalías climáticas oceánicas

La temperatura es la magnitud que expresa el grado de calor de un sistema, y tiene mucha relevancia a nivel ecológico. De acuerdo con Stenseth y colaboradores (2002), el impacto de la temperatura sobre una especie puede operar directamente a través de la fisiología (procesos metabólicos y reproductivos) o indirectamente a través del ecosistema, al afectar a las presas, los depredadores y los competidores (Stenseth et al., 2002). En el contexto marino, conforme los océanos absorben más calor, la temperatura aumenta y los patrones de circulación oceánica que transportan agua fría y caliente cambian, lo que, a largo plazo, altera el suministro de nutrientes en los ecosistemas marinos (Pershing et al., 2018).

En el ecosistema marino costero, la temperatura superficial del mar (TSM) es considerado un buen indicador del calor que absorbe el agua, ya que cambia con la latitud y las estaciones, debido a la esfericidad de la tierra, la rotación alrededor del sol y el ángulo de inclinación; de igual manera, la TSM varía con las corrientes marinas y masas continentales (Iglesias et al., 2010).

Para estudios del ecosistema marino costero conviene emplear la diferencia entre las TSM con respecto a una temperatura de referencia, calculada como el promedio de las temperaturas de 30 años o más. Esta diferencia es conocida como la anomalía de la temperatura superficial del mar (ATSM) y es un indicador proxy de cambios en el ecosistema. El valor de las ATSM puede ser positivo o negativo; si es positivo indica que la TSM observada es más cálida que la de referencia, y si es

negativa indica que la TSM observada es más fría que la de referencia (NOAA, 2009).

En el 2013, al sur de Alaska se desarrolló un cuerpo de agua anormalmente cálido que fue llamado “La Mancha”, por su tamaño de 500 km de diametro y 90 m de profundidad, así como su desplazamiento progresivo a lo largo de la costa (Ramos-Rodríguez et al., 2020). Representó un evento histórico sin precedentes, y entre 2014 y 2015 sus efectos se extendieron hasta la Península de Baja California, registrando durante su desplazamiento aumentos en la ATSM de entre 2 y 3 °C (Bond et al., 2015; Ramos-Rodríguez et al., 2020). Sumado a esto, entre 2015 y 2016 se presentó el fenómeno El Niño-Oscilación del Sur (ENSO), por lo que los efectos de ambos eventos de calentamiento provocaron incrementos en la ATSM de entre 2 y 5 °C en la Península de Baja California (Banuet-Martínez et al., 2017; Tseng et al., 2017).

Las consecuencias ecológicas del aumento de la ATSM en el Pacífico norte, fueron una disminución de la productividad primaria y en la abundancia de peces (Chust et al., 2014; McClatchie et al., 2016), además, de favorecer el florecimiento de algas productoras de toxinas del género *Pseudo-nitzschia* (McCabe et al., 2016). Para las hembras de lobo marino de California, *Zalophus californianus*, esta situación representó un mayor esfuerzo en el forrajeo y una modificación de la dieta (Elorriaga-Verplancken et al., 2016), lo que limitó las reservas energéticas de las crías, impactó negativamente en su condición corporal, provocó alteraciones celulares eritrocitarias y una disminución en la capacidad de algunas respuestas inmunes (Banuet-Martínez et al., 2017; Flores-Morán et al., 2017). También se reportó un incremento en el número de varamientos (McClatchie et al., 2016) y un decremento del 52% en la abundancia de la población de lobo marino de California en el Pacífico Mexicano (Elorriaga-Verplancken et al., 2016; McClatchie et al., 2016).

A la fecha, se desconoce si las ATSM pueden impactar la diversidad genética funcional de las crías, y si esto, a su vez, podría influir en la magnitud del impacto fisiológico en relación con la condición corporal y las respuestas a patógenos.

2. 2. El complejo mayor de histocompatibilidad

El complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) es una familia de genes estrechamente ligados y altamente polimórficos. Por ello, son propuestos como genes funcionales bajo selección (Cohen, 2002), que reflejan procesos evolutivos relevantes y adaptativos dentro y entre poblaciones (Sommer, 2005). En el contexto inmune, los genes MHC participan en el reconocimiento inmune, la susceptibilidad a infecciones y las enfermedades autoinmunes (Kubinak et al., 2011). Los genes MHC se unen a antígenos y los presentan a los linfocitos T, proceso crucial para desencadenar la respuesta inmune adaptativa (Alberts et al., 2002), ya que los receptores de los linfocitos T sólo reconocen los antígenos cuando están anclados al MHC (Janeway et al., 2001).

El MHC se organiza principalmente en clase I y II. El MHC clase II codifica glicoproteínas únicamente en macrófagos, células dendríticas y linfocitos B, y presenta antígenos a los linfocitos-CD4 (Janeway et al., 2001). Para el estudio del MHC clase II, la diversidad (número de genes) se divide en constitutiva o genómica y expresada o transcriptómica. La diversidad constitutiva representa a los genes constitutivos del genoma (ADN) generados por la recombinación del óvulo con el esperma, y la diversidad expresada representa a los genes expresados o transcritos (ARNm) para codificar a proteínas (Tumer et al., 2022). Se ha demostrado que, la presencia de genes dominantes en el MHC clase II otorgan resistencia contra infecciones específicas o susceptibilidad a enfermedades autoinmunes (Hughes and Nei, 1989). Así, en un individuo heterocigoto con múltiples infecciones, la combinación de genes del MHC clase II de resistencia y susceptibilidad, tendrá mayores beneficios inmunes en comparación a un homocigoto (McClelland et al., 2003). Sin embargo, se predice que el costo energético es mayor en heterocigotos que en homocigotos (Ilmonen et al., 2007).

En los vertebrados, la alta diversidad constitutiva del MHC es impulsada por la selección basada en patógenos (BODMER, 1972), y como mecanismos complementarios es favorecida por las interacciones de apareamiento y materno-fetales, por ejemplo: los olores individuales (Eggert, 1998), las preferencias de apareamiento (Penn and Potts, 1999), el reconocimiento de parentesco (Brown and Eklund, 1994), la fecundación selectiva (Wedekind et al., 1996; Rüllicke et al., 1998) y el aborto selectivo (Alberts and Ober, 1993).

En cambio, cuando hay baja diversidad constitutiva del MHC es debido a cuellos de botella o deriva génica. Esta reducción poblacional provoca una disminución en el flujo génico de poblaciones (Slade, 1992; Murray and White, 1998), que podría aumentar la susceptibilidad a enfermedades infecciosas, por la reducción en la inducción de células T mediada por los genes del MHC, a largo plazo, desarrollar enfermedades crónicas (de Assunção-Franco et al., 2012; Axtner, 2013).

En el lobo marino de California, el MHC clase II lo conforman 10 genes en la región DRB (para esta especie, conocido como ZacaDRB) que son originados por poligenia. Los genes DRB codifican partes de los sitios de unión al antígeno funcionalmente importantes, por ello, la mayor parte de la investigación en mamíferos se centra en esa región (Ohta, 1998). A nivel fisiológico la ausencia del gen, o la ausencia de expresión de uno o más genes DRB que reconocen patógenos específicos puede comprometer la competencia inmune de un individuo, y disminuir la posibilidad de reconocimiento a esos patógenos, aumentando la susceptibilidad del individuo a enfermar. La expresión del MHC y por lo tanto algunas respuestas inmunes en el lobo marino de California, también podrían alterarse debido a un estrés alimentario y energético derivado de un aumento en la TSM (Banuet-Martínez et al., 2017).

Por otro lado, si las ATSM afectan los patrones de migración de los machos durante la temporada reproductiva, la conformación de los territorios reproductivos podría verse afectada. Esta especie tiene una estrategia de reproducción tipo Lek, en donde un macho defiende un territorio dado, y se aparea con las hembras de ese

territorio. Normalmente es un número pequeño de machos adultos los que logran reproducirse. Bajo la hipótesis de los buenos genes propuesta por Hamilton y Zuk (Hamilton and Zuk, 1982), se esperaría que los machos exitosos tuvieran mayor diversidad de MHC. Sin embargo, es posible que, si las ATSM afectan negativamente la migración y el establecimiento de los machos, la diversidad constitutiva fuera reducida.

2. 3. Teoría de compensaciones energéticas en especies sexualmente dimórficas

En un ecosistema los recursos disponibles son finitos y se distribuyen entre todos los niveles tróficos. A partir de la dieta los organismos adquieren energía, por lo que, los procesos que demandan energía del estado nutricional dependen. Desde el punto de vista inmune, el montar o mantener una función inmune es nutricionalmente costoso y requiere de decisiones de canje entre diversos procesos fisiológicos que tienen demandas de nutrientes. Por ejemplo, Tomkins (1986) comprobó que existe una relación entre la desnutrición y la infección, debido a que la infección precipita la desnutrición y, está a su vez, agrava la enfermedad. También, van Houter y colaboradores (1995) mostraron que la alimentación proteica suplementaria en ovejas, *Ovis orientalis*, se asoció con una disminución de la carga parasitaria. Otro ejemplo fue la observación de Ots y colaboradores (2001) donde el carbonero azul, *Parus major*, aumentó en 9% su tasa metabólica para montar una respuesta inmune, pero también disminuyó su condición corporal en un 3%.

En la función inmune de especies sexualmente dimórficas, la asignación de recursos y respuestas está sesgada para hembras y machos, y se observa durante la gestación, la lactancia, el cortejo, y el comportamiento social, entre otros.

Por ejemplo, Meylan y colaboradores (2013) reportaron que, montar una respuesta inmune durante la gestación de una lagartija, *Zootoca vivípara*, reduce la masa promedio de la camada, disminuye el rendimiento fisiológico por la demanda de energía y amplía el tiempo de tomar el sol. En cuanto a la relación entre lactancia e inmunidad, Festa-Bianchetls (1989) encontró que, en ovejas de borrego cimarrón, *Ovis aries*, lactantes presentaban un mayor recuento fecal de larvas de nemátodos

pulmonares que las ovejas no lactantes, también que entre ovejas lactantes de crías hembras o machos el recuento de larvas también varió, siendo menor para hembras. Estas observaciones sugieren que, en una especie sexualmente dimórfica, la infección repercute en el rendimiento fisiológico de la hembra y la cría, también que los recursos se asignan a la reproducción a expensas de la función inmune y que la crianza de hembras puede ser más barata que la de machos (Festa-Bianchet, 1989; Meylan et al., 2013).

En el cortejo, la inversión de recursos para desarrollar y mantener la ornamentación o caracteres sexuales secundarios de los machos tiene como desventaja una menor capacidad inmune, o hasta una inmunosupresión. Esto ha sido observado para diferentes especies de mamíferos y de aves. Por ejemplo, Saino y Moller (1996) demostraron en la golondrina común, *Hirundo rustica*, que, entre mayor o más intensa la ornamentación del macho, disminuye la inmunocompetencia, lo que podría explicar porque es costosa la ornamenta. Para poner a prueba esta hipótesis, simulamos un desafío inmune en golondrinas machos al inocular eritrocitos de carnero y medir el cambio en las concentraciones de gammaglobulinas. La respuesta de golondrinas a las que les cortaron la cola fue de un aumento significativo de gammaglobulinas tras la inoculación, mientras que, en las golondrinas con ornamenta no aumentaron los niveles gammaglobulinas. Sin embargo, entre golondrinas con cola, los de cola larga respondieron con niveles altos de gammaglobulina después de la inoculación (Saino and Møller, 1996). Estos resultados sugieren que las hembras, al preferir aparearse con machos de exagerada ornamentación estarán eligiendo los más inmunocompetentes y corresponde con la hipótesis de “buenos genes” propuesta por Hamilton y Zuk (1982).

En cuanto al comportamiento sexual, hay una compensación entre las tasas de apareamiento polígamo y la función inmune. Por ejemplo, en las polillas indias polígamas, *Plodia interpunctella*, la actividad de la fenoloxidasa disminuye más en los machos de poblaciones con sesgo femenino, que en poblaciones equilibradas o

con sesgo masculino. Estas observaciones muestran que, el costo mayor en reproducción para los machos puede conducir a un sesgo masculino en la mortalidad (McNamara et al., 2013). En especies monógamas, los machos se ahorran los costos de la competencia entre machos y el crecimiento dimórfico, de modo que, la inversión en apareamiento se reduce y los caracteres de historia de vida se vuelven similares a los de las hembras (McNamara et al., 2013). Sin embargo, el costo de reproducción para las hembras será similar al de las especies polígamas; esto conduce a un sesgo femenino en la mortalidad (Promislow, 1992). De esta manera, la finitud de los recursos nutricionales y energéticos limita la ejecución completa de los procesos en el organismo; además, por las historias de vida presenta diferenciación en hembras y machos. Sin embargo, las compensaciones inscritas en el genoma posibilitan la plasticidad frente a cambios en la disponibilidad energética o dan preferencia a un proceso a expensas de otro, aunque, en el futuro de estas compensaciones puedan repercutir en la adecuación.

2. 4. Agentes patógenos que afectan al Lobo marino de California

2. 4. 1. Rotavirus lobo marino de California (CslRV)

El rotavirus de lobo marino de California pertenece a la familia Reoviridae, caracterizados por ser virus de ARN de doble cadena (dsRNA, por sus siglas en inglés), segmentado con un tamaño genómico total de 22-27kb, de cápside icosaédrica, sin envoltura y con polimerasa viral (Flint et al., 2015).

Los viriones de rotavirus tienen triple cápside, permite su transmisión mediante la ruta de transmisión fecal-oral y brinda estabilidad en el citoplasma de los enterocitos (Flint et al., 2015). Una vez ocurre la unión entre el virión y la célula, éste permea la membrana por endocitosis y pierde la primera cápside, seguido, al iniciar la transcripción y traducción, contrarresta las respuestas innatas antivirales y apaga la transcripción celular a través de las proteínas NSP1 y la enterotoxina NSP3 (Sherry, 2009). Después de la inhibición de la respuesta celular, los viriones replican su genoma y se ensamblan en los viroplasma evitando que sensores de regulación

antiviral como PKR, RIG-I, MDA-5 los reconozcan (Arnold et al., 2013). Los viriones terminan su maduración en el retículo endoplásmico y se liberan, tras la lisis de la membrana celular, hacia la luz intestinal y experimentan una mayor replicación en las áreas distales del intestino delgado (Ramig, 2004).

Debido a que la defensa innata celular está bloqueada, la respuesta inmune contra el virus ocurre cuando al lisis a las células, se generan patrones moleculares asociados a patógenos (PAMP); lo que activa a neutrófilos, macrófagos y células dendríticas (CD) que liberan interferón (IFN) sistémico, logrando a su vez la activación de respuestas antivirales adaptativas, de anticuerpos y linfocitos T citotóxicos (Arnold et al., 2013).

En humanos, los signos de la infección por rotavirus son: fiebre, diarrea, vómitos o náuseas y malestar general, además, en niños de países no ecuatorianos la gastroenteritis en la estacionalidad invernal sugiere la infección por rotavirus (Crawford et al., 2017). Sin embargo, un estudio hecho en crías de lobo marino de Galápagos, *Zalophus wollebaecki*, reportó anticuerpos anti-rotavirus en suero de individuos aparentemente sanos y sin síntomas de diarrea (Coria-Galindo et al., 2009), lo que sugiere que podría ser un virus comensal para esta especie. Otro estudio realizado en el lobo marino de California detectó ARN de rotavirus en muestras fecales de crías y juveniles, tras el análisis filogenético de la proteína VP4 de la cápside se encontró cercano al rotavirus diarreico adulto J19/B219, con una asociación preferida con los linajes del grupo B (Li et al., 2011). A la fecha se desconoce el potencial patogénico del virus en los pinnípedos y actualmente no se ha confirmado un riesgo zoonótico (Duignan et al., 2018).

Hay tres formas de diagnosticar una infección por rotavirus. La más común es la detección rápida del antígeno del rotavirus en una muestra de heces y las otras dos, menos comunes, son el análisis inmunoenzimático y la reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa (CDC, 2021).

2. 4. 2. *Zalophus californianus* papillomavirus 1 (ZcPV-1)

La familia Papillomaviridae agrupa a virus icosaédricos, desnudos y con ADN de doble cadena (dsDNA, por sus siglas en inglés) circular que transcribe a dos regiones de genes: los genes tempranos, necesarios para la replicación y patogenicidad del virus, y los genes tardíos, necesarios para el ensamblaje de los viriones (Flint et al., 2015).

Debido a que los viriones de papilomavirus tienen un tropismo hacia queratinocitos y mucosas que expresan su receptor; el contacto epitelial y materno-neonatal es la forma de transmisión (Altamura et al., 2020). Tan pronto ocurre la unión del antirreceptor viral y el heparán sulfato celular, los viriones se internalizan por endocitosis al citoplasma y sus proteínas virales se degradan, entonces el genoma se transporta al núcleo como episoma (Flint et al., 2015). Una vez en el núcleo, el genoma viral transcribe genes tempranos que inhiben la producción de interferón, regulan a la baja la expresión de MHC I, previenen apoptosis y modulan el ciclo celular (Yousefi et al., 2022).

Cuando el genoma viral por célula está replicado, empieza la transcripción de los genes tardíos, mismos que sintetizan la cápside. Más tarde ocurre un montaje nuclear de la cápside, terminando con la liberación de viriones hacia otra capa epitelial. Debido a la evasión inmune, la baja lisis celular y la expresión de E6 y E7, que induce a la inestabilidad genética, algunos papilomavirus podrían facilitar la progresión de neoplasias que desarrollen tumores y cáncer (Yousefi et al., 2022). Sin embargo, en el momento que los viriones provocan un lisado celular, también atraen a CD y células asesinas naturales (NK), así, el huésped promueve la respuesta específica mediada por células T citotóxicas (Amador-Molina et al., 2013).

El diagnóstico de infecciones por papilomavirus en mamíferos marinos consiste en la identificación de: papilomas cutáneos, genitales y linguales, y en el lobo marino de california se llegan a presentar papilomas axilares de color blanco o rosa (Duignan et al., 2018). Para la confirmación de la infección se lleva a cabo una inmunohistoquímica del antígeno de la cápside específico al género, así como

técnicas moleculares, incluidas la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), clonación y secuenciación (Duignan et al., 2018).

Para el lobo marino de California, actualmente no hay un tratamiento específico. Puede haber persistencia de los papilomas, mismos que pueden involucionar y revertirse hacia un epitelio sano debido a la acción del sistema inmune (Rivera et al., 2012), o puede darse una transformación neoplásica invasiva (Bossart et al., 2005).

A la fecha se desconoce el potencial patogénico del virus en los pinnípedos y actualmente no representan un riesgo zoonótico (Duignan et al., 2018).

2. 4. 3. Gammaherpesvirus otarino tipo I (OthV-1)

El gammaherpesvirus otarino tipo I pertenece a la familia Herpesviridae caracterizada por tener ADN de doble cadena (dsDNA, por sus siglas en inglés) lineal de 120-240 kb, una cápside icosaédrica y un tegumento anterior a la envoltura (Flint et al., 2015). Las subfamilias que se han reportado en especies de mamíferos marinos son Alphaherpesvirinae y Gammaherpesvirinae (Duignan et al., 2018), este último de especial interés para esta tesis.

