



**UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR DEL PLATA  
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**

**ECOLOGÍA DE LAS COMUNIDADES DE  
DIGENEOS LARVALES EN HOSPEDADORES  
MOLUSCOS DEL GÉNERO *HELEOBIA*  
STIMPSON, 1865 (GASTROPODA:  
RISSOOIDEA)**

**Matías Javier Merlo**

**Director: Dr. Jorge A. Etchegoin**

**Co-directora: Dra. Florencia Cremonte**

**Tesis para optar por el título de Doctor en Ciencias (Área Biología)**

**-2013-**

*Para Ana y Joaquín,  
por su AMOR y paciencia.*

# Agradecimientos

Al Dr. Jorge Etchegoin que en estos cinco años ha compartido sus conocimientos sobre el mundo de los digeneos. Principalmente quiero agradecer la confianza que ha tenido en mí, dejándome libertad e independencia para poder realizar la tesis, sin dejar de marcarme el camino a seguir.

A la Dra. Florencia Cremonte, por sus comentarios y sugerencias.

A los amigos del Fun, sin importar su título, Dra. Alejandra Rossin y Lic. Manuela Parietti que me acompañaron a muestrear y que en cada viaje compartieron chistes, mates y unos buenos "sambuchitos", fundamentales para combatir el frío y el arduo trabajo que significa hacer una tesis.

A las personas que integran el Laboratorio de Parasitología: la Dra. Ana Lanfranchi por su ayuda "desinteresada" en la realización de las figuras de la tesis, el Dr. Juan Timi, la Dra. Paola Braicovich (que tiene apellido de la colectividad, pero no lo es), la Dra. Ana Julia Alarcos y al Lic. Manuel Irigoitia por los momentos compartidos dentro y fuera del laboratorio.

A cada una de las personas que me dieron acceso a los puntos de muestreos. Especialmente a Pedro y Rodolfo de la Estancia Nahuel Rucá.

A todas las personas y entidades que, directa o indirectamente, hicieron posible la realización de este trabajo.

A mi familia, Mamá (Celia), Papá (Jose Luis) y Hermanos (Fernanda y Gustavo) por ayudarme en todo.

Y especialmente **Ana** y **Joaquín**, por su paciencia en estos meses y por su **AMOR** en estos años.

# Índice de contenido

Resumen.....	1
Abstract.....	2
Capítulo I.....	3
Introducción General.....	3
1.1. Generalidades.....	4
1.2. Caracterización de las áreas de estudio.....	9
1.2.1. Laguna Nahuel Rucá.....	10
1.2.2. Laguna La Brava.....	11
1.2.3. Reserva Integral Laguna de los Padres.....	12
Capítulo II: Aspectos ecológicos y reproductivos del caracol <i>Heleobia parchappii</i> en la Laguna Nahuel Rucá.....	15
2.1. Introducción.....	16
2.2. Materiales y Métodos.....	17
2.3. Resultados.....	19
2.4. Discusión.....	26
Capítulo III: Estimadores no paramétricos de riqueza específica aplicados a los estudios de diversidad de los ensamblajes de digeneos larvales de <i>Heleobia parchappii</i> .....	29
3.1. Introducción.....	30
3.2. Materiales y Métodos.....	32
3.2.1. Análisis de los datos.....	33
3.3. Resultados.....	36
3.4. Discusión.....	42
Capítulo IV: Estadios larvales de digeneos presentes en <i>Heleobia parchappii</i> : descripción y comentarios.....	46
4.1. Introducción.....	47
4.2. Materiales y Métodos.....	47
4.3. Resultados y Discusión.....	47
Capítulo V: Dinámica temporal de los ensamblajes de digeneos larvales en <i>Heleobia parchappii</i> en la Laguna Nahuel Rucá.....	71
5.1. Introducción.....	72
5.2. Materiales y Métodos.....	73
5.3.1. Composición y dinámica de los ensamblajes de digeneos larvales, a escala anual.....	80
5.3.2. Composición y dinámica de los ensamblajes de digeneos larvales, a escala estacional.....	82
5.3.3. Composición y dinámica de los ensamblajes de digeneos larvales, a escala mensual.....	90
5.3.4. Factores bióticos y abióticos como posibles estructuradores de los ensamblajes de digeneos larvales.....	93
5.3.5. Similitud de los ensamblajes de digeneos larvales en el tiempo.....	98
5.4. Discusión.....	98
Capítulo VI: Dinámica temporal de los ensamblajes de digeneos larvales en las lagunas de los Padres y La Brava.....	111
6.1. Introducción.....	112
6.2. Materiales y Métodos.....	112
6.3. Resultados.....	114
6.3.1. Dinámica temporal de los ensamblajes de los digeneos larvales en la Laguna de los Padres.....	114
6.3.2. Dinámica temporal de los ensamblajes de digeneos larvales en la Laguna La Brava.....	116
6.4. Discusión.....	117
6.4.1. Dinámica temporal de los ensamblajes de los digeneos larvales en la Laguna de los Padres.....	117

6.4.2. Variación temporal de los ensambles de los digeneos larvales en la Laguna Brava.....	119
Capítulo VII: Variación espacial de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a <i>Heleobia</i>	
<i>parchappii</i> .....	122
7.1. Introducción .....	123
7.2. Materiales y Métodos.....	124
7.2.1. Heterogeneidad espacial.....	124
7.2.2. Biodiversidad.....	125
7.3. Resultados.....	126
7.3.1. Variabilidad espacial de los ensambles de digeneos larvales.....	126
7.3.2. Similitud en la composición de los ensambles de digeneos larvales y la distancia geográfica.....	130
7.4. Discusión.....	133
7.4.1. Variabilidad espacial de los ensambles de digeneos larvales.....	133
7.4.2. Similitud de los ensambles de digeneos larvales y la distancia geográfica.....	135
Conclusiones.....	139
Bibliografía.....	143

# Resumen

Los ensambles de digeneos larvales, en el primer hospedador intermediario, se caracterizan por la heterogeneidad espacial y temporal de su abundancia y de su diversidad específica. Dado que, recientemente, se ha revalorizado la utilización de estos parásitos como herramientas útiles para los estudios de comunidades bióticas y como bioindicadores de fluctuaciones ambientales, los objetivos propuestos para esta Tesis fueron: *i-* incrementar el conocimiento sobre los estadios larvales de digeneos que parasitan al gasterópodo *Heleobia parchappii* en las lagunas Nahuel Rucá, de los Padres y La Brava (provincia de Buenos Aires), *ii-* determinar los factores que estructuran temporal y espacialmente a los ensambles de digeneos larvales en este hospedador y *iii-* evaluar su aplicación como potenciales indicadores ambientales y de diversidad y abundancia de fauna. Las tareas de campo se realizaron mensualmente en la Laguna Nahuel Rucá, entre los meses de junio de 2010 y enero de 2013, y estacionalmente en las lagunas de los Padres y La Brava, desde el invierno de 2010 hasta el otoño de 2011. En total, se examinaron 12.000 individuos de *H. parchappii*, identificándose 24 especies de digeneos pertenecientes a 12 familias. La prevalencia y la riqueza específica presentaron variaciones espacio-temporales, sin embargo, la dinámica temporal de estos índices parasitológicos difirió entre las lagunas. Estas variaciones se deberían principalmente a las fluctuaciones temporales de la temperatura del agua, a la dinámica poblacional de los hospedadores intermediarios y definitivos (principalmente aves), a procesos evolutivos y al efecto antrópico. No obstante estos factores no actuarían de forma independientemente sino que interactuarían entre sí. De acuerdo con estas observaciones, los sistemas molusco-digeneo constituyen una herramienta útil para realizar estudios de monitoreo ambiental, ya que son un elemento ubicuo en la fauna de los ambientes lénticos, interactúan con diferentes organismos en varios niveles de la redes tróficas y los disturbios ambientales repercutirían directamente en la dinámica de estos sistemas parasitarios.

# Abstract

Larval digenean assemblages in its first intermediate hosts are characterized by the spatial and temporal heterogeneity of its abundance and specific diversity. Given that these parasites are considered useful tools for community studies and environmental fluctuations indicators, the proposed objectives of this thesis were: *i-* Increase the information about larval digeneans parasitizing *Heleobia parchappii*. *ii-* Determine the factors that temporally and spatially contributes to the larval digenean assemblages structure in this host and *iii-* Evaluate the potential use of these parasite assemblages as faunal diversity and abundance indicators and environmental disturbance estimations. Field sampling was conducted monthly in Nahuel Rucá lagoon, between June 2010 and January 2013, and seasonally in De los Padres and La Brava lagoons, from winter (2010) to fall (2011). In total, 12,000 individuals of *H. parchappii* were examined, and 24 species of digeneans belonging to 12 families were identified. Prevalence and richness values presented spatio-temporal fluctuations. However, the temporal dynamics of these parasitological indices differed between the lagoons. These variations were mainly due to temporal fluctuations in water temperature, population dynamics of the intermediate and definitive hosts (mainly birds), evolutionary processes and anthropogenic effects. However, these factors should not be working independently but interacting with each other. Taking into consideration all these observations, the system molusc-digenean is a good tool to make studies of environmental monitoring as they are an ubiquitous elements in lentic environmental fauna, interacting with various organism in different levels of the food web.

# Capítulo I

## Introducción General

## 1.1. Generalidades

El estudio de la diversidad de especies que coexisten en un espacio determinado (comunidades o ensamblajes), así como de las interacciones que las mismas desarrollan con el medio ambiente que las circunda, es uno de los objetivos principales de la Ecología Mecanicista y de la Ciencia de la Biodiversidad.

El concepto de comunidad (utilizado por la Ecología Mecanicista) es un acercamiento más hermético del análisis de las interacciones entre especies, partiendo de la idea de que dichas interacciones surgen de un proceso evolutivo. A través del tiempo, las especies o poblaciones se vuelven interdependientes y generan un flujo de energía, conformando una estructura trófica bien definida que se “encierra” dentro de un espacio determinado. El concepto de ensamblaje, propio de la Ciencia de la Biodiversidad, es mucho más dinámico, ya que cada ensamblaje es un arreglo temporal de especies que coexisten, dentro de los mismos límites de espacio y tiempo, y pueden o no interactuar. En otras palabras, el concepto de comunidad hace hincapié en las interacciones interespecíficas y, el de ensamblaje, en la coexistencia de especies (Halffter & Moreno, 2005).

Los estudios de la diversidad biológica, a escalas local y regional, se han diversificado en los últimos años, dejando de lado los tradicionales inventarios de especies para constituirse en herramientas importantes para la conservación y para el análisis de los impactos producidos por la actividad humana y por el calentamiento global. Surge así la utilización de los grupos indicadores (conjunto de especies de un ensamblaje) que deben responder, positiva o negativamente, a los cambios en los factores ambientales y en la influencia antrópica. Los grupos indicadores pueden utilizarse para: a) obtener una estimación o subrogado de la riqueza total de especies en un ambiente (o de otros grupos relacionados) y b) para comparar sitios distintos en base al número y abundancia de especies de los grupos indicadores (éste tipo de estudio permite evaluar y analizar los efectos de la fragmentación y de los cambios de origen antrópico en los ambientes seleccionados) (Halffter & Moreno, 2005).

El parasitismo es una interacción biológica que puede ser definida de diferentes formas. Una definición amplia es la que considera a esta interacción como la alimentación obligada de un organismo (parásito) sobre otro organismo vivo (hospedador) sin que el primero llegue a causar la muerte de este último. Si nos atenemos a esta definición, casi el 50% de las especies conocidas deberían ser clasificadas como parásitos (Windsor, 1998). Una definición más estricta del parasitismo podría ser: organismo que vive sobre o dentro de otro organismo vivo durante un tiempo significativo de su ciclo de vida. Según esta definición las especies parásitas alcanzarían entre el 10-20% de las especies totales conocidas (May, 1988; Poulin & Morand, 2000). Sin embargo, Windsor (1998) sostiene que el parasitismo es la forma más común sobre la tierra sin importar la definición que se utilice.

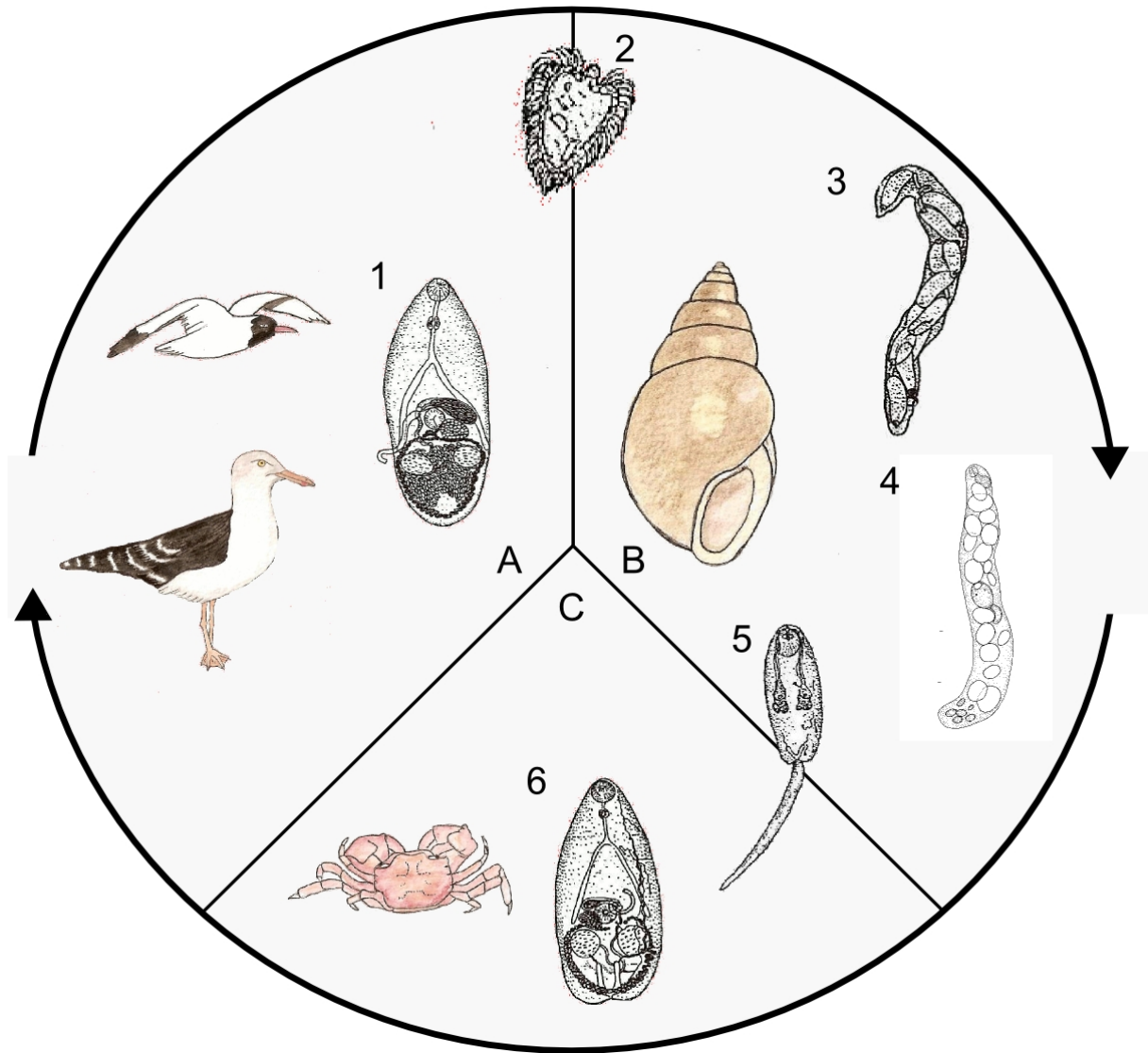
Estudios recientes, han revalorizado el estudio de los parásitos con ciclos de vida complejos como herramientas útiles para los análisis de comunidades bióticas y como bioindicadores de fluctuaciones ambientales. Esto es posible dado que dichos parásitos requieren de varios hospedadores para completar sus ciclos de vida y son influenciados negativamente por los disturbios e impactos que puedan interferir con la eficiencia de la transmisión de un hospedador a otro (p. ej. MacKenzie, 2002; Hechinger & Lafferty, 2005; Merlo & Etchegoin, 2011).

Uno de los grupos de parásitos más promisorios para ser utilizados en los estudios de comunidades bióticas y como bioindicadores de fluctuaciones ambientales es el de los digeneos (Platyhelminthes: Trematoda) (Lafferty, 1997; Huspeni & Lafferty, 2004; Huspeni *et al.*, 2005). Los digeneos poseen ciclos de vida complejos o heteroxenos; esto significa que presentan distintos estadios larvales que parasitan a hospedadores intermediarios para, finalmente, madurar como adultos en el hospedador definitivo. El ciclo de vida típico de un digeneo posee dos hospedadores intermediarios y un hospedador definitivo vertebrado (que alberga al adulto que se reproduce sexualmente) (Fig 1.1) (Esch *et al.*, 2002; Sukhdeo & Sukhdeo, 2004). Los huevos de los digeneos son eliminados al medio ambiente a través de las heces del hospedador definitivo vertebrado. Los

huevos contienen una larva (miracidio) que penetra activamente, o por ingesta del huevo, en el primer hospedador intermediario (molusco). Dentro del primer hospedador el miracidio se transforma en un esporocisto, que se reproducen asexualmente, dando origen a otra generación de esporocitos, a redias o a cercarias, dependiendo de la especie. Del molusco emergen larvas libre nadadoras (cercarias) que, generalmente, se enquistan en el segundo hospedador intermediario (invertebrado o vertebrado) dando origen a una metacercaria. Para que el ciclo de vida del digeneo pueda completarse, generalmente, el segundo hospedador intermediario debe ser ingerido por el hospedador definitivo (Esch *et al.*, 2002; Sukhdeo & Sukhdeo, 2004; Huspeni *et al.*, 2005). Sin embargo, la abreviación del ciclo de vida, eliminando la mayoría de las veces al segundo hospedador intermediario y en algunas especies el hospedador definitivo, es un carácter que ha surgido independientemente más de 20 veces en el grupo (Poulin & Cribb, 2002). Esta disminución de hospedadores en el ciclo de vida podría considerarse como una adaptación del parásito, sobre todos en zonas de condiciones ambientales adversas, la cual le permitiría expandirse en estos ambientes (Oliva & Huaquin, 2000). Posiblemente, la gran variabilidad entre los ciclos de vida de digeneos sea la clave del éxito de este grupo (Olson *et al.*, 2003).

Para poder utilizar a los estadios larvales de digeneos como bioindicadores, es necesario que se cumplan una serie de requisitos en el ambiente a estudiar: deben existir una fauna variada y abundante de hospedadores intermediarios y definitivos, una comunidad de al menos 3 especies de digeneos larvales en el molusco seleccionado (para el caso de marcadores de fluctuaciones ambientales) y, preferentemente, estudios previos que incluyan las descripciones de los estadios larvales digeneos presentes en el área (Huspeni *et al.*, 2005). Sin embargo, existe otro requisito que no fue planteado por Huspeni *et al.* (2005), la especie de hospedador molusco seleccionada debe presentar una distribución geográfica amplia y, además, que habite ambientes heterogéneos a lo largo de un gradiente latitudinal. Dichas características son esenciales para detectar y analizar la influencia de los distintos parámetros ambientales sobre los ensambles parasitarios, para localizar

zonas de reemplazo de especies, áreas de fragmentación y de impacto antrópico.



**Fig 1.1.** Ciclo biológico típico de un digeneo. (A) Hospedador definitivo); (B) primer hospedador intermediario y (C) segundo hospedador intermediario. 1) Digeneo adulto en el hospedador definitivo (vertebrado); 2) larva miracidio; 3) esporocisto y 4) redia en el primer hospedador intermediario (molusco); 5) cercaria, estadio de vida libre; 6) metacercaria en el segundo hospedador intermediario (invertebrado o vertebrado).

Los digeneos cumplen con los requisitos para ser utilizados como grupos indicadores para estudios de biodiversidad, ya que sus estadios larvales de vida libre (cercarias) son susceptibles a los cambios ambientales y teniendo en cuenta que los digeneos utilizan las tramas tróficas para el desarrollo y la dispersión de sus estadios del ciclo de vida, sus estadios larvales en hospedadores intermediarios primarios son, por lo tanto, indicadores positivos de comunidades de hospedadores definitivos y de sus relaciones tróficas. Así, un ensamble diverso de digeneos en los gasterópodos sería el resultado de una fauna diversa y abundante de hospedadores definitivos e intermediarios (Lafferty, 1997; Huspeni *et al.*, 2005; Marcogliese, 2005; Lafferty *et al.*, 2006). Además, para acceder a la información acerca de la diversidad faunística de un área basta con la identificación a nivel de familia de las cercarias. Esto permite, a su vez, tipificar el tipo de hospedador intermediario secundario (crustáceo, pez, etc.) y el tipo de hospedador definitivo (ave, pez, reptil, anfibio o mamífero) que utiliza el digeneo para completar su ciclo de vida.

Asimismo, el molusco *Heleobia parchappii* (d'Orbigny, 1835) (Cochliopidae) reúne algunas de las características que deben cumplir los hospedadores intermediarios para permitir el uso de los ensambles de digeneos larvales que los parasitan, ya que se distribuye en el norte y centro de la República Argentina (Rumi *et al.*, 2008). Sin embargo, existe poca información previa sobre su fauna de digeneos larvales a lo largo de su distribución.

Teniendo en cuenta estas consideraciones, el objetivo general planteado fue:

- Incrementar el conocimiento sobre los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *Heleobia parchappii* en ambientes lénticos de la provincia de Buenos Aires, analizando los factores que los estructuran y evaluando su aplicación como potenciales indicadores ambientales y de diversidad y de abundancia de fauna.

## 1.2. Caracterización de las áreas de estudio

Los humedales constituyen, en conjunto, una extensión de superficie relativamente escasa en comparación con la de otros ecosistemas. Sin embargo, los rasgos ambientales que confluyen en su entorno confieren a este tipo de biotopos una productividad y una diversidad biológica de las más altas del planeta (Archibold, 1995; Finlayson *et al.*, 1999). El término humedal es definido de acuerdo a lo expresado en la Convención Relativa a los Humedales de Importancia Internacional (Convención de Ramsar, 2006), “son humedales las extensiones de marismas, pantanos y turberas, o superficies cubiertas de aguas, sean éstas de régimen natural o artificial, permanentes o temporales, estancadas o corrientes, dulces, salobres o saladas, incluidas las extensiones de agua marina cuya profundidad en marea baja no exceda de seis metros”.

En la Provincia de Buenos Aires, República Argentina, existe un número importante de cuerpos de agua someros, permanentes o temporarios y de variada extensión denominados “lagunas”. Estos cuerpos de agua presentan estadios evolutivos muy distintos y, su distribución, morfología y tipología, se relaciona con el clima, el relieve y la geología. Las lagunas pampeanas cubren unos 100.000 km<sup>2</sup> del territorio de la llamada Pampa Húmeda. Estos humedales proporcionan importantes servicios ambientales como el ciclado de nutrientes, la regulación del clima a nivel local y regional, la regulación de flujos hidrológicos y oportunidades educativas y recreativas, entre otros (Ma, 2005).

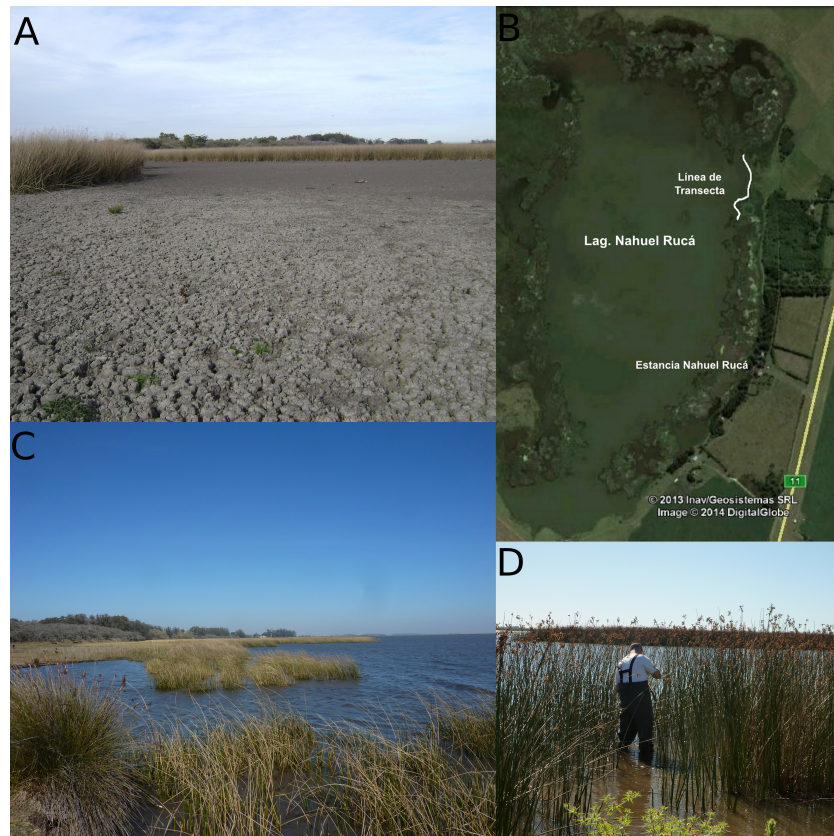
Las lagunas pampeanas fueron caracterizadas por Quirós & Drago (1999) como lagos muy poco profundos, con tiempo de permanencia del agua y salinidad altamente variables, naturalmente eutróficos, y actualmente bajo estrés ambiental manifiesto que incrementa aún más sus contenidos de nutrientes (Quirós *et al.*, 2002a; 2002b). Una particularidad de la región pampeana es que ésta no posee un régimen de precipitación estable y son frecuentes los ciclos de sequía-inundación interanuales que se reflejan profundamente en el funcionamiento de las lagunas, dada la fuerte dependencia de éstas con diferentes fases del ciclo hidrológico (precipitaciones, infiltración,

evaporación, escurrimiento, etc.) (Quirós, 2005; Sosnovsky & Quirós, 2006). Esto genera una amplia variabilidad de situaciones cambiantes, en cortos períodos de tiempo, en las características físicas, químicas y biológicas de los cuerpos de agua (Quirós & Drago, 1999).

### 1.2.1. Laguna Nahuel Rucá

La Laguna Nahuel Rucá (37° 37' S – 57° 25' O) (Fig 1.2) está localizada en el Partido de Mar Chiquita, al SE de la Provincia de Buenos Aires (frente a la laguna costera Mar Chiquita). Esta laguna cuenta con el aporte de un afluente, el Arroyo Dulce y desemboca mediante un canal artificial en el Arroyo Sotelo (efluente) y éste, a su vez, desemboca en el cuerpo de agua principal de la Laguna Mar Chiquita. El espejo de agua presenta un área de 245 ha, una profundidad media de  $0,14 \pm 0,16$  m y una profundidad máxima de 0,8 m (Ferderman, 2003). En cuanto a la vegetación, se caracteriza por la presencia de juncales (*Schoenoplectus californicus* (CA Meyer)) en sus márgenes, que hace de estos ambientes las principales áreas de cría y descanso de un gran número de especies de aves de la zona (Ferrero, 2001). Tietze & De Francesco (2010) realizaron un exhaustivo estudio de las especies de moluscos presentes en esta laguna, siendo *H. parchappii* la única especie perteneciente al género *Helobia*. Además, se han realizado diversos estudios sobre su vegetación (Stutz, 2000; Isacch, 2001; Federman, 2003), contaminación en sedimentos, macrófitas y peces (Chiodi, 2005; Ondarza, 2005) y la ornitofauna (Josens, 2011).

Otra de las características importantes de esta laguna es que conserva, en gran medida su pristinidad, dado que se encuentra inmersa entre campos privados siendo su actividad tradicional la ganadería y, recientemente, han incorporado actividades recreativas como el turismo rural.



**Fig 1.2.** Laguna Nahuel Rucá. A) Imagen de la laguna durante el período de sequía total, diciembre 2008. B) Imagen satelital de la laguna, indicando el área de muestreo. C y D) Período actual (2013), laguna con su caudal hídrico recuperado.

### 1.2.2. Laguna La Brava

La Laguna La Brava (37°52' S – 57°58' O) (Fig 1.3) se distingue de las lagunas pampásicas por poseer una forma arrañada, un cordón serrano en una de sus laderas y barrancas que bordean gran parte de su perímetro (Grosman & Sanzano, 1999). Cuenta con un solo afluente, el Arroyo El Peligro, y drena parte de sus aguas superficiales a través del Arroyo Tajamar, afluente del A° Vivoratá. El área que ocupa el espejo de agua es de 400 ha, con una profundidad media de 2,32 m y una profundidad máxima de 4,57 m (Cordini, 1942). La zona litoral de la laguna está cubierta por *S. californicus*, cuya mayor concentración se produce en la zona de ingreso y egreso de agua (Grosman & Sanzano, 1999). Asociada a *S. californicus* se encuentra *H. parchappii* única especie

de molusco perteneciente al género *Heleobia* que se encuentra en esta laguna (Tietza & De Francesco, 2010). Además, en el área se han realizado estudios sobre su hidrogeología y vegetación (Romanelli, 2006) y sobre su ornitofauna (Josens, 2011).

En los terrenos contiguos a la laguna, la actividad tradicional son la agricultura y la ganadería, existiendo también, emprendimientos turísticos privados y una pequeña villa con habitantes todo el año.



**Fig 1.3.** Fotografías de la Laguna La Brava, mostrando el cordón serrano, las barrancas que bordean gran parte de su perímetro y el área de muestreo.

### 1.2.3. Reserva Integral Laguna de los Padres

La Laguna de los Padres (Fig 1.4) está situada en el borde oriental de las Sierras de los Padres ( $37^{\circ}56' S - 57^{\circ}44' O$ ) en la Provincia de Buenos Aires. Presenta un afluente y un efluente, El arroyo de Los Padres y el Arroyo de La Tapera, respectivamente (Campana *et al.*, 2001). La laguna cubre un área de 216 ha, con una profundidad media de 1,24 m y alcanza un profundidad

máxima de 2,4 m (Bocanegra & del Río, 1991; Pozzobon & Tell, 1995). Este espejo de agua presenta una zona litoral muy desarrollada, dominada principalmente por *S. californicus*, que forma un extenso juncal que cubre aproximadamente el 20% de la superficie total del espejo de agua. En esta laguna se han realizado diversos estudios sobre su vegetación (Romanelli, 2006), perifiton (Esquiús, 2009), contaminación en sedimentos, fauna y flora (González Sagrario *et al.*, 2002; Miglioranza *et al.*, 2004) y la ornitofauna (Josens, 2011).

La Laguna de los Padres es un valioso recurso natural que contribuye a la calidad de vida de la población, tanto residente en sus proximidades como en el área de influencia (Mar del Plata, 700.000 habitantes, aproximadamente). Otra de sus características es su ubicación dentro del Cinturón Hortícola de la ciudad, una zona con prácticas de manejo que incluyen el uso de fertilizantes orgánicos e inorgánicos que llegan a la laguna a través de la escorrentía y de su afluente (Baccaro *et al.*, 2006). Además, la laguna se encuentra dentro del predio de una reserva natural de usos múltiples, con un vivero municipal e infraestructura vinculada a clubes de pesca, recreos y restaurantes.



