



IKER  
GAZTE  
NAZIOARTEKO  
IKERKETA EUSKARAZ

## VI. IKERGAZTE

NAZIOARTEKO IKERKETA EUSKARAZ

2025eko maiatzaren 28, 29 eta 30a  
Bilbo, Euskal Herria

ANTOLATZAILEA:  
Udako Euskal Unibertsitatea (UEU)



Aitortu-PartekatuBerdin 4.0

### ZIENTZIAK ETA NATURA ZIENTZIAK

**Protisto parasitoek anfibodoetan  
eragindako disrupzio endokrinoa  
eta beren eragina itsas baliabide  
biologikoen osasunean eta  
kutsaduraren efektu biologikoen  
ebaluaketan**

*Ander Urrutia, Miren Carnicero  
eta Ionan Marigomez*

283-290 or.

<https://dx.doi.org/10.26876/ikergazte.vi.05.35>

ANTOLATZAILEA



BABESLEAK



EUSKO JAURLARITZA  
GOBIERNO VASCO



LAGUNTZAILEAK



# Protisto parasitoek anfipodoetan eragindako disrupzio endokrinoa eta beren eragina itsas baliabide biologikoen osasunean eta kutsaduraren efektu biologikoen ebaluaketan

Ander Urrutia<sup>1,2</sup>, Miren Carnicero<sup>1,2</sup>, Ionan Marigómez<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>ZBIT+ ikerketa taldea, Zoologia eta Animalia Zelulen Biologia Saila, Zientzia eta Teknologia Fakultatea, Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Leioa, Euskal Herria.

<sup>2</sup> ZBIT+ Ikerketa taldea, Plentziako Itsas Estazioa (PiE-UPV/EHU), Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU), Plentzia, Euskal Herria

ander.urrutiag@ehu.eus

## Laburpena

Anfipodoek, mundu osoko krustazeo-talde ugarienetako eta anitzenetako bat osatzen dute. Duten garrantzi ekologikoa, nonahikotasuna, tamaina txikia eta hainbat substantzia toxikorekiko sentikortasuna dela eta, kutsaduraren efektuen zentinelak gisa erabili ohi dira. Anfipodoak ere, izaki gehienak bezala, birusez, bakterioz eta protistoz parasitatuta egon daitezke. Protistoen artean baditugu mikrosporideoak eta aszetosporak. Horiek, ostalariaren gonadak infekta ditzakete disrupzio endokrino “naturala” eraginez, itsas baliabide biologikoen osasunean eta kutsaduraren efektuen monitorizazio programen gain eragina eduki dezakeena. Hemen, Bizkaiko Golkoko anfipodoak infektatzen dituzten bi protisto leinu hauek ezaugarritu eta berezko agente feminizatzaile gisa duten papera ikertzen dugu.

Gako-hitzak: Anfipodoak, Parasito protistoak, Mikrosporidia, Aszetosporea, Disrupzio endokrinoa

## Abstract

*Amphipods form one of the most abundant and diverse groups of crustaceans worldwide. Given their ecological significance, ubiquity, small size, and sensitivity to various toxic substances, they are widely used as sentinels of pollution effects. Like most organisms, amphipods can be parasitized by viruses, bacteria, and protists. Among the protists, we find microsporidians and ascetosporeans, which can infect tissues involved in hormonal development, causing a ‘natural’ endocrine disruption in the host, which would have the potential to impact the health of marine biological resources and to interfere with pollution effects monitoring programmes. Herein, we characterize these two pathogen lineages that infect common amphipods of the Bay of Biscay and investigate their role as “natural” feminizing agents.*

*Keywords: Amphipods, Protist parasites, Microsporidia, Ascetosporea, Endocrine disruption*

## 1. Sarrera eta motibazioa

Anfipodoek, krustazeo malakostrakoen artean Orden garrantzitsuenetakoa osatzen dute, c.a. 10.000 espeziez osatua. *Amphipoda* izenak, krustazeo zapal txiki hauek forma eta funtzio anitzeko "hankak" gorputzaren bi aldetan paratuta dituztela adierazten digu. Lehorreko zein uretako (bai geza bai gazia) ekosistemei egokitze gaitasun itzela daukate. Izan ere, ingurumen-gorabeheren aurrean erakuts dezaketen erresilientziari esker zein duten elikadura-estrategien espektro zabalarari esker, ezagutzen diren muturreko biotopo batzuk ere kolonizatzeko gai izan dira (Micheli et al. 2002), poloetako eskualdeak eta fumarola abisalak barne. Horretaz gain, sarraskijaleak eta detritujaleak dira, eta kate trofikoan materia organikoa deskonposatu eta birziklatzeko ezinbestekoak dira (Ritter & Bourne 2024). Gainera, bigarren mailako ekoizle gisa, ornogabe bentonikoen komunitate askotan partaide nagusia dira, ingurunean funtsezko eginkizuna betetz. Halaber, ekosistema ugari eta anitzetako kideak izanik, beste

krustazeo, arrain, hegazti eta baleak bezalako itsas ugaztunen moduko beste animalia askoren dietan osagai esanguratsua dira (Dauby et al. 2003); eta akuakulturan ere pentsuen proteinen iturri gisa gero eta gehiago erabiltzen dira. Euren dibertsitatea, ugaritasuna eta garrantzi ekologikoa direla-eta, anfibodoak maiz erabili dira biobegirale zein zentinela gisa kutsadura monitorizazioan eta eredu-organismo gisa ekotoxikotasun testetan (Dos Santos et al. 2022). Gainera ekologian ere bioadierazle gisa erabili dira, euren presentzia/absentzia edota portaeran oinarrituta ingurumen-baldintzei buruzko informazioa eman dezaketelako, Prestige petrolio isurketaren kasu, adibidez (Junoy et al. 2005). Bestalde, euren kokapen eta garrantzia ekologikoaren ondorioz parasitoen bektore eta gordailu gisa anfibodoek eduki dezaketen eginkizunari buruz oso gutxi dakigu, eta are gutxiago ikerlan honetan aztertuko ditugun parasito-ostalari hartu-emanen buruz.