Los gammaherpesvirus presentan un tropismo linfoepitelial, lo que favorece su transmisión transplacentaria y mediante el contacto con lesiones y fluidos corporales. Una vez que se da la unión entre los antireceptores virales y los receptores celulares, el virus entra mediante la fusión con la membrana plasmática; es decir, la envoltura se une a la membrana celular y el tegumento y la nucleocápside son liberados al citoplasma. Las proteínas del tegumento degradan los ARNm del huésped, dirigen la cápside al núcleo y es liberado el genoma, permitiendo la transcripción de los genes virales tempranos que evaden la inmunidad innata del huésped. Cuando el virión está en el núcleo puede integrarse como provirus al genoma del huésped, permitiendo así su replicación durante la división celular del huésped, y conservarse latente hasta que una señal de estrés

celular promueve la reactivación del provirus (Bento et al., 2019). Cuando el provirus es reactivado, la transcripción tardía codifica proteínas estructurales, mismas que, se ensamblan en fábricas virales nucleares para finalmente reclutar componentes del sistema celular ESCRT y mediar la gemación asistida por el huésped (Flint et al., 2015). Tras la liberación, los viriones pueden infectar linfocitos B ingenuos y cambiar el patrón de expresión bloqueando la apoptosis y continuar su circulación, diseminando viriones (Preston, 2008). La medida inmune de atenuar la infección es a partir de NK y la liberación de IFN-gamma (Ike et al., 2020).

Los signos clínicos reportados para gammaherpesvirus en mamíferos marinos abarcan; ampollas orales, úlceras genitales, placas y lesiones tipo verrugas (King et al., 2002). No obstante, se ha asociado la presencia del gammaherpesvirus OtHV-1 en el lobo marino de California a la ocurrencia de carcinomas urogenitales y lesiones intraepiteliales, causado por la inestabilidad genómica (King et al., 2002).

Los gammaherpesvirus aislados de las lesiones genitales han sido diagnosticados a partir de: la detección de inclusiones intracelulares anfólicas, pruebas de antígeno viral por microscopía de luz, inmunohistoquímica y la reacción en cadena de la polimerasa (Duignan et al., 2018). Pese a ello, actualmente se desconoce la importancia de OtVH-1 en la salud pública (Duignan et al., 2018).

2. 4. 4. Adenovirus otárino 1 (OtAdV-1)

Los Adenovirus son virus de ADN de doble cadena (dsDNA, por sus siglas en inglés) lineal de 36-38 kb, desnudos, de simetría icosaédrica, con fibras de proteínas pentonas en cada vértice (Flint et al., 2015). Su genoma se divide en cuatro grupos de genes, de acuerdo con los tiempos de transcripción durante su ciclo de replicación: gen temprano inmediato, que activa promotores virales tempranos; genes tempranos, que codifican para proteínas de replicación y evasión inmune; genes tempranos intermedios, activadores de los promotores tardíos; y genes tardíos, que expresan proteínas de ensamblaje (Flint et al., 2015).

Una vez que las fibras de la cápside se acoplan con los receptores celulares, el virión se internaliza por endocitosis, libera las fibras y lisa el endosoma. Después, en el citoplasma, el virión migra mediante los microtúbulos del citoesqueleto hacia el núcleo y libera su genoma a través del poro nuclear, formando un mini cromosoma (Trotman et al., 2001). Durante la fase temprana, el virus obliga a la célula a dividirse y la incapacita de responder a las señales apoptóticas, este estado aumenta la disponibilidad de nucleótidos y sustratos proteicos que utiliza el virus (King et al., 2018; Dodge et al., 2021). Los productos de la expresión temprana mantienen la viabilidad celular, bloquean el transporte del MHC, generan productos para la replicación e interrumpen la síntesis celular que posteriormente lisa a la célula (Dodge et al., 2021). Finalmente, durante la fase tardía ocurre el proceso de ensamblaje. Para esto, primero se ensamblan las proteínas estructurales y las proteínas no estructurales, seguido del empaquetamiento del genoma y la maduración del virión, concluyendo con la salida viral a través de viroporinas (Ostapchuk and Hearing, 2005).

Los adenovirus que infectan a los mamíferos marinos, presentan un tropismo hacia hepatocitos y ocasionalmente a macrófagos hepáticos, por ello, en muestras gastrointestinales se han podido aislar viriones, explicando así su transmisión por la vía fecal-oral y mediante aerosoles (Inoshima et al., 2013).

La hepatitis por Adenovirus tipo 1 fue la primera enfermedad letal reportada para mamíferos marinos, aislada del lobo marino de California. En el lobo marino de California, los signos y lesiones que provoca son: ictericia, esplenomegalia, linfadenopatía mesentérica y palidez hepática con necrosis centrolobulillar (Britt and Howard, 1983). Su diagnóstico consiste en los hallazgos clínicos, como enzimas hepáticas alteradas, y la identificación de cuerpos de inclusión intranucleares anfífilas en hepatocitos, además de su detección mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés) o el aislamiento del virus (Inoshima et al., 2013; Radwan et al., 2019).

El virus no ha ocasionado, a la fecha, eventos de mortalidad o morbilidad en otáridos de vida libre, pero se considera una amenaza potencial para la salud de otáridos silvestres y en cautiverio (Duignan et al., 2018).

2. 4. 5. Parapoxvirus

La familia Poxviridae se divide en dos subfamilias, Entomopoxvirinae y Chordopoxvirinae, y en este último se encuentra el género Parapoxvirus, que puede infectar a diversas especies de mamíferos marinos (Duignan et al., 2018). Los poxvirus se caracterizan por ser virus de dsDNA lineal de 130-375 kb, de simetría ovoide, envueltos y con su propia polimerasa viral contenida dentro de la cápside (Flint et al., 2015). Los viriones tienen un tropismo a células dendríticas dérmicas, monocitos, linfocitos B y linfocitos T activados (Haig and McInnes, 2002). La infección celular empieza con la unión del virión con los receptores celulares de glicosaminoglicanos. El virión se fusiona a la membrana celular por endocitosis y replica en el citoplasma, en un espacio conocido como viroplasma, donde expresan sus genes de la fase temprana, intermedia y tardía (Flint et al., 2015). Durante la fase temprana del ciclo de replicación, se expresan factores de transcripción, factores moduladores del huésped y enzimas asociadas al virión. En la fase intermedia se empaqueta el ADN y proteínas no enzimáticas, y en la fase tardía se expresan enzimas y componentes de la entrada y fusión. Los viriones de poxvirus pueden estar como virión maduro intracelular o virión con envoltura externa, siendo el primero para la transmisión entre célula y célula y el segundo entre hospederos (Flint et al., 2015).

El diagnóstico de la infección puede realizarse mediante biopsia dérmica con identificación de los viriones en microscopía electrónica, cultivo en células susceptibles, como son los fibroblastos humanos, células de riñón de mono o bovino, y la amplificación por PCR, siendo el diagnóstico más rápido y sensible (Álvarez-Argüelles et al., 2015).

Los pinnípedos infectados con Parapoxvirus desarrollan nódulos cutáneos que pueden ulcerar, específicamente en la cabeza, el cuello, las aletas y/o en la mucosa

de la cavidad oral (Duignan et al., 2018). En cetáceos, se ha reportado que los nódulos pueden ser colonizados por bacterias oportunistas y, de ese modo, comprometer la supervivencia del individuo (Nettleton et al., 1995).

2. 4. 6. *Streptococcus* beta hemolítico

Streptococcus pertenece a la familia Streptococcaceae, al orden Lactobacillales, a la clase Bacilli y al phylum Firmicutes (Garrity et al., 2004). Los *Streptococcus* son inmóviles, Gram positivos, catalasa negativos, no formadores de esporas y quimioorganotróficos con un metabolismo fermentativo (Liu and Nizet, 2004).

Los *Streptococcus* patógenos expresan factores de virulencia como estreptolisina, que es responsable de la hemólisis, estreptoquinasa, factores de evasión del complemento, las cápsulas antifagocíticas, y la proteína M antifagocítica, entre otros (Liu and Nizet, 2004).

En diversas especies de mamíferos marinos, los *Streptococcus* son patógenos oportunistas, que se asocian a enfermedades cuando la salud del individuo está inmunocomprometida por una infección secundaria o por la perturbación del ambiente (Numberger et al., 2021). Las hipótesis de transmisión sugieren que la bacteria se ha introducido por el tráfico marítimo y agua de lastre, la actividad y desperdicio de agua humana y el medio ambiente terrestre, incluidos los ríos (Numberger et al., 2021).

A lo que respecta al desarrollo de la infección, después de la evasión de efectores inmunes innatos, la bacteria se adhiere al epitelio y provoca daño celular; además, puede diseminarse por vía sanguínea si logra penetrar hacia el endotelio (Numberger et al., 2021).

En lobo marino de California se han reportado dos especies de *Streptococcus* beta hemolítico: *Streptococcus canis*; aislado del derrame peritoneal de un individuo con ulceración corneal bilateral del zoológico de Londres, Reino Unido (van Bonn et al., 1995) y *Streptococcus phocae*; aislado de individuos varados entre del Pacífico nororiental y el Ártico de Canadá (Taurisano et al., 2018). De acuerdo con Johnson

y colaboradores, en el lobo marino de California, *S. phocae* está significativamente asociada con los carcinomas genitales, pero solo en las hembras (Johnson et al., 2006).

Al ser una bacteria oportunista, los signos que ocasiona no son específicos; sin embargo, en focas de puerto, *Phoca vitulina*, se ha encontrado *S. phocae* en tejidos pulmón, hígado y ovarios, asociado a cuadros de neumonía, septicemia y piometra (Lee et al., 2016). Para *Callorhinus ursinus*, las necropsias revelan signos de neumonía con abscesos y necrosis masiva de riñón e hígado asociados a estas bacterias (Iwao et al.). Recientemente Volokhov y colaboradores (2021) publicaron dos nuevas especies de *Streptococcus*, *S. zalophi sp. nov.*, y *S. pacificus sp. nov.* aisladas del tracto respiratorio de lobo marino de California (Volokhov et al., 2021).

En el cuadro 1 se muestra un resumen comparativo de los patógenos anteriormente descritos.

Cuadro 1. Patógenos detectados en Lobo marino de California.

Patógeno	Molécula	Tropismo	Replicación	Afección
CsIRV	dsRNA	Enterocitos	Citoplasmática	Diarrea
ZcPV-1	dsDNA	Queratinocitos	Nuclear	Papilomas cutáneos
OtHV-1	dsDNA	Linfoepitelial	Nuclear	Carcinoma urogenital
OtAdV-1	dsDNA	Hepatocitos	Nuclear	Hepatitis
Parapoxvirus	dsDNA	Células dérmicas, células presentadoras de antígenos y linfocitos	Citoplasmática	Nódulos cutáneos
<i>Streptococcus beta hemolítico</i>	DNA	Epitelios	Citoplasmática	Neumonía, septicemia, factor de riesgo para carcinoma urogenital

Pregunta de investigación

Esta tesis investigó la relación entre la diversidad del MHC y la salud de crías macho y hembra de lobo marino de California, en el contexto de las anomalías climáticas. La pregunta de investigación es la siguiente: ¿la relación entre la conformación y expresión del MHC clase II y la salud de crías del lobo marino de California es influida por la anomalía de la temperatura superficial del mar y por el sexo?

3. Hipótesis

Dado que las condiciones climáticas atípicas pueden afectar todos los niveles tróficos, se predice que las anomalías de la temperatura superficial del mar durante la gestación comprometen la habilidad del sistema inmune adaptativo de identificar antígenos, y, dado el dimorfismo sexual y restricciones energéticas que plantea la teoría de historia de vida, dicho efecto sería diferente entre sexos. A partir de esta predicción, se plantean las siguientes dos hipótesis de trabajo:

- La constitución y expresión del MHC clase II de crías del lobo marino de California covarían con las anomalías de la temperatura superficial del mar del ámbito hogareño de las hembras adultas.
- La relación entre la expresión del MHC clase II y las anomalías de la temperatura superficial del mar es diferente entre crías hembras y machos.

Dado que los procesos que demandan energía dependen de las reservas energéticas, se predice que la expresión del MHC clase II será óptima y no máxima, y estará relacionada con la condición corporal. A partir de esta predicción, se plantea la tercera hipótesis de trabajo:

- La condición corporal de las crías explica la expresión del MHC clase II del lobo marino de California.

Dado que una mayor cantidad de genes expresados del MHC clase II aumenta la posibilidad de presentar antígenos, se predice que la diversidad y la conformación

del MHC clase II influye en la susceptibilidad a patógenos específicos. A partir de esta predicción, se plantean las siguientes dos hipótesis de trabajo:

- A mayor número de genes del MHC clase II expresados en leucocitos circulantes, menor diversidad parasitaria en las crías de lobo marino de California
- Los genes expresados del MHC clase II del lobo marino de California se asocian con la presencia de patógenos específicos.

4. Objetivos

Objetivo general

Estudiar la relación de la conformación constitutiva y expresada del MHC clase II y la diversidad parasitaria del lobo marino de California entre sexos, en el contexto de las anomalías climáticas.

Objetivos específicos

- Investigar la relación entre las anomalías climáticas oceanográficas y la conformación constitutiva y expresada del MHC clase II del lobo marino de California.
- Comprender la importancia del sexo en la relación de la diversidad de genes expresados del MHC clase II del lobo marino de California y las anomalías climáticas.
- Comparar la composición y diversidad del MHC clase II de las crías de lobo marino de California en relación con su condición corporal
- Comparar la diversidad de genes del MHC clase II expresados en los leucocitos circulantes con relación a la diversidad parasitaria de las crías de lobo marino de California.
- Comparar la diversidad de genes del MHC clase II expresados en relación con la presencia de patógenos específicos en crías de lobo marino de California.

5. Métodos

5. 1. Modelo de estudio: El lobo marino de California

El lobo marino de California, *Zalophus californianus*, es un mamífero carnívoro perteneciente a la superfamilia de los pinnípedos, caracterizados por tener las extremidades traseras en forma de aletas. Los pinnípedos incluyen a las familias: Odobenidae (morsa); Phocidae (focas) y Otariidae (lobos finos y lobos marinos) (King 1983).

El lobo marino de California se congrega en colonias terrestres establecidas alrededor de la costa del noroeste del pacífico donde los individuos llevan a cabo la reproducción, muda y crianza (Peterson and Bartholomew, 1969). Durante la etapa reproductiva, de junio a agosto, los machos adultos delimitan un territorio, del cual las hembras adultas pueden entrar y salir, ya que el sistema es de tipo 'Lek'; es decir, que el macho cuida el territorio, pero no a las hembras (Peterson and Bartholomew, 1969; Hernández-Camacho, 2009).

Cuando finaliza la etapa reproductiva, la mayoría de los machos migran hacia el norte de Washington y centro de California para invernar, mientras que unos pocos permanecen dentro del Golfo de California. En contraste, las hembras adultas permanecen todo el año en la lobera reproductiva de la península de Baja California, y sus viajes de forrajeo ocurren a una distancia de entre 50 a 100 km alrededor de la lobera (Kuhn et al., 2004).

Las diferencias morfológicas entre sexos son reconocibles a simple vista en animales adultos (Figura 1). El macho adulto tiene mayor tamaño, aproximadamente 2.4 m de largo y alcanza 350 kg de peso; además, tiene una cresta sagital prominente, un cuello grueso, y un pelaje más oscuro (Bartholomew, 1970). Las hembras miden, en promedio, 1.8 m y llegan a pesar 110 kg, sin cresta sagital y con un pelaje más claro (Heath and Perrin, 2009).

La inversión de recursos maternos es diferencial de acuerdo con el sexo de las crías; durante la gestación y lactancia la madre destina mayores recursos

energéticos a los machos, los cuales reducen su tasa metabólica para aumentar sus reservas de grasas y lograr una condición corporal mayor (Ono and Boness, 1996). Es decir, también desde cachorros las diferencias morfométricas existen, aunque son más sutiles.

Como modelo de estudio y especie centinela del ambiente marino costero, el lobo marino de California puede reflejar los efectos de las anomalías climáticas, mediante modificaciones en las reservas energéticas y las respuestas fisiológicas.



Figura 1. Hembra y macho de Lobo marino de California.

5. 2. Sitio de estudio: Archipiélago San Benito

Las islas San Benito conforman un archipiélago de origen volcánico asociado a márgenes continentales en el Pacífico Norte, se sitúan en la zona marina costera de la península de Baja California frente al municipio de Ensenada (Figura 2). Está formado por tres islas: San Benito del medio, ubicada en las coordenadas $28^{\circ} 18' 32.990''$ N $115^{\circ} 33' 57.536''$ O, con una superficie de 0.48 km^2 y un perímetro de 3.67 km ; San Benito del Oeste, ubicada a $28^{\circ} 18' 15.274''$ N $115^{\circ} 35' 23.926''$ O, con una superficie de 3.89 km^2 y un perímetro de 11.86 Km ; y la isla San Benito Este

ubicada a $28^{\circ} 18' 3.992''$ N $115^{\circ} 32' 31.398''$ O, con una superficie de 1.48 km^2 y un perímetro de 7.17 km .

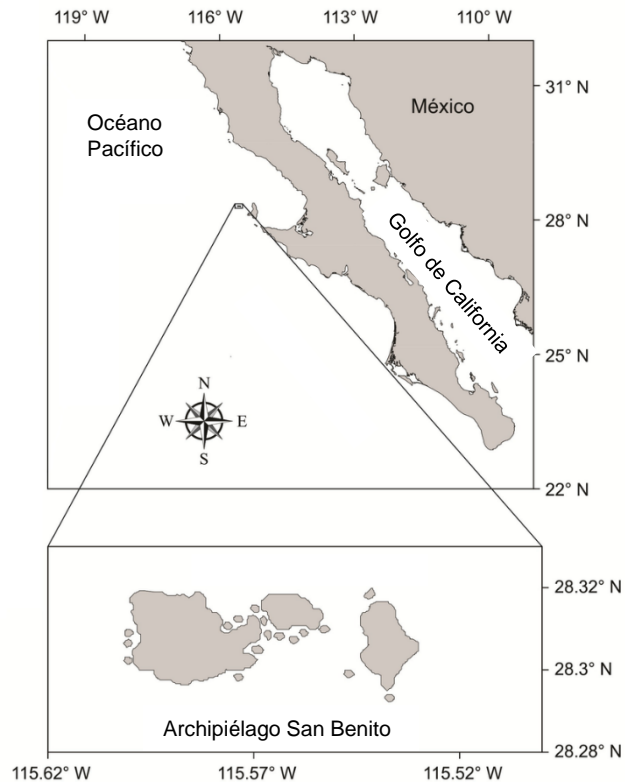


Figura 2. Islas del Archipiélago San Benito. Modificada de Elorriaga-Verplancken et al. 2005.

5. 3. Muestras biológicas utilizadas

Se trabajó con muestras que fueron colectadas durante investigaciones realizadas entre 2014 y 2019. Para fines didácticos, se describe la forma en la que fueron colectadas las muestras.

Durante julio de 2014, 2015, 2017, 2018 y 2019 se colectaron muestras de cachorros nacidos en la Isla San Benito del Oeste. Se capturaron y se manejaron por contención manual 165 crías. A cada cría se le tomaron medidas morfométricas y se les determinó la masa mediante una báscula vertical.