**Fig 1.4.** Imágenes de la Laguna de los Padres, mostrando el juncal que domina su zona litoral, las actividades recreativas que allí se desarrollan y el área de muestreo.

**Capítulo II**  
**Aspectos ecológicos y reproductivos del**  
**caracol *Heleobia parchappii* en la Laguna**  
**Nahuel Rucá**

## 2.1. Introducción

El estudio de la ecología de las diferentes especies pertenecientes al género *Heleobia* se torna dificultoso debido al escaso desarrollo de los estudios taxonómicos, inclusive a escala sudamericana (ver Cazzaniga, 2011).

De las 16 especies citadas por Rumi *et al.* (2008) para Argentina, sólo se ha estudiado el ciclo de vida de 5 de ellas. En el caso *Heleobia hatcheri* (Pilsbry, 1911), especie con distribución restringida a los ambientes lóticos de la Patagonia, es la única en Argentina y Sudamérica que se reproduce partenogenéticamente (Martín, 2002). El ciclo de vida de *Heleobia piscium* (d'Orbigny, 1835) presentó un patrón anual, con un solo período reproductivo durante el verano (Martín, 2008). La especie *Heleobia conexa* (Gaillard, 1974) también presenta un ciclo de vida anual, con un solo período reproductivo a finales de la primavera (De Francesco & Islas, 2004a).

El ciclo de vida de *Heleobia australis* (d'Orbigny, 1835) fue estudiado por dos autores, De Francesco & Islas (2004a) en la laguna costera Mar Chiquita (MC) (provincia de Buenos Aires) y en San Antonio Oeste (SAO) (provincia de Río Negro) y Carnero & Fiori (2012) en el estuario de Bahía Blanca (BB) (provincia de Buenos Aires). En MC el período reproductivo ocurre únicamente en verano, mientras que en SAO y BB el período de reclutamiento ocurre en primavera y verano. La duración del ciclo de vida registrado en MC-SAO y BB varió entre 12 y 30 meses, respectivamente.

El ciclo de vida de *Heleobia parchappii* fue estudiado en el Valle inferior del Río Colorado (Provincia de Buenos Aires) y en la laguna costera Mar Chiquita. En ambos sitios, el período de reclutamiento de juveniles ocurre desde primavera a otoño, con una duración anual del ciclo de vida (Cazzaniga, 1981; De Francesco & Islas, 2004b).

Los estudios tendientes a determinar el ciclo de vida de una especie de molusco, deberían prolongarse en el tiempo de forma tal que todas las variaciones en el mismo puedan ser detectadas. La mayoría de los trabajos anteriormente citados se desarrollaron anualmente, excepto el estudio de Carnero & Fiori (2012), el cual presenta una duración bianual. En ninguno de estos trabajos fue

posible realizar el seguimiento de una cohorte de individuos desde su nacimiento hasta su desaparición, por lo tanto, los tiempos de duración del ciclo de vida de los moluscos podrían ser mayores a los estimados por dichos autores.

Dado que: a) el ciclo de vida de *H. parchappii* fue dilucidado durante períodos anuales (Cazzaniga, 1981; De Francesco & Islas, 2004b) y que, otras investigaciones demuestran que especies del mismo género pueden presentar ciclos de vida con una duración mayor a un año (Carcero & Fiori, 2012) y b), la densidad y estabilidad en el tiempo de la población de *H. parchappii* puede estar sujeta a la variabilidad de la salinidad del agua (Cazzaniga, 1981; De Francesco & Islas, 2004b), los objetivos del presente capítulo fueron:

1. Determinar la duración del ciclo de vida de *Heleobia parchappii* en la Laguna Nahuel Rucá, definiendo los períodos de reclutamiento.
2. Detectar la fluctuación de la densidad de individuos de *H. parchappii* y determinar su relación con la salinidad del agua.

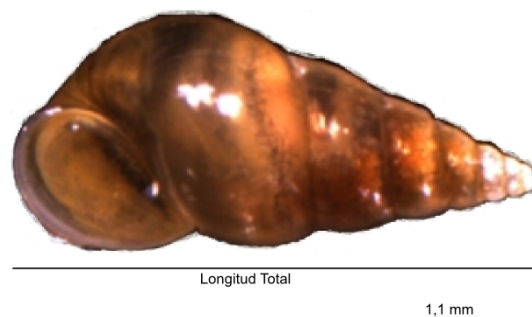
## 2.2. Materiales y Métodos

Las tareas de muestreo se realizaron mensualmente en la Laguna Nahuel Rucá por un período de 31 meses, desde agosto de 2010 hasta febrero de 2013. Los ejemplares de *H. parchappii* fueron localizados entre la vegetación sumergida, sobre y dentro del sustrato y colectados con la ayuda de tamices (0,5mm de abertura de malla) y pinzas. El muestreo, conducido por la misma persona para evitar sesgos en el mismo, se desarrolló por tiempo de esfuerzo (número de caracoles capturados por hora). La metodología para cuantificar el esfuerzo de muestreo se adoptó debido a la turbidez de la laguna, la cual imposibilita la visión del sustrato y hace imposible coleccionar todos los caracoles en un área determinada. Esta metodología fue utilizada en ambientes lénticos por Prepelitchi (2009), entre otros. Además, en cada muestreo se utilizó un termómetro digital y un refractómetro de mano para medir la temperatura y la salinidad del agua, respectivamente.

Posteriormente, los caracoles colectados fueron trasladados al laboratorio. Allí fueron colocados en recipientes de 1 l de capacidad, con agua filtrada de la laguna y con aireador.

Con el fin de elaborar gráficos de distribución de tallas a lo largo del período de estudio, todos los caracoles capturados fueron medidos utilizando un microscopio estereoscópico (N= 24.931). La longitud total de la conchilla (la distancia desde el ápex hasta el margen anterior de la apertura) (Fig 2.1) fue utilizada como un estimador de la talla. Para reconocer grupos de edad dominantes, los gráficos de distribución de tallas fueron analizados con el método de Bhattacharya (software FISAT II), que separa distribuciones normales en una mezcla de distribuciones de frecuencia de tallas. Este método permite estimar las tallas medias, desviaciones estándar y los tamaños poblacionales para cada grupo de edad identificado (Gayaniño *et al.*, 1995). Los resultados se emplearon para distinguir cohortes y seguir el crecimiento de cada cohorte en particular.

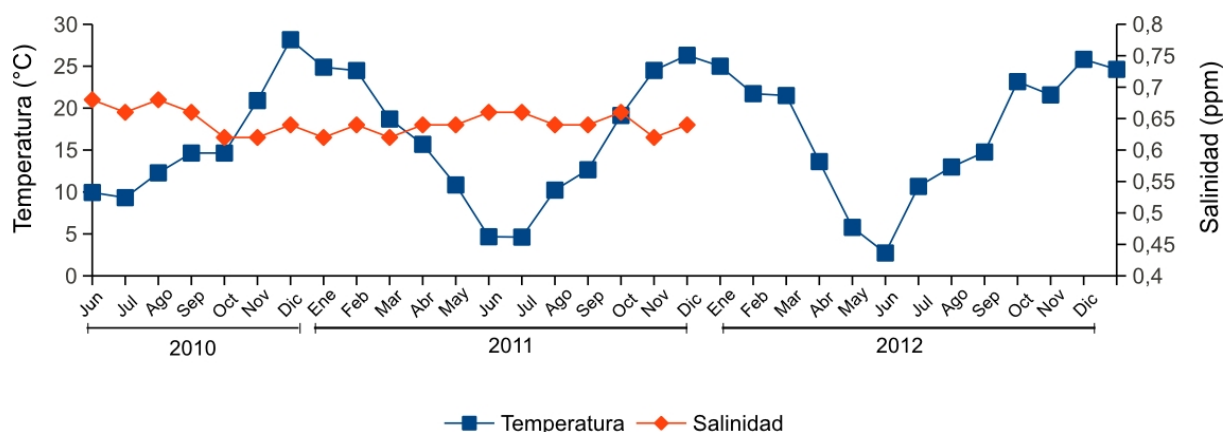
La densidad relativa de *H. parchappii* a lo largo del período de estudio fue calculada como el número de individuos / 1 hora de muestreo. Estas densidades fueron estudiadas mensualmente y posteriormente se las agrupó de forma estacional. En el caso de las densidades mensuales, fueron comparadas con un ANOVA de una vía, mientras que para las densidades estacionales se realizó un ANOVA de dos vías cuyos factores principales fueron el año de muestreo y la estación del año. Previamente se analizó normalidad y homocedasticidad. Finalmente, cuando los ANOVAs detectaron diferencias significativas, las comparaciones a posteriori se realizaron con la prueba de Tukey (Zar, 2009)



**Fig 2.1.** Ejemplar de *Heleobia parchappii* (d'Orbigny, 1835).

### 2.3. Resultados

La temperatura mínima del agua registrada fue de 1,2 °C en junio de 2012, mientras que la temperatura máxima fue de 28,9 °C en diciembre de 2010. La salinidad fue constante a lo largo del año, alcanzando su valor máximo en junio y agosto de 2010 (0,68 ppm) y su valor mínimo en octubre y noviembre de 2010 y en enero, marzo y noviembre de 2011 (0,62 ppm). La fluctuación de la temperatura y la salinidad a lo largo del año se puede observar en la figura 2.2.

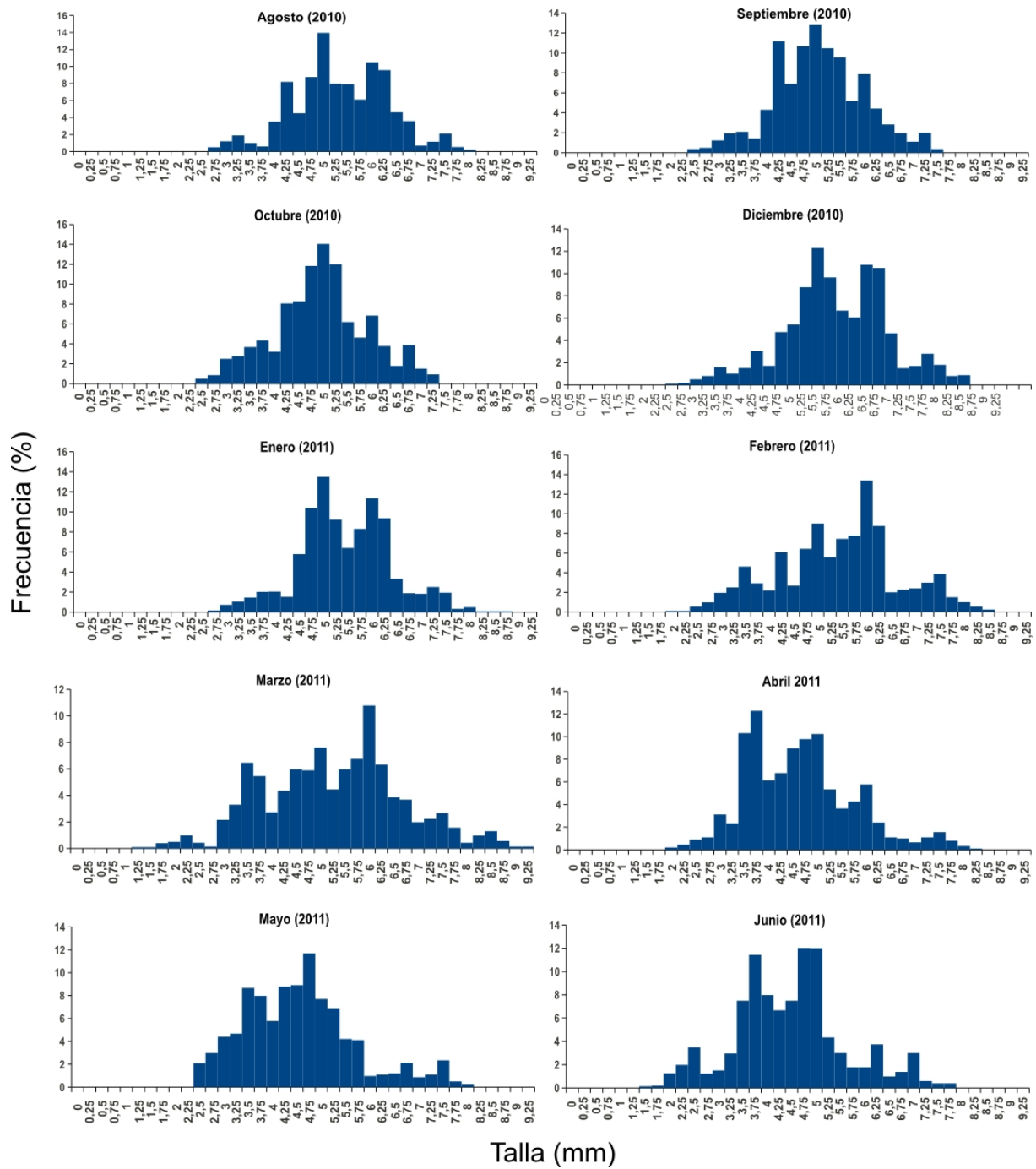


**Fig 2.2.** Valores mensuales de la temperatura (°C) y la salinidad (ppm) del agua en la Laguna Nahuel Rucá.

El tamaño mínimo de la conchilla registrado fue de 0,5 mm mientras que, el tamaño máximo fue de 9,36 mm. Las distribuciones de frecuencia de tallas de *H. parchappii* se ajustaron a una distribución polimodal (Fig 2.3). Catorce clases de edad fueron identificadas a lo largo de los 30 meses de estudio: cohortes **I** (agosto-septiembre 2010), **II** (agosto-diciembre 2010), **III** (agosto-marzo 2010), **IV** (agosto-abril 2010), **V** (agosto (2010)-abril (2012)), **VI** (diciembre (2010)-junio (2012)), **VII** (febrero (2011)-noviembre (2012)), **VIII** (marzo (2011)-enero (2013)), **IX** (junio (2011)-febrero (2013)), **X** (octubre (2011)-febrero (2013)), **XI** (mayo (2012)-febrero (2013)), **XII** (julio (2012)-febrero (2013)), **XIII** (octubre (2012)-febrero (2013)), **XIV** (febrero 2013) (Fig 2.4). Las cohortes VI, VII y VIII fueron seguidas desde su reclutamiento hasta su

muerte. A su vez, en el año 2011 fue posible detectar cuatro períodos de reclutamiento (cohortes VII, VIII, IX y X), en el año 2012 se detectaron tres períodos de reclutamiento (cohortes XI, XII y XIII). Y, si bien los años 2010 y 2013 no fueron estudiados completamente, en ambos fue posible identificar un período de reclutamiento cohorte VI y cohorte XIV respectivamente.

La densidad de *H. parchappii* expresada como el Log (número de individuos capturados/hr) presentó fluctuaciones a lo largo de los años de estudio (Fig 2.5). En el análisis mensual se hallaron diferencias significativas ( $F_{28;116}=14,13$ ;  $P<0,0001$ ), analizando meses consecutivos, se hallaron diferencias entre junio y julio (2012) y entre septiembre y octubre (2012) en ambos casos  $P<0,05$ . Sin embargo, en la figura 2.5 se pueden observar cuatro puntos máximos en la densidad a lo largo del período de estudio. El primero se observó en diciembre de 2010; este mes fue diferente de septiembre (2010) y de febrero (2010) (ambos casos  $P<0,05$ ), indicando los meses en los cuales comienza y finaliza el aumento de la densidad. El segundo pico, menos pronunciado que el anterior, se observó en octubre de 2011. Nuevamente la base de este pico está representada por los meses julio (2011) y febrero (2012). Ambos meses fueron diferentes a octubre (2011) ( $P<0,05$ ). El tercer y cuarto punto máximo de la densidad, julio (2012) y octubre (2012) respectivamente, fueron menos evidentes y más abruptos, aumentando la densidad de un mes a otro no de forma gradual como se observó en los casos anteriores. Estos puntos máximos sólo se diferenciaron de sus meses anteriores, junio (2012) y septiembre (2012) respectivamente.



**Fig 2.3.** Distribución mensual de la frecuencia de tallas de los individuos de *Heleobia parachappii* en la Laguna Nahuel Rucá.

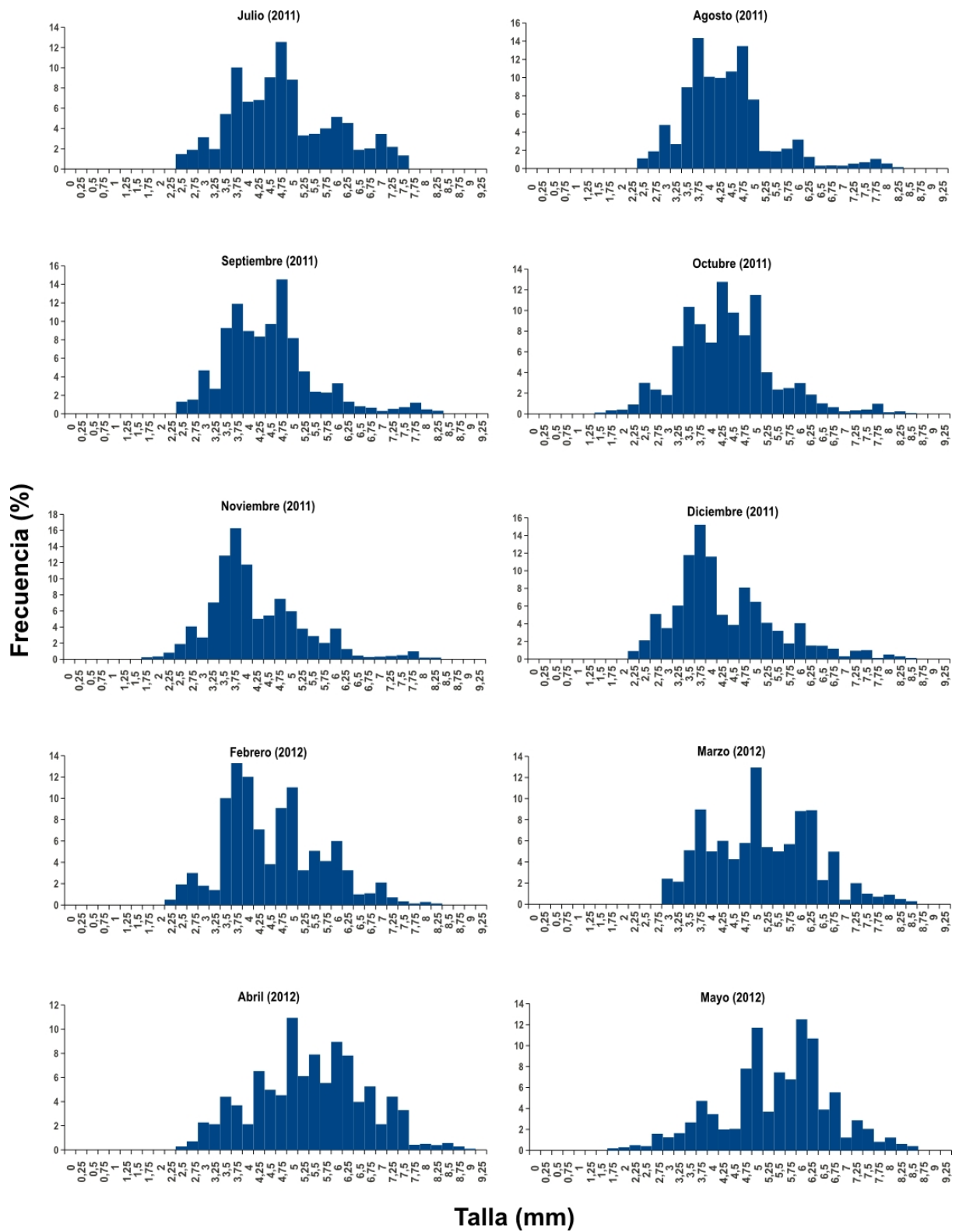


Fig 2.3. Continuación.

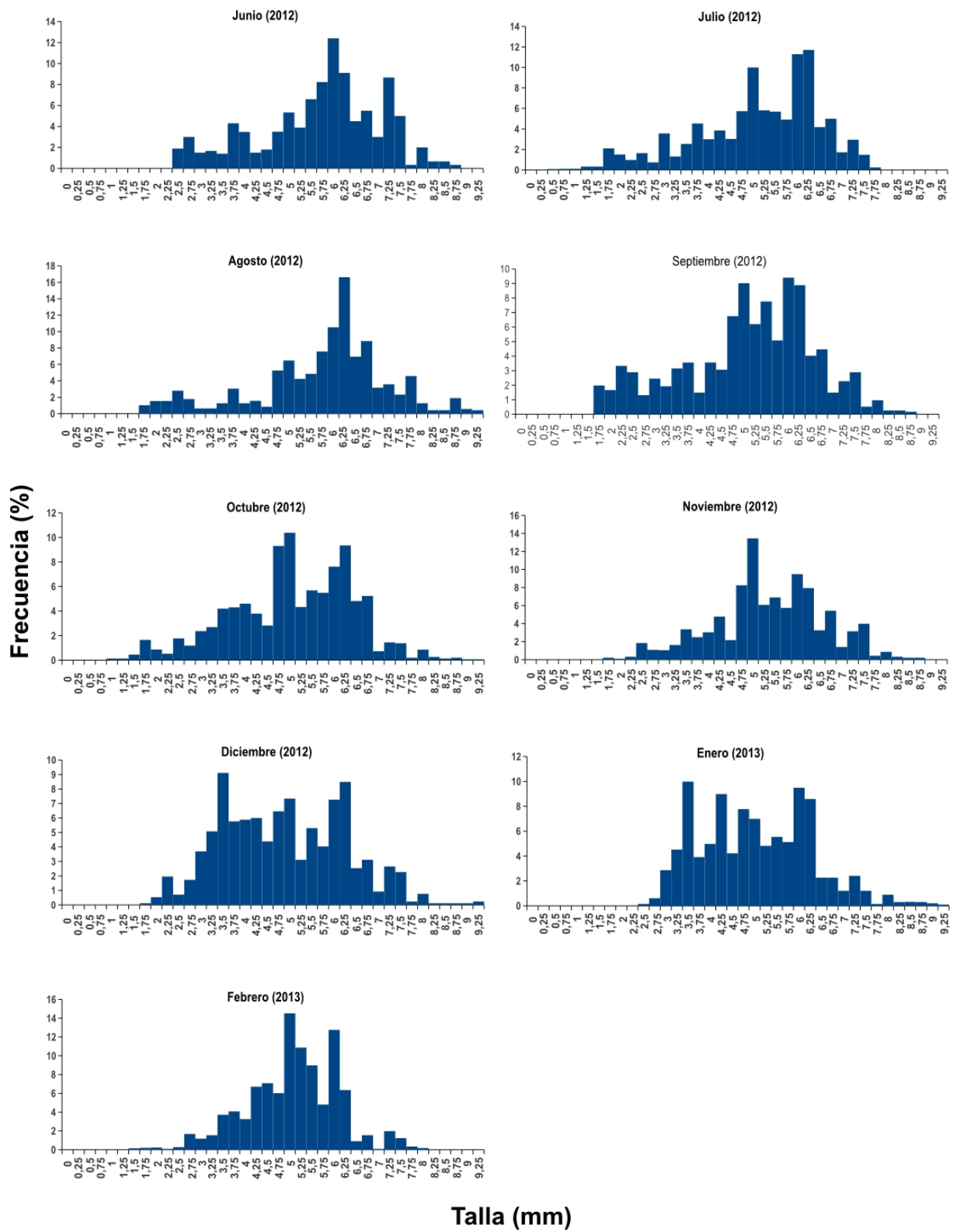


Fig 2.3. Continuación.

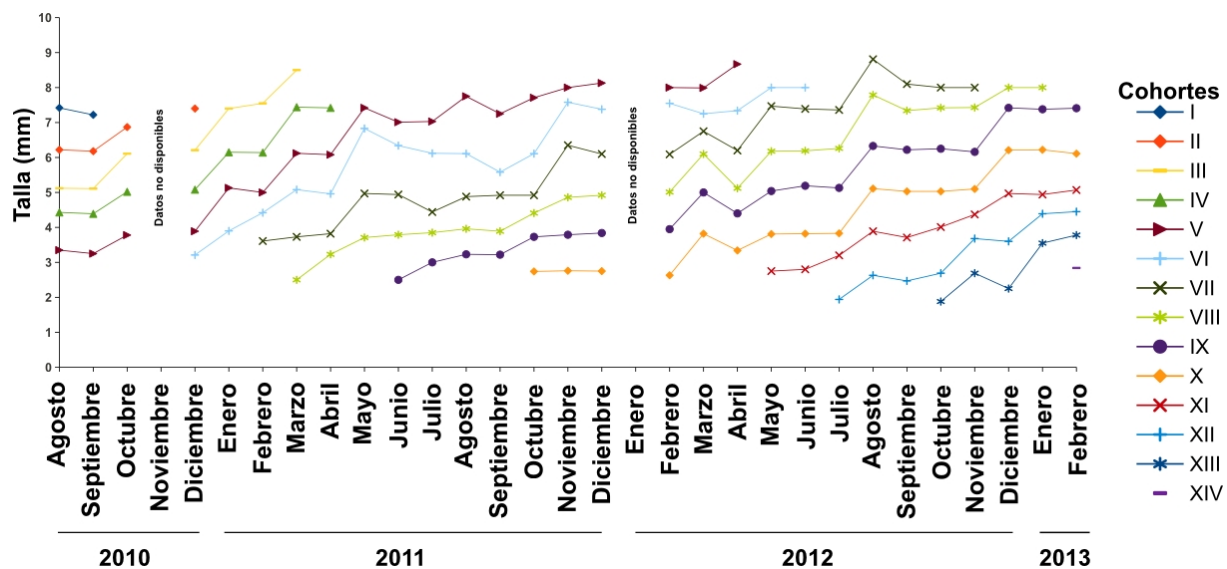


Fig 2.4. Talla mensual (mm) de las diferentes cohortes de *Heleobia parchappii* en la Laguna Nahuel Rucá.

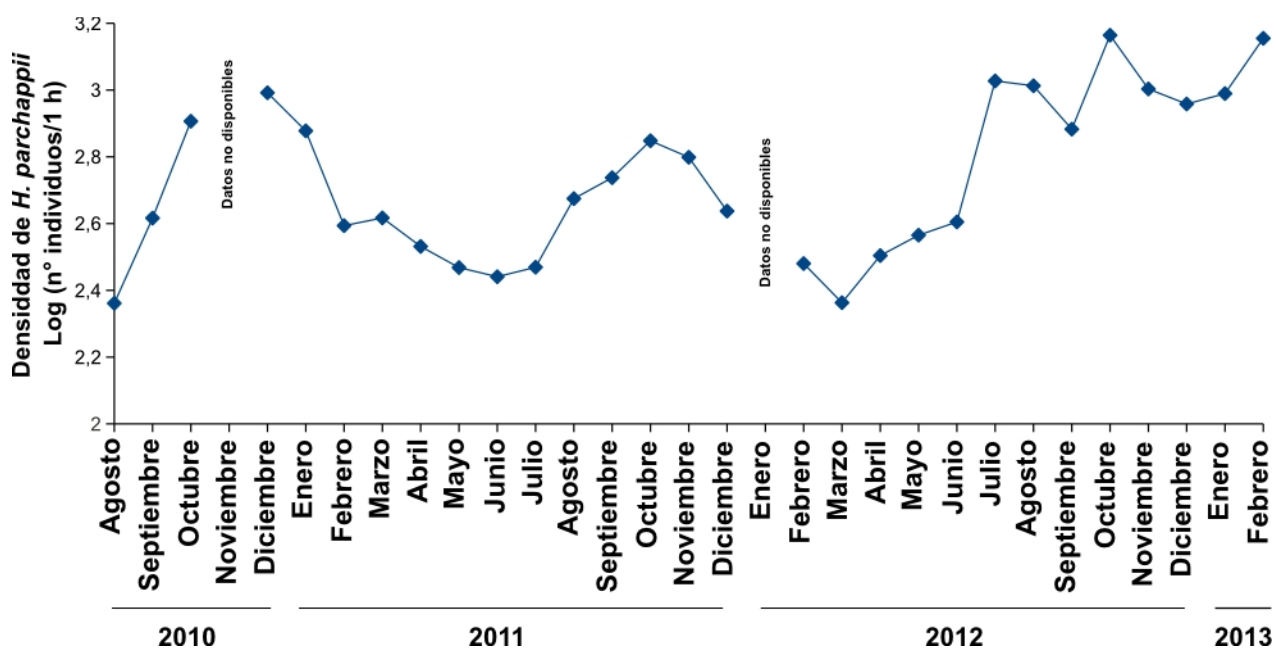
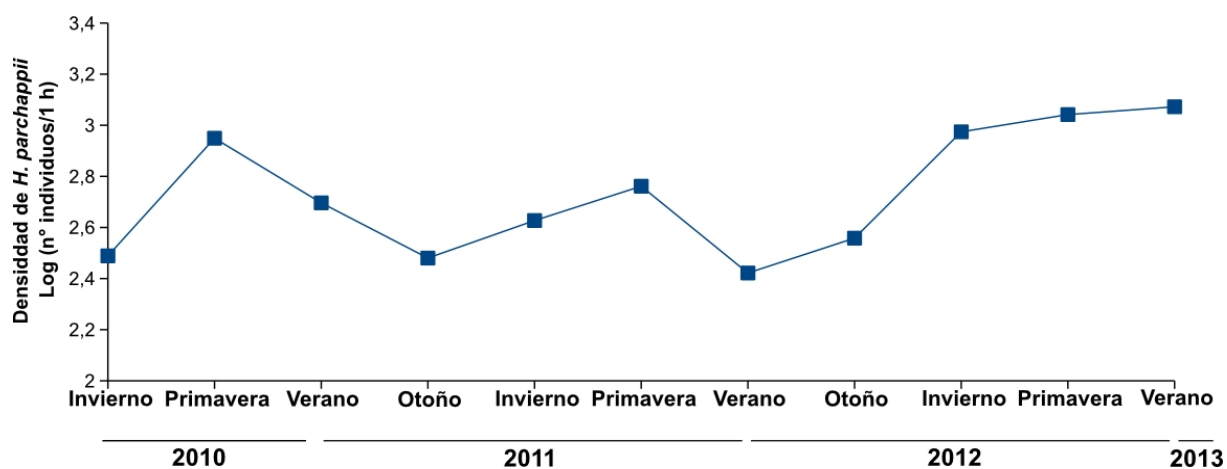


Fig 2.5. Valores mensuales de la densidad de individuos de *Heleobia parchappii* en la Laguna Nahuel Rucá.

El análisis estacional de la densidad arrojó diferencias significativas y una interacción de los factores principales ( $F_{5;134}=8,74$ ;  $P<0,001$ ) (Fig 2.6). Esto significa que las diferencias observadas deben ser estudiadas teniendo en cuenta la estación del año y el año de muestreo. Así, en el primer año se observó una estacionalidad en la densidad de *H. parchappii*, presentando la primavera los valores más altos y significativamente diferentes con todas las estaciones restantes (en todos los casos  $P<0,05$ ). Si bien en verano se halló una densidad menor a la de primavera, ésta fue mayor a la de invierno y otoño (en ambos casos  $P<0,05$ ). En el segundo año, aunque en general los valores de densidad registrados fueron los más bajos, se observó un patrón similar, siendo la primavera la estación que presentó mayor densidad. En el tercer año no se observó una estacionalidad asociada a la densidad, siendo todas las estaciones similares estadísticamente (para todos los casos  $P>0,05$ ) y se hallaron valores de densidad más altos con respecto a los años anteriores.