Animalia orori bezala, parasitoek anfibodoei ere eragin diezaiekete. Definizioz, parasito batek bere ostalaritik onura jasotzen du, trukean ezer ez jaso gabe. Honen ondorioa ostalariaren osasun onaren murrizketa da, bizi-itxaropen edota ugaltzeko gaitasun txikiagoa ekarriz. Definizio orokor horren barruan, parasito eukariotoak, prokariotoak eta birusak daudela esan dezakegu. Parasito eukariotoen artean, hau da, nukleodun zelulez osatutakoen artean, animaliak, onddoak eta protistoak ditugu, denek anfibodoetan infekzioak eragin ditzaketelarik (Bojko & Ovcharenko 2019). Protistoek, eukarioto zelulabakar guztiak biltzen dituen jostun-kaxoi bat irudikatzen dute, giza-patogeno oso ezagunak barne hartzen dituztenak, hala nola malariaren (*Plasmodium falciparum*) edo loaren gaixotasunaren (*Trypanosoma brucei*) agente patogenoak.

Anfibodoen ehunetan aurkitzen ditugun protisto parasitoei dagokienez, ez dakigu anfibodoa zeintzuentzako den gordailua eta zeintzuentzako ostalaria. Puntu honetan, gordailu kontzeptua argitzea garrantzitsua da. Anfibodoa parasitoaren gordailua izateak esan nahi du anfibodoak parasitoaren iturri gisa funtziona lezakeela, non parasitoak eutsiz edo ugalduz doaz, beren itu-ostalaria infektatu baino lehen. Alde horretatik, anfibodoak kate trofikoan duten garrantzi itzela dela-eta, bibalbion, krustazeo eta arrainen patogenoen zikloetan gako-gordailuak izan daitezke, muskuilu, ostrak, otarrainak edo lupina bezalako balio komertzial handia duten espeziei dagokienez ere.

Bizkaiko Golkoan (Plentzia, Bizkaia) eta Ingalaterrako Kanalean (Dorset, Debon, Kornualles) hartutako anfibodoak parasito protistoen gordailu garrantzitsua direla ikusi dugu. Parasito horietako batzuk espezie berriak izan dira (Urrutia et al. 2019, Urrutia et al. 2022) eta beste batzuk lehenago deskribatuta zeuden dagoeneko (Short et al. 2012). Ezagutzen diren protisto espezieen artean, mikrosporek eta aszetosporek, anfibodoak ez beste interes komertzialeko itsas ornogabe ugari ere hil ditzakete, karramarroak, otarrainak, ostrak, muskuiluak edo txirlak, hain zuzen. Gainera, bi parasito horiek anfibodoen gonadak infektatzeko gai dira, eta disrupzio endokrinoarekin nolabaiteko zerikusia izan dezaketela ikusi da (Wilkinson et al. 2011). Hau da, gaztaroan arrak ziren anfibodoak, gonadagarapenean parasitoek eragindako hainbat aldaketaren ondoren, azkenean eme heldu bihurtzen dira.

Ikerlan honen motibazioa bikoitza da. Alde batetik, parasitoek eragiten duten disrupzio endokrino ‘naturala’ ezagutzea eta eragiten duten parasitoek anfibodo guztietan edo espezie batzuetan bakarrik eragiten duten ala ez jakitea. Kutsatzaile kimikoek eragindako disrupzio endokrinoa ekotoxikologiaren arloan lehentasunezko erronka bilakatu da, eta anfibodoak kutsatzaileen efektuen zentinela edo eta test eredu-organismo gisa gero eta maizago erabiltzen ari dira. Bestalde, anfibodoak infektatzen dituzten mikrosporideoak eta aszetoporak bibalbionetan eta krustazeoetan heriotza eragiten duten espezie berberekoak diren ala ez zehaztu nahiko genuke. Horren haritik, anfibodoetan parasitoak eragindako disrupzio endokrino ‘naturala’ eredu, ekotoxikologiaren arloan parasitodun organismo zentineletan eta toxikotasun-testetako eredu-organismoetan kutsatzaileak eragindako disrupzio endokrinoaren mekanismoak hobeto ulertzea ahalbidetu nahiko genuke.

## 2. Arloaren egoera eta ikerketaren helburuak

Anfibodoak infektatzen aurki ditzakegun patogeno nagusiak egoki katalogatuta daude euren taxonomiari dagokionez eta baita euren parasito-estatusari dagokionez (Bojko & Ovcharenko 2019). Berrikustapen bikain horretan, protisto patogenoen artean 10 talde nagusi antzeman dira. Myxozoa azpifiloko parasitoak izan ezik, gainerako taldeetako ordezkariak Ingalaterrako hegoaldeko

estuárioetako eta kostaldeko ingurueta anfibodoetan identifikatu dira (Urrutia et al. 2019, Urrutia et al. 2021, Collins et al. 2022). Hala ere, horien artean interesatzen zaizkigunak feminizazio-eragina izan dezaketen Microsporidia eta Asctosporia klaseetan bildutako parasitoak dira (Ginsburger-Vogel 1991, Grilo & Rosa 2017).