Se colectaron aproximadamente 10 ml de sangre de la vena glútea caudal de cada cría, utilizando en un tubo sellado al vacío Vacutainer® con heparina sódica y 5 ml de sangre en un tubo Vacutainer® con EDTA. El tubo con heparina sódica se centrifugó a 4000 RPM durante 15 minutos en una centrífuga clínica, y se separó la capa leucocitaria en un criotubo estéril con 500 µL de solución de RNAlater (Qiagen) y se mantuvieron en nitrógeno líquido en el campo y durante su traslado al laboratorio, donde se mantuvieron en ultracongelación hasta ser procesadas.

Las muestras de sangre con EDTA se usaron para realizar conteos leucocitarios, que fueron previamente realizados por la M.C. Marina Banuet-Martínez.

También se colectaron muestras de piel (3 mm²) por medio de una incisión en la aleta y se almacenaron en criotubos estériles con 750 µL de alcohol al 96%.

5. 4. Análisis de la conformación y expresión del MHC clase II

Se extrajo ADN de las muestras de piel, el ADN se amplificó con cebadores específicos para cada gen de la A a la J de la región DRB y se comprobó la presencia de los mismos por electroforesis. Para la sangre se extrajo el ARN y se transformó a ADNc, y se continuó el procedimiento de amplificación y comprobación por electroforesis.

V. 4. 1. Extracción de ADN

A partir de muestras de piel preservadas en etanol al 96%, se extrajo el ADN total mediante el protocolo fenol:cloroformo:alcohol isoamílico. Para esto, el tejido se maceró con apoyo de navajas estériles, se lisó con una solución de Chelex al 5%, SDS al 20% y Proteinasa K (20 mg/mL), y se incubó a 60° C por 24h. Transcurrida la incubación, la separación de proteínas y lípidos se llevó a cabo con fenol:cloroformo:alcohol isoamílico (Sambrook et al., 1989) y se llevó a vórtex por 30 s, seguida de una centrifugación a 13000 rpm por 15 min, y se recuperó del sobrenadante. Una vez recuperado el sobrenadante, la precipitación de ADN se hizo con 120 µl de acetato de amonio y 400 µl de EtOH al 95% y se incubó por 30 min a -20° C. Después de la incubación, se eliminó los contaminantes potenciales

mediante tres lavados sucesivos de EtOH al 70% seguido de una aglomeración del pellet por centrifugación a 13,000 rpm. Una vez limpias las muestras se decantó el EtOH y el pellet se secó a temperatura ambiente y se re suspendió en ddH₂O. El ADN obtenido se cuantificó con un NanoDrop y se almacenó a -20° hasta su amplificación.

V. 4. 2. Extracción de ARN y transformación a ADNc

A partir de la capa leucocitaria almacenada a -80°C en RNAlater se extrajo el ARN total con el protocolo TRIZOL® (Qiagen). Para esto, la muestra recuperada se suspendió en TRIZOL®, se agitó en el disruptor y se incubó por 1 h a temperatura ambiente. Pasada la incubación, con apoyo de jeringas estériles se homogenizó la muestra para apoyar mecánicamente la lisis de las células. A continuación, para separar las proteínas del material genético, se añadió cloroformo (200 µL por cada mL de TRIZOL®), se incubó de 2 a 3 min a temperatura ambiente y se centrifugó a 19,000 G, seguido, en la precipitación del ARN se agregó el 10% del volumen del tubo de acetato de sodio 3M y un volumen igual de isopropanol frío antes de incubar a -20°C. Tras la incubación, la limpieza de las muestras se hizo con tres lavados sucesivos con EtOH al 75% y la aglomeración del pellet por centrifugación a 19,000 G. Después de los lavados se decantó el alcohol y el pellet se secó a temperatura ambiente y se re suspendió en ddH₂O. El ARN se cuantificó con un espectrofotómetro NanoDrop y se almacenó a -80°C hasta su transformación a ADN complementario (ADNc).

La transformación a ADNc se llevó a cabo con el kit comercial para transcripción inversa QuantiTect® (Qiagen). El ARN previamente extraído se diluyó a una concentración de 15 ng/µL y se incubó a 42°C por 2 min con 2 µL de la solución amortiguadora para la eliminación de ADN genómico. Transcurrida la incubación, para la síntesis del ADNc se añadió un coctel preparado con 1 µL Quantiscript Reverse Transcriptase, 4 µL Quantiscript RT Buffer 5x y 1 µL RT Primer Mix y se incubó a 42°C por 15 min seguida por una inactivación a 95°C por 3 min. El ADNc

obtenido se cuantificó con un espectrofotómetro NanoDrop y se almacenó a -20° hasta su amplificación.

V. 4. 3. Amplificación de Zaca-DRB y comprobación por electroforesis

La amplificación de la región Zaca-DRB en ADN y en ADNc se hizo siguiendo el mismo procedimiento que a continuación se describe. Cada reacción de 12 µL contenía <1 µg de template, uno de los diez cebadores específicos de Zaca-DRB (Cuadro 2) a una concentración de 10 µM, cebador inverso 10 µM, Buffer 10x, MgCl₂ 25 nM, dNTPs, Taq DNA Polymerase y ddH₂O. Una vez preparada la reacción el termociclador 3700 Applied Biosystems se configuró con las siguientes condiciones: 3 min a 95°C, seguido por 35 ciclos de 45s a 94°C, 30s a 58°C y 60s a 72°, finalizando con un ciclo de extensión a 72° por 10 min. El producto resultante (de 249 pb) se cargó con TBE y amortiguador de carga 6X en un gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio. El gel se corrió a 100 V durante 35 min, y se visualizó en un fotodocumentador con luz ultravioleta.

Cuadro 2. Secuencias de cebadores específicos para la amplificación de genes del MHC clase II (Bowen et al., 2004).

Nombre del Cebador	Secuencia
ZCDRB194A	TCA TTT CTT GGA GCT GTT GAA GGG
ZCDRB194B	TCA TTT CTT GCT CCT GTT TAA GG
ZCDRB194C	TCA TTT CTT GGA GCT GTT GAA GGG
ZCDRB194D	TCA TTT CTT GCT CCT GTG TAA GTC
ZCDRB194E	TCA TTT CTT GCA CCT GTG TAA GGG
ZCDRB194F	TCA TTT CTT GCA CCT GTT TAA GGC
ZCDRB194G	TCA TTT CTT GGA GCT GTT TAA GGC
ZCDRB194H	TCA TTT CTT GCT CCT GTG TAA GGC
ZCDRB194I	TCA TTT CTT GCT CCT GTG TAA GGG
ZCDRB194J	TCA TTT CTT GCT CCT GTG TAA GGG
ZCDRB194R	CTC GCC GCT GCR CCR KGA AG

5. 5. Detección de patógenos

Se utilizaron los resultados de detección de patógenos en las muestras de crías de lobo marino de California que fueron realizados por miembros del Laboratorio de Ecoinmunología y Fisiología de la Conservación para sus trabajos de investigación. Se describe a continuación los procedimientos que fueron utilizados para la detección de los patógenos (Barragán Vargas, 2015; Soto García, 2016; Nieves Martínez, 2022).

5. 5. 1. Detección de ADN de OtHV-1, ZcPV-1, OtAdV-1 y CsIRV

Para la amplificación de fragmentos de OtHV-1 se usaron oligonucleótidos específicos para el gen Dpol 697 (5'GCGGGAACGCAACTATATCCT) y Dpol 65 (3'TCTTCGTCCAGTATCATTG) para obtener un producto de 510 pb (Vélez, 2012). Cada reacción de 12.5 µL contenían 2 µL de muestra de ADN (> 0.01 µg), Buffer 2X, DNTPs, MgCl₂ 2.5 µM, Dpol 697 10 µM, Dpol 65 10 µM, Hotstar taq (Qiagen) y ddH₂O (Barragan-Vargas, 2015). Las condiciones fueron 95 °C durante 15 min, 30 ciclos de 94 °C durante 40 s, 52 °C durante 30 s y 72 °C durante 40 s y un paso de extensión final de 72 °C durante 10 min. Los productos amplificados se verificaron por electroforesis en un gel de agarosa al 1.2% teñido con bromuro de etidio (Barragán-Vargas, 2013; Barragán-Vargas, 2015).

La detección de ZcPV-1 se hizo por oligonucleótidos específicos del gen L1 (secuencia HQ293213.1) de GenBank F (5'ATACAGGACGGGGACATGG) y R (5'TCATATTCCTCAGCGTGCCT) (Nieves-Martínez, 2022). Las condiciones fueron 95° durante 3 min, 35 ciclos de 94 °C durante 30 s, 52 °C durante 30 s y 72 °C durante 15 s y un paso de extensión final de 72 °C durante 15 min. Los productos amplificados se comprobaron por electroforesis en un gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio(Nieves Martínez, 2022).

A partir de muestras de heces y pozas de marea se extrajo el ADN viral con el kit QIAmp Fast DNA Stool® (QIAGEN) y se diseñaron oligonucleótidos consenso (PolFourter 5'-TNMGNGGNGGNMGNTGYTAYCC-3' y PolRouter 5'-GTDGCRAANSHNCCRTABARNGMRTT-3') para la detección del Adenovirus de

Lobo marino de California, Adenovirus Canino tipo 2 y el gen pol de Adenovirus (Soto-García 2016). Para cada reacción de 20 µL se utilizaron 2 µL de ADN, 2 µL de polRouter 10 mM, 2 µL de polFourter 10 mM, 0.4 µL de dNTPs 10 mM, 0.08 µL de Taq polimerasa (Invitrogen), 0.6 µL de MgCl₂ 50 mM, 1 µL de dimetil sulfóxido y 2 µL de Buffer 10X (Soto-García, 2016). Las condiciones utilizadas para las reacciones fueron 94 °C durante 5 min, 45 ciclos a 94 °C por 30 s, 46 °C durante 60 s y 72 °C por 60s y un paso de extensión de 72 °C por 10 min. Los amplicones se verificaron por electroforesis en un gel de agarosa al 1.2% teñido con bromuro de etidio (Soto-García, 2016).

Para el diagnóstico de Rotavirus, se colectaron muestras de heces y se analizaron inmediatamente en el campo mediante la prueba VIKIA ® Rota-Adeno, la cual reporta una sensibilidad de 100% para Rotavirus (Soto-García, 2014).

5. 5. 2. Detección de Parapoxvirus

Durante el manejo de las crías en campo, se examinaron en busca de lesiones características de parapoxivirus en el vientre, las axilas, la zona plantar de las aletas y el dorso. Se buscó y reportó la presencia de nódulos cutáneos ulcerados o ampollas.

5. 5. 3. Detección de ADN de *Streptococcus* beta hemolítico

En la amplificación de *Streptococcus* beta hemolítico se usaron oligonucleótidos específicos para la unidad ribosomal pequeña del ARN de 547 pb. Los oligonucleótidos fueron StreF (5'TGCTAGGTGTTAGGCCCTTT) y StreR (3'CTTGCGACTCGTTGTACCAA) (Ahmet et al., 1999). Cada reacción de 12.5 µl contenían 2.5 µL de muestra de ADN, Buffer 1X, DNTPs, StreF 0.3 µM, StreR 0.3 µM, Hotstar Taq (Qiagen) y ddH₂O (Barragán-Vargas, 2015). Las condiciones fueron 95 °C durante 15 min, 35 ciclos de 95 °C durante 30 s, 55 °C durante 30 s y 72 °C durante 45 s y un paso de extensión final de 72 °C durante 10 min. La comprobación de la amplificación se llevó a cabo por electroforesis en un gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio (Barragán-Vargas, 2013; Barragán-Vargas, 2015).

En el Cuadro 3 se presentan las secuencias de oligonucleótidos que fueron utilizados para la detección de la presencia de material genético de patógenos específicos en las muestras de crías de lobo marino de California, cuyos resultados se utilizaron en la presente tesis.

Cuadro 3. Secuencias de oligonucleótidos específicos para la amplificación de genes de patógenos identificados por PCR.

Patógeno detectado	Nombre del Cebador	Secuencia
OtHV-1	Dpol 697	GCGGGAACGCAACTATATCCT
OtHV-1	Dpol 65	TCTTCGTCCAGTATCATTG
ZcPV-1	L1F	ATACAGGACGGGGACATGG
ZcPV-1	L1R	TCATATTCCTCAGCGTGCCT
OtAdV-1	PolFourter	TNMGNGGNGGNMGNTGYTAYCC
OtAdV-1	PolRouter	GTDGCRAANSHNCCRTABARNGMRTT
<i>Streptococcus</i> beta hemolítico	StreF	TGCTAGGTGTTAGGCCCTTT
<i>Streptococcus</i> beta hemolítico	StreR	CTTGCGACTCGTTGTACCAA

5. 6. Cálculo de la condición corporal

La condición corporal como medida del estado nutricional, representa el capital energético resultado de la alimentación (Schulte-Hostedde et al., 2005), por lo que es útil como un indicador de reservas energéticas y salud. Para cada cría se tomó la longitud de la nariz a la aleta caudal así como la masa corporal,; con base en estos dos valores se calculó el índice de Masa Escalado de Peig y Green (2009). El índice se hizo a partir de la regresión entre $\ln(\text{masa})$ y el $\ln(\text{longitud})$ para obtener el exponente de escala $b(\text{SMA})$, al que se añadió el divisor L_0 como valor arbitrario de la longitud poblacional y el valor de la masa (M) y longitud (L) para cada individuo (i) (Peig and Green, 2009; Soto-García, 2016), de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\hat{M}_i = M_i \left[\frac{L_0}{L_i} \right]^{b_{SMA}}$$

5. 7. Registro de las anomalías climáticas

Se utilizó el Programa de Acceso a Datos de la División de Investigación Ambiental (ERDDAP) de la Administración Nacional Oceánica y Atmosférica (NOAA) y se seleccionó el título del conjunto de datos: SST, Daily Optimum Interpolation (OI), AVHRR Only, Version 2.1, Final, Global, 0.25°, 1981-present, Lon+/-180. Dentro del conjunto de datos se definió un área de 100 km a la redonda del Archipiélago San Benito, que corresponde a las latitudes de: 27.875° y 28.875°, y longitudes de: -116.125° y -115.125°. Las ATSM se tomaron de cuatro etapas que refiere a las tres etapas de gestación de septiembre a noviembre, enero a febrero y marzo a junio, y a la etapa de neonatos de junio a julio, misma que coincide con la captura en campo.

5. 8. Análisis estadístico

Se construyó una base de datos binaria con los datos de presencia o ausencia de los 10 genes (A-J) en la región DRB del MHC clase II y con los datos de la presencia o ausencia de los patógenos arriba descritos. La base de datos se complementó con los datos continuos de la condición corporal y las ATSM durante tres etapas de gestación y otra de neonatos, así como los datos del sexo de cada individuo.

Utilizando el software estadístico R 4.2.2 (R Core Team, 2022), se determinó si la distribución de las variables continuas era normal con la prueba Shapiro–Wilk, y se observó una desviación de la normalidad para los datos de condición corporal, que fue sensible a una transformación por logaritmo natural.

Para determinar (1) el efecto de las ATSM sobre la diversidad del MHC clase II, (2) la relación de la diversidad del MHC clase II entre los sexos en cada etapa gestacional y de neonatos, (3) la relación de la diversidad del MHC clase II de acuerdo a la condición corporal y (4) para conocer la relación de la ocurrencia de la infección y la expresión del MHC clase II se construyeron modelos lineales generalizados (GLM, por sus siglas en inglés). Se indicó una distribución de

probabilidad de error binomial y una función de enlace logit para las variables dicotómicas de presencia/ausencia de parásitos, y la significancia del modelo se analizó mediante la T de student o Chi-cuadrada, de acuerdo con la distribución de las variables. La significancia estadística se determinó con $P < 0.05$.

Para determinar la razón de momios (OR, por sus siglas en inglés) como aproximación para conocer (5) el incremento o reducción en el riesgo de infectarse para cada genotipo, se analizaron las variables dicotómicas por tablas de contingencia de dos por dos y se calculó la significancia mediante Chi-cuadrada en el programa SISA.

6. Resultados

6. 1. Las anomalías climáticas oceanográficas y la conformación constitutiva y expresada del MHC clase II

Se encontró evidencia marginalmente significativa de que la diversidad constitutiva de genes variara entre años, pero no se encontró evidencia significativa en la diversidad expresada (Diversidad constitutiva: GLM; Estimado= 0.1338, Std error=0.0712, Desv Res=447.16, gl=162, $p=0.062$, Fig. 3A; diversidad expresada: GLM; Estimado= -0.1124, Std error=0.1247, Desv Res=425.65, gl=102, $p=0.369$, Fig. 3B).

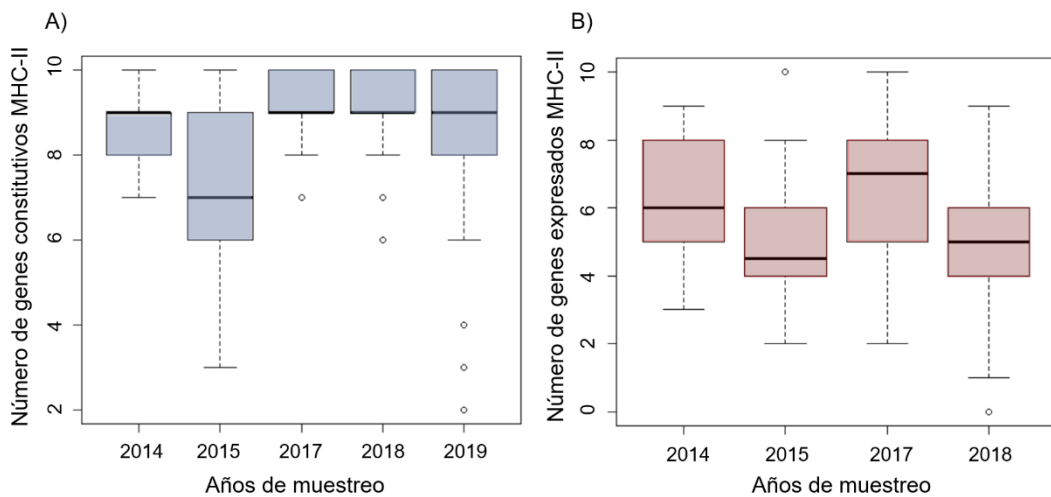


Figura 3. Número de genes constitutivos (A) y expresados (B) del MHC clase II por años de muestreo, no se encontraron diferencias significativas entre los años muestreados.

Sin embargo, al investigar si la diversidad del MHC clase II variaba de acuerdo con la ATSM durante los meses de gestación, se encontró que entre mayor es la ATSM, menor es la diversidad constitutiva y expresada del MHC clase II para todas las crías (Cuadro 4, Fig. 4).

Cuadro 4. Genes constitutivos y expresados en relación con las ATSM.