**Fig 2.6.** Valores estacionales de la densidad de individuos de *Heleobia parchappii* en la Laguna Nahuel Rucá.

## 2.4. Discusión

Durante este estudio pudo realizarse el seguimiento mes a mes, desde su reclutamiento y hasta su desaparición, de tres cohortes de *Heleobia parchappii*. La cohorte VI presentó un ciclo de 18 meses de duración, mientras que las cohortes VII y VIII presentaron una duración de 21 y 22 meses, respectivamente. Así, el ciclo de vida de *H. parchappii* en la Laguna Nahuel Rucá evidenció una duración promedio de 20,33 meses. Como se mencionó anteriormente, ya se han realizado dos estudios sobre el ciclo de vida de *H. parchappii* en diferentes ambientes, Cazzaniga (1981) en el Valle inferior del Río Colorado (Provincia de Buenos Aires) y De Francesco & Islas (2004b) en la laguna costera Mar Chiquita. Ambos trabajos proponen un ciclo anual para *H. parchappii* mientras que, los resultados obtenidos en este capítulo, determinaron que el ciclo superaría al año.

La población de *H. parchappii* en Nahuel Rucá presentó, en coincidencia con los hallados por Cazzaniga (1981) y De Francesco & Islas (2004b), un período de reclutamiento en la primavera y otro en el otoño. Sin embargo, en los años 2011 y 2013 se evidenció un reclutamiento de juveniles en el verano y además, en el año 2012, se detectó un proceso de reclutamiento en el invierno. Este último reclutamiento en invierno fue mencionado por Cazzaniga (1981) pero no por De Francesco & Islas (2004b). Algunos autores han relacionado los procesos de reclutamiento de juveniles de gasterópodos con la temperatura del agua (De Francesco, 2002; Malavé *et al.*, 2012; Yakovis *et al.*, 2013). En el presente trabajo la relación entre el reclutamiento y la temperatura del agua es en parte contradictoria. Por ejemplo, los reclutamientos de primavera y verano coinciden con temperaturas superiores a los 15 °C, y el reclutamiento ocurrido en el invierno del año 2012 (en julio) coincide con un aumento de 8 °C de la temperatura del agua con respecto al mes anterior (junio). Sin embargo, contrariamente a lo mencionado, los reclutamientos de otoño coinciden en todos los casos con temperaturas cercanas a los 5 °C.

Entre otros factores que han sido relacionados con los procesos de reclutamiento en gasterópodos, se pueden mencionar la incidencia de luz ultravioleta (Przeslawski, 2005), la

disponibilidad de alimento (Zhou & Pan, 1999; Malavé *et al.*, 2012), el período de lluvias (Mensink & Henry, 2011; Camara *et al.*, 2012), la contaminación por agentes químicos (Lefcort *et al.*, 2002; 2008; Camara *et al.*, 2012) y el parasitismo (Lefcort *et al.*, 2002; Gilardoni *et al.*, 2012). Estos factores podrían estar determinando, por sí solos, el momento de reclutamiento de juveniles o estar interactuando entre sí. Por ese motivo, sería necesario un estudio que incluya un mayor número de factores ambientales y biológicos para poder comprender completamente la dinámica del reclutamiento de juveniles en la población de *H. parchappii* en Nahuel Rucá.

La densidad de *H. parchappii* en el ambiente presentó fluctuaciones a lo largo del año, hallándose que las densidades máximas coinciden con los procesos de reclutamiento de juveniles que se produce en los meses cálidos, indicando que este período reproductivo es más importantes que el de los meses fríos. El aumento en la densidad de los gasterópodos, ha sido relacionado indirectamente con la disponibilidad de alimento (Blanchard *et al.*, 2000; Neiman *et al.*, 2013). Si bien se conoce poco sobre la alimentación de *H. parchappii*, Cazzaniga (1981) menciona que es una especie omnívora poco selectiva, preferentemente raspadora de perifiton y necrófaga. Se desconocen los ítems alimenticios de *H. parchappii* en la Laguna Nahuel Rucá y las fluctuaciones en la disponibilidad de los mismos. Por lo tanto, es necesario realizar estudios sobre la alimentación de *H. parchappii* y de la disponibilidad del alimento y asociar dicha información con la dinámica de la densidad del caracol, aquí estudiada, para comprender mejor su posible relación. Otro de los factores asociados a la reproducción de los moluscos es la salinidad del agua, aquí no se halló relación entre la fluctuación en la densidad de individuos y la salinidad, la cual se mantuvo constante a lo largo del año.

En este estudio se tuvo en cuenta la densidad de *H. parchappii* dado que este parámetro poblacional ha sido mencionado como un posible factor determinante de la fluctuación de los ensamblajes de digeneos larvales en el primer hospedador intermediario. Por ejemplo, Kuris & Lafferty (2005) plantearon la hipótesis de limitación por miracidio, sugiriendo que un incremento

en la densidad del caracol llevaría a una reducción de la prevalencia de los digeneos. Así, en los capítulos siguientes se intentará hallar la relación (si es que existe) entre las fluctuaciones de la densidad y las fluctuaciones de la prevalencia de los digeneos larvales.

**Capítulo III**

**Estimadores no paramétricos de riqueza  
específica aplicados a los estudios de  
diversidad de los ensambles de digeneos  
larvales de *Heleobia parchappii***

### 3.1. Introducción

Tradicionalmente, los biólogos se han abocado a contar el número de especies animales y vegetales. Aún hoy, esta tendencia se ve reflejada en el número de publicaciones referidas a la cantidad de especies contenidas en un taxón o presentes en una región determinada y en el desarrollo de técnicas estadísticas para estimar el número de especies (Palmer, 1990; Foggo *et al.*, 2003; Dove & Cribb, 2006; Reichert *et al.*, 2010; Chao & Lin, 2012; Brosse *et al.*, 2013; entre otros). El recuento del número de especies surgió como herramienta fundamental para comprender por qué ambientes distintos difieren en la cantidad de especies, qué factores controlan el número de especies en una zona determinada y, sobre todo, por qué algunos ecosistemas albergan más especies que otros (Hutchinson, 1959). Asimismo, con el desarrollo de las distintas ramas de la ecología, los biólogos han aplicado el recuento de especies para comprender cómo la riqueza específica se relaciona con las variables ambientales subyacentes, tales como la latitud y la altitud, entre otras y cómo afecta a los procesos ecológicos fundamentales (Gaston, 2000; Lyons & Willig, 2002; Pimm & Brown, 2004; entre otros).

La riqueza específica es la forma más sencilla de describir la diversidad de especies o cuantificar el número de especies a una escala local y/o regional (Hellman & Fowler, 1999; Mac Nally & Fleishman, 2002; Magurran, 2004). Sin embargo, Warwick & Clarke (2001) y Fleishman *et al.* (2006) consideran que el cálculo de la riqueza específica está influenciado directamente por el esfuerzo de muestreo y, por lo tanto, los cálculos de riqueza específica entre estudios que no posean esfuerzos de muestreo similares no serían comparables. Por éste motivo, los biólogos que estudian comunidades naturales se enfrentan al mismo interrogante: ¿qué tan bien refleja una muestra de una comunidad la "verdadera" diversidad de especies presentes en dicha comunidad? (Hughes *et al.*, 2001). Para hacer frente a este problema, se han desarrollado técnicas para estimar la riqueza específica que permiten extrapolar a partir de lo conocido a lo desconocido. Estas técnicas se

pueden agrupar en tres clases: (1) los modelos paramétricos, (2) los estimadores no paramétricos, y (3) las extrapolaciones de las curvas de acumulación de especies (Magurran, 2004).

Los estimadores de riqueza específica no paramétricos son algunos de los métodos de extrapolación más ampliamente utilizados en estudios de comunidades de animales de vida libre y de vegetales. Sobre la base de su utilización y de la comparación con otros métodos, se ha sugerido que los estimadores no paramétricos presentan un mejor desempeño que las curvas de acumulación de especies y los métodos paramétricos (Baltanás, 1992; Colwell & Coddington, 1994; Walther & Morand, 1998; Walther & Martin, 2001; Walther & Moore, 2005; Hortal *et al.*, 2006). El éxito de estos estimadores probablemente reside en el hecho de que son fáciles de calcular y que utilizan sólo datos de presencia-ausencia de las especies observadas en las muestras (Colwell & Coddington, 1994; Poulin, 1998).

El número de parásitos registrados en una muestra puede estar altamente correlacionado con el número de hospedadores examinados, con el tamaño del hospedador, con la densidad poblacional del hospedador y con el rango geográfico del mismo (Walther *et al.*, 1995). Por lo tanto, en los estudios de comunidades de parásitos, si la cantidad de hospedadores examinados es pequeña o insuficiente, sólo estarán representadas aquellas especies de parásitos con alta prevalencias y, por lo tanto, los valores de la riqueza específica obtenidos no serán representativos. Los estimadores no paramétricos presentan dos cualidades importantes, pueden controlar el efecto de un esfuerzo de muestreo desigual, y además, pueden calcular el número de especies "raras" existentes en una muestra y añadir este número a la riqueza de especies observada. Es decir, los resultados de la simulación de la prueba no paramétrica pueden "completar" la información sobre la composición de especies en una comunidad componente (Poulin, 1998).

Otra de las posibles utilidades de los estimadores de riqueza específica es la de estimar el tamaño de la muestra necesario para obtener una gran proporción de las especies presentes en una comunidad. El tamaño mínimo de la muestra requerido por métodos tradicionales puede ser

demasiado grande, generando dificultades para el desarrollo de estudios en áreas protegidas con regulaciones estrictas en cuanto a colecta de animales y vegetales, afectando directamente al número de hospedadores que pueden ser muestreados. Así, el uso de los estimadores no paramétricos para el cálculo de la muestra mínima podría, entonces, permitir una mejor planificación de las tareas de muestreo, contribuir con la conservación del ambiente y reducir costos económicos y de tiempo (tanto en el campo como en el procesado de las muestras) para llevar a cabo estudios parasitológicos en zonas con algún tipo de control o de protección (Merlo *et al.*, 2010).

Como primer paso en el estudio de la diversidad y ecología de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *H. parchappii*, se consideró la evaluación de la riqueza específica de dicho ensamble y el cálculo del tamaño de las muestras mínimas, a fin de posibilitar una correcta planificación de las tareas de muestreo. Por esta razón, se plantearon los siguientes objetivos:

1. Evaluar los estimadores no paramétricos de riqueza de especies con datos reales, observando el comportamiento de cada método y su capacidad para estimar la riqueza mediante diferentes tamaños de las submuestras.
2. Comparar la riqueza de especies estimada con la riqueza de especies observada anteriormente en la comunidades de digeneos larvales en *H. parchappii*.
3. Calcular el tamaño mínimo de la muestra necesario para detectar todas las especies observadas de digeneos larvales utilizando estimadores no paramétricos.

### 3.2. Materiales y Métodos

La existencia de trabajos previos que incluyan las descripciones de los estadios larvales de los digeneos presentes en un área y el conocimiento de los índices parasitológicos frecuentemente utilizados (prevalencia, intensidad, etc) permiten una mejor planificación en el diseño de muestreos de estudios futuros. En la Laguna Nahuel Rucá, durante el año 1999, Etchegoin (datos no publicados) llevó a cabo un estudio de los ensambles de digeneos larvales de *H. parchappii* durante

el cual se realizó la caracterización morfológica de las cercarias halladas y se calculó la prevalencia de los ensambles de digeneos. En total, se examinaron 1.754 individuos de *H. parchappii*, identificándose un total de 19 tipos morfológicos de cercarias. Estos datos fueron cedidos para la realización del presente capítulo.

### 3.2.1. Análisis de los datos

Los datos de presencia/ausencia de cada tipo morfológico de cercarias fueron agrupados en una matriz total (incluye todos los datos disponibles) y posteriormente se los agrupó estacionalmente. Se utilizó el programa “EstimateS” Ver. 8.2 (Colwell, 2009) para calcular la curva de acumulación media de especies para cada conjunto de datos. Este programa permite realizar submuestras de los datos, por ejemplo: el esfuerzo de muestreo total para este capítulo de tesis es de 1.754 individuos y se registraron 19 especies/tipos morfológicos de digeneos. “EstimateS” realiza submuestras en los cuales el esfuerzo de muestreo se va incrementando desde 1 a 1.754 individuos. El submuestreo consiste en tomar "n" veces (réplicas) 1, 2, ...1.754 caracoles y cuantificar cuantas especies de digeneos están presentes en cada una de esas réplicas, en base a esos submuestras el programa calcula los estimadores no paramétricos.

Para cada esfuerzo de muestreo en cada una de las matrices de datos, se generaron 100 réplicas y se evaluaron siete estimadores no paramétricos (NP) de riqueza específica: Chao 1, Chao 2, los estimadores Jackknife de primer y segundo orden (Jack 1 y Jack 2), el estimador Bootstrap (Boot), el estimador de cobertura basado en la abundancia (ACE) y el estimador de cobertura basado en la incidencia (ICE). Para una descripción detallada de estos estimadores, ver Colwell (2009). El programa también calcula el número de especies observadas ( $S_{obs}$ ), que es equivalente a la curva de acumulación de especies.

Para evaluar el desempeño de los estimadores no paramétricos de riqueza específica se utilizaron tres indicadores: Sesgo, Precisión y Exactitud (Hellman & Fowler, 1999; Foggo *et al.*,

2003; Walther & Moore, 2005; Schoeman *et al.*, 2008).

El Sesgo refleja y cuantifica la tendencia que posee un estimador a sobrestimar o subestimar sistemáticamente la verdadera riqueza de especies. En otras palabras, si se extraen de una población un gran número de muestras (aleatoriamente, pero con el mismo diseño de muestreo) del mismo tamaño (igual número de unidades de muestreo en cada uno) y se realiza una estimación de la riqueza de especies sobre la base de cada uno de estos muestreos, lo que se pregunta este estimador es: ¿cuán cerca del "verdadero" valor de riqueza específica va a estar la media de las estimaciones de la riqueza específica realizadas? (Schoeman *et al.*, 2008).

$$Sesgo = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{i=n} (S_i - S_{Real})$$

$S_{Real}$  es el número total de especies observadas y  $S_i$  ( $i= 1, 2, \dots, n$ ) representa la riqueza específica promedio (obtenida de las 100 réplicas) para cada esfuerzo de muestreo. La unidad final en la cual se expresa el sesgo es número de especies.

La Precisión se utiliza para cuantificar la varianza de los resultados estimados. Ésta responde a la pregunta: si muchas muestras del mismo tamaño fueron extraídas de la población (al azar, pero utilizando el mismo diseño de la muestra), y se realiza una estimación de la riqueza de especies sobre la base de cada una, ¿cuán cerca están estas estimaciones entre sí? (Schoeman *et al.*, 2008).

$$Precisión = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^{i=n} (S_i - \bar{S})^2$$

Donde  $\bar{S}$  es el promedio de la riqueza específica estimada para todos los esfuerzos de muestreo y su unidad es (número de especies)<sup>2</sup>. Esta fórmula depende sólo de los valores estimados y no utiliza en ningún momento los valores "verdaderos" de especies observadas, por lo que la precisión por sí sola no puede ser utilizada para evaluar a un estimador (Walther & Moore, 2005).

La Exactitud cuantifica la previsibilidad general de la riqueza calculada por los diferentes

estimadores. La pregunta que responde es: si se extraen muchas muestras del mismo tamaño de una población (al azar, pero utilizando el mismo diseño de muestreo), y se realiza una estimación de la riqueza de especies sobre la base de cada uno, ¿cuán cerca están todas estas estimaciones al verdadero valor de la riqueza de especies? La unidad de la exactitud es (número de especies)<sup>2</sup>.

$$Exactitud = Precisión + Sesgo^2$$

Aunque el Sesgo, la Precisión y la Exactitud son ampliamente utilizados para evaluar el rendimiento de los estimadores de riqueza específica, Walther & Moore (2005) señalan que las comparaciones entre las comunidades que contienen diferentes números de especies son inválidas porque la magnitud de estas medidas está relacionada con el número de especies en la comunidad en estudio. Estos autores realizaron las siguientes formulaciones de Sesgo, Precisión y Exactitud para estandarizar las medidas, permitiendo la comparación entre sitios. El Sesgo Estándar y la Precisión estándar no presentan unidad y la Exactitud Estándar es expresada como porcentaje.

$$Sesgo\ Est\acute{a}ndar = \frac{1}{n \cdot S_{Real}} \sum_{i=1}^{i=n} (S_i - S_{Real})$$

$$Precisi\acute{o}n\ Est\acute{a}ndar = \frac{100 \cdot \sqrt{Precisi\acute{o}n}}{\bar{S}}$$

$$Exactitud\ Est\acute{a}ndar = \frac{Exactitud}{S_{Real}^2}$$

Además para evaluar los estimadores de riqueza específica se utilizaron 3 criterios propuestos por Melo & Froehlich (2001): (1) la menor muestra mínima necesaria para estimar la riqueza observada en la muestra total; (2) la falta de comportamiento errático en la forma de la curva (la curva ideal debería ir aumentando el número de especies a medida que aumenta el esfuerzo de muestreo hasta alcanzar un nivel asintótico, el cual refleja que se alcanzó el máximo de la riqueza) y (3) la similitud entre las formas de las curvas para las cinco matrices de datos.

La muestra mínima necesaria para incluir a todas las especies observadas fue estimada como

una interpolación lineal del punto de cruce donde los estimadores comienzan a sobrestimar la riqueza específica verdadera (Hellman & Fowler, 1999). La muestra mínima calculada para cada estimador no se pudo comparar entre estaciones dado que el tamaño de la muestra fue diferente. Debido a esto, para comparar el comportamiento de cada estimador en la estimación de la muestra mínima se calculó el % que representa esta muestra mínima con respecto al tamaño total de la muestra.

### 3.3. Resultados

La riqueza específica estacional "real" hallada en el año 1999 fue de 13, 12, 13 y 16 en verano, otoño, invierno y primavera, respectivamente, mientras que la cantidad total hallada en este mismo año fue de 19 tipos morfológicos. En relación a la riqueza específica "real" observada, los estimadores no paramétricos ACE, ICE, Jack 1 y Jack 2 sobrestimaron el número de especies en todas las estaciones del año. Mientras que los estimadores Chao 1 y Chao 2 estimaron, en todos los casos, el mismo número de especies que el observado. El estimador Boot presentó un comportamiento intermedio, sobrestimando en verano, otoño e invierno y estimando igual número de riqueza específica en primavera y para el conjunto total de los datos (Tabla 3.1).

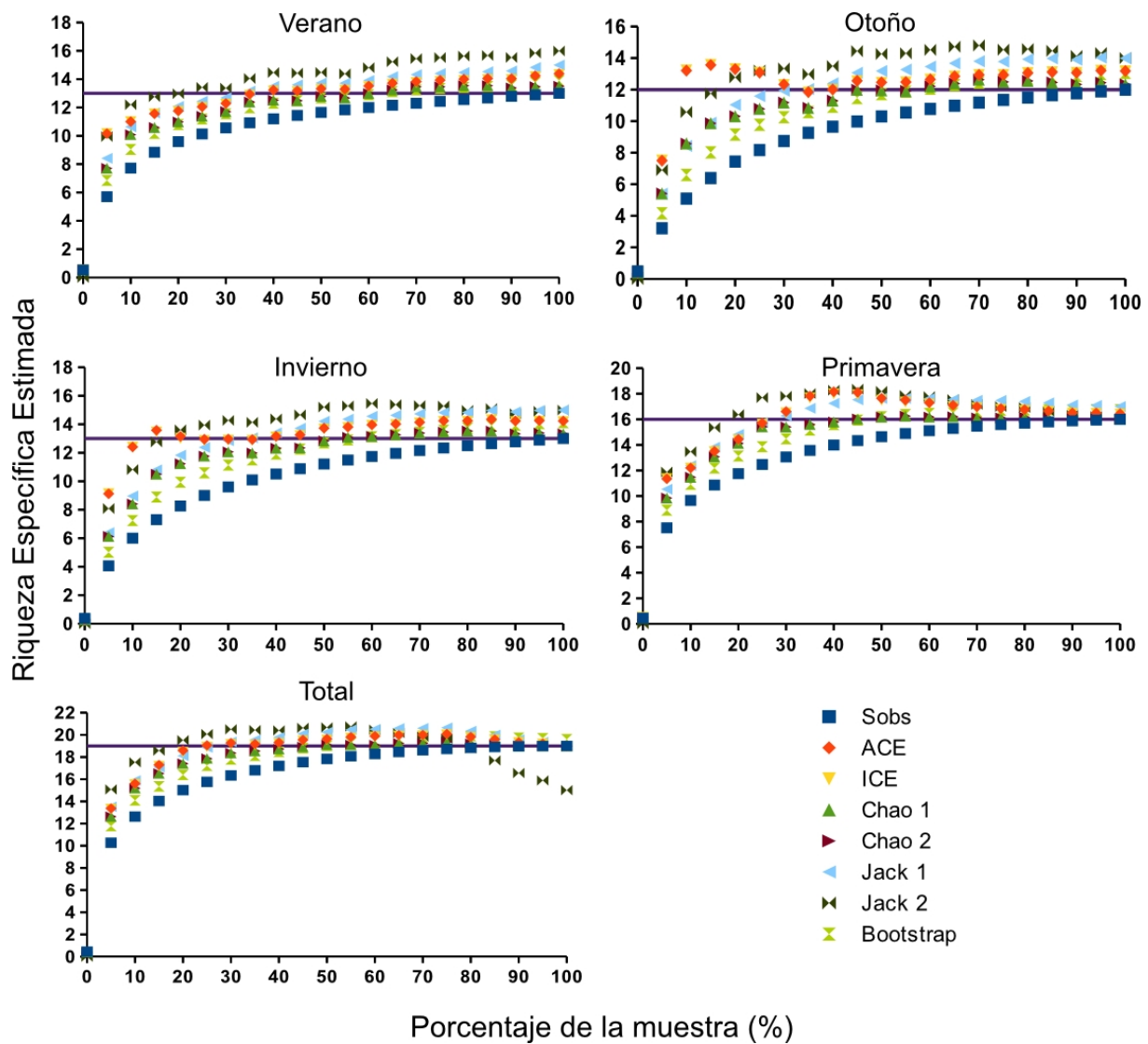
Estaciones		Estimadores							N° Esp Obs
		ACE	ICE	Chao 1	Chao 2	Jack 1	Jack 2	Bootstrap	
Verano	N° especies estimados	14	14	13	13	15	16	14	13
	% de sobrestimación	7,692	7,692	0	0	15,385	23,077	7,692	
Otoño	N° especies estimados	13	13	12	12	14	14	13	12
	% de sobrestimación	8,333	8,333	0	0	16,667	16,667	8,333	
Invierno	N° especies estimados	14	14	13	13	15	15	14	13
	% de sobrestimación	7,692	7,692	0	0	15,385	15,385	7,692	
Primavera	N° especies estimados	18	18	16	16	17	18	16	16
	% de sobrestimación	12,5	12,5	0	0	6,25	12,5	0	
Total	N° especies estimados	20	20	19	19	20	20	19	19
	% de sobrestimación	5,263	5,263	0	0	5,263	5,263	0	

**Tabla 3.1.** Estimación del número de especies y porcentaje de sobreestimación realizado por cada uno de los estimadores no paramétricos. N° Esp Obs (número de especies observados en la muestra real).

La curva de acumulación de especies crece rápidamente pero, luego, el incremento en el número de especies disminuye a medida que se aumenta el esfuerzo de muestreo. Teniendo en cuenta el comportamiento de la curva, los indicadores (Sesgo, Precisión y Exactitud Estándar) utilizados para evaluar a los estimadores no paramétricos de riqueza específica fueron calculados a partir del 10% de la muestra, dado que en ese punto la pendiente de la curva de acumulación comienza a suavizarse, haciendo más exactos los cálculos. Los estimadores ACE, ICE, Chao 1 y 2 fueron, los menos sesgados y los más exactos. Sin embargo, ACE e ICE fueron más precisos que los estimadores Chao 1 y Chao2. Contrariamente, los estimador Jack 1 y 2 fueron los más sesgados y menos exactos. El estimador Boot presentó resultados dispares entre las estaciones, fue uno de los menos sesgados en otoño, primavera y verano pero arrojó valores altos de sesgo en invierno y en el total de los datos. Además presentó altos valores de precisión y exactitud en todas las estaciones y en el total de los datos (Tabla 3.2 y Fig 3.1).

Estaciones	Indicadores	Estimadores							
		Sobs	ACE	ICE	Chao 1	Chao 2	Jack 1	Jack 2	Bootstrap
Verano	Ses Est.	-0,118	0,015	0,010	-0,032	-0,033	0,045	0,120	-0,042
	Prec Est.	11,248	6,956	6,857	7,930	7,935	7,661	7,338	9,279
	Exac Est.	0,024	0,005	0,005	0,007	0,007	0,008	0,021	0,010
Otoño	Ses Est.	-0,164	0,067	0,065	-0,027	-0,027	0,067	0,153	-0,052
	Prec Est.	17,205	3,282	3,389	8,284	8,320	10,433	6,814	13,884
	Exac Est.	0,040	0,005	0,005	0,006	0,006	0,014	0,025	0,017
Invierno	Ses Est.	-0,160	0,054	0,049	-0,033	-0,033	0,056	0,123	-0,053
	Prec Est.	16,626	3,954	4,074	8,817	8,832	10,674	6,698	13,990
	Exac Est.	0,045	0,005	0,004	0,008	0,008	0,016	0,021	0,020
Primavera	Ses Est.	-0,015	0,029	0,027	0,004	0,004	0,046	0,032	0,021
	Prec Est.	6,579	1,977	1,907	2,475	2,479	2,893	2,704	4,992
	Exac Est.	0,006	0,002	0,002	0,001	0,001	0,005	0,003	0,004
Total	Ses Est.	-0,0007	0,0050	0,0048	0,0007	0,0007	0,0083	-0,0258	0,0093
	Prec Est.	4,0572	0,7257	0,7844	1,2255	1,2264	1,0302	6,6269	2,9278
	Exac Est.	0,0030	0,0002	0,0002	0,0003	0,0003	0,0004	0,0111	0,0019

**Tabla 3.2.** Valores estacionales y totales de los indicadores Sesgo, Precisión y Exactitud Estándar para los estimadores analizados. Sobs (estimador basado en la riqueza específica real observada en las muestras).



**Fig 3.1.** Curvas de acumulación de especies, total y estacional, estimada por cada estimador. La línea completa indica la riqueza "real" observada en cada estación.

En cuanto al primer criterio propuesto por Melo & Froehlich (2001), los estimadores que presentaron la menor muestra mínima necesaria para estimar la riqueza observada fueron ACE e ICE en otoño e invierno y Jack 1 y 2 en verano, primavera y el total de los datos. Por el contrario, el estimador Boot fue el que calculó la mayor muestra mínima en todas las estaciones. Como se mencionó anteriormente, la muestra mínima calculada por cada estimador no se puede comparar entre estaciones y en razón de esto se calculó el % que representa la muestra mínima del total de individuos para cada estación. Esta forma de estandarizar los datos demostró ser efectiva, todos los

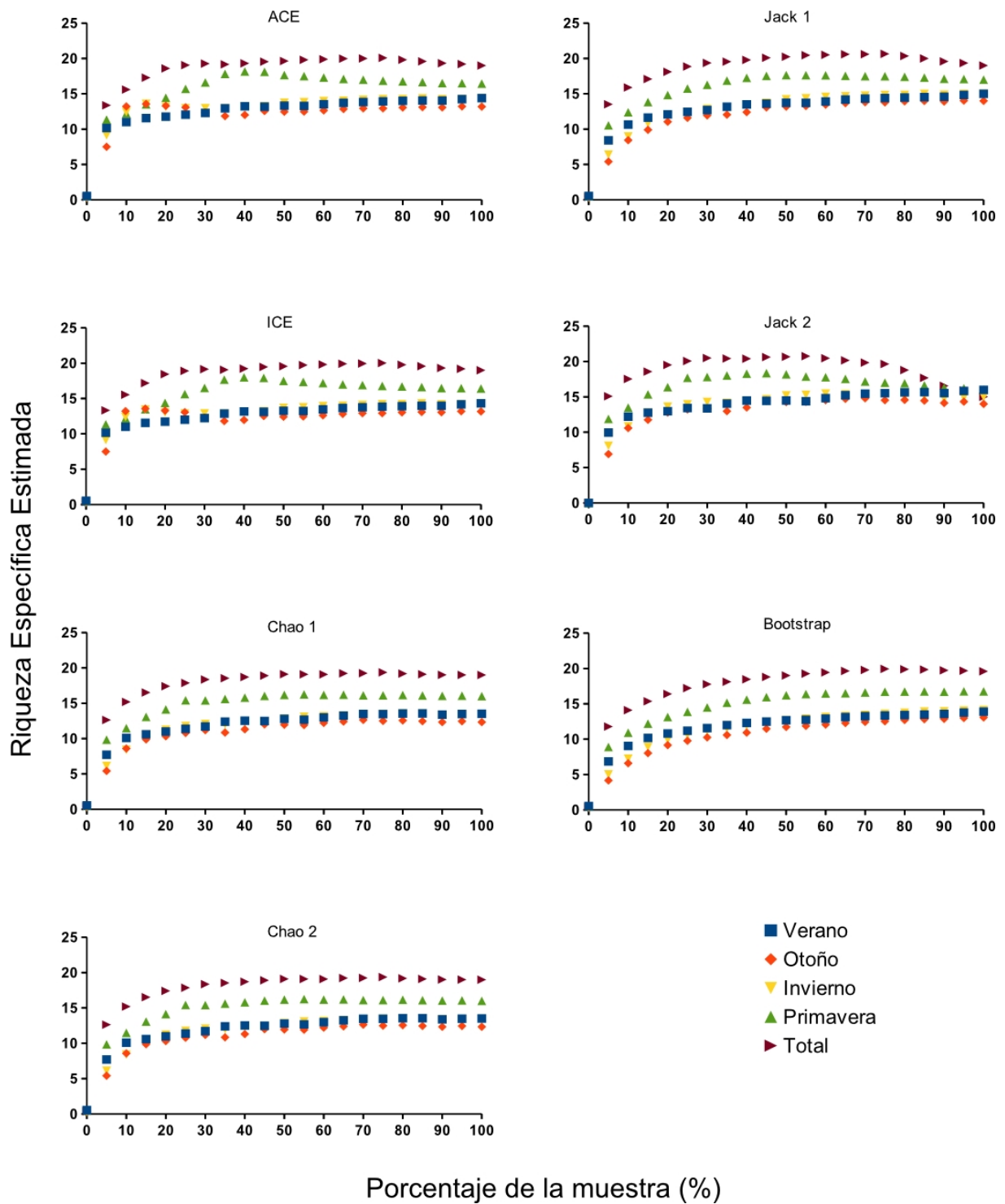
estimadores utilizados fueron relativamente constantes en cuanto al % de individuos que necesitan para estimar la riqueza específica observada. La menor muestra mínima fue calculada por el estimador Jack 2; éste necesitó en promedio ( $\pm$  SD) el 17,563% ( $\pm$  2,168) del tamaño de la muestra en cada estación y fue seguido por los estimadores ACE (22,943%  $\pm$  11,007) e ICE (23,499%  $\pm$  11,572). En el otro extremo se encuentra el estimador Boot el cual necesitó una muestra mínima que representó el 54,493% ( $\pm$ 6,369) de la muestra real para alcanzar el número de especies observadas (Tabla 3.3).