Mikrosporideoek onddoekin ahaidetutako protisto parasitoen taldea osatzen dute; "*hodi polarra*" izeneko mahuka erretraktila erabiltzen dute animalia zelulak infektatzeko, animalien esparru anitza infektatuz, gizakia barne (Xu & Weiss 2005). Protisto horiek, gutxienez 30 espezie anfibodo infektatzeko gai dira, eta, nagusiki, muskulu-ehunaren endekapena eragiten dute (Bojko & Ovcharenko 2019). Izan ere, mikrosporideoek transmisio-bide ugariak konkistatu dituzte, transmisio bertikala barne; hau da, ostalariak parasitoa bere ondorengoei (adb., amak umeari) transmititzen dio (Dunn et al. 2001). Mikrosporideoen espezie batzuk amaren oozito bitelogenikoak euren garapen-bidean zehar infektatzeko gai dira, gerora larbak garatzen direnean hauek jada infektatuta egon daitezzen (Terry et al. 2004). Beraz, emeak infektatzen dituzten mikrosporideoek aukera gehiago dituzte hurrengo ostalaria infektatzeko arrak infektatzen dituztenek baino (Engelstädter & Hurst 2009). Testuinguru horretan, eboluzioan zehar mikrosporideoek garatutako mekanismoen artean, anfibodoen sexu-desberdintzapena erregulatzen duten hormonekin interferitzeko gaitasuna hautetsi da, antza denez (Short et al. 2014). Anfibodoetan sexu-determinazioa ar-hormonak jariatzen dituen guruin androgenikoak erregulatzen du (Jahnke et al. 2013). Mikrosporideoen infekzioak ar-hormonen ekoizpen normala oztopatzen du, infektatutako populazioetan eme/ar ratioa edo aldi berean ar- eta eme-gonadak dituzten intersex indibiduen prebalentzia emendatuko lirake (Jahnke et al. 2013; Short et al. 2014). Frogatu da *Dictyocoela muelleri*, *Dictyocoela roeselum* eta *Nosema granulosis* mikrosporideoen espezieak anfibodo espezie askotan ostalariaren feminizazioa eragiteko gai direla (Cormier et al. 2021; Bacela-Spychalska et al. 2023). Dirudenez, feminizazioa indultzeko, parasitoaren presentziaren gain, ingurumen-faktoreak eta horien espazio-denboraren aldakortasuna ere erabakigarriak izan daitezke (Short et al. 2014).

Puntu honetan, *Asctosporia* klaseko protista parasitoak sartzen dira historian. Bizkaiko Golkoko kostaldean bibalbioen eta krustazeoen patogeno beldurgarriak izanik, anfibodoak infektatu ditzakete (Ginsburger-Vogel & Desportes 1979). Ez dakigu anfibodoak parasitatzen dituen *Paramarteilia orchestiae* izeneko aszetospora, interes komertzialeko karramarroen hilkortasunak eragiten duen espezie bera den ala ez (Collins et al. 2022), baina jakin badakigu espezie hau anfibodo espezie batzuk feminizatzeo gai dena (Short et al. 2012). Parasitoek eragindako anfibodoen feminizazioa are konplexuagoa izan daiteke. Adibidez, aszetospora parasitikoaren zelulen barruan mikrosporideoak "bidaiatu" daitezke polizoi gisa anfibodo berriak infektatzeko (Stentiford et al. 2017). Horri hiperparasitismoa deritzo, eta ohikoa da animalien artean (Parratt & Laine 2016). Hala ere, anfibodoen kasuan, asko zailtzen du parasitoek feminizazioan duten eginkizuna ulertzea, feminizazio-prozesua mikrosporideo, aszetospora, anfibodo eta ingurumen-faktore motaren arabera aldatzen baita.

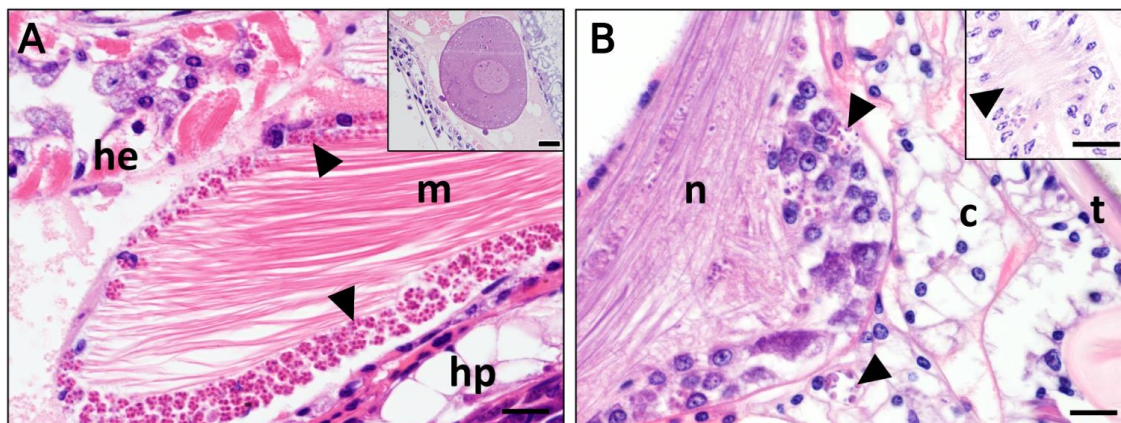
Testuinguru honetan, gure helburuak bat baino gehiago izan dira. Lehenik eta behin, Bizkaiko Golkoan ohikoak diren hiru anfibodo espezie (*Echinogammarus* sp., *Orchestia* sp. eta *Gammarus* sp.) infektatzeko gai diren mikrosporideoen eta aszetosporien espezieak biologia molekularren teknologiaren bidez identifikatzea. Bigarrenez, azterketa mikroskopiko histopatologikoaren bidez protista parasito horiek gonadak edota larbak infektatzen dituzten zehaztea. Azkenik, urteko zenbait unetan infekzioen prebalentziak neurtu, baterako infekzioak eta hiperparasitismoa dauden ala ez finkatu ahal izateko.