		Constitutivo			Expresado		
Variable	Periodo	Devs. Rev	gl	p	Devs. Rev	gl	p
ATSM septiembre-noviembre	Gestación	390.01	162	<0.001	404.22	102	0.011
ATSM enero-febrero	Gestación	382.07	161	0.061	388.09	101	0.041
ATSM marzo-junio	Gestación	372.57	160	0.041	387.78	100	0.777
ATSM junio-julio	Neonatos	361.56	159	0.027	387.78	100	NS

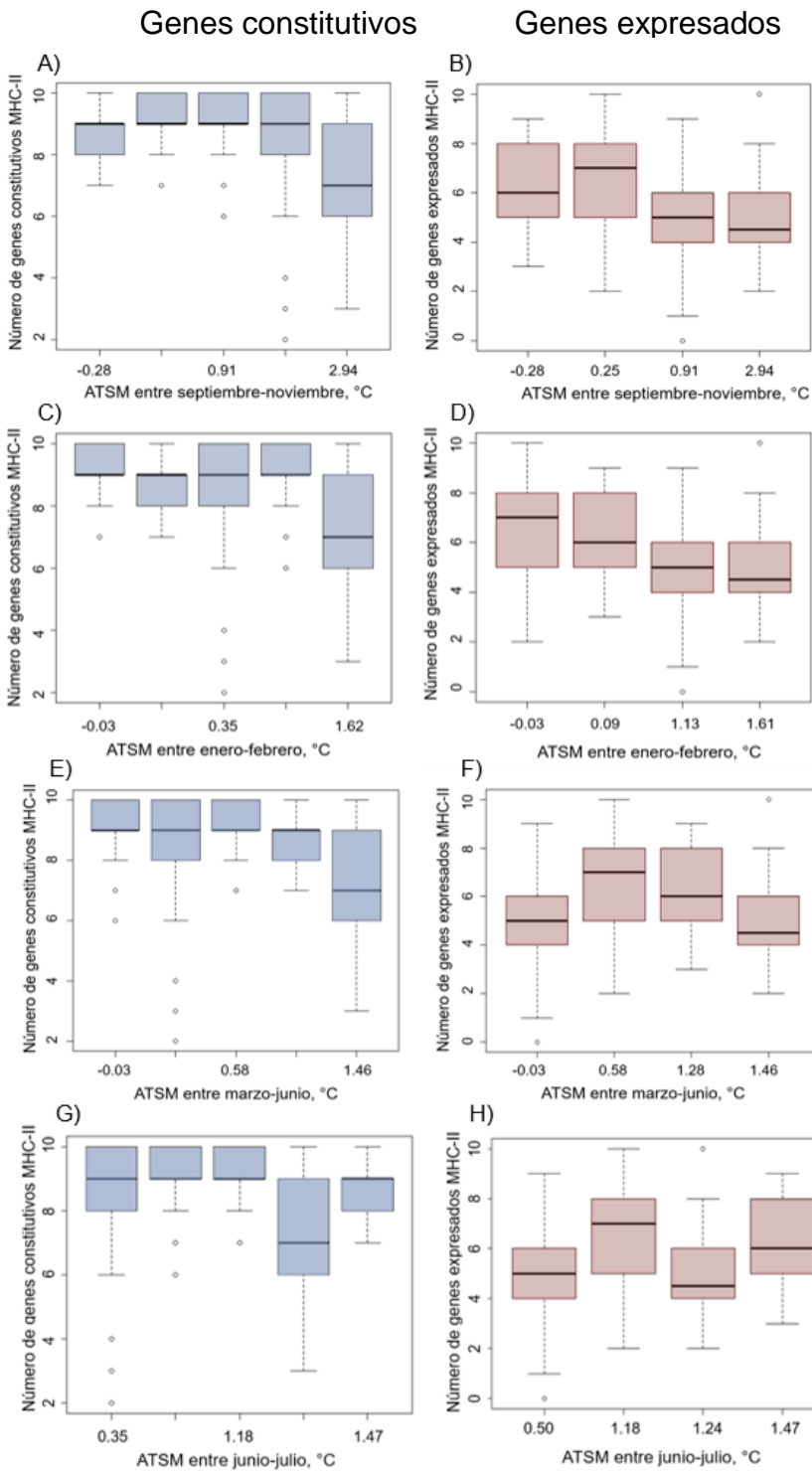


Figura 4. Diversidad de genes constitutivos y expresados del MHC clase II en relación con las ATSM registradas durante las etapas de gestación y presencia neonatos. Diversidad en la constitución (A) y expresión (B) del MHC clase II explicada por las ATSM del primer trimestre de gestación. Diversidad en la constitución (C) y expresión (D) del MHC clase II respecto a las ATSM del segundo trimestre de gestación. Diversidad en la constitución (E) y expresión (F) del MHC clase II modelado con las ATSM del tercer trimestre de gestación. Diversidad en la constitución (G) y expresión (H) del MHC clase II con relación a las ATSM de la etapa de neonatos.

6. 2. Relación entre el sexo y la diversidad de genes expresados del MHC clase II y las anomalías climáticas

Al investigar las diferencias en la diversidad de expresión del MHC clase II de acuerdo con el sexo, no se encontró evidencia de diferencias en la expresión del MHC clase II entre hembras y machos (Diversidad expresada: GLM; Estimado= 0.5232, Std Error= 0.4016, Desv. Rev=422.01, gl=102, $p=0.192$, Fig. 5).

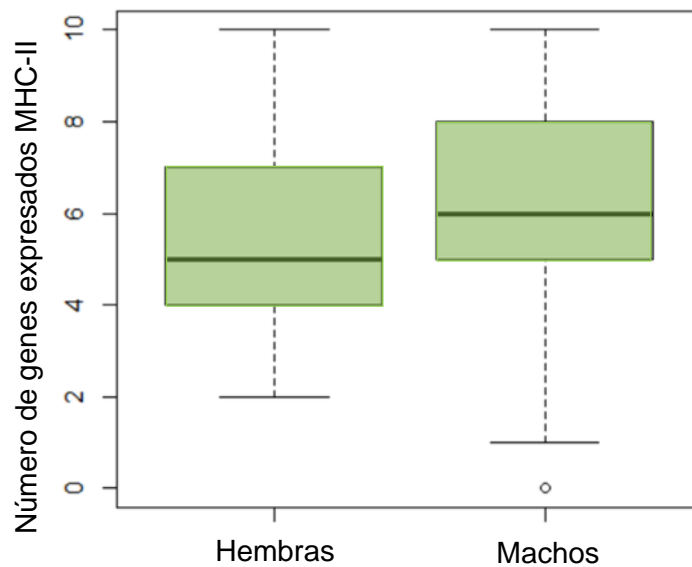


Figura 5. Expresión del MHC clase II de acuerdo con el sexo de las crías de lobo marino de California.

No obstante, se encontró que entre mayor era la ATSM en la primera (Fig. 6A) y segunda etapa de gestación (Fig. 6B), la diversidad de la expresión del MHC clase II era menor para machos (Cuadro 5).

Cuadro 5. Modelo lineal generalizado construido para explorar la relación de cada sexo y la diversidad expresada del MHC clase II en cada etapa de la ATSM.

		Hembras			Machos		
Variable	Periodo	Devs. Rev	gl	p	Devs. Rev	gl	p
ATSM septiembre-noviembre	Gestación	163.85	44	0.482	197.69	56	<0.001
ATSM enero-febrero	Gestación	162.96	43	0.629	169.38	55	0.002
ATSM marzo-junio	Gestación	160.67	42	0.438	164.73	54	0.217
ATSM junio-julio	Neonatos	160.67	42	NS	164.73	54	NS

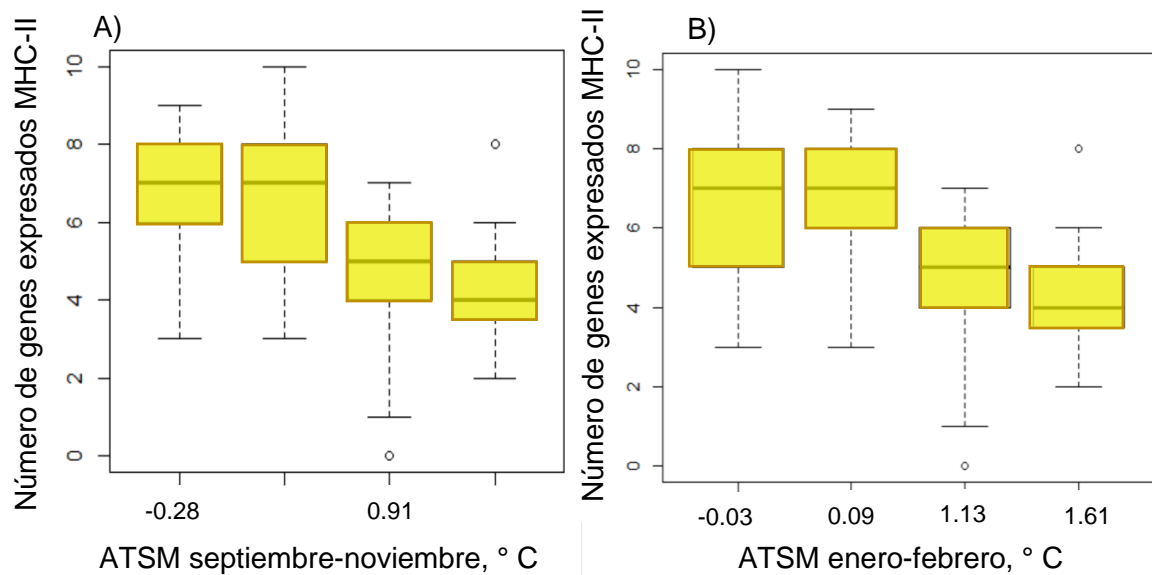


Figura 5. Impacto de las ATSM de A) enero-febrero y de B) septiembre-octubre sobre la diversidad de la expresión del MHC clase II de crías machos de lobo marino de California.

6. 3. La composición y la diversidad del MHC clase II con relación a la condición corporal

Al investigar la relación entre la condición corporal y la expresión del MHC clase II, se encontró una correlación lineal significativa, donde a mayor condición corporal, mayor era la expresión del MHC clase II ($\sqrt{\text{Diversidad de expresión MHC-II} + 0.5}$): LM; Estimado= 0.7651, Std error= 0.345, R^2 ajustada= 0.04, $p= 0.029$, Fig.7a). En contraste, se encontró un mayor número de individuos con la expresión óptima del número de genes del MHC clase II, con relación a una condición corporal media. También, un menor número de individuos en la expresión máxima y mínima al número de genes del MHC clase II, en correspondencia a una condición corporal baja (In Condición corporal: GLM; Desv res=411.09, gl=102, $p=0.034$, Fig.7B).

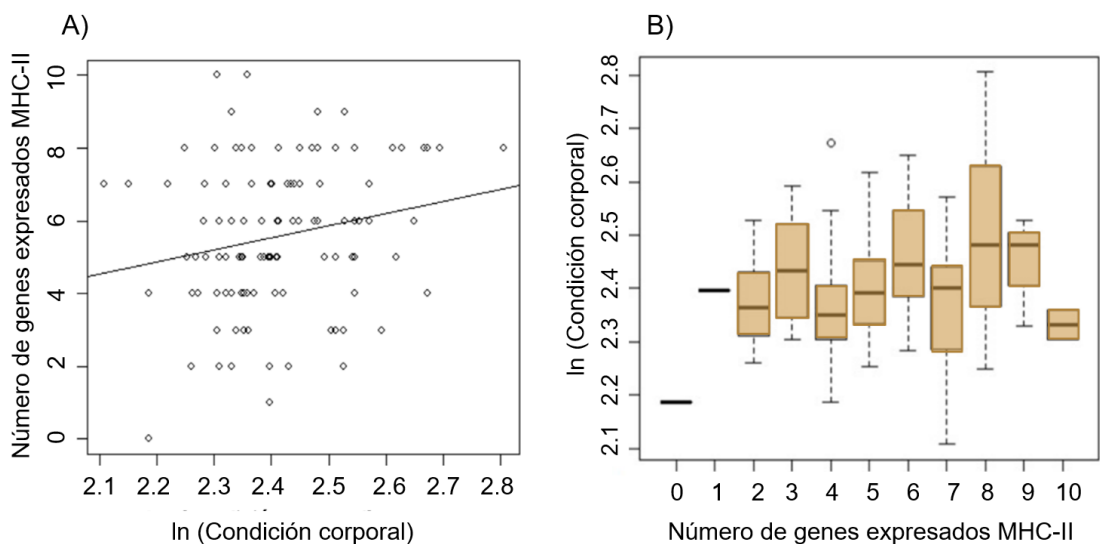


Figura 6. Relación entre la condición corporal y la expresión del MHC clase II. A) Correlación positiva y significativa entre la condición corporal y la expresión del MHC clase II. B) El número de genes expresados del MHC clase II en relación con la condición corporal es óptimo (valores intermedios) y no máximo (extremo derecho) ni mínimo (extremo izquierda).

6. 4. La diversidad de genes del MHC clase II constitutivos y expresados en los leucocitos circulantes con relación a la diversidad parasitaria

Primero, se construyeron modelos lineales generalizados para cada patógeno detectado en función de la expresión del MHC clase II (ver Cuadro 6). Se encontró evidencia de mayor diversidad de expresión del MHC clase II en crías infectadas por CsiRV; sin embargo, era menor en infecciones de OtHV-1 y *Streptococcus* beta hemolítico (Fig. 8).

Cuadro 6. Patógenos que se relacionaron estadísticamente con la diversidad expresada del MHC en crías de lobo marino de California.

Modelo: Diversidad expresada~ CsiRV + OtAdV-1 + Parapoxvirus + <i>Streptococcus</i> beta hemolítico + ZcPV-1 + OtHV-1			
Variable	Desv. Rev	gl	P
CsiRV	149.49	44	0.032
OtAdV-1	145.21	43	0.236
Parapoxvirus	144.09	42	0.544
<i>Streptococcus</i> beta hemolítico	131.28	41	0.047
ZcPV-1	129.53	40	0.449
OtHV-1	119.22	39	0.066

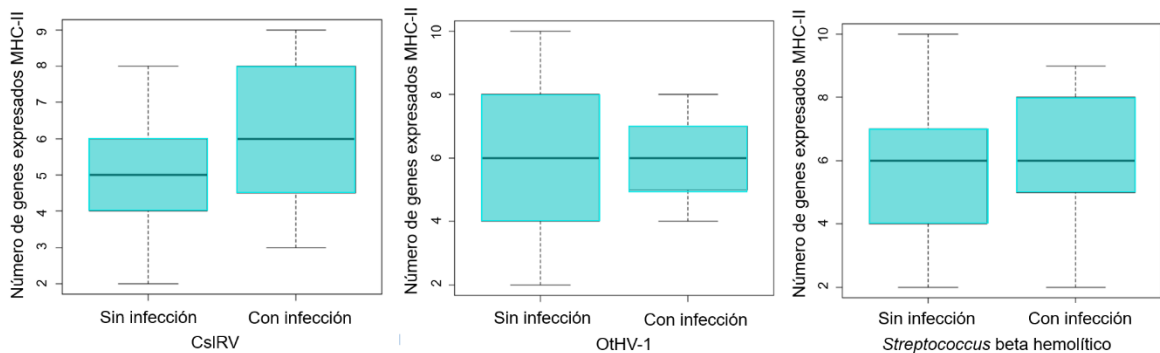


Figura 7. Relación entre la ocurrencia de la infección y la expresión del MHC clase II en crías de lobo marino de California.

Se construyeron 240 modelos independientes para analizar individualmente la relevancia de cada gen del MHC (tanto constitutivo como expresado) para la presencia o ausencia de cada patógeno en crías macho y en crías hembra (Anexos 1-4). Se encontraron asociaciones entre la presencia de un gen y la posibilidad de presentar una infección (Cuadro 7). De esta forma se pudo inferir en qué porcentaje,

la presencia o ausencia de un gen, se relacionaba con la probabilidad de estar infectado por un patógeno dado (Figs. 9-12).

Se encontró evidencia de que genes específicos del MHC se relacionaban con el establecimiento de la infección de patógenos específicos, de manera diferente en hembras, como en machos (Cuadro 7 y Figs. 9-12).

Cuadro 7. Probabilidad de que la presencia de un gen se relacione con la presencia de patógenos específicos en crías de lobo marino de California. Los valores significativos se encuentran en negritas.

Sexo	Tipo de diversidad	Gen	Patógeno	Infectadas		No infectadas		Pr	Odds Ratio	Intervalo de confianza 95%
				Gen +	Gen -	Gen +	Gen -			
Hembras	Constitutivo	A	POX	18	0	34	5	0.267	3.257	0.36 >3.25> 29.08
		E	POX	18	0	33	6	0.189	3.911	0.44 >3.91> 34.23
		J	CsIRV	7	3	19	0	0.027	0.1	0.01 >0.1> 1.03
		B	ZcPV-1	0	6	12	11	0.049	0.132	0.01>0.13>1.23
		G	EBH	25	1	9	4	0.017	11.111	1.09 >11.11>113.06
	Expresado	G	POX	13	4	11	18	0.011	5.318	1.38 > 5.31> 20.48
		F	CsIRV	7	0	6	7	0.038	9.142	0.90 >9.14> 92.39
		I	CsIRV	2	5	0	13	0.089	7	10.6 >7> 81.68
		G	OtHV-1	4	0	13	11	0.184	4.285	0.43 >4.28> 41.95
Machos	Constitutivo	B	OtHV-1	5	0	29	17	0.227	3.6	0.4 >3.6> 32.36
		Expresado	C	CsIRV	11	1	8	6	0.047	8.25
	D		CsIRV	1	11	6	8	0.047	0.121	0.01 > 0.12> 1.21
	F		CsIRV	12	0	9	5	0.08	6.5	0.65 >6.5> 64.82
	H		CsIRV	8	4	14	0	0.044	0.12	0.01 >0.12> 1.19
	J		CsIRV	10	2	5	9	0.014	9	1.38 >9> 58.44
	D		OtAdV-1	3	20	8	10	0.024	0.187	0.04 >0.18> 0.86
	H		OtAdV-1	19	4	18	0	0.141	0.210	0.02 >0.21> 1.97
	H	ZcPV-1	0	1	23	3	0.029	0.083	0.006 >0.08> 1.14	

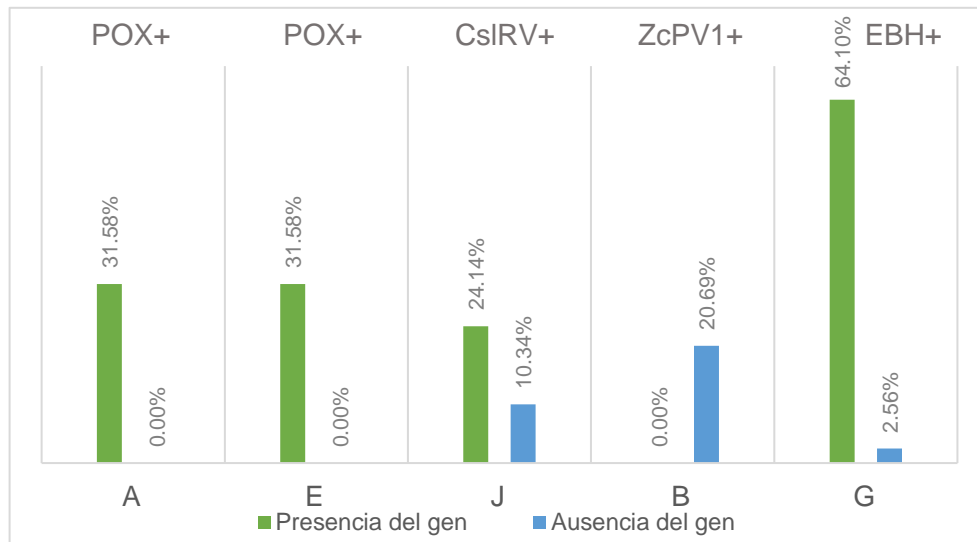


Figura 8. Prevalencia de genes A, B, E, G y J del MHC constitutivos presentes y ausentes en crías hembras de lobo marino de California, con relación a las infecciones por Parapoxvirus, CsIRV, ZcPV1 y *Streptococcus* beta hemolíticos.