Estimadores	Tamaño mínimo de la muestras (%)					$\bar{X}$	SD
	Verano	Otoño	Invierno	Primavera	Total		
Sobs	99,752	100,000	99,751	99,607	96,465	99,115	1,488
ACE	36,476	10,753	12,438	26,999	28,050	22,943	11,007
ICE	36,973	8,602	14,677	27,654	29,590	23,499	11,572
Chao 1	58,809	44,624	51,244	42,464	49,544	49,337	6,381
Chao 2	60,050	45,161	51,244	42,464	49,544	49,693	6,754
Jack 1	33,499	31,183	31,343	27,916	27,252	30,239	2,601
Jack 2	21,340	16,129	16,169	17,300	16,876	17,563	2,168
Bootstrap	62,035	57,527	56,965	46,396	49,544	54,493	6,369

**Tabla 3.3.** Tamaño mínimo de la muestra requerido por los estimadores no paramétricos para estimar la riqueza "real", medida como porcentaje, observada en los ensambles de digeneos larvales de *Heleobia parchappii*.  $\bar{X}$  (valor promedio de las 5 muestras mínimas calculadas por cada estimador, medido en porcentaje), SD (desvío estándar).

En relación al segundo y tercer criterio propuestos por Melo & Froehlich (2001) que se refieren a la forma de la curva de acumulación de especies, realizada en base a las estimaciones de la riqueza para cada estimador y a la similitud de las formas de las curvas construidas para un mismo estimador entre las diferentes estaciones, respectivamente, arrojaron los siguientes resultados: los estimadores Chao 1 y 2, Jack 1 y Boot presentaron una forma cercana a la ideal. Jack 1 y Boot no tuvieron un comportamiento asintótico en verano y otoño pero se aproximaron bastante

a éste. Por otro lado, Chao 1 y 2 presentaron un comportamiento levemente errático en su forma en verano, otoño e invierno. Además, estos cuatro estimadores presentaron una forma constante entre las estaciones y en el total de los datos. En cuanto al estimador Jack 2, el mismo presentó una forma alejada de la ideal, sobre todo cuando se consideró el total de los datos y no presentó un comportamiento constante entre las estaciones del año. El desempeño de los estimadores ACE e ICE fue intermedio, presentaron formas de curva cercanas a la ideal pero su forma no fue constante entre las estaciones (Fig 3.2).



**Fig 3.2.** Curvas de acumulación de especies estimadas por cada estimador no paramétrico. Se pueden observar las formas erráticas de las curvas construidas en base a las estimaciones de los estimadores ACE, ICE, Jack 1 y 2.

### 3.4. Discusión

La evaluación en el desempeño y las propiedades estadísticas de los estimadores no paramétricos han sido abordadas por numerosos autores (ver Palmer, 1990; Walther & Moore, 2005; Hortal *et al.*, 2006). Sin embargo, un análisis comparativo de los estudios realizados, muchas veces no proporciona resultados similares, no existiendo un consenso en el uso general de un estimador no paramétrico.

De acuerdo con nuestros resultados, los estimadores ACE, ICE y Chao 1 y 2, presentaron el mejor comportamiento global para la comunidad de digeneos larvales en la Laguna Nahuel Rucá. Aunque ACE e ICE fueron los estimadores menos sesgados, más precisos y más exactos, los estimadores Chao 1 y 2 fueron los mejores en dos de los tres criterios propuestos por Melo & Froehlich (2001). En términos generales, los cuatro estimadores estuvieron entre los primeros en ambas formas de evaluar el funcionamiento de los estimadores no paramétricos. Sin embargo, estos resultados difieren con los obtenidos por Poulin (1998), Walther & Morand (1998) y Merlo *et al.* (2010) los cuales sugieren que el estimador Boot es el más robusto a la hora de estimar la riqueza específica de parásitos en hospedadores vertebrados o invertebrados. Dado que los estimadores no paramétricos le otorgan un peso importante a la presencia de especies que aparecen una o dos veces en las muestras (Poulin, 1998), los resultados dispares entre los trabajos mencionados anteriormente y la presente tesis, podrían deberse a una diferencia en la estructura de los ensamblajes parasitarios en cada hospedador. Por lo tanto, mientras que los estimadores ACE, ICE y Chao 1 y 2 demostraron ser los mejores para la estimación de la riqueza específica de digeneos larvales en *Heleobia parchappii*, este resultado no se puede generalizar a otros estudios de diversidad de parásitos. En cada sistema hospedador-parásito, los estimadores deben ser probados y analizados con el fin de seleccionar el más adecuado para cada estudio en particular.

A pesar de que la biodiversidad es un concepto que no se puede reducir a un único número (Magurran, 2004), hay razones que sustentan el uso de la riqueza específica de especies como un

indicador ecológico del estado general de los ecosistemas. La riqueza específica es relativamente fácil de medir, es comparable entre comunidades y es fácil de entender para los investigadores, para los que toman las decisiones de políticas ambientales y para el público en general. Sin embargo, el número de especies observado depende de modo muy marcado del tamaño de la muestra, y exhibe generalmente un sesgo negativo (Colwell & Coddington, 1994; Gotelli & Colwell, 2001; Leitner & Turner, 2001). Por ese motivo, se recomienda el uso de los estimadores no paramétricos de riqueza específica, tanto a los investigadores como a aquellas personas que toman decisiones en políticas ambientales (Hellmann & Fowler, 1999; Dale & Beyeler, 2001). Sin embargo, la pregunta que nos debemos hacer es: ¿pueden los estimadores no paramétricos de riqueza específica reducir este sesgo y aumentar la exactitud, incluso con un menor esfuerzo de muestreo?. Magurran (2004) sostiene que, a menos que la comunidad se haya muestreado de modo exhaustivo, estas curvas subestimarán también la riqueza real de un modo desconocido. Además, Walther & Moore (2005) indican que para valorar el comportamiento de los estimadores con datos reales es necesario conocer el número de especies de la comunidad. Los resultados de este capítulo concuerdan con lo expresado por Magurran (2004) y por Walther & Moore (2005). La riqueza específica observada durante el año 1999 fue de 19 especies mientras que, un estudio más prolongado de los ensambles de digeneos larvales, en la Laguna Nahuel Rucá, realizado para esta tesis durante los años 2010-2013 arrojó un total de 22 especies. Sin embargo, el número máximo de especies estimadas por los estimadores no paramétricos, utilizando los datos del año 1999, fue de 20. Si bien la utilización de los estimadores no paramétricos fueron sugeridas para reducir costos (económicos, de tiempo, etc.), no se puede cuantificar el error que pueden introducir en los estudios de biodiversidad. Por lo tanto, el uso de estimadores no paramétricos para completar los inventarios taxonómicos de un ambiente determinado deben ser utilizados con precaución.

En los estudios a realizar en áreas protegidas o en zonas geográficas de difícil acceso, el número de especímenes que pueden ser incluidos en la muestra representa una verdadera limitación

del esfuerzo de muestreo. Algunos investigadores han propuesto diferentes formas de estimar el tamaño mínimo de la muestra en los estudios ecológicos de los ensamblajes de digeneos larvales que parasitan caracoles como primer hospedador intermediario. Por ejemplo, Lafferty *et al.* (1994) examinaron caracoles hasta contabilizar un total de 100 individuos infestados. Por su parte, Huspeni *et al.* (2005) sostuvo que 100 caracoles es un buen tamaño mínimo de la muestra, suficiente para producir una pequeña varianza para estimar la prevalencia. No obstante, el uso de los estimadores de riqueza para el cálculo del tamaño mínimo de la muestra, al proporcionar estimaciones fiables del esfuerzo mínimo requerido para obtener un inventario eficaz, puede resultar en mejores protocolos de planificación y, por consiguiente, en un ahorro en tiempo y gastos económicos en el campo (Soberón & Llorente, 1993).

También, se han propuesto varios criterios para la determinación de la muestra mínima utilizando los estimadores no paramétricos. Por ejemplo, Walther & Morand (1998) propusieron detener el muestreo una vez que la variación de la riqueza estimada de especies sea menor al 5% y Chazdon *et al.* (1998) sugirió la selección de un tamaño de la muestra que incorpora una porción predeterminada (por el investigador) de la riqueza total de especies. En el presente estudio, se estimó el tamaño mínimo de muestra necesario para incluir todas las especies estimadas como una interpolación lineal donde los estimadores comienzan a sobrestimar la verdadera riqueza de especies. Este criterio fue utilizado por Poulin (1998), Hellman & Fowler (1999), Melo & Froehlich (2001) y Merlo *et al.* (2010).

Sobre la base de experiencias previas y de la observación en campo, otros estudios de los ensamblajes de digeneos larvales en *Heleobia* spp. en el área, utilizaron muestras de 300 caracoles, representando un buen tamaño mínimo de la muestra para estimar la riqueza de especies (Etchegoin, 1997; Merlo & Etchegoin, 2011). El mismo tamaño de la muestra mínima fue estimada por Merlo *et al.* (2010) y Parietti (2011) utilizando estimadores no paramétricos. En este trabajo, los estimadores que mejores resultados dieron en su evaluación, presentaron los rangos de estimación

de la muestra mínima más bajos (considerando los valores estacionales) (ICE= 20-206; ACE= 16-211; Chao 1= 83-324; Chao 2= 84-324). Teniendo en cuenta trabajos previos sobre los ensambles de digeneos larvales en la laguna costera Mar Chiquita y los resultados obtenidos en el presente capítulo, se decidió utilizar una muestra mínima de 300 individuos por estación del año. Si bien este valor es más alto que los valores calculados por los estimadores, esta decisión disminuye aún más la posibilidad de subestimar la riqueza específica, sin afectar la alta densidad de la población de *H. parchappii* en la laguna.

## Capítulo IV

# Estadios larvales de digeneos presentes en *Heleobia parchappii*: descripción y comentarios

#### 4.1. Introducción

El objetivo del presente capítulo fue:

1. identificar las formas larvales de los digeneos que parasitan al molusco *Heleobia parchappii* de las lagunas Nahuel Rucá, de los Padres y La Brava.

#### 4.2. Materiales y Métodos

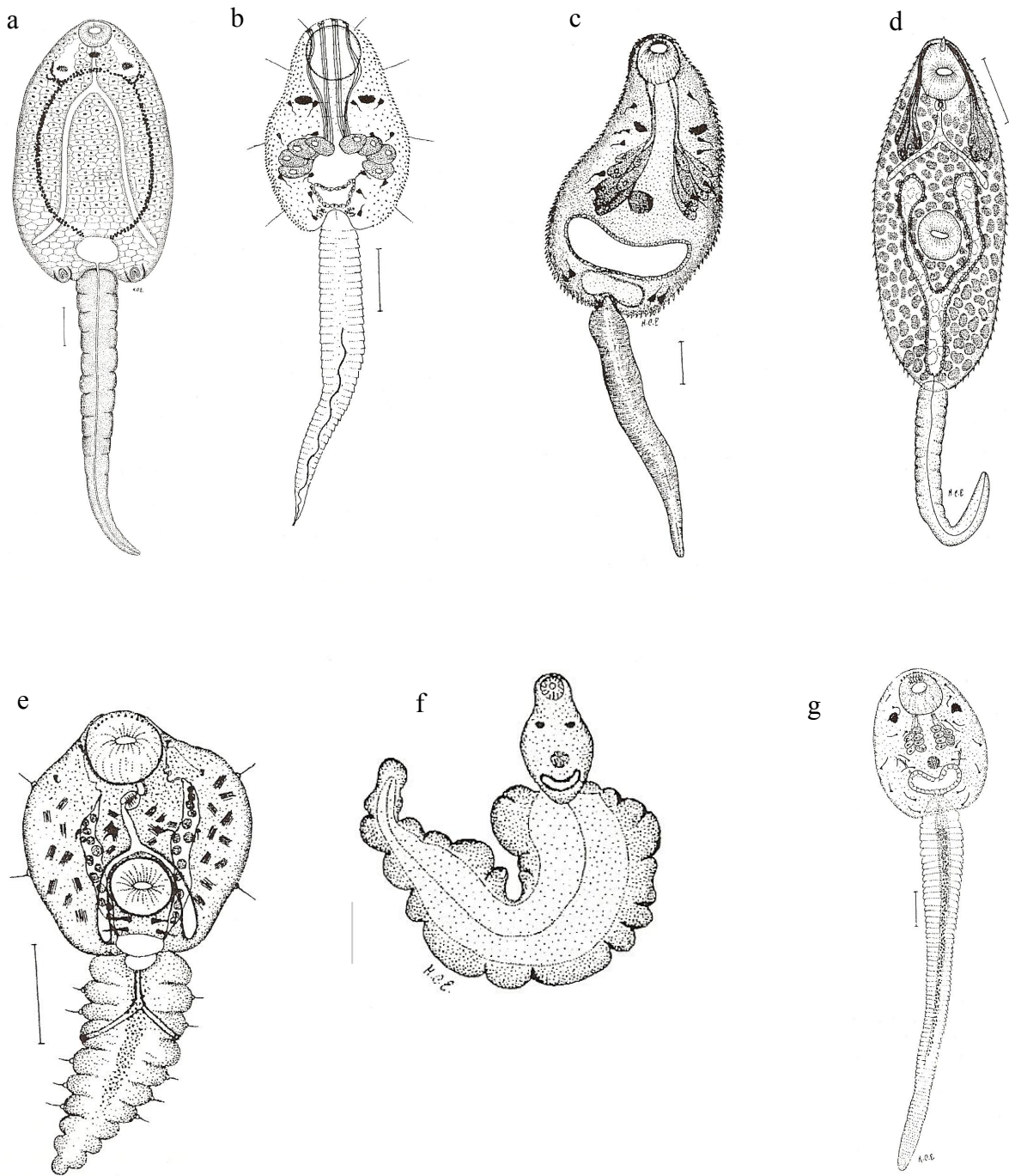
Las cercarias halladas se estudiaron "*in vivo*". Para su identificación, se colocaron entre porta y cubreobjetos con una gota de agua y se dibujaron mediante el empleo de cámara clara. Las medidas de las cercarias se tomaron sobre individuos muertos al calor, flameándolos entre porta y cubreobjetos, con abundante agua y sin aplastar; representando la media aritmética calculada sobre 10 individuos y los valores máximos y mínimos se colocan entre paréntesis. La denominación de los tipos morfológicos se realizó utilizando un sistema de letras y números (C1, C2...C<sub>n</sub>). Este sistema, aunque arbitrario, permite unificar las nomenclaturas utilizadas en la descripción de cercarias (tanto en el presente trabajo como en trabajos ya publicados).

#### 4.3. Resultados y Discusión

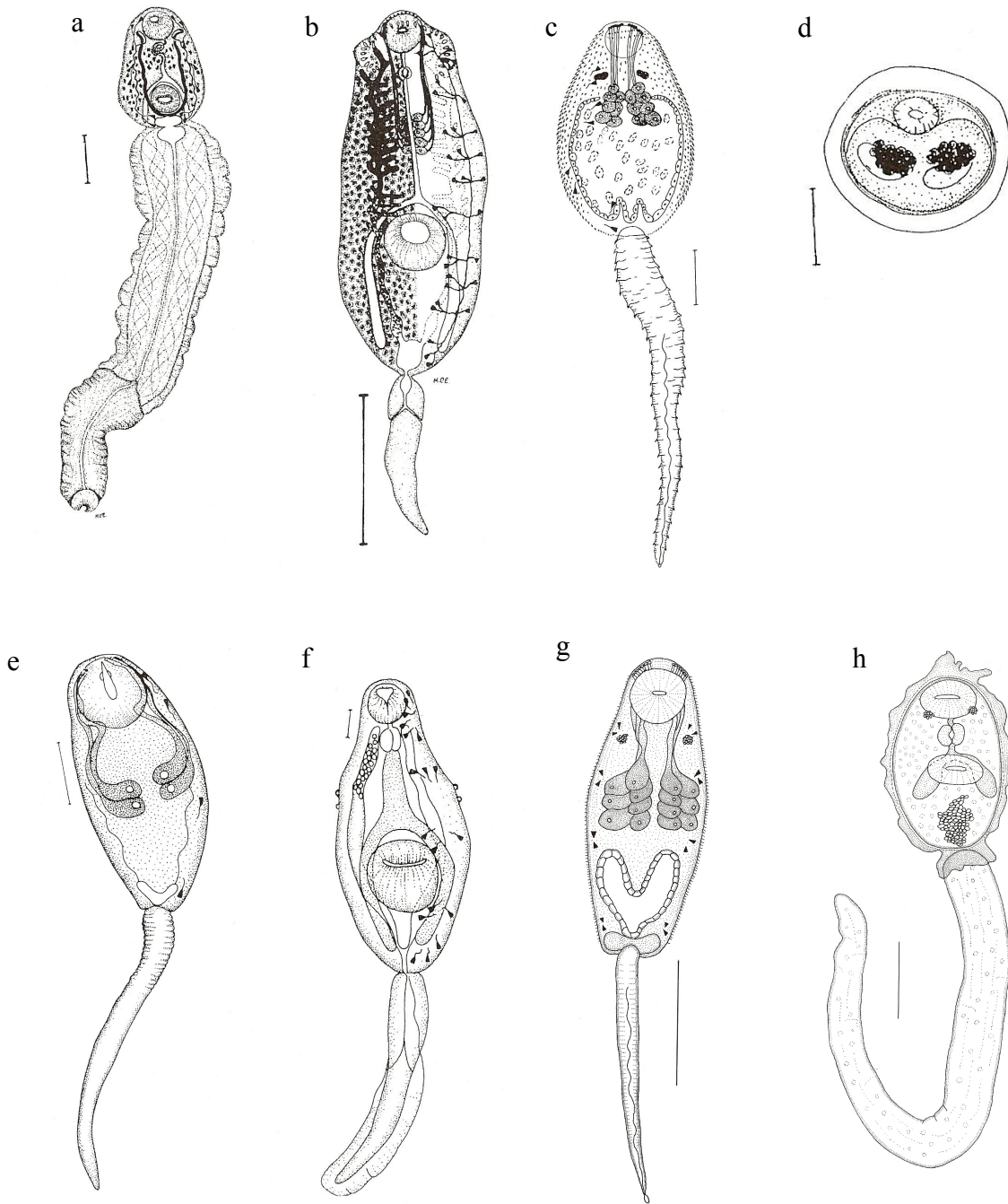
Durante los muestreos realizados se registraron 24 tipos morfológicos de cercarias (o especies) en los ensambles de digeneos larvales de *H. parchappii*, pertenecientes a 12 familias. Entre los tipos morfológicos hallados, se registraron 15 estadios larvales previamente citados para *H. australis* y para *H. conexa* (Tabla 4.1; Fig 4.1 y Fig 4.2).

Familia	Denominación original	TM	Laguna	Referencia
Notocotylidae	Notocotylidae sp. 1	C1	NR, LP, LB	Etchegoin & Martorelli (1998)
Heterophyidae	Pleurolophocercaria VI	C2	NR, LP	Martorelli & Etchegoin (1996)
	Pleurolophocercaria III	C4	NR	Martorelli & Etchegoin (1996)
	Cercaria magnacauda I	C9	NR	Martorelli & Etchegoin (1996)
	Pleurolophocercaria II	C12	NR, LP, LB	Etchegoin (1997)
	Pleurolophocercaria IV	C18	NR	Martorelli & Etchegoin (1996)
	Cercaria Heterophyidae sp.8	C27	NR, LP, LB	Parietti (2011)
	Cercaria Heterophyidae sp 9	C34	LB	Presente trabajo
Ochetosomatidae	Xiphidocercaria sp. 2	C7	NR	Etchegoin & Martorelli (1998)
Echinostomatidae	Echinocercaria sp. 1	C8	NR, LP	Etchegoin (1997)
	Cercaria heleobicola IV	C16	NR	Martorelli (1990)
	Cercaria heleobicola V	C17	NR	Martorelli (1990)
Microphallidae	<i>Microphallus simillimus</i> (Travassos, 1920)	C20	NR, LP, LB	Etchegoin (1997)
	<i>Microphallus szidati</i> Martorelli, 1986	C21	NR, LP, LB	Martorelli (1986a) y Etchegoin (1997)
Psilostomidae	Cercaria aff. <i>Psilochasmus oxyurus</i> (Creplin, 1835)	C23	NR, LP, LB	Etchegoin & Martorelli (1998)
Haploporidae	Cercaria Haploporidae sp. 3	C28	NR, LP, LB	Parietti (2011)
Hemiuridae	Cercaria Hemiuridae sp1	C29	NR, LP	Presente trabajo
	<i>Genarchella genarchella</i> Travassos, 1928	C30	NR, LB	Szidat (1956) y Martorelli (1989b).
Acanthostomidae	Cercaria Acanthostomidae sp1	C31	NR, LP, LB	Presente trabajo
Schistosomatidae	Cercaria Schistosomatidae sp1	C32	NR	Presente trabajo
	Furcocercaria sp2	C33	LB	Presente trabajo
Lecithodendriidae	Cercaria Lecithodendriidae sp 1	C35	LB	Presente trabajo
Plagiorchiidae	Xiphidocercaria sp3	C36	NR, LP	Presente trabajo
	Xiphidocercaria sp4	C37	NR	Presente trabajo

**Tabla 4.1.** Posible ubicación sistemática de los tipos morfológicos de cercarias (TM) hallados en *Heleobia parchappii*. Equivalencias de las nomenclaturas utilizadas en la presente tesis y en trabajos anteriores para la denominación de los tipos morfológicos (TM) de cercarias. Laguna Nahuel Rucá (NR), Laguna de los Padres (LP) y Laguna La Brava (LB).



**Fig. 4.1.** a) C1 (cercaria Notocotylidae sp.1) (escala: 0,05 mm); b) C2 (pleurolophocercaria VI) (escala: 0,02 mm); c) C4 (pleurolophocercaria III) (escala: 0,025 mm); d) C7 (xiphidiocercaria sp. 2) (escala: 0,05 mm); e) C8 (echinocercaria sp. 1) (escala: 0,05 mm); f) C9 (cercaria magnacauda I) (escala: 0,025 mm); g) C12 (pleurolophocercaria II) (escala: 0,025 mm). Las ilustraciones fueron tomadas de las fuentes indicadas en la Tabla 3.1.



**Fig. 4.2.** a) C16 (*cercaria helebicola* IV) (escala: 0,5 mm); b) C17 (*cercaria helebicola* V) (escala: 0,2 mm); c) C18 (*pleurolophocercaria* IV) (escala: 0,05 mm); d) C20 (*Microphallus simillimus*) metacercaria enquistada (escala: 0,05 mm); e) C21 (*Microphallus szidati*) (escala: 0,02 mm); f) C23 (*cercaria* aff. *Psilochasmus axyurus*) (escala: 0,1 mm); g) C27 (*cercaria* Heterophyidae) (escala: 0,1 mm) h) C28 (*cercaria* Haploporidae) (escala: 0,1 mm). Las ilustraciones fueron tomadas de las fuentes indicadas en la Tabla 3.1.

A continuación se describen los ocho tipos morfológicos de cercarias (especies de digeneos) y una metacercaria progenética registrados por primera vez en *H. parchappii*.

### **Familia Hemiuridae**

#### Cercaria Hemiuridae sp1 (C29) (Fig 4.3)

Procedencia: Laguna Nahuel Rucá y Laguna de los Padres.

Las características morfológicas de esta cercaria permiten considerarla dentro del grupo de las cercarias cistóforas. La cola está modificada, hallándose en su extremo anterior una cámara caudal y, posterior a ésta, un apéndice caudal. La cámara caudal, de 0,111 mm (0,100-0,135) de largo y 0,086 mm (0,076-0,104) de ancho, contiene en su interior al cuerpo de la cercaria. El apéndice caudal presenta un largo de 0,351 mm (0,347-0,358).

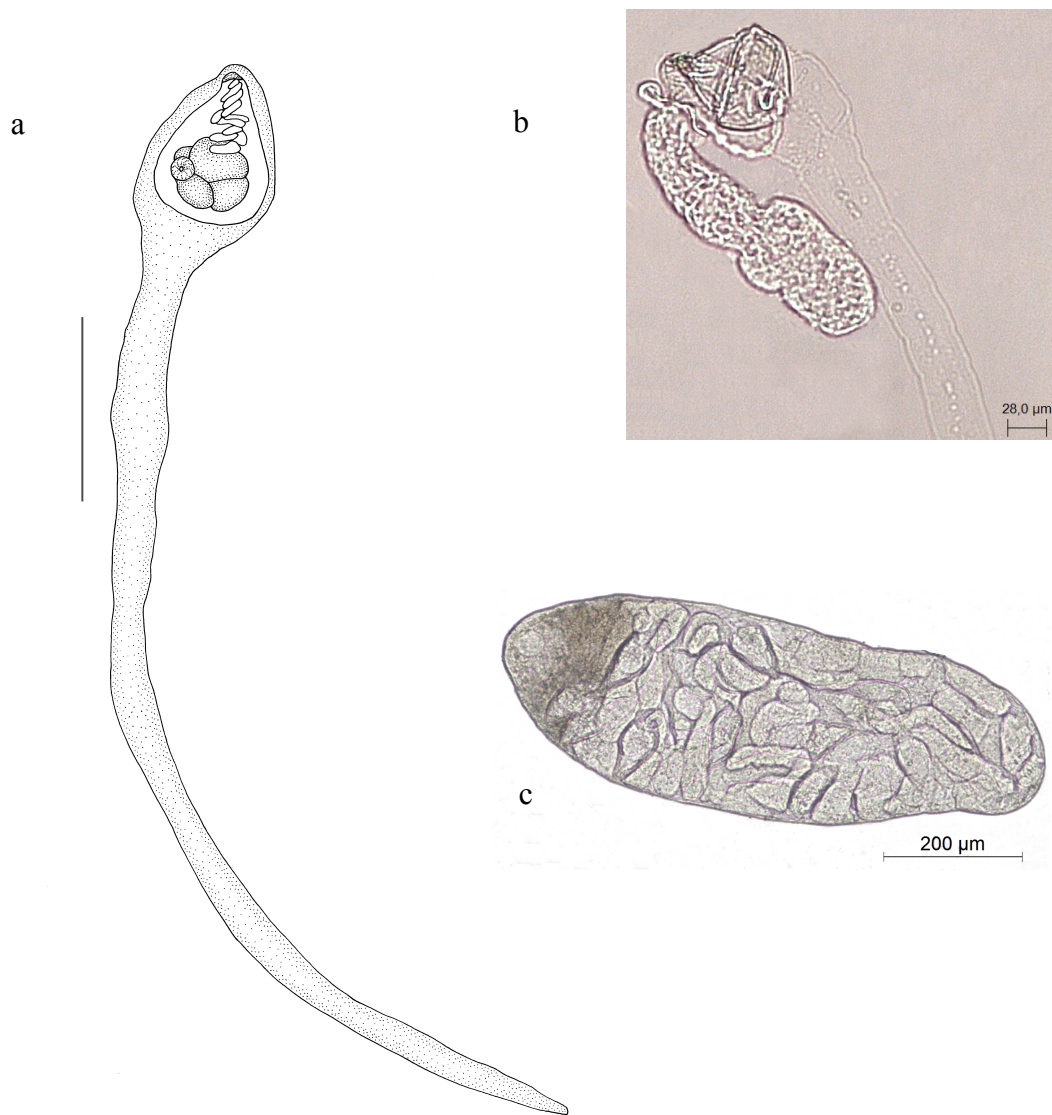
En todos los casos, el cuerpo de la cercaria se halló invaginado en su cámara caudal. Sin embargo, la presión mecánica ejercida por el método de estudio produjo, en algunos casos, la eyección del mismo. Una vez eyectado el cuerpo de la cercaria, se pudo observar la presencia de un filamento de eyección. El cuerpo de la cercaria presenta un largo de 0,116 (0,108-0,128) mm y un ancho de 0,075 mm (0,071-0,085). La ventosa ventral de 0,020 mm (0,018-0,023) de diámetro, presenta una disposición ecuatorial.

Las cercarias se desarrollan a partir de redias de 0,74 mm (0,72-0,79) de largo y 0,25 mm (0,20-0,28) de ancho. La faringe mide 0,047 mm (0,044-0,052) de largo y 0,042 mm (0,040-0,048) de ancho.

Comentarios: las características morfológicas de este estadio larval permiten incluirla dentro de la familia Hemiuridae. De las cercarias de ésta familia conocidas hasta el presente, la aquí estudiada se asemeja a la cercaria de *Genarchella genarchella* Travassos, 1928, parásita de *H. parchappii* en la Laguna de Chascomús (provincia de Buenos aires) (Martorelli, 1989a). Sin embargo, las cercarias C29 se diferencian por presentar un apéndice caudal de mayor tamaño.

Asimismo, no se han podido observar algunas estructuras en el cuerpo de la cercaria (ventosa oral, faringe, vesícula excretora) las cuales sí fueron mencionadas por Martorelli (1989a).

Además, Martorelli (1989a) sugiere que *G. genarchella* puede presentar un ciclo de vida monoxeno y otro ciclo de carácter heteroxeno, debido a la presencia de cercarias y metacercarias progenéticas simultáneamente en el mismo individuo hospedador. Sin embargo, este autor no observó la emergencia de cercarias cistóforas desde los gasterópodos parasitados. Las cercarias C29 emergieron del gasterópodo *H. parchappii*, siendo éste un comportamiento diferente al de la cercaria descrita por Martorelli (1989a).



**Fig. 4.3.** Cercaria Hemiuridae (C29). a) Cercaria invaginada en su cámara caudal (escala: 0,1 mm.).  
b) Imagen de la cercaria eyectada con su cuerpo fuera de la cámara caudal. c) Imagen de la redia  
conteniendo cercarias.

*Genarchella genarchella* Travassos, 1928 (C30) (Fig 4.4)

Procedencia: Laguna Nahuel Rucá y Laguna La Brava.