### 3. Ikerketaren muina

Aurretiazko azterketa ekologiko baten ondoren, Bizkaiko Golkoaren iparraldeko kostaldeko ekosistemetan dauden anfibodo genero nagusietako batzuk zehaztu ziren. *Echinogammarus* sp. (N=1246), *Orchestia* sp. (N=315) eta *Gammarus* sp. (N=279) espeziimenak eskuz bildu egin ziren Ingalaterrako hegoaldean, Dorset, Devon eta Kornualles-en hiru itsasadar eta hondartza bateko marearteko eremuan. Laginak, hilabetero jaso ziren 2016ko apirilaren eta 2017ko abuztuaren artean. Anfibodoak 3 zatitan disezcionatu ziren. Zatik handiena (gorputzaren atzealdea) Davidson-SW finkatzailean finkatu zen argi-mikroskopioan azterketa histopatologikoa egiteko. Beste bi zatia, txikiagoak, %100 alkoholean eta glutaraldehidoan kontserbatu ziren, ondoren DNA analisiak eta mikroskopia elektronikoaren behaketak egiteko, hurrenez hurren (prozeduraren xehetasunak: Urrutia et

al. 2019). Ebakin histologikoak (hematoxilina-eosinaz -H&E- tindatua) Nikon Eclipse E800 argi-mikroskopioan aztertu ziren. Ikertutako hiru anfipodo espezieetan aurkitutako sinbionte protistoen artean, mikrosporideok eta aszetosporak identifikatu ziren (1. irudia).

1. irudia. Mikrosporideoen (A) eta aszetosporen (B) mikrografiak (H&E), anfipodo ehunak infektatuz. A) *Dictyocoela* generoko mikrosporideoak (geziak), muskulu eskeletikoa (m) eta oozitoen biteloa (laukia) parasitatzeko *Echinogammarus* sp. anfipodoetan. B) *Orchestia* generoko anfipodo batean nerbio-ehuna (n) ehun konnektiboa (c) tegumentua (t) eta zakatzak (laukia) infektatzen dituzten aszetosporak (geziak).



### 3.1. Analisi histopatologikoa

*Mikrosporidia* subfilumeko sinbionteak batez ere anfipodoen muskulu-ehuna infektatzen dutela ikusi zen (1.a irudia). Parasitoen ugalketa, muskulu-zelulen kontura, muskulu eskeletikoaren gutxitzearekin lotuta dago, eta horrek, ziurrenik, ostalariaren mugikortasuna murriztea dakar. Beraz, estimuluei erantzuteko, elikatzeko eta harrapariei ihes egiteko gaitasun txikiagoa izango luke ostalariak. Hau da, sasoi onaren murrizketa nabarmena. Honen arabera, aztertutako anfipodo espezieetan, mikrosporideok parasito-estatusa dutela ondoriozta dezakegu. Hain ohikoa ez den arren, zelularen barruan ere detektatu egin ziren mikrosporak, oozitoen biteloan. Horrek, amak larbei parasitoak modu bertikalean transmititzen dizkiela esan nahiko luke, eta beraz, disrupzio endokrinoaren bitartez parasitoak arrak feminizatzeke gaitasuna daukala.

*Aszetosporea* klaseko sinbionteak (1.b irudia) ostalariaren zakatzetan, tegumentu eta nerbio-ehunetan aurkitu ziren, batez ere; arnasketa murriztua, kanpoko estimuluekiko sentikortasun txikiagoa eta arazo motorrak erakarriko lituzketen infekzioak, hurrenez hurren. Beraz, mikrosporideoak bezala, aszetosporak parasitikoak kontsidera daitezke, eta sasoi ona murriztuko lukete aztertutako anfipodo espezieetan. Mikrosporideok eragindako infekzioan bezala, aszetosporetako ‘*matrioska*’ moduko egitura bereizgarriak ere oozitoen barruan ikusi ziren.