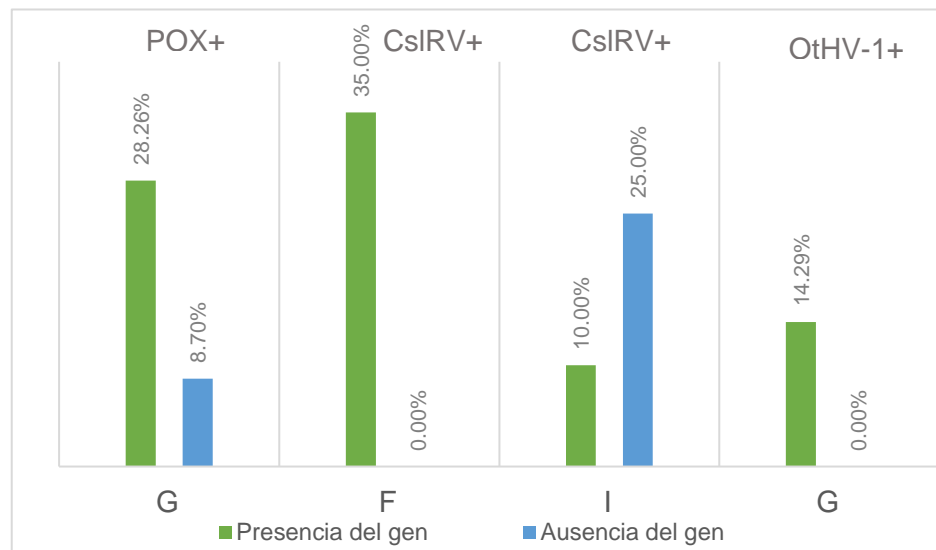


Figura 9. Prevalencia de genes G, F e I del MHC expresados en crías hembras de lobo marino de California, con relación a la infección por Parapoxvirus, CsIRV y OtHV-1.

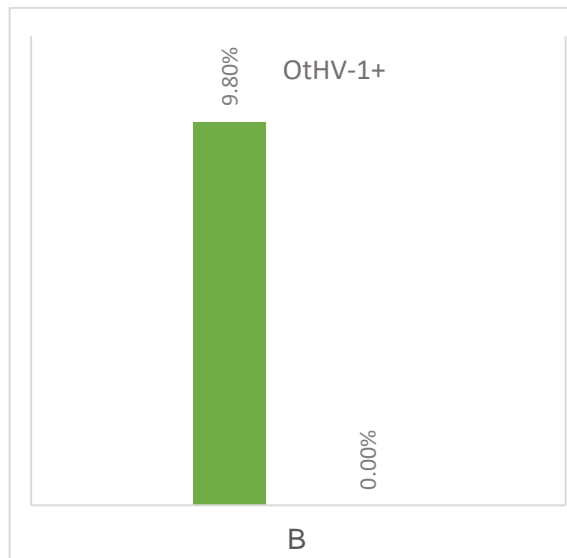


Figura 10. Prevalencia del gen B del MHC constitutivo en crías macho de lobo marino de California, al haber infección por OtHV-1.

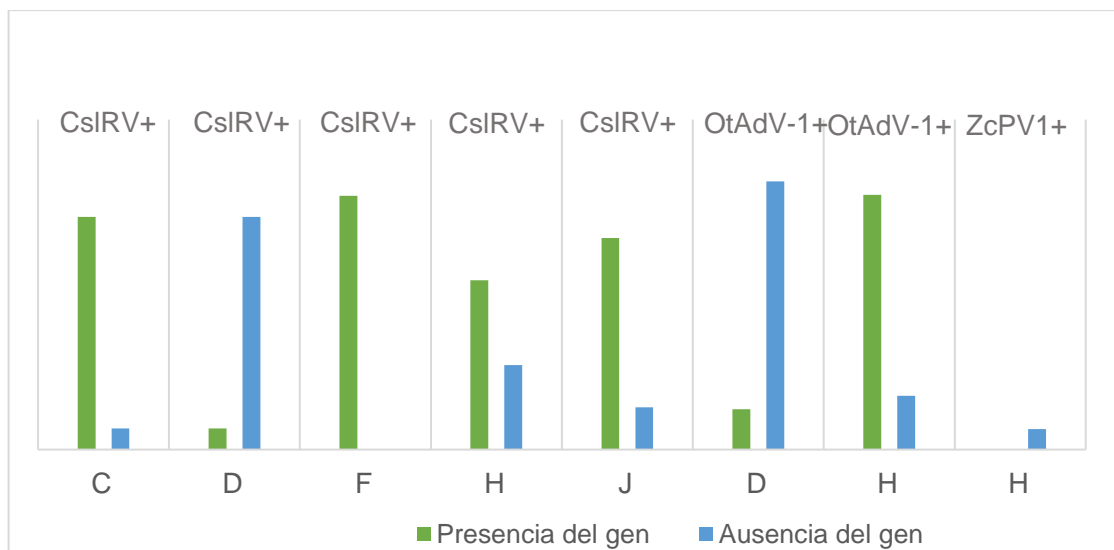


Figura 11. Prevalencia de genes C, D, F, H y J expresados y no expresados en machos, cuando fue detectado CsiRV, OtHV-1 y ZcPV1.

7. Discusión

7. 1. Las anomalías climáticas oceanográficas y la conformación constitutiva y expresada del MHC clase II

La primera hipótesis que se desafió fue que la constitución y expresión del MHC clase II de las crías de lobo marino de California varía con las anomalías de la temperatura superficial del mar que había en el ámbito hogareño de las hembras adultas durante las distintas etapas de la gestación y el nacimiento.

Se esperaba que, de manera complementaria al análisis de las ATSM, para las muestras obtenidas de 2014-2019, hubiera diferencias significativas en la constitución o expresión del MHC clase II, como consecuencia de las anomalías positivas provocadas por La Mancha y ENSO (Elorriaga-Verplancken et al., 2016). Sin embargo, se encontró diferencias marginalmente significativas. Esto podría indicar que el efecto provocado por los fenómenos de La Mancha y de ENSO, tanto en magnitud como en extensión, varió dentro de cada año para el Archipiélago San Benito y no se reflejó significativamente en el MHC clase II por año (Ramos-Rodríguez et al., 2020).

No obstante, en todas las etapas de la gestación y del desarrollo neonatal de las crías se encontró que la constitución del MHC clase II variaba en relación con las ATSM. En las crías, el MHC clase II constitutivo surge por la recombinación genética del óvulo y el espermatozoide; esto sugiere que en crías, la alteración de los genes constitutivos del MHC clase II es un efecto reproductivo (Schaschl et al., 2005). Es decir, es posible que, se recombinen espermatozoides de machos adultos con menor variabilidad genética. Esto indica una posible señal de mortalidad durante la migración en los machos adultos de mayor variabilidad genética por el aumento en las ATSM del ecosistema marino (Altizer et al., 2013; Gearin et al., 2017). Esta eliminación de machos con mayor variabilidad genética abre un nicho para los machos adultos con menor variabilidad genética que sobreviven ante el aumento en las ATSM; sin embargo, los machos sobrevivientes heredan un menor repertorio genético a las crías.

Por su parte, la diversidad expresada del MHC clase II, se relacionó a las ATSM en las primeras etapas de gestación. Es plausible que, con el fin de prepararse para la vida extrauterina, el genoma fetal sufra una remodelación epigenética por la vulnerabilidad a los factores ambientales maternos (Dahlen et al., 2013). Esto sugiere que las señales de las ATSM pueden actuar a través de señales epigenéticas intrauterinas (Bonasio et al., 2010; Odom and Taylor, 2010), y alterar la expresión del MHC clase II en neonatos (Zika and Ting, 2005; Wright and Ting, 2006; Odom and Taylor, 2010; Sandovici et al., 2012). La hipótesis de Barker se ha proporcionado como una explicación a que, en el útero, la exposición al entorno materno afecta la salud y la enfermedad de los adultos (Kimm, 2004) Se ha demostrado que el estado nutricional materno, el estrés y las toxinas en fases gestacionales específicas puede alterar el comportamiento de la descendencia (Welberg and Seckl, 2001; FISH et al., 2006; Breton et al., 2009). Se cree que, en las dos primeras etapas de gestación, la expresión del MHC es clave para el proceso de formación de los precursores de los linfocitos T (Anderson et al., 1993), por lo que las ATSM ocurridas durante esta etapa podrían estar alterando la expresión del MHC clase II de las crías de lobo marino de California, lo que correspondería a lo que aquí se identificó.

También, se observó que en condiciones de ATSM negativas, mayor era la cantidad de genes del MHC clase II de las crías, tanto a nivel constitutivo como a nivel expresado. A partir de estos resultados, se propone que, dado que en las ATSM más frías la productividad en el Archipiélago de San Benito es mayor, la alimentación de los lobos adultos se incrementa (Reimer et al., 2015; NOAA, 2017). De esta forma, los machos adultos con buena calidad, teóricamente de mayor variabilidad genética, serían más dados a llegar a las zonas de reproducción y mantener sus territorios (Brown, 1997; Cotton et al., 2004; Eizaguirre et al., 2009; E et al., 2017). Además, las madres tendrían buen estado nutricional y menor necesidad de forrajear más lejos para procurar comida, por lo que sus crías recibirían más energía (García-Aguilar and Auriolles-Gamboa, 2003) permitiendo una mayor

expresión de genes del MHC clase II en la etapa neonatal (Camus et al., 2019). Esto es importante, ya que el reclutamiento de células presentadoras de antígeno y la activación de la expresión de genes del MHC clase II demanda el suministro de energía, un consumo alrededor de 5 ATP por enlace peptídico (Lévy et al., 1991; Princiotta et al., 2003).

7. 2. El sexo en la relación de la diversidad de genes expresados del MHC clase II y las anomalías climáticas

Aunque es más evidente durante la etapa adulta, el dimorfismo sexual del lobo marino de California también se observa en la etapa neonatal, en particular en una tasa diferencial de crecimiento y acumulación de grasa (Cappozzo et al., 1991), así como en la tasa metabólica (Ono and Boness, 1996). Esto se debe, al menos en parte, a que, durante la gestación las madres destinan más nutrientes a los fetos macho, y durante la lactancia, las crías de este mismo sexo reciben más leche de la madre (Ono and Boness, 1996). En esta tesis se observó un dimorfismo sexual temprano en parámetros inmunes, que era observable solamente en términos de las anomalías en la temperatura, y, también, en términos de la expresión de genes particulares del MHC de clase II ante la infección por patógenos específicos.

Se esperaba que en crías hembra y macho hubiera diferencias en la diversidad expresada del MHC clase II. Sin embargo, no se encontró evidencia de que machos y hembras expresaran un número diferente de genes. Esto podría indicar que, para ambos sexos, durante la etapa de neonatos en la que permanecen en la lopera y solamente se alimentan de leche materna, la exposición a antígenos es semejante, y que la activación de la expresión de los genes de MHC clase II no difieren entre sexos, al menos en esta etapa del desarrollo. Asimismo, se encontró que las anomalías climáticas afectan la diversidad de los genes del MHC clase II que son expresados, disminuyendo la diversidad expresada entre mayor era la ATSM. Esto no se observó para las hembras, lo que sugiere que, para las crías machos, los desafíos ambientales comprometen la diversidad de expresión del MHC clase II

durante la gestación. Esto puede deberse a que las ATSM cambian la cadena trófica y por ende el entorno nutricional (Banuet-Martínez et al., 2017), esto puede limitar la ingesta de reservas y provocar un canje bioenergético entre la activación de la expresión (Camus et al., 2019), y formación de una condición corporal mayor (Ono and Boness, 1996); sin embargo, es posible que la formación de la condición corporal sea favorecida. Ya que, una reducción en la condición corporal podría representar, a largo plazo, un cambio mayor en el éxito reproductivo de los machos (Trivers, 1996). Por su parte, las hembras presentan una respuesta más plástica ante desafíos ambientales durante la gestación y la etapa neonatal. Quizás esto se deba a que en las hembras de especies sexualmente dimórfica no ocurra un canje entre la activación de la expresión y la inversión en rasgos sexuales (Parker et al., 2021; Hangartner et al., 2022)

7.3. La composición y diversidad del MHC clase II en relación con la condición corporal

En la tercera hipótesis se desafió si la condición corporal de las crías predice la expresión del MHC clase II del lobo marino de California. Esto se hizo tomando en cuenta que la condición corporal es un buen indicador indirecto de las reservas energéticas (Peig and Green, 2009). Dada la historia natural temprana de las crías, la condición corporal depende únicamente de las reservas acumuladas durante la gestación y luego del nacimiento, a la lactancia, ya que no comienzan a cazar su alimento hasta los cinco o seis meses (Ono and Boness, 1996). En este sentido, la condición corporal y la energía disponible para realizar procesos metabólicamente demandantes, como el crecimiento y las respuestas inmunes (Demas et al., 2011) de las crías dependen de la dieta de la madre (McClatchie et al., 2016). Bajo este escenario, se esperaría una correlación significativa entre la expresión del MHC clase II y la condición corporal, y esto se encontró, donde las crías de menor condición corporal tienden a expresar menos genes del MHC. Esto refuerza la evidencia de que la expresión del MHC es energéticamente demandante (Lévy et al., 1991; Princiotta et al., 2003), y remarca la importancia de las condiciones

ambientales a las que se enfrentan las madres lactantes para asegurar la alimentación de sus crías.

Resulta interesante observar que la relación entre la diversidad de genes del MHC clase II que eran expresados y la condición corporal de las crías no es lineal, sino que se encontró que las crías con mejor condición corporal tenían una diversidad intermedia de genes del MHC clase II que expresaban. Este resultado podría ser evidencia de que la inversión energética en respuestas inmunes es hacia una optimización, y no una maximización. El sistema inmune administra los recursos energéticos disponibles para una expresión óptima del MHC clase II, para así maximizar los beneficios asociados, minimizar los costos energéticos (Wegner et al., 2003), y evitar riesgos de inmunopatología (Gianfrani et al., 2018). Una expresión de demasiados genes del MHC clase II podría reducir los linajes de células T (Kubinak et al., 2011). Si esto ocurriera, a largo plazo, el repertorio antigénico de los linfocitos T y la habilidad de coordinar respuestas inmunes se verían comprometidas (Goldrath and Bevan, 1999; Kubinak et al., 2011).

7. 4. La diversidad de genes del MHC clase II constitutivos y expresados en los leucocitos circulantes en relación con la diversidad parasitaria y la presencia de parásitos específicos

La cuarta hipótesis plantea que a mayor número de genes del MHC clase II expresados en leucocitos circulantes, menos diversidad parasitaria tendrán en las crías de lobo marino de California.

Se encontró que en los leucocitos circulantes la transcripción relativa de los genes del MHC clase II eran mayores al haber presencia de CslRV en el intestino. Aunque no es posible determinar la causalidad, la relación observada sugiere que hay un proceso de reconocimiento de péptidos virales a través del MHC clase II de las células presentadoras de antígenos, como células dendríticas, que se sabe que sobrerregulan la expresión del MHC al haber procesado antígenos de rotavirus (Rosales-Martinez et al., 2016; Holloway et al., 2018). Sin embargo, en esta tesis se midió la expresión genética de células sanguíneas, mientras que la infección de

rotavirus se da en el epitelio intestinal. Es posible que algunos viriones logren entrar en la circulación sanguínea y, así estimulen la expresión del MHC clase II de los leucocitos circulantes (Crawford et al., 2017). Alternativamente, es posible que la infección intestinal con rotavirus se correlacione con la presencia de otro patógeno, aquí no identificado, que sea la causa de la mayor expresión de los genes del MHC clase II en sangre.

No obstante, no todos los genes que se tienen son expresados en presencia de la infección. Se observó que cuando hay infección de OtHV-1 y *Streptococcus* beta hemolítico, se reduce ligeramente la expresión de los genes del MHC, que cuando no hay infección. Esto sugiere dos escenarios posibles que no son mutuamente excluyentes: 1) los animales infectados tienen menos recursos bioenergéticos para destinar a la expresión, muy costosa, del MHC (Lochmiller and Deerenberg, 2000), y 2) OtHV-1 y *Streptococcus* beta hemolítico cuentan con mecanismos para reducir la expresión del MHC, como estrategia de evasión inmune (Zuo and Rowe, 2012). Aunque esto no se ha reportado para las infecciones de *Streptococcus* beta hemolítico en otras especies, sí se han reportado mecanismos de evasión del sistema inmune, como el escape a la opsonización o el secuestro y degradación de los componentes del complemento (Åkesson et al., 2006; Hyams et al., 2010; Syed et al., 2020).

Al explorar más profundamente las asociaciones entre la presencia de genes específicos del MHC clase II y la ocurrencia de patógenos, se observó que sí existen relaciones, y también que algunos patógenos pueden estar asociados con una sobre o subexpresión de genes específicos del MHC clase II para asegurar su establecimiento (McClelland et al., 2003; Borghans et al., 2004).

Además, las hembras y machos pueden presentar, debido a sus historias de vida diferentes, variaciones en sus respuestas inmunes (Klein and Flanagan, 2016). Encontramos evidencia de genes constitutivos y expresados asociados con la presencia de patógenos específicos de forma diferente entre sexos.

Primero, se encontró que la ausencia de algunos genes del MHC clase II se asociaron a un mayor riesgo de infección por patógenos específicos. Por ejemplo, la ausencia del gen ZacaDRB-B de crías hembras y la reducción en la expresión del gen ZacaDRB-H de crías machos está asociado con mayor riesgo de infección por ZcPV-1. Lo anterior sugiere que ZcPV-1 tiene mecanismos de interrupción en la expresión de genes particulares del MHC de clase II. Se ha demostrado que la proteína E5 del virus del papiloma humano tipo 16 altera la maduración del antígeno MHC de clase II en queratinocitos de prepucio humano (Zhang et al., 2003), creemos que este proceso podría tener relación con la reducción en la expresión del MHC clase II en el lobo marino de California. Sin embargo, se requiere de estudios controlados para dilucidar el motivo de la subexpresión.

Segundo, se encontró que la presencia de algunos genes del MHC clase II se asociaron a un mayor riesgo de infección. Este caso ocurrió con la infección por OthV-1, donde el establecimiento de OthV-1 se relacionó con la expresión de ZacaDRB-G en las crías hembras y con la presencia de ZacaDRB-B en crías machos. De acuerdo con Matzaraki y colaboradores (2017) la diversidad del MHC es un factor de riesgo para infecciones que pueden estar involucradas en enfermedades autoinmunes de mujeres (Matzaraki et al., 2017). Lo cual es relevante para las crías hembras, ya que, OthV-1 es un virus oncogénico y ha sido correlacionado como factor de riesgo al cáncer urogenital en lobo marino de California (Bowen et al., 2005; Gulland et al., 2020).