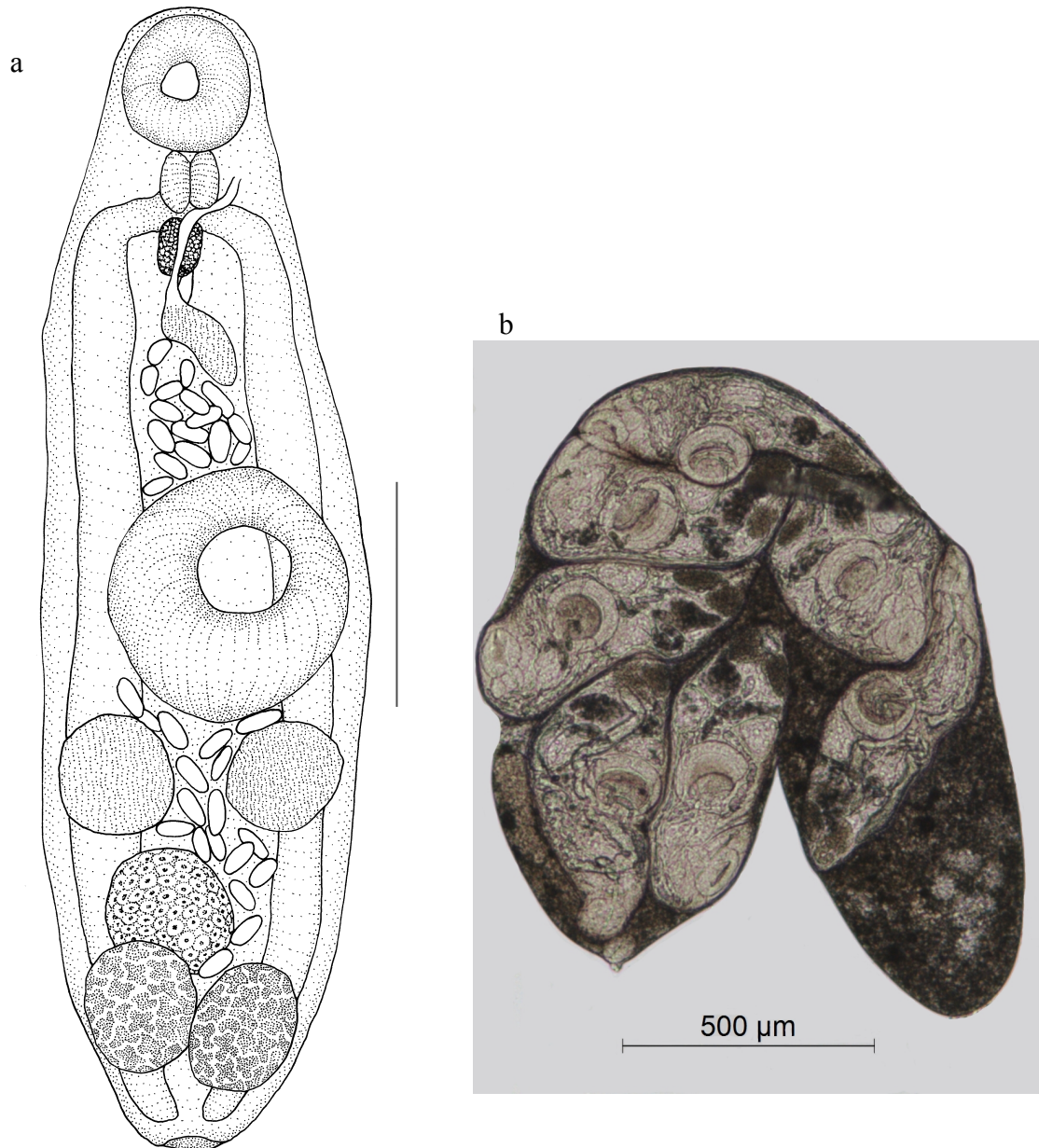
Cuerpo de 0,64 mm (0,49-0,78) de largo y 0,19 mm (0,16-0,24) de ancho. Ventosa oral subterminal de 0,082 mm (0,071-0,086) de diámetro. Acetábulo localizado en la zona media del cuerpo, de 0,14 mm (0,12-0,15) de diámetro. Faringe muscular de 0,039 mm (0,032-0,044) de largo y 0,035 mm (0,030-0,038) de ancho, conectada por medio de un esófago con dos ciegos intestinales, los cuales llegan hasta el extremo posterior del cuerpo. Testículos intercecales y post acetabulares, ubicados en segundo tercio del cuerpo. El testículo derecho mide 0,079 mm (0,063-0,11) x 0,066 (0,048-0,083) y el izquierdo 0,078 mm (0,065-0,10) x 0,065 (0,049-0,84). Conductos eferentes dirigidos hacia delante uniéndose, entre la zona comprendida por la faringe y el acetábulo, formando una vesícula seminal. Ésta se relaciona por medio de una región prostática bulbosa con un corto conducto hermafrodita que desemboca en la base del órgano del sinus. El poro genital se ubica anteriormente, a la altura de la faringe. El ovario es postesticular y mide 0,078 mm (0,059-0,096) x 0,079 mm (0,062-0,11). Útero dirigido hacia delante describiendo numerosas ansas. Vitelarios compactos, ubicados en el extremo posterior del cuerpo. El derecho de 0,084 mm (0,063-0,10) x 0,061 mm (0,048-0,074) y el izquierdo de 0,088 mm (0,068-0,12) x 0,066 mm (0,051-0,081). Los huevos poseen 0,031 mm (0,021-0,41) de largo y 0,018 mm (0,012-0,027) de ancho y presentan un filamento polar de 0,11 mm (0,081-0,14).

Las metacercarias progenéticas se hallaron dentro de redias de 1,82 mm (1,80-0,14) de largo y 0,46 mm (0,45-0,049) de ancho. La faringe presenta 0,070 mm (0,064-0,075) de largo y 0,058 mm (0,055-0,063) de ancho.

Comentarios: las características anatómicas estudiadas coinciden con la de los ejemplares de *Genarchella genarchella* Travassos, 1928, descritos por Szidat (1956) y por Martorelli (1989a). Existen diferencias relacionadas con las longitudes del cuerpo, de los testículos, del ovario y los vitelarios, que son menores en los ejemplares estudiados en la presente tesis. Dichas diferencias

podrían deberse a variaciones en el estado de desarrollo de los ejemplares o a las técnicas de fijación y conservación utilizada en los distintos trabajos. Estas diferencias no son suficientes para considerarlas especies distintas.

Como se mencionó anteriormente, Martorelli (1989a) sugiere la posibilidad de que *G. genarchella* presente dos ciclos de vidas alternativos. Si bien en la Laguna Nahuel Rucá se hallaron los estadios de cercaria y metacercaria progenética semejantes a *G. genarchella*, nunca se hallaron ambos en el mismo individuo hospedador. Por lo tanto, hasta realizar infestaciones experimentales o análisis moleculares que confirmen la identidad específica de estos organismos, se considerará a C29 y a C30 como pertenecientes a dos especies diferentes.



**Fig 4.4.** *Genarchella genarchella* Travassos, 1928 (C30). a) Metacercaria progenética, vista ventral (escala: 0,01mm). b) Imagen de la redia conteniendo metacercarias desarrolladas.

## Familia Acanthostomidae

### Cercaria Acanthostomidae sp1 (C31) (Fig 4.5)

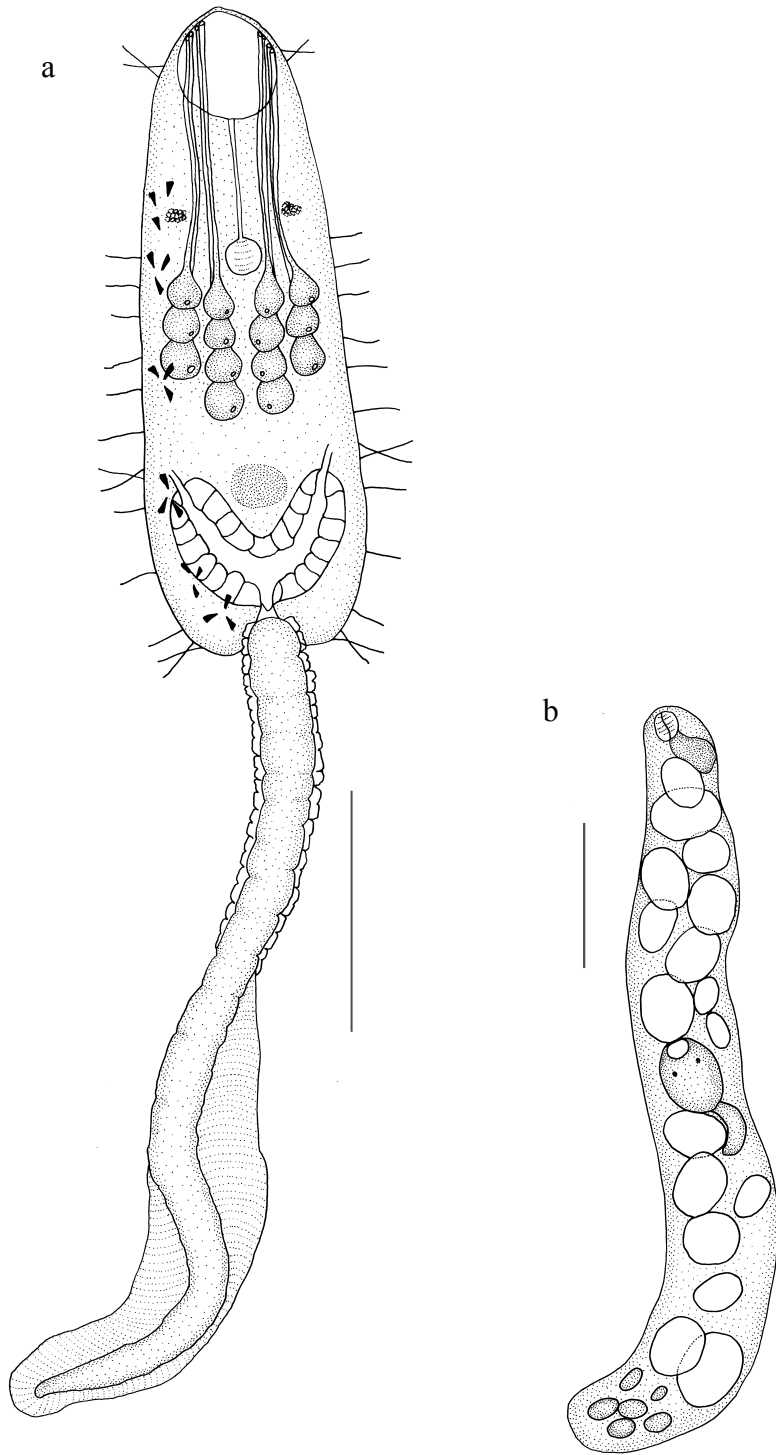
Procedencia: Laguna Nahuel Rucá, Laguna de los Padres, Laguna La Brava.

Cuerpo suboval alargado de 0,28 mm (0,25-0,31) de largo y 0,097 mm (0,08-0,11) de ancho, con un par de pelos sensitivos al nivel de la ventosa oral y 13 pares de pelos sensitivos, por lado, distribuidos desde el nivel de la faringe hasta la base de la cola. La ventosa oral mide 0,046 mm (0,044-0,050) de largo y 0,041 mm (0,039-0,046) de ancho. En posición posterior a la ventosa oral, y a 0,087 mm (0,084-0,095) del extremo anterior del cuerpo, se localizan dos manchas oculares pigmentadas. Presenta una faringe de 0,014 mm (0,012-0,015) de diámetro y no presenta ciegos intestinales. Ventosa ventral ausente, observándose, en su lugar, un grupo de células. Entre la faringe y este grupo de células se observan 14 pares de glándulas de penetración dispuestas en cuatro hileras de 3-4-4-3 citones, respectivamente. Sus conductos desembocan en el extremo anterior, dorsalmente a la ventosa oral. Vesícula excretora epiteliocística, en forma de V. Células flamíferas dispuestas según la fórmula  $2 [(3+3+3) + (3+3+3)]=36$ . La cola, de 0,41 mm (0,38-0,42) de largo y 0,031 mm (0,028-0,032) de ancho presenta, en el tercio proximal, una cutícula engrosada. A partir del límite posterior de la cutícula, se torna visible la aleta dorsal que abarca toda la longitud posterior de la cola. La aleta ventral se extiende desde la mitad distal de la aleta dorsal hasta el final de la cola.

Las cercarias se originan dentro de redias cuyo cuerpo mide 1,003 mm (0,88-1,22) de largo y 0,15 mm (0,13-0,16) de ancho. Las mismas presenta una faringe de 0,039 mm (0,037-0,042) de largo y 0,038 mm (0,037-0,039) de ancho.

Comentarios: la morfología de esta cercaria permite ubicarla en la superfamilia Opisthorchioidea. Ostrowski de Nuñez (1974a), Ostrowski de Nuñez & Gil de Pertierra (1991) y Etchegoin (1997), mencionan tres cercarias pertenecientes a la familia Acanthostomatidae que parasitan a *Littoridina piscium* (actualmente *Heleobia piscium*) en el Río de la Plata, a *Littoridina*

*parchappei* (actualmente *H. parchappii*) del arroyo Los Ranchos (provincia de Buenos aires) y a *Heleobia australis* y *H. conexa* en la laguna costera Mar Chiquita. Las características anatómicas de estos estadios larvales se asemejan a las de las cercarias halladas en *H. parchappii*. Sin embargo, se distingue de las dos primeras por diferencias en las medidas del cuerpo, cola, y ventosa oral. Por último, la cercaria aquí descrita y la hallada por Etchegoin (1997) se diferencian por la estructura de la cola, número y disposición de los pelos sensitivos en el cuerpo y el número de protonefridios.



**Fig 4.5.** Cercaria Acanthostomidae sp1 (C31). a) Cercaria, vista ventral (escala: 0,1 mm). b) Redia (escala: 0,2 mm).

## Familia Schistosomatidae

### Cercaria Schistosomatidae sp1 (C32) (Fig 4.6)

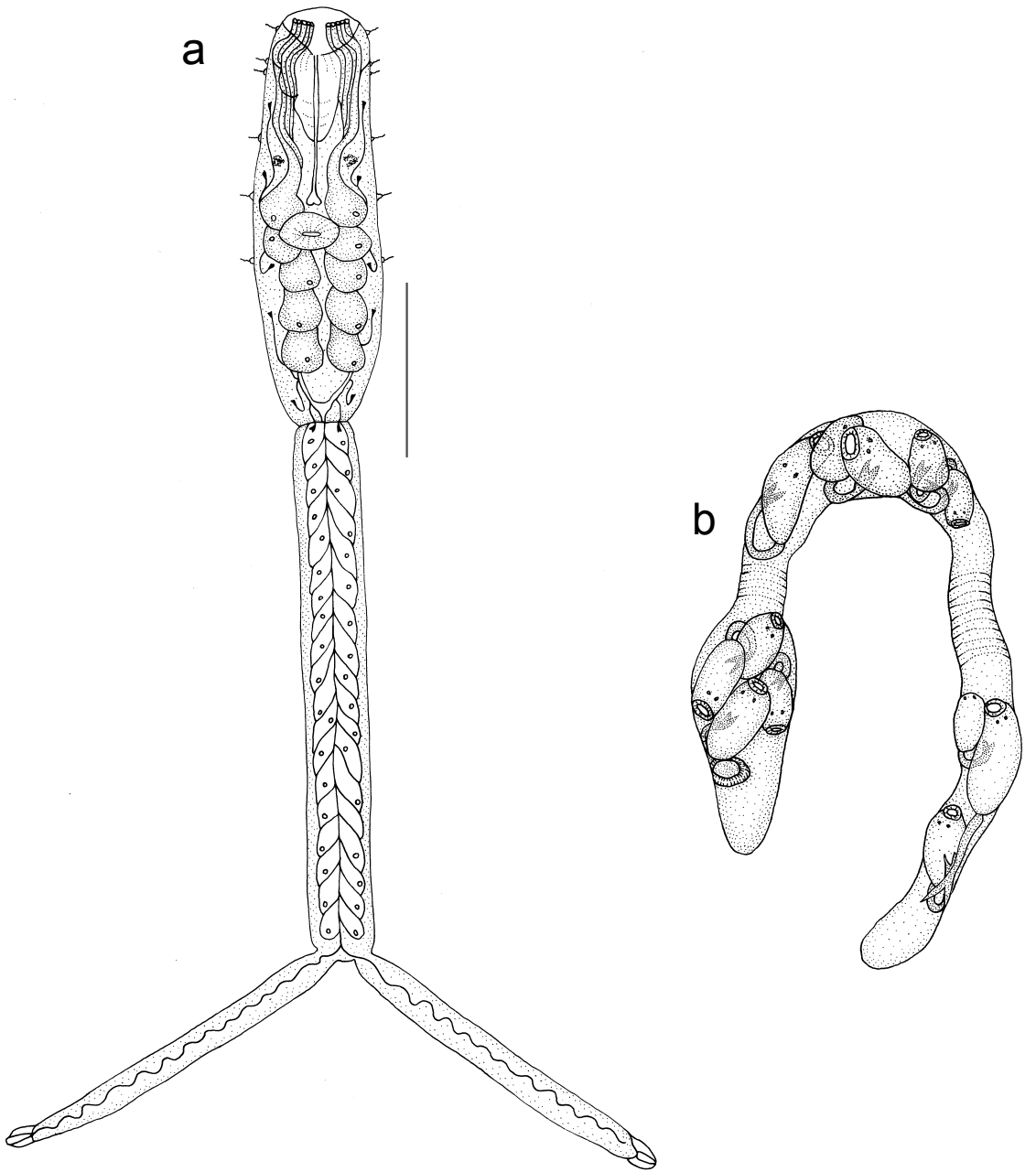
Procedencia: Laguna Nahuel Rucá.

Cuerpo suboval alargado de 0,26 mm (0,23-0,29) de largo y 0,074 mm (0,061-0,090) de ancho, con seis pares de pelos sensitivos, por lado, distribuidos hasta la segunda glándula de penetración. Presenta un órgano de penetración en el extremo anterior del cuerpo de 0,079 mm (0,070-0,090) de largo y 0,053 mm (0,046-0,061) de ancho. En posición posterior a este órgano, y anterior a la primer glándula de penetración, se encuentran dos manchas oculares pigmentadas cuya distancia al extremo anterior del cuerpo es de 0,096 mm (0,08-0,11). Faringe ausente y ciegos intestinales muy cortos. Ventosa ventral de 0,029 mm (0,025-0,032) de largo y 0,034 mm (0,031-0,036) de ancho, situada a la altura de la primera y segunda glándula de penetración. Entre los ocelos y la vesícula excretora se disponen 10 pares de glándulas de penetración dispuestas en dos hileras de 5 citones cada una. Sus conductos desembocan en el extremo anterior, dorsalmente al órgano de penetración. Vesícula excretora en forma de Y. Células flamígeras dispuestas según la fórmula  $2 [(3) + (3)] = 12$ . El tronco de la cola es de 0,34 mm (0,31-0,36) de largo y 0,038 mm (0,032-0,042) de ancho, presenta dos furcas de 0,20 mm (0,17-0,22) de largo y 0,024 mm (0,016-0,032) de ancho con un velo natatorio dorsoventral.

Las cercarias se originan dentro de esporocistos de 0,54 mm (0,50-0,56) mm de longitud.

Comentarios: las características anatómicas de esta cercaria permiten ubicarla en la familia Schistosomatidae. Szidat (1958) describió una cercaria perteneciente a esta familia parasitando a *Littoridina australis* aunque, en realidad, se trataría de la actual *H. parchappii*, según Martorelli (1989a) en la Laguna de Chascomús (provincia de Buenos Aires). Y, Martorelli (1989b) describe otra cercaria perteneciente a la misma familia parasitando a *Heleobia conexa* en la laguna costera Mar Chiquita. La morfología de la cercaria C32, se asemeja a las cercarias descritas por ambos autores. Sin embargo, se diferencia en las medidas del cuerpo, de la parte troncal y furcas de la cola

y del órgano de penetración.



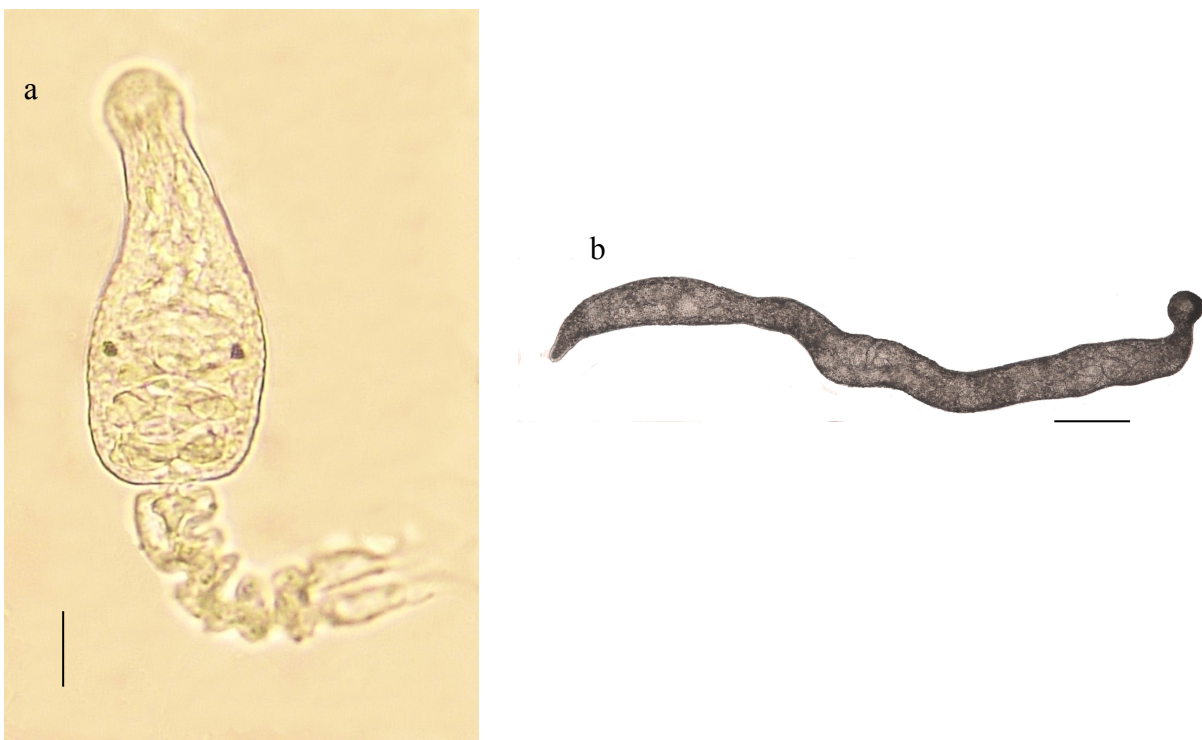
**Fig 4.6.** Cercaria Schistosomatidae sp1 (C32). a) Cercaria, vista ventral (escala: 0,1 mm). b) Sporocisto (escala: 0,01 mm).

### Furcocercaria sp2 (C33) (Fig 4.7)

Procedencia: Laguna Nahuel Rucá.

Debido a que siempre se la encontró en estado poco desarrollado, no se pudieron tomar las medidas corporales correspondientes ni completar su estudio morfológico. En base a las características morfológicas mencionadas por Ostrowski de Nuñez (1992) esta cercaria podría incluirse en la familia Schistosomatidae. Dichas características son: un par de ocelos pigmentados, un órgano de penetración, ausencia de faringe y ventosa ventral pequeña. Además, la cercaria C33 se origina en esporocistos alargados, muy comunes en la familia Schistosomatidae.

Sin embargo, para confirmar la pertenencia de esta cercaria a la mencionada familia, es necesario la observación de ejemplares completamente desarrollados que permitan determinar el número y posición de las glándulas de penetración y la forma y presencia de aletas en la cola.



**Fig 4.7.** Furcocercaria sp2 (C33). a) Imagen cercaria, vista ventral (escala: 0,01mm). b) Imagen del esporocisto (escala: 0,15 mm).

## Familia Heterophyidae

Cercaria Heterophyidae sp 9 (C34) (Fig 4.8)

Procedencia: Laguna La Brava.

Al igual que la C 33, debido a que se hallaron solo estadios poco desarrollados, no se pudo realizar un estudio detallado de su morfometría. Sin embargo, algunos detalles de su morfología (cuerpo piriforme, ventosa oral esférica, un par de manchas oculares detrás del margen posterior de la ventosa oral, faringe y ciegos intestinales ausentes, glándulas de penetración posteriores a a las manchas oculares, vesícula epiteliocística de forma sacular y cola sin pared engrosada), permitirían incluirla dentro de la familia Heterophyidae.



**Fig 4.8.** Imagen de la cercaria Heterophyidae sp 9 (C34), vista ventral (escala: 0,05mm).

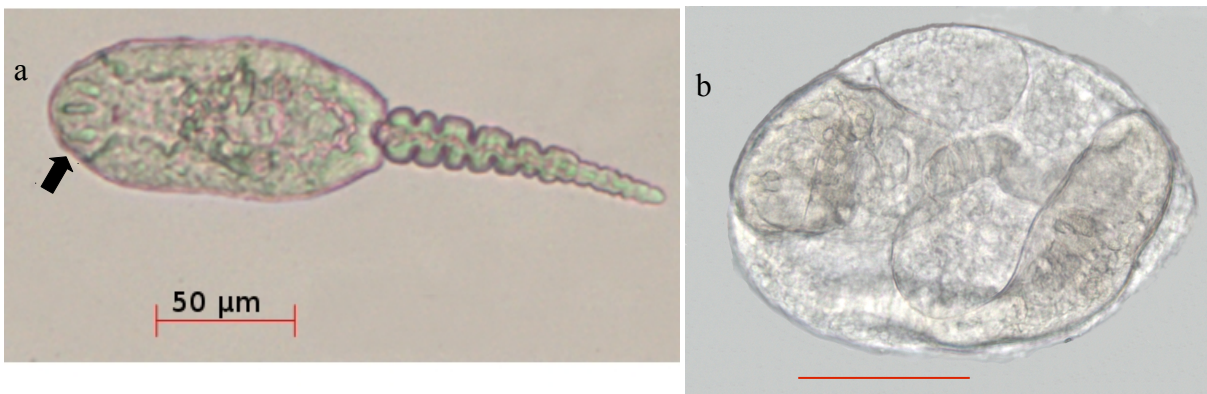
## Familia Lecithodendriidae

### Cercaria Lecithodendriidae sp1 (C35) (Fig 4.9)

Procedencia: Laguna La Brava.

Al igual que C33 y C34, debido a que se hallaron solo estadios poco desarrollados, no fue posible realizar un estudio completo de la morfometría de esta cercaria. Sin embargo, las características morfológicas permitirían incluirla en la familia Lecithodendriidae. Dichas características son: superficie del cuerpo cubierta por espinas pequeñas y con pelos sensitivos laterales; ventosa oral con un estilete y el órgano "vírgula" formado por dos partes; ventosa ventral presente, de menor tamaño que la ventosa oral; faringe presente; y cola sin pared del cuerpo engrosada ni aleta.

Las cercarias se originan dentro de esporocistos de 0,19 mm (0,14-0,24) de largo y 0,14 mm (0,10-0,15) de ancho.



**Fig 4.9.** Cercaria Lecithodendriidae sp1 (C35). a) Imagen de la cercaria, vista ventral (la flecha indica el órgano "virgula"). b) Imagen del esporocisto (escala: 0,1mm).

## Familia Plagiorchiidae

### Xiphidiocercaria sp3 (C36) (Fig 4.10)

Procedencia: Laguna Nahuel Rucá y Laguna de los Padres.

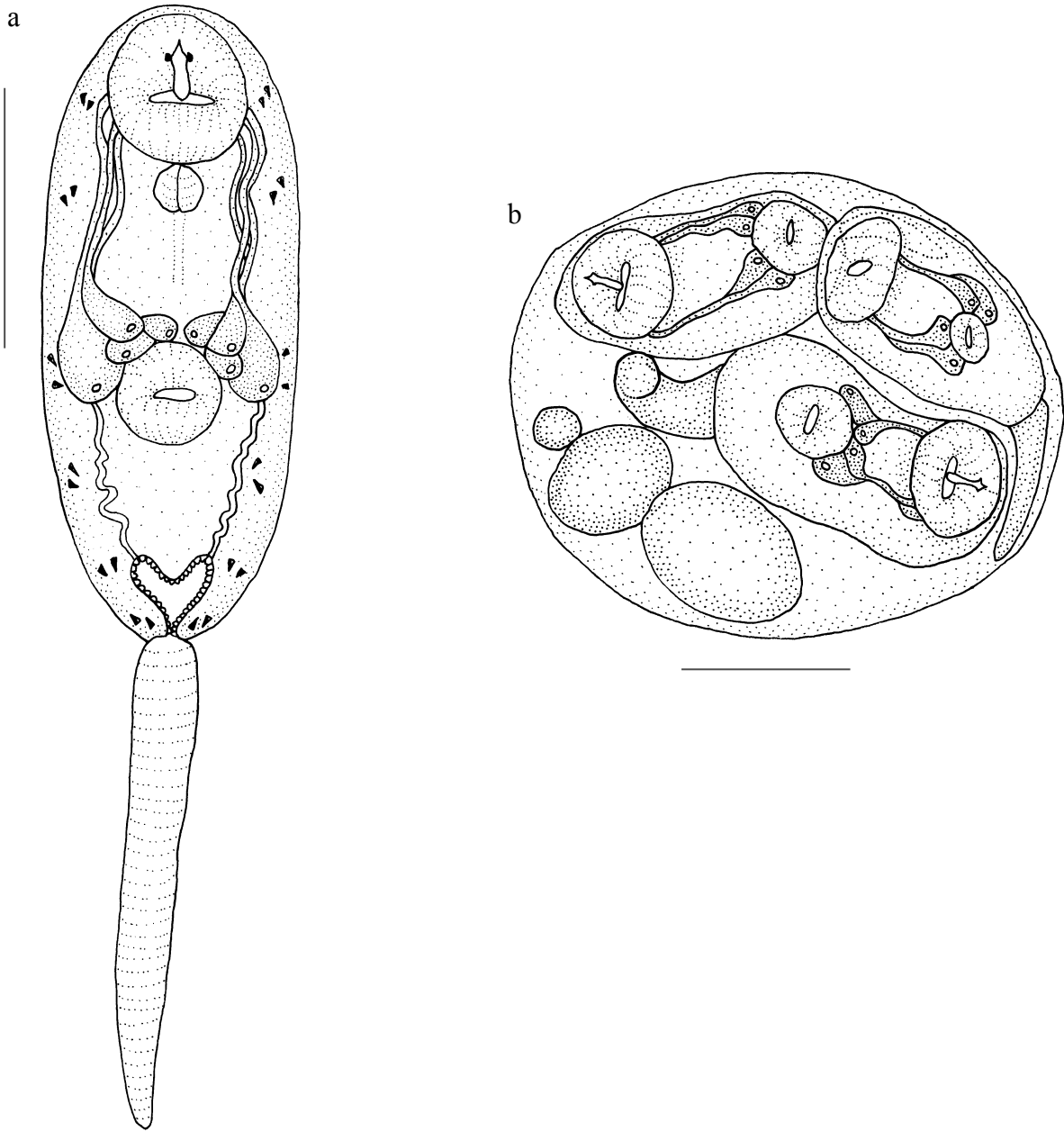
Cuerpo ovoide de 0,127 mm (0,12-0,14) de largo y 0,044 mm (0,040-0,050) de ancho. Sin pelos sensitivos ni espinas. Ventosa oral subterminal de 0,028 mm (0,027-0,034) de largo y 0,027 mm (0,025-0,032) de ancho. Estilete de 0,013 mm (0,011-0,015) de largo y 0,0038 mm (0,0025-0,0042) de ancho. Posteriormente a esta ventosa se encuentra una faringe de 0,0098 mm (0,0084-0,011) de largo y 0,0095 mm (0,0084-0,011) de ancho, seguida de un esófago apenas visible y sin ciegos intestinales. Cuatro pares de glándulas de penetración, las más externas de mayor tamaño, que se extienden desde el borde anterior de la ventosa ventral hasta la mitad del mismo. Ventosa ventral ecuatorial de 0,023 mm (0,021-0,025) de largo y 0,021 mm (0,019-0,021) de ancho. Vesícula excretora en forma de Y. Las células flamígeras se disponen en seis pares según la fórmula  $2 [(2+2+2) + (2+2+2)] = 24$ . Cola estriada sin aletas de 0,090 mm (0,068-0,11) de largo y 0,013 mm (0,011-0,014) de ancho.