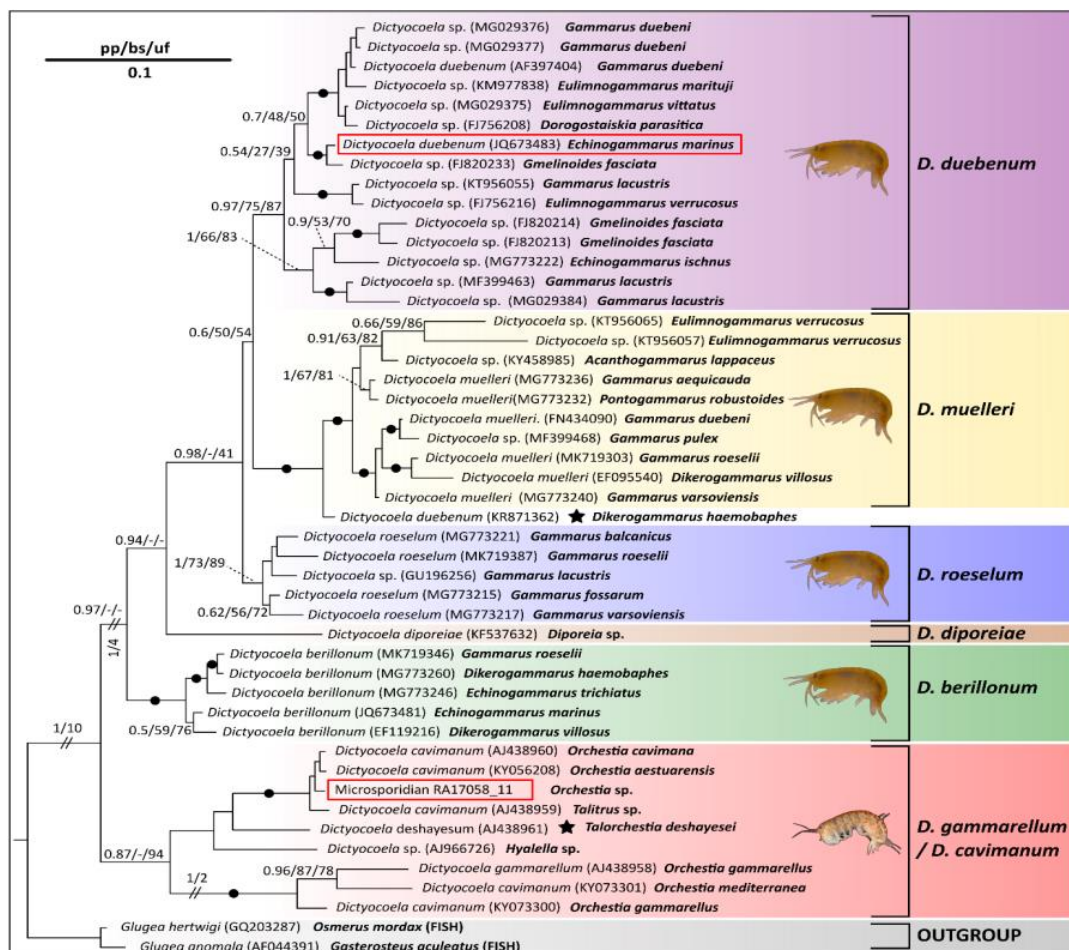
Bi protisten tamaina kontuan hartuta (1-5µm), argi-mikroskopiaren bidez ezin izan genuen zehaztu hiru anfipodo espezie desberdinetan mikrosporideoen eta aszetosporaren espezieak zeintzuk izan ziren. Azterketa histopatologikoa ez zen nahiko izan argitzeko *Echinogammarus* sp., *Gammarus* sp. eta *Orchestia* sp. infektatzen zituzten protistoak ea espezie berberak ziren ala hurbiletik erlazionatuak. Beraz, infektatuta zeuden anfipodoetatik alkoholean gordetako zatia berreskuratzea eta beren DNA eraustea beharrezkoa suertatu zitzaigun (prozeduraren xehetasunak: Urrutia et al. 2022).

### 3.2. Filogenia eta taxonomia

Mikrosporideoen eta aszetosporaren rRNA genearen 600 eta 900 pare baseko zatiak (18S eta ITS1 eskualdekoak, hain zuzen) PCR-en bidez amplifikatu ziren, hasle espezifikoak erabiliz (prozeduraren xehetasunak: Urrutia et al. 2021). Lortutako sekuentziak (Sanger) BlastN- bidez (Zhang et al. 2000) GenBanken datu-basean (nt) bilatu ziren. Laginetatik lortutako sekuentziak (anfipodo ostalaria +

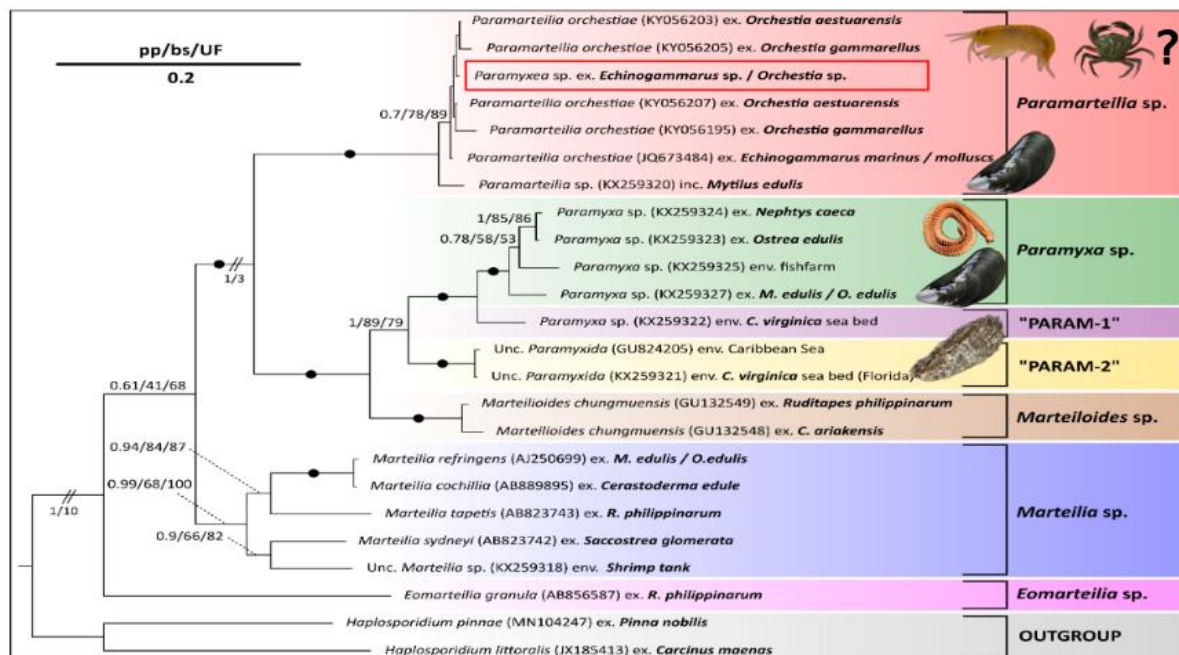
protista parasitoa) eta bilaketaren ondoren antzekotasunagatik hautatutakoak, MAFFT-en lerrokatu ziren (Kato et al. 2007). “GTR+F+G” algoritmoa egiantz handieneko estimazioko zuhaitz filogenetiko bi sortzeko erabili zen IQ-TREE v.1.6.10 (Nguyen et al. 2015) eta RAxML v.8.2.12 (Stamatakis 2014) tresnetan. Aldi berean, adostasun Bayestar inferentzia (BIC) zuhaitza eraikitzeko MrBayes v.3.2 (Ronquist et al. 2012) erabili zen. Hiru eredu horiek aukera ematen digute, algoritmo desberdinak erabiliz, eboluzioan zehar DNA sekuentziak noiz banandu ziren kalkulatzeko, eta, beraz, espezieen arteko distantzia balioetsi egiteko. Kontsentsuzko zuhaitzean (2. irudia) ikus daitekeenez, *Echinogammarus* eta *Orchestia* generoetako anfipodoak infektatu dituzten mikrosporideoak *Dictyocoela* sp. bi espezie ezberdin dira. Elkarrengandik zentimetro gutxitara nitxo ekologiko berean bizi arren, *D. duebenum*-ek gamaridoak bakarrik infektatzen ditu, eta *D. cavimanum*-ek talitridoak. Hori garrantzitsua da, mikrosporideoen bi espezie horiek ostalarian disrupzio endokrina eragiteko espezie-espezifikoa den gaitasun desberdina dutelako.