Tercero, se observó que la presencia o ausencia de algunos genes del MHC clase II se asociaron a un mayor riesgo de infección por patógenos específicos. Este fenómeno ocurrió en la infección por CslRV, donde, al igual que con ZcPV-1 y OthV-1, se hallaron patrones de configuración del MHC clase II diferenciales para crías hembra y macho. Específicamente, en crías hembras la presencia del gen ZacaDRB-J, la expresión de ZacaDRB-F y la ausencia de expresión del gen ZacaDRB-I estaba asociado con un mayor riesgo de infección por CslRV. Mientras que, en machos, la expresión de los genes ZacaDRB-C, ZacaDRB-F, ZacaDRB-H

y ZacaDRB-J, con la ausencia de la expresado del gen ZacaDRB-D se relacionó con un mayor riesgo de infección por CsIRV. Lo que plantea que, la interacción de múltiples genes de susceptibilidad del MHC clase II están involucrados con el establecimiento de patógenos (Froeschke and Sommer, 2012). Posiblemente, los efectos combinados de genes de susceptibilidad pueden influir en el fenotipo y la gravedad de la enfermedad, de manera diferente en crías hembras y crías machos(Acevedo-Whitehouse et al., 2018). No obstante, de acuerdo con McClelland y colaboradores (2003), la combinación de genes del MHC clase II de susceptibilidad tiene beneficios ante coinfecciones (McClelland et al., 2003).

En la cuarta asociación, se observó un sesgo hacia crías hembras en las infecciones por Parapoxvirus y *Streptococcus* beta hemolítico, no así en machos.

Parapoxvirus se asoció a la presencia de ZacaDRB-A y ZacaDRB -E. Este sesgo femenino de infección por Parapoxvirus se puede deber a los cambios en la concentración hormonal entre hembras y machos (Klein, 2000). En las hembras, los estrógenos tienen efectos de sobre la producción de citoquinas y quimioquinas que promueven un ambiente antiinflamatorio (Fish, 2008), . Se ha reportado que, en diferentes especies los machos y las hembras varían en su susceptibilidad a varios virus de ADN y ARN, como el HSV-2, el VIH, el virus del sarampión, los hantavirus y el virus de la estomatitis vesicular (VSV)(Klein, 2000)

Mientras tanto, la infección por *Streptococcus* beta hemolítico se asoció con la presencia de ZacaDRB-G. Estadísticamente, la constitución del gen ZacaDRB-G confirió un riesgo de hasta 113 veces mayor de infección, que el carecer del gen. Esto es relevante porque, adicional a OtHV-1, se trata de un patógeno que está fuertemente vinculado con el cáncer urogenital (Bowen et al., 2005; Gulland et al., 2020), sugerimos que, el mecanismo por el que *Streptococcus* beta hemolítico subyace al cáncer urogenital en crías de lobo marino se debe a la incidencia de cuadros inflamatorios en cuello uterino que pueden provocar reacciones autoinmunes (Cybulski et al., 2019).

8. Conclusión

Con este estudio se ha demostrado que el aumento en las anomalías climáticas modifica la conformación constitutiva del MHC clase II, posiblemente reflejando un impacto en los apareamientos de la población. Si, debido a la anomalía climática los machos de buena calidad genética son menos capaces de completar su migración reproductiva, y, como consecuencia, los machos de menor calidad son los que se reproducen, heredarán a las crías su limitado repertorio.

Igualmente, se encontró evidencia de que en las primeras etapas de gestación el aumento en las anomalías climáticas cambia el patrón de expresión del MHC clase II de neonatos. Esto indica señales epigenéticas intrauterinas por la vulnerabilidad a los factores ambientales maternos. Para las dos primeras etapas de gestación, se sugiere que la remodelación epigenética ocurre durante la formación de precursores de linfocitos T que media el MHC.

Además, se observó que aumenta la cantidad de genes constitutivos y expresados del MHC clase II en condiciones de ATSM negativas. Esto corresponde al afloramiento de aguas, donde las temperaturas frías, ricas en nutrientes, mejoran la productividad y por ende la alimentación de los lobos marinos de California. Así, los machos adultos de mayor calidad, normalmente con mayor variabilidad genética, tendrán mayor posibilidad de concluir su migración para regresar a sus territorios, y las hembras adultas tendrán mejor nutrición y disminución en su esfuerzo de forrajeo.

Se encontró que en las etapas intrauterinas hay un dimorfismo sexual en la expresión del MHC clase II por influencia de las anomalías climáticas. Durante la gestación, los machos son susceptibles a los cambios en las ATSM, mientras que, las hembras presentan una respuesta plástica ante los desafíos climáticos.

También, se concluyó que la condición corporal depende la expresión del MHC clase II. Se observó que en las crías de condición corporal alta hay una expresión

óptima y no máxima de genes del MHC clase II. Esto demuestra que la respuesta inmune se enfoca en maximizar los beneficios y minimizar los costos energéticos.

Finalmente, se encontró que existen cuatro tipos de asociaciones entre la presencia de genes específicos del MHC clase II y la ocurrencia de patógenos, de forma diferencial en sexos. Las relaciones encontradas variaron de acuerdo con el patógeno del cuál se trataba.

La primera asociación se halló con la ausencia de genes, la segunda con la presencia de genes, la siguiente con la combinación de la ausencia y presencia de genes y la última fue un sesgo de infecciones hacia hembras.

La infección de ZcPV1 se relacionó sólo con la ausencia específica de genes constitutivos de hembras y de genes expresados en machos. Mientras que la infección de OtHV-1 se asoció con la presencia particular de genes expresados de hembras y genes constitutivos de machos. Por otro lado, la infección de CslRV se relacionó tanto con la presencia como con la ausencia de genes específicos constitutivos y expresados de hembras y machos. Finalmente, las infecciones de Parapoxvirus y *Streptococcus* beta hemolítico tuvieron un sesgo hacia hembras con la asociación a genes constitutivos.

Dada la importancia del lobo marino de California como especie centinela del ecosistema marino costero, los indicadores inmunes son un monitor de alerta anticipada de los desafíos que enfrenta fisiológicamente y los posibles fenómenos que puede haber en especies silvestres con una potencial relevancia para la conservación y manejo de sus poblaciones.

9. Referencias

- Acevedo-Whitehouse, K., F. Gulland, D. Greig, and W. Amos. 2003. Inbreeding: Disease susceptibility in California sea lions. *Nature*. 422:35–35. doi:10.1038/422035a.
- Acevedo-Whitehouse, K., F. M. D. Gulland, and L. Bowen. 2018. MHC class II DRB diversity predicts antigen recognition and is associated with disease severity in California sea lions naturally infected with *Leptospira interrogans*. *Infection, Genetics and Evolution*. 57:158–165. doi:10.1016/j.meegid.2017.11.023.
- Ahmet, Z., P. Stanier, D. Harvey, and D. Holt. 1999. New PCR primers for the sensitive detection and specific identification of Group B β -hemolytic streptococci in cerebrospinal fluid. *Mol Cell Probes*. 13:349–357. doi:10.1006/mcpr.1999.0262.
- Åkesson, P., L. Moritz, M. Truedsson, B. Christensson, and U. von Pawel-Rammingen. 2006. IdeS, a Highly Specific Immunoglobulin G (IgG)-Cleaving Enzyme from *Streptococcus pyogenes*, Is Inhibited by Specific IgG Antibodies Generated during Infection. *Infect Immun*. 74:497–503. doi:10.1128/IAI.74.1.497-503.2006.
- Alberts, B., A. Johnson, and J. Lewis. 2002. *Molecular Biology of the Cell*. In: 4th Edition. Garland Science, New York .
- Alberts, S. C., and C. Ober. 1993. Genetic variability in the major histocompatibility complex: A review of non-pathogen-mediated selective mechanisms. *Am J Phys Anthropol*. 36:71–89. doi:10.1002/ajpa.1330360606.
- Altamura, G., M. Tommasino, and G. Borzacchiello. 2020. Cutaneous vs. Mucosal Tropism: The Papillomavirus Paradigm Comes to an “and.” *Front Microbiol*. 11. doi:10.3389/fmicb.2020.588663.
- Altizer, S., R. S. Ostfeld, P. T. J. Johnson, S. Kutz, and C. D. Harvell. 2013. Climate Change and Infectious Diseases: From Evidence to a Predictive Framework. *Science (1979)*. 341:514–519. doi:10.1126/science.1239401.
- Álvarez-Argüelles, M. E., S. Melón García, J. A. Boga, and M. de O. Navarro. 2015. Diagnóstico molecular de la infección por Parapoxvirus. *Med Clin (Barc)*. 145:e17–e18. doi:10.1016/j.medcli.2015.01.023.
- Amador-Molina, A., J. Hernández-Valencia, E. Lamoyi, A. Contreras-Paredes, and M. Lizano. 2013. Role of Innate Immunity against Human Papillomavirus (HPV) Infections and Effect of Adjuvants in Promoting Specific Immune Response. *Viruses*. 5:2624–2642. doi:10.3390/v5112624.

- Anderson, G., E. J. Jenkinson, N. C. Moore, and J. J. T. Owen. 1993. MHC class II-positive epithelium and mesenchyme cells are both required for T-cell development in the thymus. *Nature*. 362:70–73. doi:10.1038/362070a0.
- Arnold, M. M., A. Sen, H. B. Greenberg, and J. T. Patton. 2013. The Battle between Rotavirus and Its Host for Control of the Interferon Signaling Pathway. *PLoS Pathog.* 9:e1003064. doi:10.1371/journal.ppat.1003064.
- de Assunção-Franco, M., J. I. Hoffman, J. Harwood, and W. Amos. 2012. MHC genotype and near-deterministic mortality in grey seals. *Sci Rep.* 2:659. doi:10.1038/srep00659.
- Axtner, J. 2013. Immune gene expression and diversity in relation to gastrointestinal parasite burden in small mammals. Available from: <http://opus.kobv.de/ubp/volltexte/2013/6563/>
- Banuet-Martínez, M., W. Espinosa-de Aquino, F. R. Elorriaga-Verplancken, A. Flores-Morán, O. P. García, M. Camacho, and K. Acevedo-Whitehouse. 2017. Climatic anomaly affects the immune competence of California sea lions. *PLoS One*. 12:e0179359. doi:10.1371/journal.pone.0179359.
- Barragán-Vargas, C. 2013. Anormalidades celulares y prevalencia de OthV-1 y Estreptococos beta-hemolíticos en tejido genital de Lobos marinos de California (*Zalophus californianus*) en la región de las grandes islas del Golfo de California, México [Tesis de Licenciatura]. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Barragán-Vargas, C. 2015. Transformación celular epitelial y apoptosis: Un marco ecológico y molecular para el Lobo marino de California [Tesis de Maestría]. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Bartholomew, G. A. 1970. A Model for the Evolution of Pinniped Polygyny. *Evolution* (N Y). 24:546. doi:10.2307/2406835.
- Bento, M. C., R. Canha, C. Eira, J. Vingada, L. Nicolau, M. Ferreira, M. Domingo, L. Tavares, and A. Duarte. 2019. Herpesvirus infection in marine mammals: A retrospective molecular survey of stranded cetaceans in the Portuguese coastline. *Infection, Genetics and Evolution*. 67:222–233. doi:10.1016/j.meegid.2018.11.013.
- BODMER, W. F. 1972. Evolutionary Significance of the HL-A System. *Nature*. 237:139–145. doi:10.1038/237139a0.
- Bonasio, R., S. Tu, and D. Reinberg. 2010. Molecular Signals of Epigenetic States. *Science* (1979). 330:612–616. doi:10.1126/science.1191078.

- Bond, N. A., M. F. Cronin, H. Freeland, and N. Mantua. 2015. Causes and impacts of the 2014 warm anomaly in the NE Pacific. *Geophys Res Lett.* 42:3414–3420. doi:10.1002/2015GL063306.
- van Bonn, W. G., S. H. Ridgway, and B. H. Williams. 1995. Chronic refractory emesis associated with a colonic lesion in a California sea lion (*Zalophus californianus*). *J. Zoo Wild. Med.* 26:286–292.
- Borghans, J. A. M., J. B. Beltman, and R. J. de Boer. 2004. MHC polymorphism under host-pathogen coevolution. *Immunogenetics.* 55:732–739. doi:10.1007/s00251-003-0630-5.
- Bossart, G. D., S. Ghim, M. Rehtanz, J. Goldstein, R. Varela, R. Y. Ewing, P. A. Fair, R. Lenzi, B. Joseph, C. L. Hicks, L. S. Schneider, C. J. McKinnie, J. S. Reif, R. Sanchez, A. Lopez, S. Novoa, J. Bernal, M. Goretti, M. Rodriguez, R. H. Defran, and A. B. Jenson. 2005. Orogenital Neoplasia in Atlantic Bottlenose Dolphins (&l>*Tursiops truncatus*&l>). *Aquat Mamm.* 31:473–480. doi:10.1578/AM.31.4.2005.473.
- Bowen, L., B. M. Aldridge, R. DeLong, S. Melin, E. L. Buckles, F. Gulland, L. J. Lowenstine, J. L. Stott, and M. L. Johnson. 2005. An immunogenetic basis for the high prevalence of urogenital cancer in a free-ranging population of California sea lions (*Zalophus californianus*). *Immunogenetics.* 56:846–848. doi:10.1007/s00251-004-0757-z.
- Bowen, L., B. M. Aldridge, F. Gulland, W. van Bonn, R. DeLong, S. Melin, L. J. Lowenstine, J. L. Stott, and M. L. Johnson. 2004. Class II multiformity generated by variable MHC-DRB region configurations in the California sea lion (*Zalophus californianus*). *Immunogenetics.* 56:12–27. doi:10.1007/s00251-004-0655-4.
- Breton, C. v., H.-M. Byun, M. Wenten, F. Pan, A. Yang, and F. D. Gilliland. 2009. Prenatal Tobacco Smoke Exposure Affects Global and Gene-specific DNA Methylation. *Am J Respir Crit Care Med.* 180:462–467. doi:10.1164/rccm.200901-0135OC.
- Britt, J. O., and E. R. Howard. 1983. Viral Diseases. In: E. Howard, editor. *Pathobiology of Marine Mammals*. Boca Raton Florida. p. 46–67.
- Brown, J. L. 1997. A theory of mate choice based on heterozygosity. *Behavioral Ecology.* 8:60–65.
- Brown, J. L., and A. Eklund. 1994. Kin Recognition and the Major Histocompatibility Complex: An Integrative Review. *Am Nat.* 143:435–461. doi:10.1086/285612.
- Camus, M. F., M. D. Piper, and M. Reuter. 2019. Sex-specific transcriptomic responses to changes in the nutritional environment. *Elife.* 8. doi:10.7554/eLife.47262.

- Cappozzo, H. L., C. Campagna, and J. Monserrat. 1991. SEXUAL DIMORPHISM IN NEWBORN SOUTHERN SEA LIONS. *Mar Mamm Sci.* 7:385–394. doi:10.1111/j.1748-7692.1991.tb00113.x.
- CDC. 2021. Rotavirus. Available from: <https://www.cdc.gov/rotavirus/clinical-sp.html#:~:text=Diagn%C3%B3stico,an%C3%A1lisis%20no%20se%20hace%20com%C3%BAmente>.
- Chust, G., J. I. Allen, L. Bopp, C. Schrum, J. Holt, K. Tsiaras, M. Zavatarelli, M. Chifflet, H. Cannaby, I. Dadou, U. Daewel, S. L. Wakelin, E. Machu, D. Pushpadas, M. Butenschon, Y. Artioli, G. Petihakis, C. Smith, V. Garçon, K. Goubanova, B. le Vu, B. A. Fach, B. Salihoglu, E. Clementi, and X. Irigoien. 2014. Biomass changes and trophic amplification of plankton in a warmer ocean. *Glob Chang Biol.* 20:2124–2139. doi:10.1111/gcb.12562.
- Cohen, S. 2002. Strong Positive Selection and Habitat-Specific Amino Acid Substitution Patterns in Mhc from an Estuarine Fish Under Intense Pollution Stress. *Mol Biol Evol.* 19:1870–1880. doi:10.1093/oxfordjournals.molbev.a004011.
- CONANP. 2013. Monitoreo del Lobo Marino de California (*Zalophus californianus californianus*) en la Reserva de la Biosfera Isla San Pedro Mártir y Área de Protección de Flora y Fauna Islas del Golfo de California. Comisión Nacional de Áreas Naturales Protegidas. Available from: https://simec.conanp.gob.mx/pdf_monitoreo/25-martin_lobo_marino.pdf
- Coria-Galindo, E., E. Rangel-Huerta, A. Verdugo-Rodríguez, D. Brousset, S. Salazar, and L. Padilla-Noriega. 2009. ROTAVIRUS INFECTIONS IN GALAPAGOS SEA LIONS. *J Wildl Dis.* 45:722–728. doi:10.7589/0090-3558-45.3.722.
- Cotton, S., K. Fowler, and A. Pomiankowski. 2004. Do sexual ornaments demonstrate heightened condition-dependent expression as predicted by the handicap hypothesis? *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 271:771–783. doi:10.1098/rspb.2004.2688.
- Crawford, S. E., S. Ramani, J. E. Tate, U. D. Parashar, L. Svensson, M. Hagbom, M. A. Franco, H. B. Greenberg, M. O’Ryan, G. Kang, U. Desselberger, and M. K. Estes. 2017. Rotavirus infection. *Nat Rev Dis Primers.* 3:17083. doi:10.1038/nrdp.2017.83.
- Cybulski, Z., B. Urbański, A. Grabiec, Z. Talaga, M. Pawlak, Ż. Wareńczak-Florczak, and A. Roszak. 2019. The incidence of inflammation among patients suffering from cervix cancer with positive beta haemolytic streptococci cultures from genital tract. *Reports of Practical Oncology & Radiotherapy.* 24:428–431. doi:10.1016/j.rpor.2019.07.004.
- Dahlen, H. G., H. P. Kennedy, C. M. Anderson, A. F. Bell, A. Clark, M. Foureur, J. E. Ohm, A. M. Shearman, J. Y. Taylor, M. L. Wright, and S. Downe. 2013. The EPIIC hypothesis: Intrapartum effects on the neonatal epigenome and consequent health outcomes. *Med Hypotheses.* 80:656–662. doi:10.1016/j.mehy.2013.01.017.