Las cercarias se desarrollan dentro de esporocistos de 0,16 mm (0,14-0,19) de largo y 0,14 mm (0,12-0,15) de ancho.

Comentarios: las características morfológicas de esta cercaria (tamaño del cuerpo, de la cola y de las ventosas oral y ventral y forma del estilete) permiten ubicarla dentro del grupo "Xiphidiocercariae armatae" (Grabda-Kazubska, 1971). La presencia de una cola sin aleta y más corta que el cuerpo, una ventosa ventral de menor tamaño que la ventosa oral y ubicada en la mitad del cuerpo, estilete completo y con un engrosamiento transversal cercano al extremo anterior, sistema digestivo débilmente desarrollado y de una vesícula excretora con brazos laterales cortos, relacionaría a esta cercaria con el "tipo *Plagiorchis*" (Grabda-Kazubska, 1971). Según Grabda-Kazubska (1971), las cercarias pertenecientes al "tipo *Plagiorchis*" pertenecen a la familia Plagiorchiidae. Sin embargo, xiphidiocercaria sp3 presenta un número menor de glándulas de

penetración, no presenta primordios del sistema reproductor y los esporocistos son esféricos. Para lograr una identificación correcta a nivel de familia, serían necesarios estudios sobre el ciclo de vida (infestaciones experimentales de segundos hospedadores intermediarios).

Hasta el presente se describieron en Argentina 10 tipos morfológicos de xiphidiocercarias en *Biomphalaria peregrina* d'Orbigny, 1835, *Drepanotrema kermatoides* (d'Orbigny, 1835) y *Ampullaria canaliculata* Lamarck, 1801 en la provincia de Buenos Aires (Ostrowski de Nuñez, 1974b; 1979); en *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) y en *Biomphalaria occidentalis* Paraense, 1981 en la provincia de Corrientes (Ostrowski de Nuñez *et. al.*, 1990; 1991); en *Biomphalaria peregrina* en la provincia de Buenos Aires (Morris, 1976) y en *Drepanotrema lucidum* Pfeiffer, 1839 y *Drepanotrema depressissimum* (Moricand, 1837) en la provincia de Corrientes (Hamann *et. al.*, 1993). El presente estadio larval se diferencia de los anteriores, principalmente, por las dimensiones corporales, por el número y disposición de las glándulas de penetración y por no presentar vírgulas ni sistema digestivo desarrollado.



**Fig 4.10.** *Xiphidiocercaria* sp3 (C36). a) Cercaria, vista ventral (escala: 0,05 mm). b) Esporocisto (escala: 0,05 mm).

### Xiphidiocercaria sp4 (C37) (Fig 4.11)

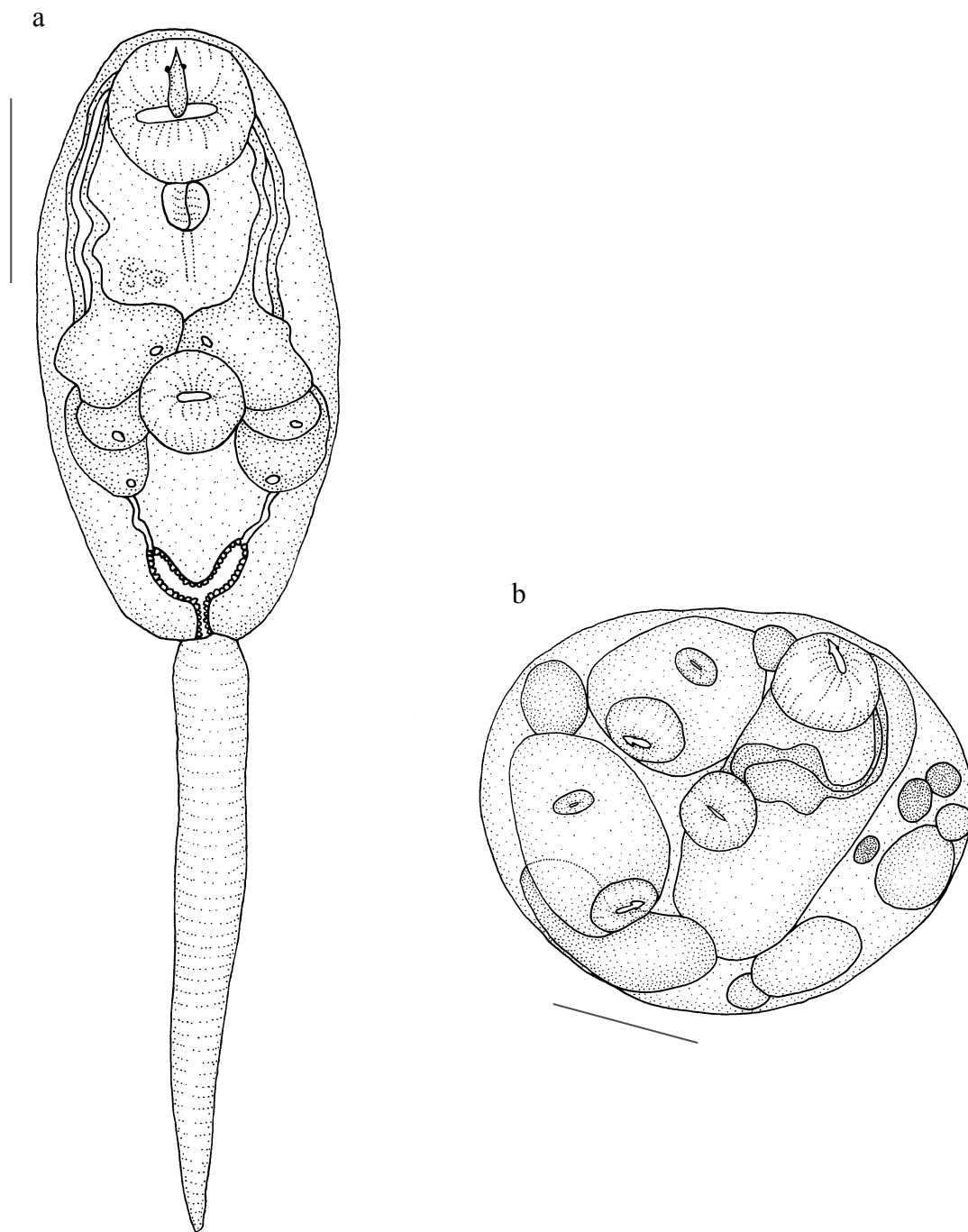
Procedencia: Laguna Nahuel Rucá.

Cuerpo ovoide de 0,17 mm (0,15-0,20) de largo y 0,078 mm (0,0720-0,087) de ancho. Sin pelos sensitivos ni espinas. Ventosa oral subterminal de 0,037 mm (0,034-0,039) de largo y 0,042 mm (0,040-0,044) de ancho. Estilete de 0,020 mm (0,018-0,021) de largo y 0,0044 mm (0,0042-0,0047) de ancho. Posteriormente a esta ventosa se encuentra una faringe de 0,011 mm (0,010-0,013) de largo y 0,011 mm (0,010-0,012) de ancho, esófago apenas visible y sin ciegos intestinales. Tres pares de glándulas de penetración ubicadas a nivel de la ventosa ventral. Ventosa ventra ecuatorial de 0,026 mm (0,020-0,029) de largo y 0,029 mm (0,025-0,031) de ancho. Vesícula excretora en forma de Y, que se prolonga en los conductos colectores primarios. Cola estriada sin aletas de 0,14 mm (0,12-0,15) de largo y 0,013 mm 0,017 mm (0,016-0,020) de ancho.

Las cercarias se desarrollan dentro de esporocistos de 0,15 mm (0,14-0,17) de largo y 0,11 mm (0,08-0,13) de ancho.

Comentarios: al igual que Xiphidiocercaria sp3, las características morfológicas de esta cercaria permiten ubicarla dentro del grupo "Xiphidiocercariae armatae" y según las características propuestas por Grabda-Kazubska (1971) permite, a su vez, incluirla dentro del "tipo *Plagiorchis*". Sin embargo, xiphidiocercaria sp 4 presenta un cuerpo más pequeño, menor número de glándulas de penetración, no presenta primordios del sistema reproductor y los esporocistos son esféricos.

El presente estadio larval se diferencia de los descriptos previamente para Argentina (Ostrowski de Nuñez, 1974b; 1979; Ostrowski de Nuñez *et al.*, 1990; 1991; Morris, 1976; Hamman *et al.*, 1993) por las dimensiones corporales y por el número de glándulas de penetración.



**Fig 4.11.** Xiphidiocercaria sp4 (C37). a) Cercaria, vista ventral (escala: 0,05 mm). b) Esporocisto (escala: 0,05 mm).

Capítulo V  
Dinámica temporal de los ensambles de  
digeneos larvales en *Heleobia parchappii* en la  
Laguna Nahuel Rucá

## 5.1. Introducción

En las últimas dos décadas, se ha observado un crecimiento notable en el nivel de conocimiento relacionado con los procesos y con las variaciones espacio-temporales que subyacen a la estructura de los ensamblajes de digeneos larvales en el primer hospedador intermediario gasterópodo (Etchegoin, 1997; Poulin, 1997; Simberloff *et al.*, 1997; Hechinger & Lafferty, 2005; Faltýnková *et al.*, 2008; Merlo & Etchegoin, 2011).

Según Esch & Fernández (1994) los factores que contribuyen a la estructuración temporal y espacial de los ensamblajes parasitarios de digeneos en moluscos que actúan como primeros hospedadores intermediarios operan en dos niveles, uno interno al hospedador molusco y el otro externo. Los factores internos que pueden afectar el reclutamiento y establecimiento de los digeneos en el molusco incluirían las interacciones digeneo-digeneo (las cuales pueden ser consideradas positivas o antagonistas), la fisiología y la genética del hospedador. Mientras que los factores externos incluirían el comportamiento de los hospedadores intermediarios y definitivos, los factores espaciales y temporales (micro y macrogeográficos) y las características temporales de los ciclos de vida del molusco hospedador y de sus parásitos.

Asimismo, otra faceta importante en el estudio de las relaciones molusco-digeneo es la que analiza sus aspectos evolutivos. Como resultado de procesos coevolutivos, tanto el hospedador molusco como sus parásitos han desarrollado estrategias que les permiten asegurar el suceso reproductivo. El hospedador molusco, además de su resistencia genética natural a ser parasitado y de su resistencia activa (que involucra el reconocimiento, encapsulación y destrucción del parásito) ha perfeccionado resistencias alternativas que incluyen cambios en su ciclo de vida (Minchella, 1985).

Por otra parte, los digeneos han sido considerados como buenos bioindicadores de fluctuaciones ambientales, ya que requieren de varios hospedadores para completar sus ciclos de vida y su abundancia y diversidad son influenciados por disturbios ambientales (Lafferty, 1997).

Además, diferentes estudios destacan la relación existente entre los distintos niveles de hospedadores en un ambiente. Así, Smith (2001), Hechinger & Lafferty (2005), Fredensborg *et al.* (2006), Hudson *et al.* (2006) y Whitney *et al.* (2007) concluyen que la diversidad y la abundancia de aves (hospedadores definitivos) se hallan positivamente correlacionadas con la riqueza específica y con la abundancia de digeneos larvales en los caracoles, cuando estos actúan como primeros hospedadores intermediarios. Por otro lado, en dichos trabajos se hace evidente que los patrones de comportamiento y las fluctuaciones espacio-temporales en la distribución y en la abundancia de los hospedadores definitivos (aves) influyen directamente en la estructura de las comunidades de digeneos larvales en gasterópodos.

Teniendo en cuenta estas consideraciones, los objetivos planteados para este capítulo fueron:

1. Estudiar la la estabilidad temporal de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *Heleobia parchappii* en la Laguna Nahuel Rucá.
2. Identificar y analizar los factores que contribuyen a estructurar temporalmente los ensambles de digeneos larvales en *Heleobia parchappii*.
3. Analizar la relación entre la abundancia y la diversidad de digeneos larvales en hospedadores moluscos y la distribución de los hospedadores definitivos en el área.
4. Evaluar el uso de los digeneos larvales en hospedadores moluscos como potenciales indicadores ambientales y de diversidad y abundancia de fauna.

## 5.2. Materiales y Métodos

Las tareas de campo se realizaron mensualmente en la Laguna Nahuel Rucá, situada a 50 kilómetros al NE de la ciudad de Mar del Plata, entre los meses de junio de 2010 y enero de 2013. En cada mes, se realizó un viaje de campaña y en cada ocasión se tomaron 5 muestras de caracoles, las cuales fueron utilizadas como réplicas en los análisis estadísticos posteriores. En la zona de muestreo se estableció una transecta de 120 metros, paralela a la línea de costa de la laguna, y cada

30 metros se procedió a coleccionar los moluscos. Los ejemplares de *H. parchappii* fueron localizados entre la vegetación sumergida, sobre y dentro del sustrato y coleccionados con la ayuda de tamices (0,5 mm de abertura de malla) y pinzas. El muestreo, conducido por la misma persona para evitar sesgos en el mismo, se desarrolló por tiempo de esfuerzo (número de caracoles capturados por hora). Posteriormente, los caracoles coleccionados fueron trasladados al laboratorio y fueron colocados en recipientes de 1 l de capacidad, con agua filtrada de la laguna y con aireador. Además, en cada muestreo se utilizó un termómetro digital y una varilla métrica de aluminio para medir la temperatura y la altura de la columna del agua, respectivamente. El estudio de la diversidad y abundancia de la comunidad de aves se llevó a cabo mediante un muestreo mensual, durante dos años consecutivos, desde junio de 2010 hasta junio de 2012. Se estableció una transecta, de aproximadamente 120 m paralela a la línea de costa. Todas las aves fueron registradas a nivel de especie y hasta una distancia de 50 m dentro de la laguna, la identificación de las mismas fue realizada con la ayuda de binoculares (10X) y la guía confeccionada por Narosky & Yzurieta (2010). Los censos se iniciaron a las 8:00 am y se prolongaron por 1 hora aproximadamente.

En el laboratorio, se aislaron individualmente 60 caracoles por cada réplica en recipientes de 10 ml. de capacidad y expuestos a la luz de una lámpara de 75 watt o a la luz natural, durante un período de 48 hs. para favorecer la emisión de las cercarias. Aquellos caracoles que presentaban emisiones espontáneas de cercarias, fueron separados y medidos (largo total en milímetros). Posteriormente, fueron disecados bajo microscopio estereoscópico para detectar posibles infestaciones múltiples. Los moluscos que no presentaron emisiones espontáneas de cercarias fueron medidos y disecados bajo microscopio estereoscópico para detectar la presencia de infestaciones prepatentes (esporocistos, redias y cercarias poco desarrolladas) (Curtis & Hubbard, 1990).

Las cercarias, los esporocistos y las redias detectadas en las infestaciones se estudiaron “in vivo” bajo microscopio óptico e identificados de acuerdo a Szidat (1956), Yamaguti (1975),

Martorelli (1986a; 1989b; 1990), Martorelli & Etchegoin (1996), Etchegoin (1997), Etchegoin & Martorelli (1998) y Parietti (2011).

Con el fin de realizar el análisis de las características de los ensambles de digeneos larvales se calculó: 1) el número de especies de digeneos que utilizan a *H. parchappi* como primer o segundo hospedador intermediario o como hospedador definitivo; 2) la frecuencia y las combinaciones de infestaciones múltiples y, 3) el porcentaje de especies de digeneos que utilizan a las aves, mamíferos, peces, anfibios o reptiles como hospedadores definitivos (a fin de estimar la contribución de cada grupo de vertebrados a los ciclos de vida de los digeneos).

A fin de analizar y comparar la dinámica temporal de los ensambles de digeneos larvales de *H. parchappi*, se calcularon los siguientes índices: a) la prevalencia (número de hospedadores parasitados/número total de hospedadores examinados) (Margolis *et al.*, 1982), este índice se calculó para cada réplica y b) la riqueza específica promedio (suma de la riqueza específica de cada réplica/ número total de réplicas) (Magurran, 2004).

Estos índices fueron calculados agrupando los datos de 3 formas diferentes con el fin de observar las variaciones de los ensambles de digeneos larvales a diferentes escalas temporales: 1) anualmente, considerándose: año 1 (junio 2010-mayo 2011), año 2 (junio 2011-mayo 2012) y año 3 (junio 2012-enero 2013); 2) estacionalmente, considerando las siguientes estaciones: otoño 1 (junio 2010), invierno 1 (julio - agosto - septiembre 2010), primavera 1 (octubre - noviembre - diciembre 2010), verano 1 (enero - febrero - marzo 2011), otoño 2 (abril - mayo - junio 2011), invierno 2 (julio - agosto - septiembre 2011), primavera 2 (octubre - noviembre - diciembre 2011), verano 2 (enero - febrero - marzo 2012), otoño 3 (abril - mayo - junio 2012), invierno 3 (julio - agosto - septiembre 2012), primavera 3 (octubre - noviembre - diciembre 2012) y verano 3 (enero 2013) y, 3) mensualmente.

Para cada una de las escalas temporales, el estudio de la dinámica temporal de la prevalencia se realizó mediante análisis de la covarianza (ANCOVA), utilizando a la talla de los caracoles como

covariable. Mientras que, la comparación de la riqueza específica promedio se realizó por medio de análisis de la varianza (ANOVA). Cuando los análisis (ANCOVAs y ANOVAs) detectaron diferencias significativas, los valores de prevalencia y riqueza específica promedio fueron comparados con la prueba de Tukey. En todos los casos se verificó que se cumplieran los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas.

A fin de analizar las variaciones temporales de cada especie de digeneo en particular, se calculó la prevalencia para cada tipo morfológico de cercaria (número de hospedadores parasitados por una especie determinada de digeneo/número total de hospedadores examinados). El cálculo de este índice se realizó únicamente en la escala temporal estacional. Debido a que los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas necesarios para realizar el análisis de la varianza (ANOVA) clásico no fueron logrados para la mayoría de las especies, se procedió a realizar el test de Kruskal-Wallis, el cual es un análisis de varianza (ANOVA) no paramétrico.

El análisis de la heterogeneidad temporal de la prevalencia y la riqueza específica promedio mediante técnicas univariadas (ANOVA y ANCOVA) no tienen en cuenta la variación de cada especie de digeneos en particular, sino que agrupan las variaciones de las especies en un único valor, existiendo la probabilidad que estas se compensen y no se detecten diferencias entre los grupos. No obstante, existen técnicas multivariadas, las cuales permiten estudiar más de una variable de modo simultáneo. Es decir, cada especie de digeneo puede ser utilizada como variable y por lo tanto el análisis temporal de los ensambles considera la variación de cada especie. Para la realización de estos estudios, se deben construir matrices de similitud, las cuales pueden ser calculadas utilizando datos de presencia-ausencia de especies, % de cobertura, abundancias de las especies, etc.

Para cada una de las escalas temporales establecidas previamente, se construyó una matriz de similitud utilizando datos de presencia-ausencia de especies de digeneos mediante el índice de Jaccard. También, se calculó la matriz de similitud utilizando las prevalencias de cada especie de

digeneo utilizando el índice de Bray-Curtis. Con cada una de estas matrices, se realizó el análisis multivariado de la dinámica temporal de los ensamblajes de digeneos larvales en *H. pachappii*, mediante el test PERMANOVA, un test no paramétrico cuyos cálculos se basan en permutaciones. Cuando se analizó por medio de este test la matriz construida mediante el índice de Bray-Curtis se utilizó la talla de los caracoles como co-variable. Dado que el test PERMANOVA es sensible a la dispersión dentro de los grupos, en aquellos casos en los que se detectaron diferencias significativas en la similitud, la dispersión fue estudiada siguiendo la rutina PERMDISP.

Para cada una de las escalas temporales, además, se calcularon los porcentajes de similitud en la composición de especies de digeneos (utilizando la matriz de similitud calculada con datos de presencia/ausencia) dentro y entre las muestras mediante la rutina SIMPER. Estos análisis multivariados no paramétricos (PERMANOVA, PERMDISP y SIMPER) se realizaron con el programa PRIMER v6.1 (Clarke & Warwick, 2001; Clarke & Gorley, 2006) con el programa adicional PERMANOVA + add on (Anderson *et al.*, 2008).

Para conocer si existe relación entre los factores abióticos (temperatura y altura de la columna del agua) y la prevalencia, así como entre los factores bióticos (densidad del primer hospedador intermediario y la abundancia de aves) y la prevalencia (utilizando datos mensuales) se utilizó el índice de correlación de Pearson. La relación entre la riqueza de aves y la riqueza específica promedio (utilizando datos mensuales) también fue analizada mediante el mismo método de correlación.

Continuando con el estudio de la relación entre la estructura de la comunidad de aves y las prevalencias de digeneos larvales se construyó, con los datos obtenidos mediante el censo de aves, una matriz de similitud basada en presencia-ausencia de especies mediante el índice de Jaccard. Esta matriz, posteriormente, fue relacionada con la matriz de similitud en base a presencia-ausencia de especies de digeneos (calculada anteriormente) mediante un análisis de correlación de Pearson.

Por último, se analizó la variación de la similitud de los ensamblajes de digeneos larvales

(utilizando la matriz de similitud basada en datos de presencia-ausencia) en relación al tiempo que separan a dos muestras.

### 5.3. Resultados

En total, se examinaron 9.600 individuos de *H. parchappii* entre junio de 2010 y enero de 2013, identificándose 22 especies de digeneos pertenecientes a 11 familias (Tabla 4.1). De las 22 especies de digeneos halladas, 19 (86,36%) utilizan a *H. parchappii* como primer hospedador intermediario, dos (8,09%) utilizan a *H. parchappii* como primer y segundo hospedador intermediario y una (4,54%) utiliza a *H. parchappii* como hospedador definitivo.

Durante el presente estudio se hallaron 3.510 caracoles infestados, de los cuales 68 presentaron infestaciones múltiples (66 dobles y dos triples). Estas infestaciones múltiples representan el 1,94% de las infestaciones totales. En total, se registraron 23 combinaciones para las infestaciones dobles, siendo la combinación C1 + C21 la de mayor ocurrencia (16). En las infestaciones triples se hallaron dos combinaciones de especies. De los 32 meses en que se realizaron los muestreos, las infestaciones múltiples estuvieron presente en 21, hallándose en diciembre de 2010 el mayor número de dobles infestaciones (10) (Tabla 5.1).

Infestaciones Múltiples		2010							2011							2012					Total			
		Jun	Jul	Ag	Sep	Oct	Nov	Dic	En	Feb	Mar	Ab	May	Sep	Oct	Nov	Dic	Feb	Mar	Ab		May	Jun	
Número de infestaciones dobles	C1 + C20	0	0	0	0	0	1	0	1	0	1	0	1	0	0	0	1	0	1	1	1	8		
	C1 + C21	2	0	0	0	0	0	2	3	0	1	1	1	1	0	0	1	1	1	0	2	16		
	C1 + C33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
	C2 + C21	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
	C4 + C21	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2		
	C12 + C33	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1		
	C20 + C21	0	1	0	0	0	1	3	0	0	3	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	9		
	C20 + C23	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0	0	0	0	3		
	C20 + C27	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
	C20 + C29	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2		
	C20 + C28	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	3		
	C20 + C30	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
	C20 + C32	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
	C20 + C36	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2		
	C21 + C28	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
	C21 + C29	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4		
	C21 + C36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1		
	C23 + C21	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1		
	C23 + C37	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1		
	C27 + C21	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	4		
	C29 + C36	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
	C29 + C37	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
	C30 + C36	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
	Número infestaciones triples	C20 + C21 + C29	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1		
		C20 + C21 + C300	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1		
		Total	2	6	1	1	1	5	10	6	1	7	5	4	2	1	2	1	2	1	3	3	4	68

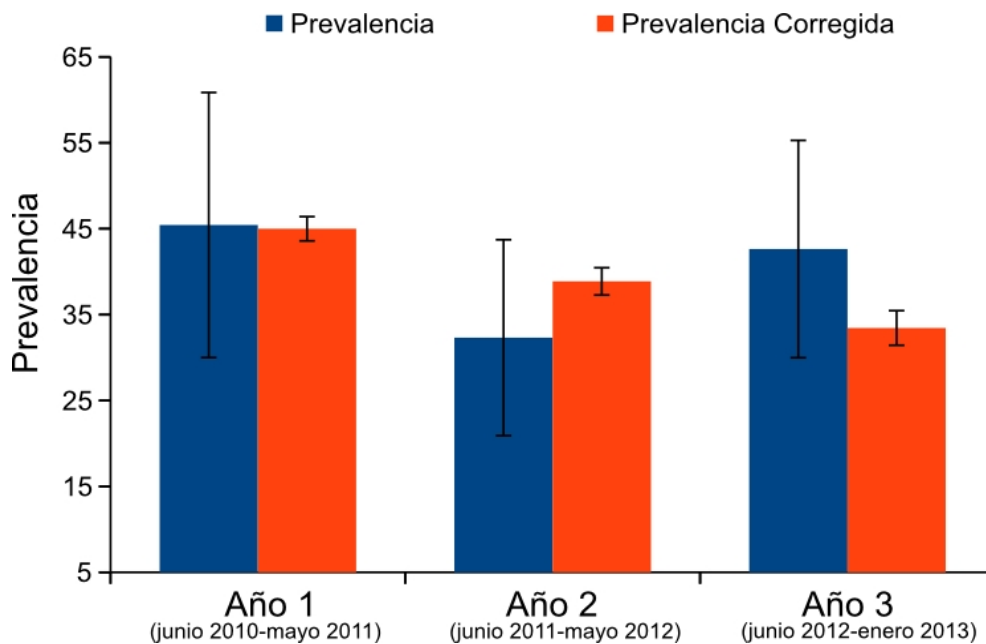
**Tabla 5.1.** Número mensual y total de infestaciones múltiples. Las abreviaturas utilizadas se indican en la Tabla 4.1.

### 5.3.1. Composición y dinámica de los ensambles de digeneos larvales, a escala anual

Del total de especies de digeneos que parasitan a *H. parchappii* 20 fueron halladas en los tres años de muestreo, las especies C7 y C16 no fueron observadas en el primer año. En el segundo año no se hallaron las especies C9 y C18, mientras que en el tercer período nuevamente no se halló la especie C18 y también estuvo ausente la especie C17.

La comparación de la prevalencia realizada mediante el análisis de la covarianza (ANCOVA), reveló que la covariable (talla de *H. parchappii*) tiene un efecto significativo sobre la variable en estudio (prevalencia) ( $F_{1;156} = 79,24$ ;  $P < 0,0001$ ) y, una vez realizado el ajuste de la prevalencia debido al efecto de la talla, se observó que los valores de la misma disminuyen desde el primer hasta el tercer año ( $F_{2;156} = 12,91$ ;  $P < 0,0001$ ) (Fig 5.1). Las comparaciones posteriores, agrupando de a pares, revelaron diferencias significativas entre los 3 años considerados ( $P < 0,01$  en todos los casos).

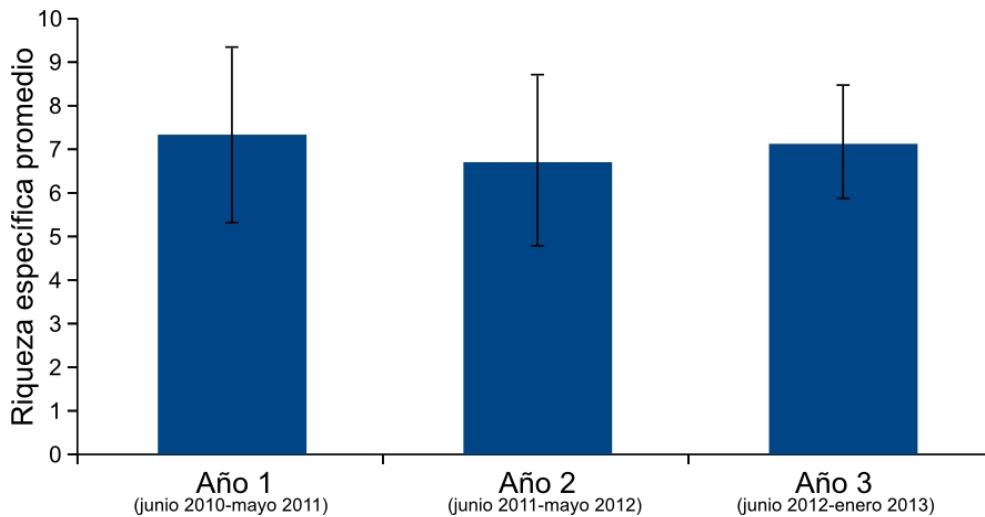
El análisis multivariado de la heterogeneidad temporal de la prevalencia mediante la prueba estadística PERMANOVA, reveló nuevamente, un efecto significativo de la talla (covariable) sobre la variable en estudio (PseudoF=16,46;  $P(\text{perm}) < 0,001$ ), luego de los ajuste realizados por el programa estadístico, la prevalencia entre años fue significativamente diferente (PseudoF=10,65;  $P(\text{perm}) < 0,001$ ). En el análisis posterior, agrupando de a pares, los años 1-2 y 1-3 fueron significativamente diferente ( $P(\text{perm}) < 0,001$ ; en ambos casos), mientras que los años 2-3 fueron estadísticamente iguales ( $P(\text{perm}) = 0,15$ ). La dispersión entre los grupos no fue estadísticamente diferente (PERMDISP, PseudoF=1,14;  $P(\text{perm}) = 0,37$ ).



**Fig 5.1.** Valores anuales de la prevalencia ( $\pm$  desvío estándar) y de la prevalencia corregida por el efecto de la talla del hospedador ( $\pm$  desvío estándar) de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *Heleobia parchappii*.

La riqueza específica promedio para cada uno de los años se puede observar en la figura 5.2. El análisis de la varianza (ANOVA) de este índice parasitario no reveló diferencias significativas entre los años ( $F_{2,157}=1,58$ ;  $P=0,21$ ). Y, concordantemente con este resultado, la prueba PERMANOVA, utilizando datos de presencia-ausencia de especies, tampoco mostró diferencias significativas entre los años ( $PseudoF=1,34$ ;  $P(perm)=0,17$ ).