## 2. irudia. Talitridae eta Gammaridae kladoetako anfipodoak infektatzen dituzten mikrosporideo parasitoen posizio ebolutiboa erakusten duen kontsentsuzko (ML & BIC) zuhaitz filogenetikoa



Kontrakoa gertatu da aztertutako anfipodoak infektatzeko gai diren aszetosporoen kasuan (3. irudia), guztiak espezie berekoak baitira, *Paramarteilia orchestiae* espeziekoak hain zuzen. Izan ere, zuhaitz filogenetikoak *Paramarteilia* sp. krustazeoen patogenoa nahiko eksklusiboa dela erakutsi digu, batez ere anfipodo eta dekapodoena. Gainera, *P. orchestiae* eta *P. canceri*-ren arteko sekuentzien antzekotasunak parasito hori ostalarien artean txandakatzeke gai izan litekeela adierazi digu. Hori esanguratsua da patogeno horiek interes komertzialeko karramarro espezie batzuen artean heriotza-tasa handiak eragiten baitituzte. Zuhaitzean, muskuiluetan aurretik egindako azterketen bidez identifikatutako *Paramarteilia* sp. ere ikus dezakegu. Hau seguruenaz ez da patogenoa izango baizik eta dietaren osagaia, bibalbriak infektatzen dituzten parasitoak *Paramyxa*, *Marteloides*, *Marteilia* eta *Eomarteilia* kladoetakoak baitira.

### 3. irudia. *Talitridae* eta *Gammaridae* kladoetako anfipodoak infektatzen dituzten aszetospora parasitoen posizio ebolutiboa erakusten duen kontsentsuzko (ML & BIC) zuhaitz filogenetikoa