- Demas, G., T. Greives, E. Chester, and French Susannah. 2011. Chapter 8 The energetics of immunity: Mechanisms of trade-offs in ecoimmunology. In: G. Demas and R. Nelson, editors. *Ecoimmunology*.
- Dodge, M. J., K. M. MacNeil, T. M. Tessier, J. B. Weinberg, and J. S. Mymryk. 2021. Emerging antiviral therapeutics for human adenovirus infection: Recent developments and novel strategies. *Antiviral Res.* 188:105034. doi:10.1016/j.antiviral.2021.105034.
- Duignan, P., M. van Bresse, G. Cortéz, and S. Kennedy. 2018. Chapter 17 Viruses. In: *CRC Handbook of Marine Mammal Medicine*. 3rd Edition.
- E, M., Y. Gong, J. Yu, S. Zhang, Q. Fan, Y. Jiang, and H. Wang. 2017. Low level of extra-pair paternity between nearest neighbors results from female preference for high-quality males in the yellow-rumped flycatcher (*Ficedula zanthopygia*). *PLoS One*. 12:e0172713. doi:10.1371/journal.pone.0172713.
- Eggert, F. 1998. Olfactory cues associated with the major histocompatibility complex. *Genetica*. 104:191–197. doi:10.1023/A:1026402531196.
- Eizaguirre, C., S. E. Yeates, T. L. Lenz, M. Kalbe, and M. Milinski. 2009. MHC-based mate choice combines good genes and maintenance of MHC polymorphism. *Mol Ecol*. 18:3316–3329. doi:10.1111/j.1365-294X.2009.04243.x.
- Elorriaga-Verplancken, F. R., G. E. Sierra-Rodríguez, H. Rosales-Nanduca, K. Acevedo-Whitehouse, and J. Sandoval-Sierra. 2016. Impact of the 2015 El Niño-Southern Oscillation on the Abundance and Foraging Habits of Guadalupe Fur Seals and California Sea Lions from the San Benito Archipelago, Mexico. *PLoS One*. 11:e0155034. doi:10.1371/journal.pone.0155034.
- Festa-Bianchet, M. 1989. Individual Differences, Parasites, and the Costs of Reproduction for Bighorn Ewes (*Ovis canadensis*). *J Anim Ecol*. 58:785. doi:10.2307/5124.
- Fish, E. N. 2008. The X-files in immunity: sex-based differences predispose immune responses. *Nat Rev Immunol*. 8:737–744. doi:10.1038/nri2394.
- FISH, E. W., D. SHAHROKH, R. BAGOT, C. CALDJI, T. BREDY, M. SZYF, and M. J. MEANEY. 2006. Epigenetic Programming of Stress Responses through Variations in Maternal Care. *Ann N Y Acad Sci*. 1036:167–180. doi:10.1196/annals.1330.011.
- Flint, J., V. Racaniello, G. Rall, A. Shalka, and W. Enquist. 2015. *Principles of virology*. 4th Edition. Washington , DC.
- Flores-Morán, A., M. Banuet-Martínez, F. R. Elorriaga-Verplancken, L. E. García-Ortuño, J. Sandoval-Sierra, and K. Acevedo-Whitehouse. 2017. Atypical Red Blood Cells Are Prevalent in California Sea Lion Pups Born during Anomalous Sea Surface

- Temperature Events. *Physiological and Biochemical Zoology*. 90:564–574. doi:10.1086/692919.
- Froeschke, G., and S. Sommer. 2012. Insights into the Complex Associations Between MHC Class II DRB Polymorphism and Multiple Gastrointestinal Parasite Infestations in the Striped Mouse. *PLoS One*. 7:e31820. doi:10.1371/journal.pone.0031820.
- García-Aguilar, M., and D. Aurióles-Gamboa. 2003. Maternal care in the California sea lion at Los Islotes, Gulf of California, Mexico. *Cienc Mar*. 29:573–583. doi:10.7773/cm.v29i42.199.
- Garrity, G. M., J. A. Bell, and T. G. Lilburn. 2004. TAXONOMIC OUTLINE OF THE PROKARYOTES BERGEY'S MANUAL® OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY, SECOND EDITION. doi:10.1007/bergeysoutline200405.
- Gearin, P. J., S. R. Melin, R. L. DeLong, M. E. Gosho, and S. J. Jeffries. 2017. Migration patterns of adult male California sea lions (*Zalophus californianus*). U.S. Dep. Commer., NOAA Tech. Memo. .
- Gianfrani, C., L. Pisapia, S. Picascia, M. Strazzullo, and G. del Pozzo. 2018. Expression level of risk genes of MHC class II is a susceptibility factor for autoimmunity: New insights. *J Autoimmun*. 89:1–10. doi:10.1016/j.jaut.2017.12.016.
- Goldrath, A. W., and M. J. Bevan. 1999. Selecting and maintaining a diverse T-cell repertoire. *Nature*. 402:6–13. doi:10.1038/35005508.
- Gulland, F. M. D., A. J. Hall, G. M. Ylitalo, K. M. Colegrove, T. Norris, P. J. Duignan, B. Halaska, K. Acevedo Whitehouse, L. J. Lowenstine, A. C. Deming, and T. K. Rowles. 2020. Persistent Contaminants and Herpesvirus OtHV1 Are Positively Associated With Cancer in Wild California Sea Lions (*Zalophus californianus*). *Front Mar Sci*. 7. doi:10.3389/fmars.2020.602565.
- Haig, D. M., and C. J. McInnes. 2002. Immunity and counter-immunity during infection with the parapoxvirus orf virus. *Virus Res*. 88:3–16. doi:10.1016/S0168-1702(02)00117-X.
- Hamilton, W. D., and M. Zuk. 1982. Heritable True Fitness and Bright Birds: A Role for Parasites? *Science* (1979). 218:384–387. doi:10.1126/science.7123238.
- Hangartner, S., C. M. Sgrò, T. Connallon, and I. Booksmythe. 2022. Sexual dimorphism in phenotypic plasticity and persistence under environmental change: An extension of theory and meta-analysis of current data. *Ecol Lett*. 25:1550–1565. doi:10.1111/ele.14005.
- Heath, C. B., and W. F. Perrin. 2009. California, Galapagos, and Japanese Sea Lions. In: *Encyclopedia of Marine Mammals*. Elsevier. p. 170–176.

- Hernández-Camacho, C. J. 2009. Demography of California sea lion colonies in the Gulf of California, Mexico [Thesis Doctoral]. Arizona State University .
- Holloway, G., F. E. Fleming, and B. S. Coulson. 2018. MHC class I expression in intestinal cells is reduced by rotavirus infection and increased in bystander cells lacking rotavirus antigen. *Sci Rep.* 8:67. doi:10.1038/s41598-017-18464-x.
- Hughes, A. L., and M. Nei. 1989. Nucleotide substitution at major histocompatibility complex class II loci: evidence for overdominant selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 86:958–962. doi:10.1073/pnas.86.3.958.
- Hyams, C., E. Camberlein, J. M. Cohen, K. Bax, and J. S. Brown. 2010. The *Streptococcus pneumoniae* Capsule Inhibits Complement Activity and Neutrophil Phagocytosis by Multiple Mechanisms. *Infect Immun.* 78:704–715. doi:10.1128/IAI.00881-09.
- Iglesias, I., M. N. Lorenzo, M. Gómez-Gesteira, and I. Es. 2010. La temperatura superficial del mar como herramienta de predicción climática.
- Ike, A. C., C. J. Onu, C. M. Ononugbo, E. E. Reward, and S. O. Muo. 2020. Immune Response to Herpes Simplex Virus Infection and Vaccine Development. *Vaccines (Basel).* 8:302. doi:10.3390/vaccines8020302.
- Ilmonen, P., D. J. Penn, K. Damjanovich, L. Morrison, L. Ghotbi, and W. K. Potts. 2007. Major Histocompatibility Complex Heterozygosity Reduces Fitness in Experimentally Infected Mice. *Genetics.* 176:2501–2508. doi:10.1534/genetics.107.074815.
- Inoshima, Y., T. Murakami, N. Ishiguro, K. Hasegawa, and M. Kasamatsu. 2013. An outbreak of lethal adenovirus infection among different otariid species. *Vet Microbiol.* 165:455–459. doi:10.1016/j.vetmic.2013.04.013.
- Iwao, H., M. Yanagisawa, ; Sayuri Kino, J. Takamori, and ; Minoru Okamoto. 2015: Two Beta-Hemolytic Streptococci *Streptococcus canis* and *S. phocae* Isolated From a Northern Fur Seal with Septicemia From Niigata, Japan.
- Janeway, C. A., P. Travers, and M. Walport. 2001. *Immunobiology: The Immune System in Health and Disease* The major histocompatibility complex and its functions. 5th Edition. New York: Garland Science.
- Johnson, S., L. Lowenstine, F. Gulland, S. Jang, D. Imai, F. Almy, R. DeLong, and I. Gardner. 2006. Aerobic bacterial flora of the vagina and prepuce of California sea lions (*Zalophus californianus*) and investigation of associations with urogenital carcinoma. *Vet Microbiol.* 114:94–103. doi:10.1016/j.vetmic.2005.11.045.
- Kimm, S. Y. S. 2004. Fetal origins of adult disease: the Barker hypothesis revisited????2004. *Curr Opin Endocrinol Diabetes.* 11:192–196. doi:10.1097/01.med.0000140938.39925.4c.

- King, C. R., A. Zhang, T. M. Tessier, S. F. Gameiro, and J. S. Mymryk. 2018. Hacking the Cell: Network Intrusion and Exploitation by Adenovirus E1A. *mBio*. 9. doi:10.1128/mBio.00390-18.
- King, D. P., M. C. Hure, T. Goldstein, B. M. Aldridge, F. M. D. Gulland, J. T. Saliki, E. L. Buckles, L. J. Lowenstine, and J. L. Stott. 2002. Otarine herpesvirus-1: a novel gammaherpesvirus associated with urogenital carcinoma in California sea lions (*Zalophus californianus*). *Vet Microbiol*. 86:131–137. doi:10.1016/S0378-1135(01)00497-7.
- Klein, S. L. 2000. The effects of hormones on sex differences in infection: from genes to behavior. *Neurosci Biobehav Rev*. 24:627–638. doi:10.1016/S0149-7634(00)00027-0.
- Klein, S. L., and K. L. Flanagan. 2016. Sex differences in immune responses. *Nat Rev Immunol*. 16:626–638. doi:10.1038/nri.2016.90.
- Kubinak, J., A. Nelson, J. Ruff, and W. Potts. 2011. Chapter 7 Trade-offs limiting MHC heterozygosity. In: G. Demas and R. Nelson, editors. *Ecoimmunology*.
- Kuhn, C., G. G. Aurioles, and D. Costa. 2004. Habitat utilization, diving and foraging behavior of adult female California sea lions (*Zalophus californianus*). . In: XXIX Reunión Internacional para el Estudio de los Mamíferos Marinos. . La Paz, México . p. 78.
- Lee, K., J.-Y. Kim, S. C. Jung, H.-S. Lee, M. Her, and C. Chae. 2016. First Isolation of *Streptococcus halichoeri* and *Streptococcus phocae* from a Steller Sea Lion (*Eumetopias jubatus*) in South Korea. *J Wildl Dis*. 52:183–185. doi:10.7589/2015-05-112.
- Lévy, F., R. Gabathuler, R. Larsson, and S. Kvist. 1991. ATP is required for in vitro assembly of MHC class I antigens but not to transfer of peptides across the ER membrane. *Cell*. 67:265–274. doi:10.1016/0092-8674(91)90178-2.
- Li, L., T. Shan, C. Wang, C. Côté, J. Kolman, D. Onions, F. M. D. Gulland, and E. Delwart. 2011. The Fecal Viral Flora of California Sea Lions. *J Virol*. 85:9909–9917. doi:10.1128/JVI.05026-11.
- Liu, G. Y.-H., and V. Nizet. 2004. Extracellular virulence factors of group B Streptococci. *Frontiers in Bioscience*. 9:1794. doi:10.2741/1296.
- Lochmiller, R. L., and C. Deerenberg. 2000. Trade-offs in evolutionary immunology: just what is the cost of immunity? *Oikos*. 88:87–98. doi:10.1034/j.1600-0706.2000.880110.x.

- Matzaraki, V., V. Kumar, C. Wijmenga, and A. Zhernakova. 2017. The MHC locus and genetic susceptibility to autoimmune and infectious diseases. *Genome Biol.* 18:76. doi:10.1186/s13059-017-1207-1.
- McCabe, R. M., B. M. Hickey, R. M. Kudela, K. A. Lefebvre, N. G. Adams, B. D. Bill, F. M. D. Gulland, R. E. Thomson, W. P. Cochlan, and V. L. Trainer. 2016. An unprecedented coastwide toxic algal bloom linked to anomalous ocean conditions. *Geophys Res Lett.* 43. doi:10.1002/2016GL070023.
- McClatchie, S., J. Field, A. R. Thompson, T. Gerrodette, M. Lowry, P. C. Fiedler, W. Watson, K. M. Nieto, and R. D. Vetter. 2016. Food limitation of sea lion pups and the decline of forage off central and southern California. *R Soc Open Sci.* 3:150628. doi:10.1098/rsos.150628.
- McClelland, E. E., D. J. Penn, and W. K. Potts. 2003. Major Histocompatibility Complex Heterozygote Superiority during Coinfection. *Infect Immun.* 71:2079–2086. doi:10.1128/IAI.71.4.2079-2086.2003.
- McNamara, K. B., N. Wedell, and L. W. Simmons. 2013. Experimental evolution reveals trade-offs between mating and immunity. *Biol Lett.* 9:20130262. doi:10.1098/rsbl.2013.0262.
- Meylan, S., M. Richard, S. Bauer, C. Haussy, and D. Miles. 2013. Costs of Mounting an Immune Response during Pregnancy in a Lizard. *Physiological and Biochemical Zoology.* 86:127–136. doi:10.1086/668637.
- Murray, B. W., and B. N. White. 1998. Sequence variation at the major histocompatibility complex DRB loci in beluga (*Delphinapterus leucas*) and narwhal (*Monodon monoceros*). *Immunogenetics.* 48:242–252. doi:10.1007/s002510050428.
- Nettleton, P., R. Munro, I. Pow, J. Gilray, E. Gray, and H. Reid. 1995. Isolation of a parapoxvirus from a grey seal (*Halichoerus grypus*). *Veterinary Record.* 137:562–564. doi:10.1136/vr.137.22.562.
- Nieves Martínez, D. P. 2022. Expresión genética relacionada con la transformación epitelial genital del lobo marino de California [Tesis de Maestría]. Universidad Autónoma de Querétaro.
- NOAA. 2009. Anomaly. National Oceanic and Atmospheric Administration. Available from: w1.weather.gov/glossary/index.php?word=anomaly
- NOAA. 2017. Upwelling. National Oceanic and Atmospheric Administration. Available from: oceanexplorer.noaa.gov

- Numberger, D., U. Siebert, M. Fulde, and P. Valentin-Weigand. 2021. Streptococcal Infections in Marine Mammals. *Microorganisms*. 9:350. doi:10.3390/microorganisms9020350.
- Odom, L. N., and H. S. Taylor. 2010. Environmental induction of the fetal epigenome. *Expert Rev Obstet Gynecol*. 5:657–664. doi:10.1586/eog.10.58.
- Ohta, T. 1998. On the Pattern of Polymorphisms at Major Histocompatibility Complex Loci. *J Mol Evol*. 46:633–638. doi:10.1007/PL00006343.
- Ono, K. A., and D. J. Boness. 1996. Sexual dimorphism in sea lion pups: differential maternal investment, or sex-specific differences in energy allocation? *Behav Ecol Sociobiol*. 38:31–41. doi:10.1007/s002650050214.
- Ostapchuk, P., and P. Hearing. 2005. Control of adenovirus packaging. *J Cell Biochem*. 96:25–35. doi:10.1002/jcb.20523.
- Parker, D. J., T. Envall, M. G. Ritchie, and M. Kankare. 2021. Sex-specific responses to cold in a very cold-tolerant, northern *Drosophila* species. *Heredity (Edinb)*. 126:695–705. doi:10.1038/s41437-020-00398-2.
- Peig, J., and A. J. Green. 2009. New perspectives for estimating body condition from mass/length data: the scaled mass index as an alternative method. *Oikos*. 118:1883–1891. doi:10.1111/j.1600-0706.2009.17643.x.
- Penn, D. J., and W. K. Potts. 1999. The Evolution of Mating Preferences and Major Histocompatibility Complex Genes. *Am Nat*. 153:145–164. doi:10.1086/303166.
- Pershing, A., R. Griffis, E. B. Jewett, C. T. Armstrong, J. F. Bruno, S. Busch, A. C. Haynie, S. Siedlecki, and D. Tommasi. 2018. Chapter 9 : Oceans and Marine Resources. Impacts, Risks, and Adaptation in the United States: The Fourth National Climate Assessment, Volume II. Washington, DC.
- Peterson, R. S., and G. A. Bartholomew. 1969. The Natural History and Behavior of the California Sea Lion. *Bioscience*. 19:1042–1042. doi:10.2307/1294999.
- Preston, C. 2008. *Herpesvirus: Latency*. 3th Edition.
- Princiotta, M. F., D. Finzi, S.-B. Qian, J. Gibbs, S. Schuchmann, F. Buttgereit, J. R. Bennink, and J. W. Yewdell. 2003. Quantitating Protein Synthesis, Degradation, and Endogenous Antigen Processing. *Immunity*. 18:343–354. doi:10.1016/S1074-7613(03)00051-7.
- Promislow. 1992. Costs of sexual selection in natural populations of mammals. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 247:203–210. doi:10.1098/rspb.1992.0030.
- R Core Team. 2022. *Software R*.

- Radwan, M. M., A. H. El-Deeb, M. R. Mousa, A. A. El-Sanousi, and M. A. Shalaby. 2019. First report of fowl adenovirus 8a from commercial broiler chickens in Egypt: molecular characterization and pathogenicity. *Poult Sci.* 98:97–104. doi:10.3382/ps/pey314.
- Ramig, R. F. 2004. Pathogenesis of Intestinal and Systemic Rotavirus Infection. *J Virol.* 78:10213–10220. doi:10.1128/JVI.78.19.10213-10220.2004.
- Ramos-Rodríguez, A., E. González-Rodríguez, H. Villalobos, C. Soldatini, and E. Romero-Vadillo. 2020. Historical SST warming events in the Northeastern Pacific: How unique is the Warm Blob? *Rev Biol Mar Oceanogr.* 55:110–118. doi:10.22370/rbmo.2020.55.2.2496.
- Reimer, J. J., R. Vargas, D. Rivas, G. Gaxiola-Castro, J. M. Hernandez-Ayon, and R. Lara-Lara. 2015. Sea Surface Temperature Influence on Terrestrial Gross Primary Production along the Southern California Current. *PLoS One.* 10:e0125177. doi:10.1371/journal.pone.0125177.
- Rivera, R., R. Robles-Sikisaka, E. M. Hoffman, B. A. Stacy, E. D. Jensen, H. H. Nollens, and J. F. X. Wellehan. 2012. Characterization of a novel papillomavirus species (ZcPV1) from two California sea lions (*Zalophus californianus*). *Vet Microbiol.* 155:257–266. doi:10.1016/j.vetmic.2011.09.027.
- Rosales-Martinez, D., L. Gutierrez-Xicotencatl, O. Badillo-Godinez, D. Lopez-Guerrero, A. Santana-Calderon, R. Cortez-Gomez, O. Ramirez-Pliego, and F. Esquivel-Guadarrama. 2016. Rotavirus activates dendritic cells derived from umbilical cord blood monocytes. *Microb Pathog.* 99:162–172. doi:10.1016/j.micpath.2016.08.020.
- Rülicke, T., M. Chapuisat, F. R. Homberger, E. Macas, and C. Wedekind. 1998. MHC-genotype of progeny influenced by parental infection. *Proc R Soc Lond B Biol Sci.* 265:711–716. doi:10.1098/rspb.1998.0351.
- Saino, N., and A. P. Møller. 1996. Sexual ornamentation and immunocompetence in the barn swallow. *Behavioral Ecology.* 7:227–232. doi:10.1093/beheco/7.2.227.
- Sambrook, J., E. Fritsch, and T. Maniatis. 1989. *Molecular Cloning: A Laboratory Manual.* (Harbor Laboratory Press and Cold Spring Harbor, editors.). New York.
- Sandovici, I., K. Hoelle, E. Angiolini, and M. Constância. 2012. Placental adaptations to the maternal–fetal environment: implications for fetal growth and developmental programming. *Reprod Biomed Online.* 25:68–89. doi:10.1016/j.rbmo.2012.03.017.
- Schaschl, H., F. Suchentrunk, S. Hammer, and S. J. Goodman. 2005. Recombination and the origin of sequence diversity in the DRB MHC class II locus in chamois (*Rupicapra* spp.). *Immunogenetics.* 57:108–115. doi:10.1007/s00251-005-0784-4.