La rutina SIMPER determinó que la similitud de los ensambles de digeneos larvales dentro del año 1 fue del 61.39%, para el año 2 fue de 59,09% y finalmente, para el año 3 fue de 62,25%. Las especies que más contribuyeron a la similitud dentro de cada año fueron C21 y C1; conjuntamente estas especies contribuyen con el 50% de la similitud. Las especies C20, C27 y C29 contribuyeron en menor medida a la similitud dentro de los años. Como era de esperar por los resultados del PERMANOVA mencionados anteriormente, la disimilitud entre los grupos, calculada por la rutina SIMPER, fue baja; en ningún caso superó el 40%.



**Fig 5.2.** Valores anuales de la riqueza específica promedio ( $\pm$  desvío estándar) de digeneos larvales que parasitan a *Helebia parchappii*.

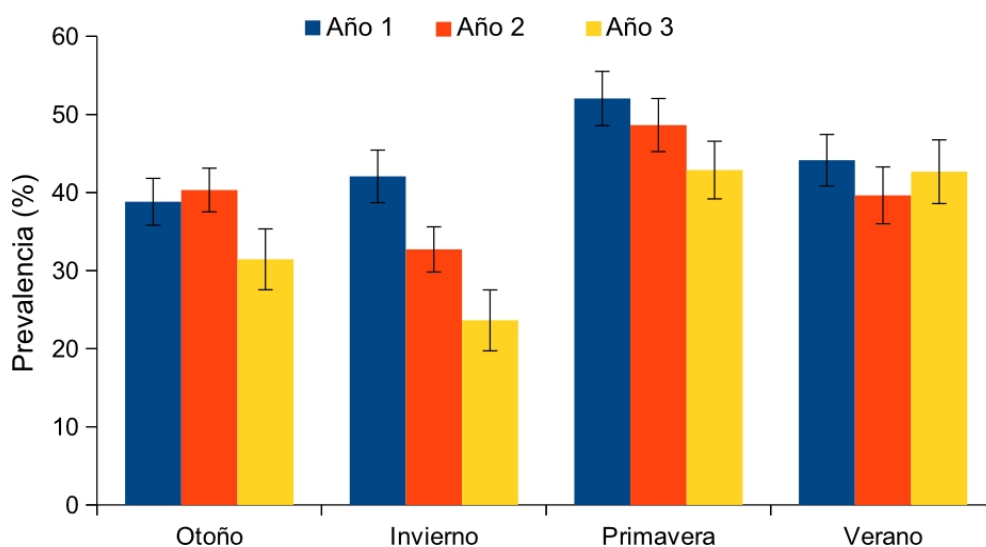
### 5.3.2. Composición y dinámica de los ensambles de digeneos larvales, a escala estacional

El análisis de la covarianza (ANCOVA) reveló un efecto significativo de la talla sobre la prevalencia ( $F_{1;147} = 55,14$ ;  $P < 0,0001$ ) y diferencias significativas de la prevalencia entre estaciones ( $F_{11;147} = 10,69$ ;  $P < 0,0001$ ). El análisis de a pares, considerando las prevalencias entre estaciones de un mismo año mostró (Fig 5.3):

- Año 1: diferencias significativas entre la primavera 1 y el resto de las estaciones (otoño 1, invierno 1 y verano 1) ( $P < 0,05$ ; para los 3 casos).
- Año 2: diferencias significativas entre la primavera 2 y el resto de las estaciones (otoño 2, invierno 2 y verano 2) ( $P < 0,05$ ; para todos los casos). Además, se observaron diferencias entre invierno 2 - otoño 2 e invierno 2 - verano 2 ( $P > 0,05$ ; para ambos casos).
- Año 3: diferencias significativas entre la primavera 3 y otoño e invierno 3 ( $P < 0,05$ ; en ambos casos) y diferencias significativas entre verano 3 - otoño 3 y verano 3 - invierno 3 ( $P < 0,05$ ; para ambos casos).

El análisis de a pares entre las mismas estaciones de diferente año, arrojó los siguientes resultados (Fig 5.3):

- Otoño: el otoño 3 presentó valores de prevalencia menores a los hallados en el otoño 1 y 2 ( $P < 0,05$ ; para ambos casos).
- Invierno: las prevalencias de los tres inviernos considerados fueron significativamente diferentes ( $P < 0,05$ ; para todos los casos).
- Primavera: se halló diferencia entre la primavera 1 y 3 ( $P < 0,05$ ).
- Verano: no se hallaron diferencias.



**Fig 5.3.** Valores estacionales de la prevalencia ( $\pm$  desvío estandar) de los digeneos larvales que parasitan a *Heleobia parchappii*.

El análisis de la varianza no paramétrico, reveló ausencia de variación estacional de la prevalencia para las siguientes especies de digeneos: C6 (Kruskal-Wallis test,  $P=0,56$ ), C7 (Kruskal-Wallis test,  $P=0,15$ ), C9 (Kruskal-Wallis test,  $P=0,19$ ), C12 (Kruskal-Wallis test,  $P=0,27$ ), C16 (Kruskal-Wallis test,  $P=0,054$ ), C17 (Kruskal-Wallis test,  $P=0,65$ ), C18 (Kruskal-Wallis test,  $P=0,65$ ), C30 (Kruskal-Wallis test,  $P=0,31$ ), C31 (Kruskal-Wallis test,  $P=0,059$ ), C32 (Kruskal-Wallis test,  $P=0,15$ ), C33 (Kruskal-Wallis test,  $P=0,51$ ) y C37 (Kruskal-Wallis test,  $P=0,14$ ). Todas estas especies se caracterizaron por estar presentes en pocas estaciones y/o tener prevalencias muy bajas, las cuales raramente se acercaron al 1%. Por último, la especie C36 tampoco presentó diferencias estacionales (Kruskal-Wallis test,  $P=0,11$ ); sin embargo, esta especie se caracterizó por estar presente en todas las estaciones del año y con valores de prevalencia que alcanzaron el 2% (Tabla 5.2).

Las especies que presentaron diferencias significativas entre estaciones fueron: C1, C2, C4, C8, C20, C21, C23, C27, C28, C29 (Kruskal-Wallis test,  $P<0,01$  en todos los casos).

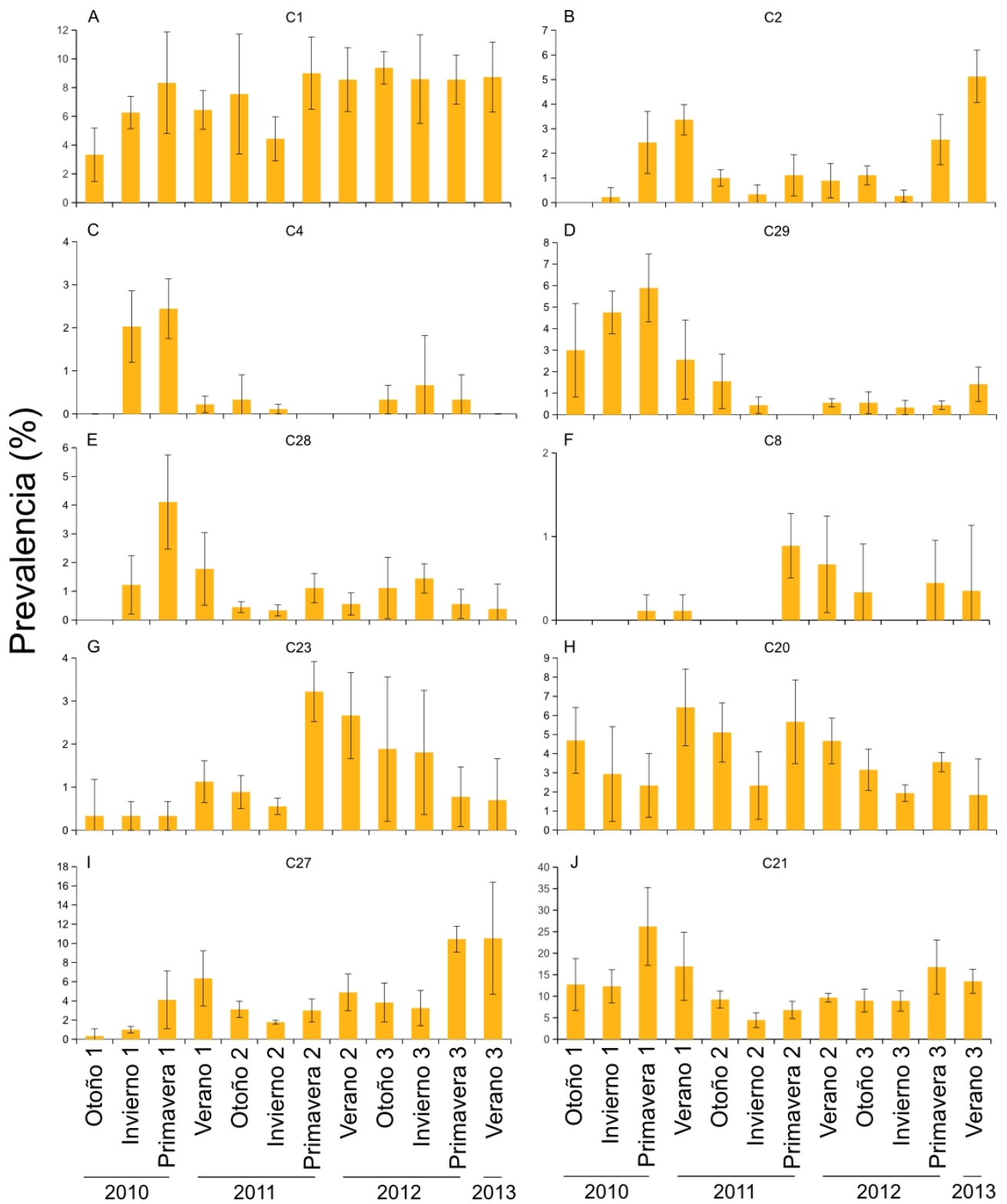
- C1: la prevalencia de esta especie se mantuvo relativamente constante a lo largo de todo el estudio. Sin embargo, para las estaciones otoño 1 e invierno 2 se registraron bajos valores de prevalencia (Tabla 5.2; Fig 5.4 A).
- C2: en el período comprendido entre las estaciones otoño 1 y otoño 2 presentó variaciones temporales de la prevalencia, registrándose los valores más altos de la misma en el verano 1. Entre las estaciones otoño 2 e invierno 3, la prevalencia se mantuvo constante, alcanzando valores cercanos al 1%. A partir del invierno 3 y hasta el final del estudio, se observó un aumento en el valor de la prevalencia (Tabla 5.2; Fig 5.4 B).
- C4, C28 y C29: estas tres especies presentaron patrones de la variación temporal de la prevalencia similares. Alcanzaron el valor máximo de prevalencia al inicio del estudio (primavera 1). Posteriormente, los valores de prevalencia disminuyeron y se mantuvieron constantes durante el resto del período de estudio (Tabla 5.2; Fig 5.4 C, D, E).

- C8 y C23: la dinámica temporal de estas dos especies fue similar. La prevalencia aumentó de forma abrupta en el período primavera-verano 2. Posteriormente, los valores de prevalencia bajaron, hallándose valores similares a los del inicio del estudio (Tabla 5.2; Fig 5.4 F, G).
- C20 y C27: estas especies presentaron un patrón de variación estacional de la prevalencia similar. Los valores de prevalencia aumentaron en las estaciones cálidas y disminuyeron en las estaciones frías (Tabla 5.2; Fig 5.4 H, I).
- C21: esta especie se caracterizó por registrar dos aumentos bruscos de la prevalencia, uno al inicio del estudio (máximo en primavera 1) y el segundo al final (primavera 3). Entre estos dos sucesos la prevalencia se mantuvo constante (Tabla 5.2; Fig 5.4 J).

El análisis multivariado de la heterogeneidad temporal de la prevalencia mediante el test PERMANOVA, reveló nuevamente, un efecto significativo de la talla (covariable) sobre la variable en estudio ( $PseudoF=27,16$ ;  $P(\text{perm})<0,001$ ) y diferencias entre las estaciones del año ( $PseudoF=5,71$ ;  $P(\text{perm})<0,001$ ). El análisis de a pares posterior, reveló que las prevalencias aumentaban en las estaciones cálidas (primavera y verano) y disminuían en las estaciones frías (otoño e invierno), este proceso se registró a lo largo de todo el período de estudio (en los tres años). Por otro lado, la comparación de a pares, de las mismas estaciones de diferente años, reveló que la prevalencia registrada en otoño 1 fue mayor que las prevalencias registradas para el otoño 2 y 3, respectivamente. Este patrón se observó de forma idéntica para el invierno, la primavera y el verano. Sin embargo, el test PERMDISP arrojó diferencias significativas ( $F=4,02$ ;  $P(\text{perm})=0,004$ ). Esto significa que algunas estaciones tienen mayor dispersión que otras con respecto a su similitud. Así, los resultados del PERMANOVA pueden deberse a un efecto temporal (diferencias entre estaciones), a la dispersión de los datos o una combinación de ambos.

TM	2010			2011				2012				2013
	Otoño 1	Invierno 1	Primavera 1	Verano 1	Otoño 2	Invierno 2	Primavera 2	Verano 2	Otoño 3	Invierno 3	Primavera 3	Verano 3
C1 *	3,33 (1,86)	6,27 (1,12)	8,33 (3,53)	6,44 (1,35)	7,55 (4,17)	4,44 (1,53)	9,00 (2,52)	8,56 (2,22)	9,38 (1,13)	8,59 (3,08)	8,56 (1,71)	8,73 (2,43)
C2 *	0	0,22 (0,38)	2,44 (1,26)	3,37 (0,62)	1,00 (0,33)	0,33 (0,38)	1,11 (0,84)	0,89 (0,69)	1,11 (0,38)	0,27 (0,24)	2,56 (1,02)	5,13 (1,06)
C4 *	0	2,03 (0,83)	2,44 (0,69)	0,22 (0,19)	0,33 (0,58)	0,11 (0,10)	0	0	0,33 (0,33)	0,67 (1,15)	0,33 (0,58)	0
C7	0	0	0	0	0,11 (0,19)	0,33 (0,19)	0	0,11 (0,19)	0	0,11 (0,19)	0	0
C8 *	0	0	0,11 (0,19)	0,11 (0,19)	0	0	0,89 (0,38)	0,67 (0,58)	0,33 (0,58)	0	0,44 (0,51)	0,35 (0,78)
C9	0	0,11 (0,19)	0	0	0	0	0	0	0,11 (0,19)	0	0	0,40 (0,89)
C12	0	0,33 (0,58)	0,33 (0,33)	0	0,44 (0,19)	0,11 (0,19)	0,33 (0,33)	0,11 (0,19)	0,33 (0,33)	0	0,22 (0,38)	0
C16	0	0	0	0	0	0	0,22 (0,38)	0,56 (0,19)	0	0	0	0,38 (0,86)
C17	0	0	0	0,11 (0,19)	0	0,11 (0,19)	0	0	0	0	0	0
C18	0	0	0,11 (0,19)	0,11 (0,19)	0	0	0	0	0	0	0	0
C20 *	4,69 (1,73)	2,93 (2,49)	2,33 (1,67)	6,42 (2,01)	5,11 (1,54)	2,33 (1,76)	5,67 (2,19)	4,67 (1,20)	3,16 (1,08)	1,94 (0,43)	3,56 (0,51)	1,84 (1,89)
C21 *	12,72 (6,03)	12,30 (3,86)	26,22 (9,05)	16,94 (7,93)	9,22 (1,95)	4,44 (1,71)	6,78 (2,01)	9,67 (1,00)	8,98 (2,64)	8,92 (2,38)	16,78 (6,26)	13,45 (2,80)
C23 *	0,33 (0,85)	0,33 (0,33)	0,33 (0,33)	1,13 (0,49)	0,89 (0,38)	0,56 (0,19)	3,22 (0,69)	2,67 (1,00)	1,89 (1,68)	1,81 (1,44)	0,78 (0,69)	0,70 (0,96)
C27 *	0,33 (0,75)	1 (0,33)	4,11 (3,02)	6,35 (2,88)	3,11 (0,84)	1,78 (0,19)	3 (1,20)	4,89 (1,92)	3,82 (2,02)	3,25 (1,84)	10,44 (1,35)	10,53 (5,86)
C28 *	0	1,22 (1,02)	4,11 (1,64)	1,78 (1,26)	0,44 (0,19)	0,33 (0,19)	1,11 (0,38)	0,56 (0,38)	1,11 (1,07)	1,44 (0,51)	0,56 (0,51)	0,38 (0,86)
C29 *	3 (2,17)	4,75 (0,99)	5,89 (1,58)	2,56 (1,84)	1,56 (1,26)	0,44 (0,38)	0	0,56 (0,19)	0,56 (0,51)	0,33 (0,33)	0,44 (0,19)	1,42 (0,80)
C30	0	0	0,11 (0,19)	0,22 (0,38)	0,22 (0,19)	0,22 (0,19)	0,44 (0,19)	0,33 (0,33)	0,22 (0,19)	0,44 (0,19)	0,44 (0,51)	0,74 (1,01)
C31	0,68 (0,93)	0,25 (0,44)	0,11 (0,19)	0	0	0,11 (0,11)	0,33 (0,33)	0,33 (0,33)	0,56 (0,51)	0,22 (0,19)	0,78 (0,19)	0,38 (,86)
C32	0	0	0	0,11 (0,19)	0,11 (0,19)	0,22 (0,19)	0,22 (0,19)	0	0	0,44 (0,19)	0,44 (0,77)	0
C33	0	0	0,11 (0,19)	0	0,11 (0,19)	0	0,22 (0,19)	0	0,11 (0,19)	0	0	0
C36	0,67 (1,49)	0,67 (0,58)	1,00 (0,67)	1,56 (0,51)	0,56 (0,51)	1,00 (0,77)	1,33 (1,20)	0,56 (0,51)	1,56 (0,51)	1,81 (0,83)	2,00 (0,67)	1,14 (1,04)
C37	0	0,22 (0,19)	0,56 (0,38)	0,11 (0,19)	0,44 (0,19)	0,11 (0,19)	0,11 (0,19)	0,11 (0,19)	0,44 (0,77)	0,11 (0,19)	0	0

**Tabla 5.2.** Valores estacionales de la prevalencia ( $\pm$  desvío estándar) para cada tipo morfológico (TM) de cercaria que parasitan a *Heleobia parchappii* en la Laguna Nahuel Rucá. \* Indica diferencias significativas de la prevalencia entre estaciones. Las abreviaturas de los tipos morfológicos se dan en la Tabla 4.1.



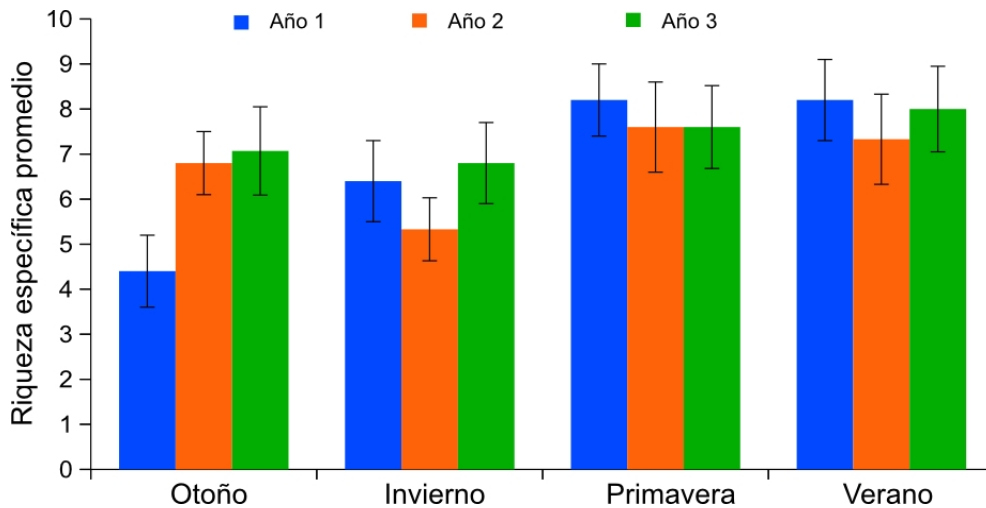
**Fig 5.4.** Valores estacionales de la prevalencia ( $\pm$  desvío estándar), para las especies de digeneos que presentaron diferencias estadísticas entre estaciones, que parasitan a *Heleobia parchappii*, en la Laguna Nahuelrucá.

El estudio de la variación de la riqueza específica promedio mediante el análisis de la varianza (ANOVA) mostró diferencias significativas de la misma entre estaciones ( $F_{11;148}=4,76$ ;  $P<0,001$ ). El análisis de a pares, considerando la riqueza específica promedio entre estaciones de un mismo año, reveló (Fig 5.5):

- Año 1: diferencias significativas entre el otoño 1 y el resto de las estaciones (invierno 1, primavera 1 y verano 1) ( $P<0,05$ ; para los 3 casos). Además, el invierno 1 fue diferente de las estaciones primavera 1 y verano 1 ( $P<0,05$ ; en ambos casos).
- Año 2: diferencias significativas entre el invierno 2 y el resto de las estaciones (otoño 2, primavera 2 y verano 2) ( $P<0,05$ ; para todos los casos).
- Año 3: todas las estaciones presentaron un número similar de especies.

El análisis de a pares entre las mismas estaciones de diferentes años, arrojó los siguientes resultados (Fig 5.5):

- Otoño: el otoño 1 presentó un valor de riqueza específica promedio menor a los hallados en el otoño 2 y 3 ( $P<0,05$ ; para ambos casos).
- Invierno, primavera y verano: no se hallaron diferencias.



**Fig 5.5.** Valores estacionales de la riqueza específica promedio ( $\pm$  desvío estándar) de los digeneos larvales que parasitan a *Heleobia parchappii* en la Laguna Nahuel Rucá.

El análisis multivariado no paramétrico (PERMANOVA) de la riqueza específica reveló diferencias significativas entre las estaciones (PseudoF=4,43; P(perm)<0,001). El análisis de a pares posterior, mostró que la riqueza específica promedio aumentó en las estaciones cálidas (primavera y verano) y disminuyó en las estaciones frías (otoño e invierno). Por otro lado, la comparación de a pares, de las mismas estaciones de diferentes años, arrojó los siguientes resultados:

- Otoño: diferencias significativas entre los otoños 1 y 2 (P<0,05).
- Invierno: diferencias significativas entre los inviernos 1-2 y los inviernos 1-3 (P<0,05; en los dos casos).
- Primavera: diferencias significativas entre todas las primaveras (P<0,05; para todos los casos).
- Verano: diferencias significativas entre los veranos 1 y 2 (P<0,05).

Nuevamente, el test PERMDISP arrojó diferencias significativas en la dispersión de los datos (F=4,22; P(perm)=0,003).

De acuerdo a la rutina SIMPER, la estación menos homogénea en función de la estructura de los ensambles de digeneos larvales fue el invierno 1, con una similitud de 56,97%.

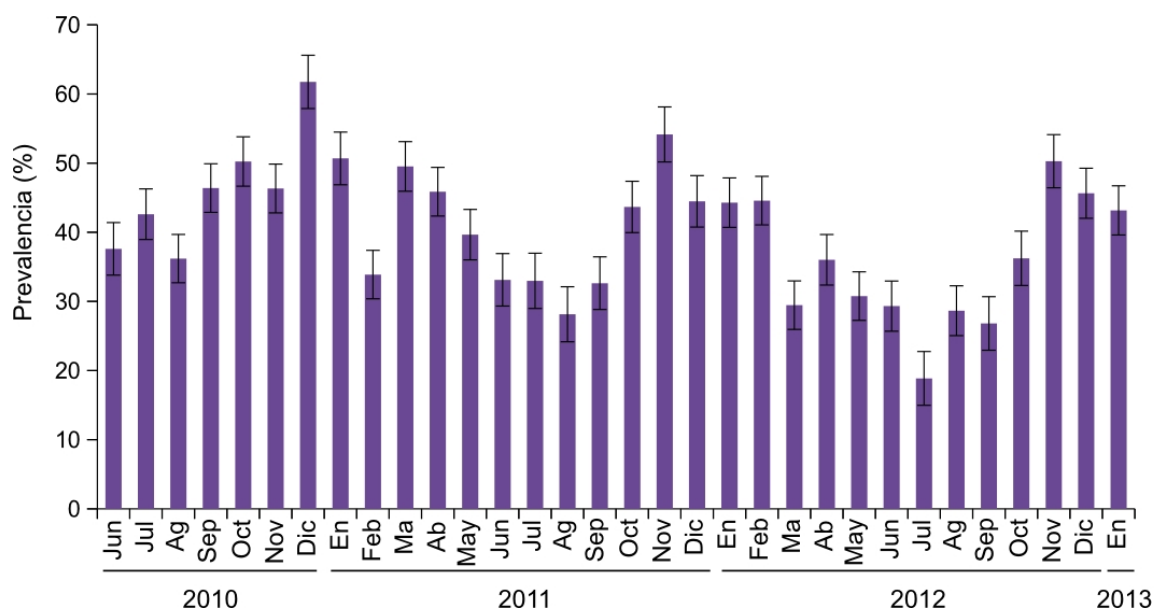
Contrariamente, la estación más homogénea fue el verano 1 con una similitud del 77,62%. Las especies que más contribuyeron a la similitud dentro de todas las estaciones fueron: C1, C20, C21 y C29; combinadas estas especies explicaron más del 50% de la similitud. Aquellas estaciones que presentaron diferencias significativas de la riqueza específica promedio, halladas mediante la rutina PERMANOVA y mencionadas anteriormente, también tuvieron baja similitud (alta disimilitud) entre sí. Las especies que más contribuyeron a la disimilitud entre las estaciones fueron: C2, C4, C23, C27, C28, C29, C31 y C36. Conjuntamente, estas especies explican más del 50% de la disimilitud entre los grupos.

### 5.3.3. Composición y dinámica de los ensamblajes de digeneos larvales, a escala mensual

El análisis de la covarianza (ANCOVA) reveló, nuevamente, un efecto de la talla de *H. parchappii* (covariable) sobre la prevalencia ( $F_{1,127}=38,97$ ;  $P<0,001$ ). Este análisis, también mostró que los valores de prevalencia fueron significativamente diferentes entre meses ( $F_{31,127}= 7,25$ ;  $P<0,001$ ). El estudio *a posteriori*, considerando meses consecutivos, arrojó diferencias significativas entre: agosto-septiembre 2010, noviembre-diciembre 2010, diciembre 2010-enero 2011, enero-febrero 2011, febrero-marzo 2011, octubre-noviembre 2011, noviembre-diciembre 2011, febrero-marzo 2012, junio-julio 2012, julio-agosto 2012, septiembre-octubre 2012, octubre-noviembre 2012 ( $P<0,05$ ; para todos los casos) (Fig 5.6).

La comparación de a pares de las prevalencias de un mismo mes, de diferente año, que presentaron diferencias significativas fueron: julio 2010-julio 2012 y julio 2011-julio 2012 ( $P<0,05$ ; en ambos casos), septiembre 2010-septiembre 2011 y septiembre 2010-septiembre 2012 ( $P<0,05$ ; en ambos casos), diciembre 2010-diciembre 2011 y diciembre 2010-diciembre 2012 ( $P<0,05$ ; en ambos casos). También, se observaron diferencias significativas para los meses de febrero 2011-2012, marzo 2011-2012, abril 2011-2012 y mayo 2011-2012 ( $P<0,05$ ; en todos los casos) (Fig 5.6).

El análisis multivariado para el estudio de la heterogeneidad temporal de la prevalencia mediante el test PERMANOVA reveló, nuevamente, un efecto significativo de la talla (covariable) sobre la variable en estudio (PseudoF=25,18; P(perm)<0,001) y diferencias entre los meses del año (PseudoF=3,32; P(perm)<0,001). En el análisis de a pares posterior, se obtuvieron diferencias significativas para los mismo meses consecutivos similares a las obtenidas mediante el análisis de la covarianza, pero además se detectaron diferencias entre marzo-abril 2011 y agosto-septiembre 2011 (en ambos casos P(perm)<0,05).



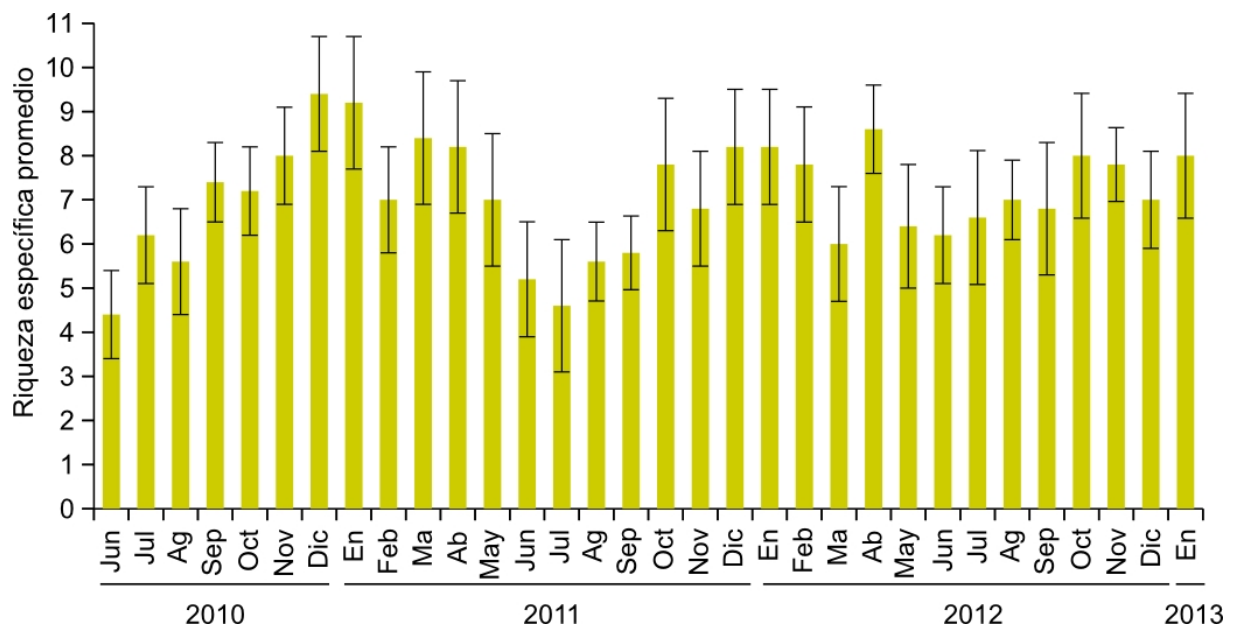
**Fig 5.6.** Valores mensuales de la prevalencia ( $\pm$  desvío estándar) de los digeneos larvales que parasitan a *Heleobia parchappii* en la Laguna Nahuel Rucá.

La variación temporal de la riqueza específica promedio mediante el análisis de la varianza (ANOVA), mostró diferencias significativas entre los meses de estudio (ANOVA  $F_{31;128} = 3,32$ ;  $P < 0,001$ ). Sin embargo, en el análisis de este índice parasitario entre meses consecutivos no se observaron diferencias significativas. Un resultado similar se obtuvo al analizar el mismo mes entre diferentes años (Fig 5.7).

La rutina PERMANOVA mostró la existencia de diferencias significativas en la estructura de los ensambles de digeneos larvales entre los meses del año (PseudoF=2,50; P(perm)<0,01).