### 3.3. Prebalentzia eta disrupzio endokrinorako gaitasuna

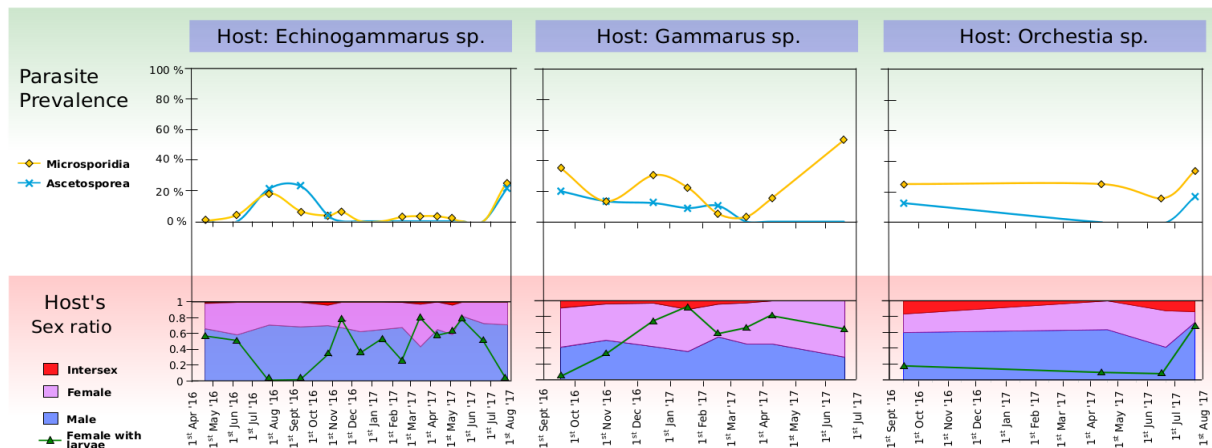
Infekzioaren prebalentziak, ostalariaren populazioan parasitoak zer portzentajea eragin duen adierazi digu. Prebalentzien analisiak (4. irudia), mikrosporideoek eta aszetosporak aztertutako anfipodo espezieak modu desberdinean infektatu dituztela erakutsi digu. *Gammarus* generoko anfipodoak marearteko eremuaren behealdean bizi dira, eta badirudi mikrosporideoek eragindako infekzioa jasateko arrisku handiagoa udan dutela, populazioaren erdia infekta baitezakete. Bestalde, marearteko goiko aldean bizi diren beste bi anfipodo generoek infekzio-prebalentzia txikiagoak erakusten dituzte. *Echinogammarus* sp. espeziearen kasua bereziki interesgarria da, infekzio-gailurra oso nabarmena udan baitu. Gainera, *D. duebenum*-ek eragindako infekzio-gailurra bat dator *P. orchestiae* infekzioarekin. Elkar-agertze hori, ostalariaren ahultze-egoeraren ondorio izan daiteke, ala agian hiperparasitismoaren adibidea. Intersexaren prebalentziaren gorakada argirik ikusi ez badugu ere, infekzio-aldian larben ekoizpena erori egin dela ikusi dugu. Bai oozitoen bideraezintasunagatik, bai disrupzio endokrino bortitzaren ondorioz, espezie honen populazio dinamikan baterako infekzioaren eragina argi dago. Bestalde, *Gammarus* sp. anfipodoetan efektu feminizatzailea dagoela dirudi, disrupzio endokrino partzial bati lotua, intersexaren prebalentzia *Paramarteilia orchestiae*-ren prebalentziarekin bat baitator. Horren haritik, biomonitorizazioan eta disrupzio endokrinoari buruzko ikerketetan protista parasitoek eragindako disrupzio endokrino "naturala" kontuan hartu beharreko faktorea litzatekeela esan genezake, batez ere udazkenean eta neguan populazio basatiekin lan egiten duten ikerketetan. Haatik, *Echinogammarus* sp.-en ez bezala, *Orchestia* sp. anfipodoetan mikrosporideoak (*D. cavimanum*) eta aszetosporak (*P. orchestiae*) ez dituzte urtarokoei lotuta infekzio-gailurrak eta oro har ez dira modu nabarian agertzen. Azkenik, badirudi ez dagoela aszetosporak eragindako disrupzio endokrinoaren eragin nabarmenik, eta mikrosporideoek ez dute larben hilkortasunik eragiten.

## 4. Ondorioak

Gure emaitzen arabera, mikrosporideoak eta aszetosporak ohiko parasitoak dira Bizkaiko golkoan dauden anfipodoen sorburu nagusietan. Bi patogenoek eragindako infekzioek ostalariaren sasoi onaren murriztea dakarte behin betiko, eta hozi-gelaxketan egoteak amek ondorengoei transmititu diezaieketela adierazten du. Aszetospora parasitoak orokorrak dira, espezie bakar bat (*Paramarteilia orchestiae*) infekzioa hedatzen baita ekosistema bateko anfipodo guztietara, eta agian karramarroetara ere bai.

Aitzitik, mikrosporideo espezie desberdinek (*Dictyocoela dubenum* eta *Dictyocoela cavimanum*) espezifikotasun handiagoa dute, eta anfibodo espezie zehatz batzuk baino ez dituzte infektatzen, nahiz eta anfibodo ostalari horiek nitxo ekologiko berberean eta elkarrengandik oso gertu egon. Espezie desberdinak direnez, bi parasitoak batera agertzen dira edo ez, urteko une desberdinetan anfibodoaren arabera, oraindik ezagutzen ez ditugun arrazoiengatik. Antza denez, bi parasito horiek disrupzio endokrinoa eta feminizazioa eragiten dute, nahiz eta ostalariaren arabera parasittoa desberdina izan. Aurrerantzean, anfibodoak ikerketa toxikologikoetan erabiltzen badira, batez ere disrupzio endokrinoa aztergaia bada, anfibodo espeziearen eta estazioaren arabera, parasitoek eragindako disrupzio endokrino "naturalak" eduki ahal duen eragina aintzat hartu behar dute, halaberharrez.

**4. irudia. Urtean zehar hiru anfibodo mota desberdinetan mikrosporideoen eta aszetosporen prebalentzia (portzentajea). Aldi berean, arren, emeen eta intersexen arteko ratioa beheko grafiketan adierazi da, baita larbadun emeen kopurua ere.**



## 5. Etorkizunera begira

Ikerlan honek Mikrosporidia eta Aszetosporea kladoetako protisto parasitoen bidezko anfibodoen baterako infekzioan denbora-aldakortasunaren ideia bat ematen digu, baina inkognitak uzten ditu ere. Alde batetik, ikusten dugu mikrosporideoek eta aszetosporek feminizazioa eragin dezaketela. Bestalde, anfibodo espezie batzuetan bi parasitoen baterako agerpenak antzeman dira baina kasu batzuetan baino ez dago hiperparasitismoaren ebidentzia (hau da, mikrosporideoek Troiako zaldiaren moduan erabiltzen dituzte aszetosporak). Polizioa gisa jokatzuz gero, litekeena da mikrosporideoek ostalariaren sistema immunea saihestea disrupzio endokrinoaren maila areagotuz. Parasitoek eragindako hormona-desoreka ikertzea interesgarria da gerora begira, parasitazioak intersexen prebalentzian edota larben hilkortasunan eduki dezakeen eragina hobeto ulertzeko. Erronka horri gene-adierazpenaren analisiaren bidez hel dakioke. Aldi berean, disrupzio endokrinorako gaitasuna duten toxikoak erabiliz, infektatuta eta infektatu gabe dauden anfibodo populazio ezberdinen erantzunak alderatzea interes handiko informazioa emango liguke.