- Schulte-Hostedde, A. I., B. Zinner, J. S. Millar, and G. J. Hickling. 2005. RESTITUTION OF MASS-SIZE RESIDUALS: VALIDATING BODY CONDITION INDICES. *Ecology*. 86:155–163. doi:10.1890/04-0232.
- Sherry, B. 2009. Rotavirus and Reovirus Modulation of the Interferon Response. *Journal of Interferon & Cytokine Research*. 29:559–567. doi:10.1089/jir.2009.0072.
- Slade, R. 1992. Limited MHC polymorphism in the southern elephant seal: implications for MHC evolution and marine mammal population biology. *Proc R Soc Lond B Biol Sci*. 249:163–171. doi:10.1098/rspb.1992.0099.
- Sommer, S. 2005. The importance of immune gene variability (MHC) in evolutionary ecology and conservation. *Front Zool*. 2:16. doi:10.1186/1742-9994-2-16.
- Soto-García, L. A. 2014. VARIACION ESPACIAL Y TEMPORAL DE LA PREVALENCIA DE ADENOVIRUS OTÁRINO 1 (OTADV-1) Y ROTAVIRUS LOBO MARINO DE CALIFORNIA (CSL RV) EN CRÍAS DE *Zalophus californianus* EN EL GOLFO DE CALIFORNIA Y PACÍFICO MEXICANO. [Tesis de Licenciatura]. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Soto-García, L. A. 2016. Distribución espacial de Adenovirus entérico en el lobo marino de California y su relación con variables físico-químicas, geográficas y ecológicas. [Tesis de Maestría]. Universidad Autónoma de Querétaro.
- Stenseth, N. C., A. Mysterud, G. Ottersen, J. W. Hurrell, K.-S. Chan, and M. Lima. 2002. Ecological Effects of Climate Fluctuations. *Science* (1979). 297:1292–1296. doi:10.1126/science.1071281.
- Syed, S., L. Viazmina, R. Mager, S. Meri, and K. Haapasalo. 2020. Streptococci and the complement system: interplay during infection, inflammation and autoimmunity. *FEBS Lett*. 594:2570–2585. doi:10.1002/1873-3468.13872.
- Taurisano, N. D., B. P. Butler, D. Stone, H. Hariharan, P. J. Fields, H. W. Ferguson, M. Haulena, P. Cotrell, O. Nielsen, and S. Raverty. 2018. STREPTOCOCCUS PHOCAE IN MARINE MAMMALS OF NORTHEASTERN PACIFIC AND ARCTIC CANADA: A RETROSPECTIVE ANALYSIS OF 85 POSTMORTEM INVESTIGATIONS. *J Wildl Dis*. 54:101. doi:10.7589/2016-09-208.
- Trivers, R. L. 1996. Parental investment and sexual selection. In: L. D. Houck and L. C. Drickamer, editors. *Foundations of animal behavior: Classic papers with commentaries*. p. 795–838.
- Trotman, L. C., N. Mosberger, M. Fornerod, R. P. Stidwill, and U. F. Greber. 2001. Import of adenovirus DNA involves the nuclear pore complex receptor CAN/Nup214 and histone H1. *Nat Cell Biol*. 3:1092–1100. doi:10.1038/ncb1201-1092.

- Tseng, Y.-H., R. Ding, and X. Huang. 2017. The warm Blob in the northeast Pacific—the bridge leading to the 2015/16 El Niño. *Environmental Research Letters*. 12:054019. doi:10.1088/1748-9326/aa67c3.
- Tumer, G., B. Simpson, and T. K. Roberts. 2022. *Genetics, Human Major Histocompatibility Complex (MHC)*. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL). Available from: <http://europepmc.org/books/NBK538218>
- Volokhov, D. v., T. A. Zagorodnyaya, Z. Shen, J. Blom, V. A. Furtak, T. Eisenberg, P. Fan, K. C. Jeong, Y. Gao, S. Zhang, and M. Amselle. 2021. *Streptococcus vicugnae* sp. nov., isolated from faeces of alpacas (*Vicugna pacos*) and cattle (*Bos taurus*), *Streptococcus zalophi* sp. nov., and *Streptococcus pacificus* sp. nov., isolated from respiratory tract of California sea lions (*Zalophus californianus*). *Int J Syst Evol Microbiol*. 71. doi:10.1099/ijsem.0.004826.
- Wedekind, C., M. Chapuisat, E. Macas, and T. Rüllicke. 1996. Non-random fertilization in mice correlates with the MHC and something else. *Heredity (Edinb)*. 77:400–409. doi:10.1038/hdy.1996.160.
- Wegner, K. M., M. Kalbe, J. Kurtz, T. B. H. Reusch, and M. Milinski. 2003. Parasite Selection for Immunogenetic Optimality. *Science* (1979). 301:1343–1343. doi:10.1126/science.1088293.
- Welberg, L. A. M., and J. R. Seckl. 2001. Prenatal Stress, Glucocorticoids and the Programming of the Brain. *J Neuroendocrinol*. 13:113–128. doi:10.1046/j.1365-2826.2001.00601.x.
- Wright, K. L., and J. P.-Y. Ting. 2006. Epigenetic regulation of MHC-II and CIITA genes. *Trends Immunol*. 27:405–412. doi:10.1016/j.it.2006.07.007.
- Yousefi, Z., H. Aria, F. Ghaedrahmati, T. Bakhtiari, M. Azizi, R. Bastan, R. Hosseini, and N. Eskandari. 2022. An Update on Human Papilloma Virus Vaccines: History, Types, Protection, and Efficacy. *Front Immunol*. 12. doi:10.3389/fimmu.2021.805695.
- Zhang, B., P. Li, E. Wang, Z. Brahmi, K. W. Dunn, J. S. Blum, and A. Roman. 2003. The E5 protein of human papillomavirus type 16 perturbs MHC class II antigen maturation in human foreskin keratinocytes treated with interferon- γ . *Virology*. 310:100–108. doi:10.1016/S0042-6822(03)00103-X.
- Zika, E., and J. P.-Y. Ting. 2005. Epigenetic control of MHC-II: interplay between CIITA and histone-modifying enzymes. *Curr Opin Immunol*. 17:58–64. doi:10.1016/j.coi.2004.11.008.
- Zuo, J., and M. Rowe. 2012. Herpesviruses Placating the Unwilling Host: Manipulation of the MHC Class II Antigen Presentation Pathway. *Viruses*. 4:1335–1353. doi:10.3390/v4081335.

Anexos

Anexo 1. Valores de significancia de la constitución genética de las crías hembras de acuerdo al modelo: Enfermedad ~ Presencia del Gen * Diversidad constitutiva

<i>Enfermedad</i>	<i>Presencia del gen</i>	<i>Gen</i>	<i>Diversidad</i>	<i>Interacción</i>	
<i>Parapoxvirus</i>	A	0.04515*	0.24542	0.99993	
	B	0.73773	0.14143	0.02417*	
	C	0.85385	0.08557	0.2771	
	D	0.191	0.4913	0.9925	
	E	0.02727*	0.30541	0.99996	
	F	0.94669	0.1448	0.08287	
	G	0.9022	0.1045	0.1235	
	H	0.3811	0.2214		
	I	0.4986	0.1634	0.1306	
	J	0.7646	0.1638	0.832	
	<i>Rotavirus del lobo marino de California</i>	A	0.22899	0.13771	0.01094*
		B	0.8679	0.0847	0.8933
C		0.3778	0.1761	0.7949	
D		0.8679	0.04766*	0.10939	
E		0.9469	0.1072	0.1209	
F		0.6402	0.1214	0.1222	
G		0.19786	0.26189	0.09638	
H		0.1382	0.2692		
I		0.89278	0.02936*	0.36043	
J		0.007825*	0.292155	0.999921	
<i>Adenovirus Otarino 1</i>		A	0.1656	0.9714	1
		B	0.4699	0.6676	0.3797
	C	0.5428	0.8111	0.807	
	D	0.932	0.7411	0.2598	
	E	0.5428	0.9281	0.3308	
	F	0.2615	0.9784	1	
	G	0.47228	0.51024	0.05881	
	H	0.4309	0.926		
	I	0.4307	0.2823	0.2041	
	J	0.1656	0.8515	1	
	<i>OtHV-1</i>	A	0.5031	0.5849	0.0606
		B	0.45171	0.63555	0.01359*
C		0.3178	0.9749	0.1872	
D		0.35641	0.97282	0.01341*	
E		0.1067	0.4014	1	
F		0.2865	0.6749	0.1019	
G		0.8994	0.4717	0.6196	
H		0.5264	0.337		
I		0.79286	0.48198	0.01501*	
J		0.2654	0.3057	0.9999	
<i>Papilomavirus</i>		A	0.224	0.1963	0.9999
		B	0.009889*	0.50182	0.999959
	C	0.4105	0.4424	0.9891	
	D	0.4985	0.3744	0.3946	
	E	0.7806	0.266	0.4241	
	F	0.3259	0.2086	1	
	G	0.2709	0.5274	0.8233	
	H	0.4917	0.1298		
	I	0.3084	0.5727	0.3586	
	J	0.224	0.1282	1	
	<i>Streptococcus beta hemolitico</i>	A	1	0.8225	0.9441
		B	0.2514	0.5253	0.5573
C		0.06774	0.19517	0.52148	
D		0.8022	0.95	0.808	
E		1	0.824	0.1529	
F		0.1955	0.6377	1	
G		0.02078*	0.18471	0.78615	
H		0.1336	0.6561		
I		0.15374	0.05579	0.2784	
J		1	0.81619	0.04904*	

Anexo 2. Valores de significancia de la constitución genética de las crías hembras de acuerdo al modelo: Enfermedad ~ Presencia del Gen * Diversidad expresada

<i>Enfermedad</i>	<i>Presencia del gen</i>	<i>Gen</i>	<i>Diversidad</i>	<i>Interacción</i>
<i>Parapoxvirus</i>	A	0.3085	0.2133	0.1386
	B	1	0.06086	0.76259
	C	0.5245	0.3681	0.5145
	D	0.68227	0.17423	0.07688
	E	0.7469	0.2412	0.1399
	F	0.7222	0.2733	0.6256
	G	0.009992*	0.901839	0.749559
	H	0.2444	0.4385	0.8928
	I	0.607	0.3225	0.9924
	J	0.70788	0.09664	0.60439
<i>Rotavirus del lobo marino de California</i>	A	0.6556	0.3196	0.2851
	B	0.2235	0.8771	0.2702
	C	0.8875	0.3212	0.3898
	D	0.2723	0.2256	0.3943
	E	0.8485	0.3615	0.3141
	F	0.004801*	0.434787	0.999969
	G	0.4231	0.2171	0.1409
	H	0.9475	0.3495	0.3522
	I	0.03146*	0.96837	1
	J	0.8875	0.19841	0.09044
<i>Adenovirus Otarino 1</i>	A	0.23998	0.07278	0.29987
	B	0.82374	0.07015	0.07959
	C	0.22025	0.28409	0.02822*
	D	0.9742	0.1049	0.2879
	E	0.9742	0.1036	0.493
	F	0.23998	0.25784	0.05347
	G	0.527027	0.138223	0.006792*
	H	0.58175	0.13072	0.02359*
	I	0.225	0.1812	0.9999
	J	0.90057	0.04661*	0.16044
<i>OtHV-1</i>	A	0.7363	0.5259	0.4825
	B	0.5361	0.7959	0.6578
	C	0.4237	0.9415	0.8937
	D	0.6209	0.5196	0.4729
	E	0.5268	0.4509	0.4254
	F	0.7363	0.6433	0.2906
	G	0.0356*	0.8002	1
	H	0.1038	0.1321	0.1483
	I	0.4231	0.4201	1
	J	0.2707	0.9563	0.3475
<i>Papilomavirus</i>	A	0.241863	0.855411	0.005862*
	B	0.1245	0.5599	1
	C	0.7689	0.8631	0.1425
	D	0.4888	0.8499	0.6523
	E	0.55213	0.78082	0.05836
	F	0.3627	0.7576	0.6332
	G	0.48876	0.5633	0.08401
	H	0.8922	0.7796	0.2892
	I	0.2176	0.91	1
	J	0.2006	0.1226	0.38
<i>Streptococcus beta hemolitico</i>	A	0.856	0.1624	0.1948
	B	0.62087	0.17654	0.05511
	C	0.1717	0.4995	0.9367
	D	0.7251	0.1481	0.1434
	E	0.6359	0.1217	0.607
	F	0.1351	0.5217	0.803
	G	0.09486	0.45204	0.74521
	H	0.82643	0.15378	0.09053
	I	0.66791	0.09575	0.15616
	J	0.429051	0.244512	0.003843*

Anexo 3. Valores de significancia de la constitución genética de las crías macho de acuerdo al modelo: Enfermedad ~ Presencia del Gen * Diversidad constitutiva

<i>Enfermedad</i>	<i>Presencia del gen</i>	<i>Gen</i>	<i>Diversidad</i>	<i>Interacción</i>	
<i>Parapoxvirus</i>	A	0.07015	0.81788	0.30478	
	B	0.5993	0.1538	0.8898	
	C	0.7834	0.3156	0.5439	
	D	0.1104	0.8206	0.5419	
	E	0.85087	0.31445	0.02586*	
	F	0.1156	0.1613	1	
	G	0.94776	0.12998	0.01148*	
	H	0.2684	0.2137		
	I	0.1992	0.6736	0.5786	
	J	0.44908	0.47825	0.06442	
	<i>Rotavirus del lobo marino de California</i>	A	0.1228	0.5928	1
		B	0.54771	0.08874	0.07214
C		0.23135	0.39345	0.03832*	
D		0.85851	0.09175	0.1111	
E		0.70938	0.20001	0.01818*	
F			0.1839		
G		0.4146	0.2697	0.5474	
H			0.1839		
I		0.06062	0.68909	0.09498	
J		0.0557	0.7747	1	
<i>Adenovirus Otarino 1</i>		A	0.8269	0.5317	0.8129
		B	0.631	0.354	0.4803
	C	0.8269	0.5217	0.7498	
	D	0.9783	0.4446	0.3097	
	E	0.45314	0.67019	0.03854*	
	F		0.5118		
	G	0.8615	0.4286	0.7108	
	H		0.5118		
	I	0.1838	0.9573	0.7449	
	J	0.4531	0.8162	0.9311	
	<i>OtHV-1</i>	A	0.2116	0.0142*	1
		B	0.03763*	0.04375*	0.99988
C		0.21162	0.01504*	1	
D		0.761367	0.001055*	0.99997	
E		0.42403	0.009537*	1	
F			0.006729*		
G		0.3533	0.01088*	0.99983	
H			0.006729*		
I		0.05425	0.04133*	0.99986	
J		0.42403	0.009606*	1	
<i>Papilomavirus</i>		A	0.7126	0.7215	1
		B	0.2918	0.8878	1
	C	0.0503	0.02529*	0.99997	
	D	0.3173	1	1	
	E	0.649	0.709	1	
	F		0.6245		
	G	0.5959	0.8315	1	
	H		0.6245		
	I	0.3727	0.9306	1	
	J	0.649	0.7586	1	
	<i>Streptococcus beta hemolitico</i>	A	0.753	0.4583	0.9814
		B	0.7725	0.3159	0.8502
C		0.1135	0.9577	0.4799	
D		0.8558	0.4036	0.9218	
E		0.41497	0.57855	0.05811	
F			0.424		
G		0.8017	0.3618	0.1501	
H			0.424		
I		0.3851	0.6876	0.3722	
J		0.6976	0.17285	0.09603	

Anexo 4. Valores de significancia de la constitución genética de las crías macho de acuerdo al modelo: Enfermedad ~ Presencia del Gen * Diversidad expresada

<i>Enfermedad</i>	<i>Presencia del gen</i>	<i>Gen</i>	<i>Diversidad</i>	<i>Interacción</i>
<i>Parapoxvirus</i>	A	0.9131	0.1218	0.2895
	B	0.9629	0.0492*	0.1897
	C	0.09576	0.87102	0.16475
	D	0.4426	0.2436	0.31
	E	0.27828	0.06519	0.81268
	F	0.5987	0.2083	0.3154
	G	0.2339	0.4634	0.0639
	H	0.5453	0.2277	0.7931
	I	0.424417	0.284243	0.009203*
	J	0.7183	0.1809	0.7461
<i>Rotavirus del lobo marino de California</i>	A	0.268	0.2031	0.2449
	B	0.63205	0.06015	0.43744
	C	0.03847*	0.69507	0.51256
	D	0.03847*	0.04903*	0.04877*
	E	0.268	0.1815	0.4884
	F	0.00726*	0.72682	0.99998
	G	0.1772	0.2834	0.604
	H	0.0079334*	0.0008405*	0.9999104
	I	0.11343	0.3554	0.09625
	J	0.01165*	0.56932	0.63896
<i>Adenovirus Otarino 1</i>	A	0.7743	0.3979	0.9588
	B	0.1837	0.6055	0.91
	C	0.3017	0.81612	0.06147
	D	0.02331*	0.62667	0.39197
	E	0.6993	0.2313	0.2767
	F	0.07787	0.01598*	0.27968
	G	0.5682	0.5109	0.3494
	H	0.02593*	0.8243	0.99999
	I	0.3829	0.6928	0.2128
	J	0.12093	0.02888*	0.14925
<i>OtHV-1</i>	A	0.4313	0.8922	0.5064
	B	0.3137	0.8764	1
	C	0.7793	0.441	0.176
	D	0.6899	0.7772	0.4451
	E	0.9118	0.732	0.829
	F	0.2569	0.3461	1
	G	0.1738	0.2026	0.9999
	H	0.4197	0.9462	0.7353
	I	0.05235	0.48842	0.99998
	J	0.5317	0.3914	0.4874
<i>Papilomavirus</i>	A	0.09353	0.53365	0.99997
	B	0.624	0.1483	1
	C	0.09353	0.64569	0.99998
	D	0.4335	0.1052	0.9999
	E	0.4335	0.0679	1
	F	0.51781	0.00434*	0.99999
	G	0.05954	0.84643	0.99999
	H	0.04403*	0.03392*	0.99995
	I	0.3965	0.2024	1
	J	0.300305	0.006234*	0.999971
<i>Streptoouccus beta hemolitico</i>	A	0.1143	0.8165	0.4073
	B	0.7737	0.4044	0.0613
	C	0.8607	0.3986	0.3649
	D	0.4153	0.5747	0.4529
	E	0.668	0.55318	0.01734*
	F	0.2474	0.1133	0.211
	G	0.09917	0.6556	0.80671
	H	0.1753	0.7695	0.1964
	I	0.6813	0.5529	0.2907
	J	0.17544	0.05649	0.41945