## 6. Erreferentziak

- Bacela-Spychalska, K., Wattier, R., Teixeira, M., Cordaux, R., Quiles, A., Grabowski, M., ... & Rigaud, T. (2023). Widespread infection, diversification and old host associations of *Nosema* Microsporidia in European freshwater gammarids (Amphipoda). *PLoS Pathogens*, 19(8), e1011560.
- Cormier, A., Chebbi, M. A., Giraud, I., Wattier, R., Teixeira, M., Gilbert, C., ... & Cordaux, R. (2021). Comparative genomics of strictly vertically transmitted, feminizing microsporidia endosymbionts of amphipod crustaceans. *Genome Biology and Evolution*, 13(1), evaa245.
- Dauby, P., Nyssen, F., & De Broyer, C. (2003). Amphipods as food sources for higher trophic levels in the Southern Ocean: a synthesis. *Antarctic biology in a global context*, 129-134.

- Dos Santos, A., Botelho, M. T., Vannuci-Silva, M., Artal, M. C., Vacchi, F. I., Magalhães, G. R., ... & de Aragão Umbuzeiro, G. (2022). The amphipod *Parhyale hawaiiensis* as a promising model in ecotoxicology. *Chemosphere*, 307, 135959.
- Dunn, A. M., Terry, R. S., & Smith, J. E. (2001). Transovarial transmission in the microsporidia. *Advances in Parasitology*, 48: 57-100.
- Engelstädter, J., & Hurst, G. D. (2009). The ecology and evolution of microbes that manipulate host reproduction. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, 40(1), 127-149.
- Ginsburger-Vogel, T. (1991). Intersexuality in *Orchestia mediterranea* Costa, 1853, and *Orchestia aestuarensis* Wildish, 1987 (Amphipoda): a consequence of hybridization or parasitic infestation?. *Journal of Crustacean Biology*, 530-539.
- Grilo, T. F., & Rosa, R. (2017). Intersexuality in aquatic invertebrates: prevalence and causes. *Science of the Total Environment*, 592, 714-728.
- Jahnke, M., Smith, J. E., Dubuffet, A., & Dunn, A. M. (2013). Effects of feminizing microsporidia on the masculinizing function of the androgenic gland in *Gammarus duebeni*. *Journal of invertebrate pathology*, 112(2), 146-151.
- Junoy, J., Castellanos, C., Viéitez, J. M., De La Huz, M. R., & Lastra, M. (2005). The macroinfauna of the Galician sandy beaches (NW Spain) affected by the Prestige oil-spill. *Marine pollution bulletin*, 50(5), 526-536.
- Micheli, F., Peterson, C. H., Mullineaux, L. S., Fisher, C. R., Mills, S. W., Sancho, G., ... & Lenihan, H. S. (2002). Predation structures communities at deep-sea hydrothermal vents. *Ecological monographs*, 72(3), 365-382.
- Parratt, S. R., & Laine, A. L. (2016). The role of hyperparasitism in microbial pathogen ecology and evolution. *The ISME journal*, 10(8), 1815-1822.
- Ritter, C. J., & Bourne, D. G. (2024). Marine amphipods as integral members of global ocean ecosystems. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 572, 151985.
- Short, S., Guler, Y., Yang, G., Kille, P., & Ford, A. T. (2012). Paramyxean-microsporidian co-infection in amphipods: Is the consensus that Microsporidia can feminise their hosts presumptive?. *International Journal for Parasitology*, 42(7), 683-691.
- Stentiford, G. D., Ramilo, A., Abollo, E., Kerr, R., Bateman, K. S., Feist, S. W., ... & Villalba, A. (2017). *Hyperspora aquatica* n. gn., n. sp. (Microsporidia), hyperparasitic in *Marteilia cochillia* (Paramyxida), is closely related to crustacean-infecting microsporidian taxa. *Parasitology*, 144(2), 186-199.
- Terry, R. S., Smith, J. E., Sharpe, R. G., Rigaud, T., Littlewood, D. T. J., Ironside, J. E., ... & Dunn, A. M. (2004). Widespread vertical transmission and associated host sex-ratio distortion within the eukaryotic phylum Microspora. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 271(1550), 1783-1789.
- Wilkinson, T. J., Rock, J., Whiteley, N. M., Ovcharenko, M. O., & Ironside, J. E. (2011). Genetic diversity of the feminising microsporidian parasite *Dictyocoela*: New insights into host-specificity, sex and phylogeography. *International Journal for Parasitology*, 41(9), 959-966.
- Xu, Y., & Weiss, L. M. (2005). The microsporidian polar tube: a highly specialised invasion organelle. *International journal for parasitology*, 35(9), 941-953.

## 7. Eskerrak eta oharrak

- Ikerketa hau, DEFRAko Saileko FB002A eta FC1214 kontratuak eta AUK jasotako Eusko Jaurlaritzaren doktoretza aurreko eta ondoko bekek partzialki finantzatu dute. Baita ere, EU Horizon Europe R&I BlueAdapt (G.A. No. 101057764 & UKRI/HM Gov), MCINN (TED2021-132109B-C21) eta Eusko Jaurlaritzaren CBET+ ITK (GIC19/IT-1302-19) kofinantzatu dute.
- Egileok Stephen Feist eta David Bass CEFASeko ikertzaileei eskerrak eman nahi dizkiegu euren ekarpen zientifiko baliotsuengatik, baita CEFASeko eta PiE-UPV/EHUko lankideei ere, eskainitako laguntzagatik.