Nuevamente, al igual que para la riqueza específica promedio, no existieron diferencias entre meses consecutivos durante todo el estudio. Sin embargo, al analizar el mismo mes entre los diferentes años se pudieron observar diferencias entre julio 2010-julio 2011, agosto 2010-agosto 2011, agosto 2011-agosto 2012, octubre 2010-octubre 2011 y noviembre 2010-noviembre 2011 ( $P(\text{perm}) < 0,05$ ; para todos los casos).

La rutina SIMPER reveló que los meses diciembre 2010 y 2012 presentaron los ensambles de digeneos larvales más homogéneos con un 76,37% y 76,29% de similitud, respectivamente. Los meses de agosto 2010 y julio 2011 presentaron las similitudes más bajas, 45,78% y 40,20% respectivamente. Las especies que más contribuyeron a la similitud dentro de los meses fueron: C1, C20, C21, C23, C27, C28 y C29. Todas estas especies combinadas explicaron más del 50% de la similitud dentro de los grupos. La disimilitud entre meses consecutivos, utilizando nuevamente la rutina SIMPER, fue relativamente baja y el valor máximo se registró entre julio 2011 y agosto 2011 (52, 78%). Los valores más altos de disimilitud entre los mismos meses, de diferente año, se observaron entre julio 2010-julio 2011 (57,70%), agosto 2010-agosto 2011 (61,145%), agosto 2011-agosto 2012 (59,41%), octubre 2010-octubre 2011 (62,14%) y entre noviembre 2010-noviembre 2011 (60,23%). Las especies de digeneos las cuales contribuyeron principalmente a la disimilitud entre estos meses fueron: C1, C21, C29, mientras que las especies C20 y C23 contribuyeron menor porcentaje.



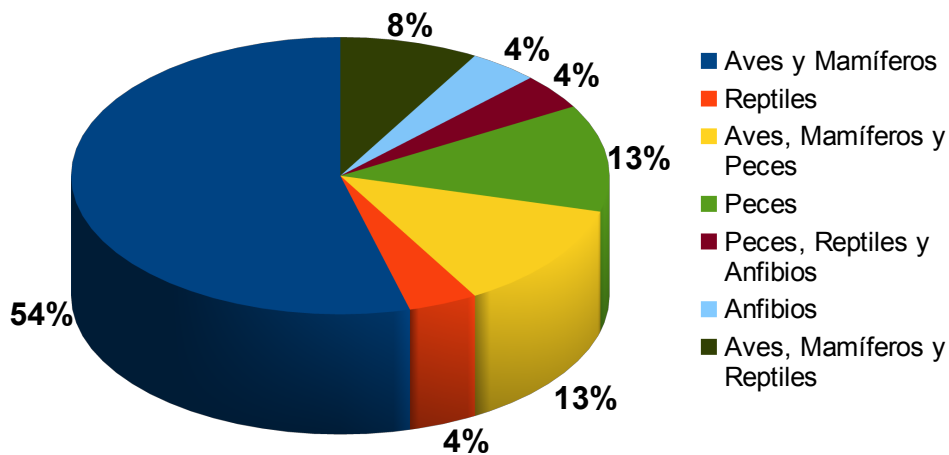
**Fig 5.7.** Valores mensuales de la riqueza específica promedio ( $\pm$  desvío estándar) de los digeneos larvales que parasitan a *Heleobia parchappii* en la Laguna Nahuel Rucá.

#### 5.3.4. Factores bióticos y abióticos como posibles estructuradores de los ensambles de digeneos larvales

Mediante la identificación de los estadios larvales a nivel de familia fue posible establecer un esquema de los posibles hospedadores definitivos que contribuirían a conformar los ensambles de digeneos larvales de *H. parchappii* en la Laguna Nahuel Rucá (Tabla 5.3; Fig 5.8). De este esquema se desprende que las aves y los mamíferos son los principales hospedadores definitivos de los digeneos que parasitan a *H. parchappii*.

Familias	TM	Hospedador Definitivo
Notocotylidae	C1	Aves y Mamíferos
Heterophyidae	C2, C4, C9, C12, C18, C27, C34	Aves y Mamíferos
Ochetosomatidae	C7	Reptiles
Echinostomatidae	C8, C16, C17	Aves, Mamíferos y Peces
Microphallidae	C20, C21	Aves y Mamíferos
Psilostomidae	C23	Aves y Mamíferos
Hemiuridae	C29, C30	Peces
Acanthostomidae	C31	Peces, Reptiles y Anfibios
Haploporidae	C28	Peces
Plagiorchiidae	C36, C37	Aves, Mamíferos y Reptiles
Schistosomatidae	C32	Aves y Mamíferos

**Tabla 5.3.** Posibles hospedadores definitivos para cada familia de los digeneos hallados en *Heleobia parchappii*. Las abreviaturas de los tipos morfológicos (TM) se dan en la Tabla 4.1.



**Fig 5.8.** Contribución de los diferentes grupos de vertebrados, expresada como porcentaje, a los ciclos de vida de los digeneos en la Laguna Nahuel Rucá.

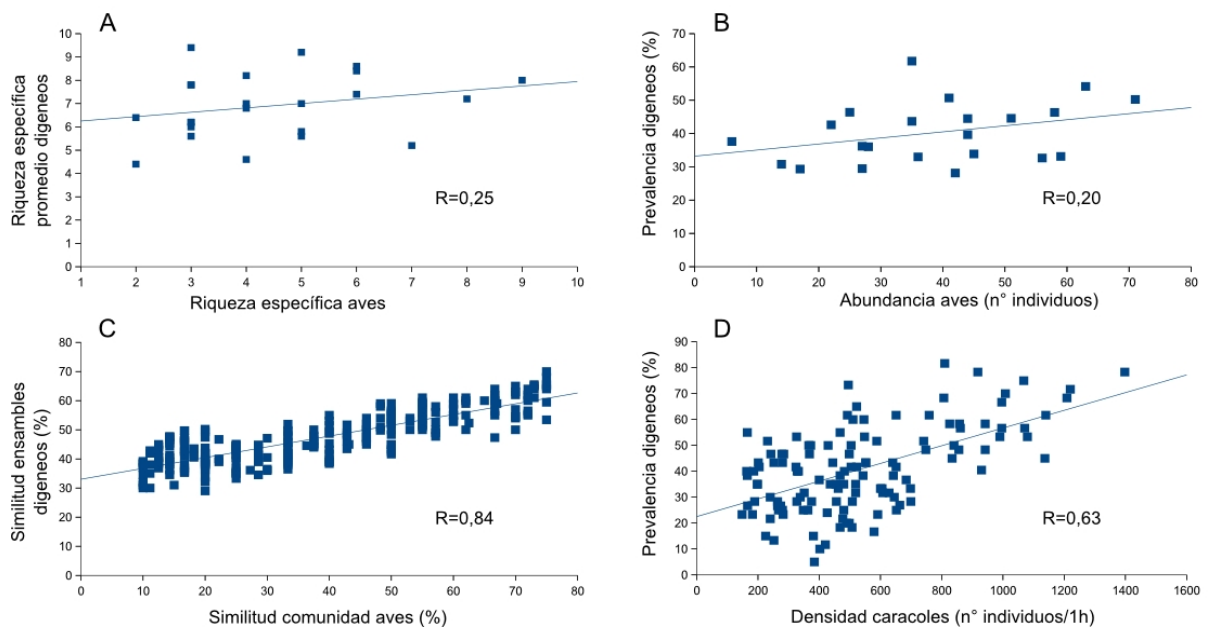
Los censos de aves realizados permitieron distinguir 17 especies, pertenecientes a diez familias (Tabla 5.4). La correlación entre la abundancia de aves y la prevalencia ( $R=0,20$ ;  $P=0,17$ ) y la riqueza específica de aves y riqueza específica de digeneos larvales ( $R=0,25$ ;  $P=0,18$ ) no fueron estadísticamente significativas (Fig 5.9 A y B). Sin embargo, cuando se correlacionó la similitud de aves y la similitud de los ensamblajes de digeneos larvales, sí se obtuvo una correlación positiva significativa ( $R=0,84$ ;  $P<0,01$ ) (Fig 5.9 C).

La densidad de *H. parchappii* a lo largo del período de estudio fue analizada en el Capítulo II. La aplicación del índice de correlación de Pearson reveló la existencia de una correlación positiva entre la densidad de caracoles y la prevalencia ( $R=0,63$ ;  $P<0,01$ ) (Fig 5.9 D).

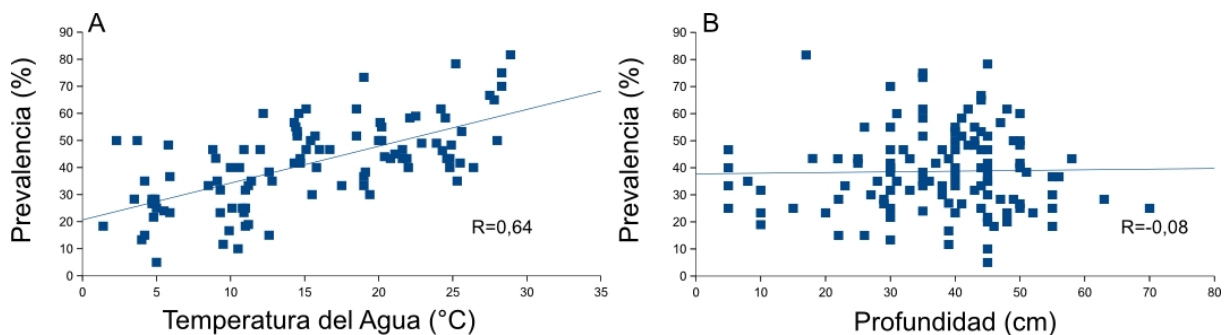
Los factores abióticos medidos en la laguna a lo largo de todo el período de estudio fueron la temperatura y la altura de la columna de agua. La temperatura presentó una correlación positiva con la prevalencia de digeneos larvales ( $R=0,64$ ;  $P<0,01$ ). Contrariamente a este resultado, la profundidad no presentó correlación con la prevalencia de digeneos larvales ( $R=-0,08$ ;  $P=0,36$ ) (Fig 5.10).

<b>Familia</b>		<b>Especies</b>
	Cisne Cuello Negro	<i>(Cygnus melancoryphus</i> Molina, 1782)
	Pato Barcino	<i>(Anas flavirostris</i> Vieillot, 1816)
Anatidae	Coscoroba	<i>(Coscoroba coscoroba</i> Molina, 1782)
	Pato Cabeza Negra	<i>(Heteronetta atricapilla</i> Merrem, 1841)
	Pato Overo	<i>(Anas sibilatrix</i> Poepping, 1829)
Rallidae	Gallareta Chica	<i>(Fulica leucoptera</i> Vieillot, 1817)
	Gallareta Escudete Rojo	<i>(Fulica rufifrons</i> Philippi & Landbeck, 1861)
Charadriidae	Tero Común	<i>(Vanellus chilensis</i> Molina, 1782)
Ardeidae	Garza Blanca	<i>(Egretta alba</i> Gmelin, 1789)
	Garzitas Blancas	<i>(Egretta thula</i> Molina, 1782)
Anhimidae	Chajá	<i>(Chauma torquata</i> Oken, 1816)
Threskiornithidae	Espátula Rosada	<i>(Platalea ajaja</i> Linnaeus, 1758)
Phalacrocoracidae	Biguá	<i>(Phalacrocorax olivaceus</i> Humboldt, 1905)
Laridae	Gaviota Capucho Café	<i>(Larus maculipennis</i> Lichtenstein, 1823)
Phoenicopteridae	Flamenco Austral	<i>(Phoenicopus chilensis</i> Molina, 1782)
Podicipedidae	Macá Común	<i>(Podiceps rolland</i> Quoy & Gaimard, 1824)
	Macá Grande	<i>(Podiceps major</i> Boddaert, 1783)

**Tabla 5.4.** Ubicación sistemática de las especies de aves (nombre científico) registradas en la Laguna Nahuel Rucá.



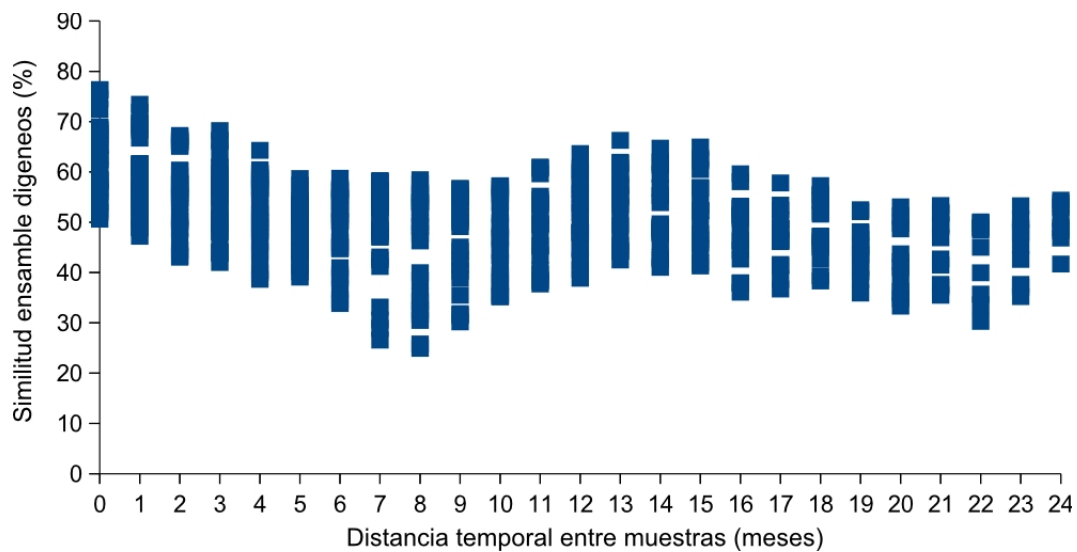
**Fig 5.9.** Relación entre los factores bióticos (abundancia y diversidad de aves y densidad de individuos de *Heleobia parchappii*) y los índices parasitológicos (prevalencia y riqueza específica promedio) de los digeneos larvales hallados en *Heleobia parchappii*. El índice de correlación (R) en A y B no es estadísticamente significativo (A:  $P=0,17$  y B:  $P=0,018$ ). El índice de correlación (R) en C y D es estadísticamente significativo ( $P<0,01$ ; para ambos casos).



**Fig 5.10.** Relación entre los factores abióticos (temperatura y profundidad del agua) y la prevalencia de los digeneos larvales que parasitan a *Heleobia parchappii* en la Laguna Nahuel Rucá. Índice de correlación de Pearson (R) significativo en A ( $P<0,01$ ) y no significativo en B ( $P=0,36$ ).

### 5.3.5. Similitud de los ensambles de digeneos larvales en el tiempo

La forma de la gráfica de la similitud de los ensambles de digeneos larvales en función del tiempo (medido en meses) que separa a dos muestras se asemeja a una función periódica. Esta clase de funciones se caracterizan por la repetición de su gráfica cada cierto intervalo (período), en este caso, de tiempo. Los ensambles de digeneos larvales presentarían un período de entre 12 y 14 meses (Fig 5.11).



**Fig 5.11.** Relación entre la similitud de los ensambles de los digeneos larvales que parasitan a *Heleobia parchappii* y la distancia (medida en meses) de separación entre dos muestras.

### 5.4. Discusión

En la Laguna Nahuel Rucá se hallaron 22 especies de digeneos parasitando al molusco *H. parchappii*, y se registraron valores de prevalencia que oscilaron entre 18,86 y 61,75 %. El estudio de la parasitofauna de este hospedador fue realizado en por Ostrowski de Nuñez (1992; 1993; 1995; 2001; 2007) y por Martorelli (1985; 1986a; 1986b; 1988; 1989a) en diferentes ambientes lénticos de la República Argentina. Sin embargo, estos trabajos son de carácter taxonómico y no proporcionan información de la dinámica temporal de los ensambles de digeneos larvales. Por lo

tanto la información obtenida para esta tesis constituye el primer registro de la riqueza específica y prevalencia de digeneos larvales, a lo largo del tiempo en *H. parchappii*.

La composición y la variación temporal de los ensambles de digeneos larvales que parasitan moluscos pertenecientes al género *Heleobia* fueron estudiadas con anterioridad por otros investigadores. Entre estos autores se pueden mencionar a Etchegoin (1997), Parietti (2011) y Alda (2011), quienes estudiaron los digeneos que parasitan a *Heleobia australis* en la laguna costera Mar Chiquita y en el estuario de Bahía Blanca (provincia de Buenos Aires). Además, Etchegoin (1997) y Merlo & Etchegoin (2011) estudiaron la composición de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *H. conexa* en la laguna costera Mar Chiquita. En estos trabajos, la riqueza específica registrada para *H. australis* fue de 20 en la Laguna Mar Chiquita y 15 para el estuario de Bahía Blanca, mientras que *H. conexa* presentó una riqueza específica mayor (24 especies). Por lo tanto, el número total de especies que parasitan a *H. parchappii*, en la Laguna Nahuel Rucá, es similar a los hallados en *H. conexa* y *H. australis*. En comparación, la riqueza específica de digeneos larvales halladas en las diferentes especies del género *Helobia* es mayor a las registradas para otras especies de moluscos, tanto en Argentina como en otras partes del mundo. Por ejemplo, estudios realizados en ambientes dulceacuícolas hallaron que la riqueza específica para *Chilina dombeyana* (Bruguiere, 1789) y *Biomphalaria peregrina* fue de ocho y cinco especies de digeneos respectivamente (Flores & Semenas, 2008; Flores *et al.*, 2010). Asimismo, en la revisión realizada por Etchegoin *et al.* (2013) sobre la riqueza específica de digeneos larvales en once especies de gasterópodos y 16 especies de bivalvos costeros de Argentina, no se mencionan valores de riqueza que superen a los hallados en *H. parchappii*, *H. australis* y *H. conexa*. A nivel internacional, Huspeni *et al.* (2005) realizaron un relevamiento de la riqueza específica en 24 especies de moluscos y sólo *Hydrobia ulvae* (Pennat, 1777), con 32 especies de digeneos larvales, supera a la riqueza específica de las especies de *Heleobia* antes mencionadas. Las altas riquezas de digeneos en estas especies de *Heleobia*, las posicionan como potenciales indicadores de abundancia y diversidad de fauna en el

ambiente, de la calidad del agua, de impactos ambientales causados por el hombre y del calentamiento global. Para cumplir dicho rol, los ensamblajes de digeneos larvales en moluscos deben ser abundantes y diversos (Huspeni *et al.*, 2005; Poulin & Mouritsen, 2006).

Una de las características de los sistemas molusco-digeneo es la relación positiva entre la prevalencia de digeneos larvales y la talla del hospedador (Jokela & Lively, 1995a; Sokolova, 1995; Etchegoin, 1997). Esta relación puede ser explicada desde dos perspectivas diferentes. Una postula que el aumento temporal en el crecimiento de los caracoles está causado por los parásitos (fenómeno conocido como gigantismo) y, la otra, que el aumento en la prevalencia observado en las tallas mayores se debe a que estos caracoles son los que han vivido más tiempo y, por lo tanto, tienen mayor probabilidad de estar en contacto con los estadios infestantes de los digeneos (De Montaudouin *et al.*, 2003; Graham, 2003; Miura *et al.*, 2006). Con respecto al gigantismo, este fenómeno puede ser considerado como una adaptación del parásito, como una adaptación del hospedador, como un efecto lateral no adaptativo debido a la inhibición reproductiva del caracol causada por el parásito o como un fenómeno de laboratorio, resultante de los protocolos de alimentación de los hospedadores (Minchella, 1985; Fernández & Esch, 1991; Mouritsen & Jensen, 1994; Ballabeni, 1995; Keas & Esch, 1997). Si se considera al aumento temporal de la talla de los caracoles como una adaptación del parásito podría tener al menos dos consecuencias, a) mayor disponibilidad de lugar para el desarrollo del parásito o b) un aumento en la visibilidad del hospedador por su depredador, lo que facilitaría la culminación del ciclo de vida del parásito (Minchella, 1985; McCarthy *et al.*, 2004).

Por lo tanto, en los estudios de las variaciones temporales de los ensamblajes de digeneos larvales en moluscos se debe controlar el efecto producido por la talla de los hospedadores. Para controlar este efecto, se decidió utilizar a la talla de los caracoles como covariable en los análisis estadísticos, dado que el programa estadístico utilizado permite eliminar el efecto de la covariable sobre la variable en estudio (prevalencia). El efecto de la talla del hospedador sobre la dinámica

temporal de la prevalencia de digeneos larvales se puede observar claramente en la comparación anual de la misma (Fig 5.1). Si no se considera el tamaño de los caracoles se observa que la mayor prevalencia se encuentra en el primer año de este estudio (junio 2010-mayo 2011), la cual disminuye en el segundo (junio 2011-mayo 2012) y vuelve a ascender en el tercero (junio 2012-enero 2013). Sin embargo, como se observó en los resultados obtenidos, la talla presentó un efecto significativo sobre la prevalencia. Así, una vez eliminado el efecto de la talla mediante técnicas estadísticas, la dinámica de la prevalencia entre años presentó un nuevo comportamiento, disminuyendo progresivamente desde el primer año.

La disminución a lo largo del tiempo de la prevalencia podría estar relacionada con procesos de selección natural. A menudo se piensa que los procesos ecológicos y evolutivos ocupan diferentes escalas de tiempo. Sin embargo, varias décadas de estudio en ecología evolutiva y en genética evolutiva han indicado que los plazos de los procesos ecológicos y evolutivos se superponen a menudo (ver Thompson, 1998). Estos procesos son mencionados con el nombre de evolución rápida (Thompson, 1998), evolución contemporánea (Hendry & Kinnison, 1999) o evolución contemporánea rápida (Jones *et al.*, 2009). La importancia de los parásitos como agentes de procesos evolutivos (selección natural) se vuelve evidente cuando su número alcanza un nivel en el que visiblemente afecta a la abundancia del hospedador (Poulin & Morand, 2004). En general, entre parásito y hospedador se establece una carrera coevolutiva basada en la selección recíproca. Esto es, el parásito reduce la esperanza de vida o la fecundidad del hospedador intentando maximizar la explotación del mismo y, a su vez, éstos intentan minimizar la pérdida de eficacia biológica por el parásito. Esto lleva a lo que se ha dado en llamar "Hipótesis de la Reina Roja", en la cual las especies implicadas en una coevolución antagonista deben "correr" (evolutivamente) tan rápido como puedan para evitar la extinción (Van Valen, 1973; Hamilton, 1980).

Los procesos de evolución rápida se observan principalmente cuando los sistemas son desplazados del equilibrio por un suceso puntual (Hendry *et al.*, 2000; Olsen *et al.*, 2004; Franks *et*

*al.*, 2004; Franks & Weis, 2008). La sequía total de la Laguna Nahuel Rucá puede ser considerada como tal y, por lo tanto, luego del restablecimiento de la comunidad de *H. parchappii* y de los ensamblajes parasitarios en la laguna, cada componente de este sistema molusco-digeneo debería comenzar a "correr" (evolutivamente) para evitar la extinción. Por lo tanto la disminución de la prevalencia de los digeneos y el aumento en la talla de los caracoles a lo largo de los tres años, se podría explicar como una causa de un proceso evolutivo en el cual el genotipo menos común (resistente a los digeneos) al inicio, se vuelve el más común al final del estudio, generado por la fuerza de selección natural causada por los parásitos. Este proceso de evolución rápida fue registrado por Dybdahl & Lively (1998), Koskella & Lively (2009) y Jokela *et al.* (2009) en el sistema molusco-digeneo conformado por *Potamopyrgus antipodarum* Gray, 1843 y digeneos pertenecientes a la familia Microphallidae. Estos estudios demostraron que bajo la presión de selección causada por digeneos, la frecuencia de los genotipos del hospedador cambiaba en pocas generaciones, haciendo a los hospedadores más resistentes a los parásitos.

Contrariamente a la dinámica temporal anual observada para la prevalencia, se observó que la riqueza específica se mantuvo constante entre los años. Si bien el número de especies para los tres años fue de 20, no siempre se encontraron las mismas. Las especies que no estuvieron presentes en alguno de los años considerados fueron C7, C9, C16, C17 y C18. Dado que para que una especie de digeneo esté presente en el ambiente se necesita la presencia de su hospedador definitivo en el mismo (Kuris & Lafferty, 1994; Huspeni *et al.*, 2005; Hechinger *et al.*, 2008), la ausencia de las especies mencionada podría deberse a la ausencia de los hospedadores definitivos. Sin embargo, existe otro proceso que puede eliminar especies del ambiente: la competencia interespecífica (Kuris & Lafferty, 1994; Lafferty *et al.*, 1994; Mayfield & Levine, 2010). Existen dos mecanismos por los cuales las especies dominantes eliminan a las especies subordinadas. El primero propone que las especies que poseen redias como estadio intramolusco, actúan como especies dominantes y se alimentan sobre las especies subordinadas (depredación). El segundo, sostiene que las especies que

poseen esporocistos, actúan como especie dominante e impiden el desarrollo de las especies subordinadas de forma indirecta (mediante toxinas o residuos metabólicos) (Kuris & Lafferty, 1994; Lafferty *et al.*, 1994)

En cuanto a la estacionalidad, la variación temporal de la prevalencia y de la riqueza específica es uno de los rasgos característicos de los ensamblajes de digeneos larvales en el primer hospedador intermediario (Esch & Fernandez 1994; Esch *et al.*, 2001; Kube *et al.*, 2002). De acuerdo con los análisis de los valores estacionales de la prevalencia y la riqueza específica en la Laguna Nahuel Rucá, existe una estacionalidad de ambos índices a lo largo del año. Por un lado se agrupan la primavera y el verano, con valores altos de estos índices parasitológicos y, por el otro, el otoño y el invierno con valores de prevalencia y riqueza menores. Este mismo patrón estacional fue hallado por Etchegoin (1997), Merlo & Etchegoin (2011) y Parietti (2011) en la laguna costera Mar Chiquita para los ensamblajes de digeneos larvales presentes en *H. australis* y *H. conexa*.

Los factores que pueden regular esta variabilidad temporal son: a) las condiciones abióticas del ambiente (temperatura del agua y del aire, altura de la columna del agua, salinidad, etc.), b) la biología de los hospedadores intermediarios (uso del hábitat, densidad, duración del ciclo de vida del hospedador, etc.), c) la biología del hospedador definitivo (diversidad y abundancia, comportamiento del hospedador, etc.) y d) las interacciones interespecíficas entre las larvas de digeneos. Sobre estos temas puede consultarse a Rohde (1981), Curtis & Hurd (1983), Fernandez & Esch (1991a), Sousa (1993) Sapp & Esch (1994), Lafferty *et al.* (1994), Jokela & Lively (1995a,b), Granovitch *et al.* (2000), Esch *et al.* (2001), Kube *et al.* (2002), Pietroock & Marcogliese (2003), Fingerut *et al.* (2003), Skirnisson *et al.* (2004), Poulin (2006), Poulin & Mouritsen (2006), Byers *et al.* (2008) y Faltýnkova *et al.* (2008), entre otros.

Como se mencionó anteriormente, uno de los factores ambientales abióticos que pueden

regular los ensambles de digeneos larvales en el tiempo es la temperatura del agua. De acuerdo con los resultados obtenidos en este estudio, pudo observarse que la prevalencia estaría correlacionada positivamente con la temperatura. En general, estudios previos han demostrado una influencia positiva de la temperatura del agua, conjuntamente con otros aspectos químicos de la misma, sobre la tasa de desarrollo de los huevos de los digeneos y el tiempo de emergencia y el período de vida de las larvas miracidios (Kuris, 1979; Chappell, 1980; Vanoverschelde, 1982). Además, existe evidencia de que la emisión de cercarias estaría correlacionada positivamente con la temperatura, en condiciones de laboratorio y en el rango de temperaturas en el cual viven el hospedador y el parásito (Lyholt & Buchmann, 1996; Ferrel *et al.*, 2001; Zbikowska, 2004).

La profundidad está considerada como otro factor involucrado en la regulación de la variación temporal en los ensambles de digeneos larvales. Esto se debe a que, al aumentar la columna de agua, se reduce la probabilidad de encuentro entre la larva miracidio y el molusco (Upathami, 1972; Wang *et al.*, 2011). Sin embargo, la altura de la columna del agua no presentó, en este estudio, ningún tipo de correlación con la prevalencia.

Como se mencionó en los párrafos anteriores, ambas variables ambientales (temperatura y profundidad del agua) pueden tener un efecto directo sobre algunos estadios de los ciclos de vida de los digeneos. Sin embargo, ambas variables podrían tener, también, un efecto indirecto sobre los ensambles de digeneos larvales. Por ejemplo, las temperaturas más altas corresponden a la primavera y al verano, estaciones del año durante las cuales se registran la mayor abundancia y diversidad de aves, posibles hospedadores definitivos de los digeneos (Josens, 2011). Por otra parte, Canepuccia *et al.* (2007) sostienen que la diversidad y el comportamiento de las aves en una zona determinada dependen de la altura de la columna de agua en esa zona. Así, cambios en estas variables ambientales podrían estar generando variaciones en la abundancia y diversidad de los posibles hospedadores definitivos, los cuales son indispensables

para la presencia de un ensamble diverso y abundante de digeneos larvales en el primer hospedador intermediario.

Sumados a la influencia de los factores abióticos del medio ambiente, deben considerarse la dinámica de las poblaciones de los gasterópodos y los patrones de visita y permanencia de los hospedadores definitivos en el área.

La densidad de individuos y el ciclo de vida del hospedador molusco han sido mencionados como posibles factores en la regulación de la abundancia de digeneos larvales. La variación temporal de la densidad de *H. parchappii* fue analizada en el Capítulo II, presentando la misma una correlación positiva con la prevalencia de digeneos larvales. Con respecto a la relación entre el ciclo de vida del caracol y la prevalencia de digeneos larvales, en algunos estudios se ha asociado la disminución de la prevalencia de digeneos larvales con la mortalidad masiva de los caracoles luego de la reproducción (Fernandez & Esch, 1991b; Snyder & Esch, 1993, entre otros). En el caso de *H. parchappii*, los valores más bajos de prevalencia se registraron durante el invierno, en coincidencia con un pico reproductivo del molusco. Resultados similares fueron hallados por Alda (2011) para *Heleobia australis*. La autora también sostiene la teoría de una relación entre los valores más bajos de prevalencia y el pico reproductivo coincidente. Sin embargo, la población de *H. parchappii* está conformada, durante el invierno, por 5 cohortes distintas. Dichas cohortes se hallan en diferentes estadios de desarrollo (ver Capítulo II), por lo que la población de *H. parchappii*, en realidad, no disminuye drásticamente. Además, como se vio en el Capítulo II, *H. parchappii* presenta dos períodos reproductivos, uno durante los meses cálidos y el segundo durante los meses fríos. Estos períodos reproductivos coinciden, a su vez, con los niveles mínimos (invierno) y máximos (primavera) de la prevalencia de digeneos larvales. De manera que, sólo un pico reproductivo coincidiría con la teoría de la mortalidad expuesta por Fernandez & Esch (1991b), Snyder & Esch (1993) y Alda (2011). Por lo tanto, la reproducción de *H. parchappii* en los

meses fríos podría considerarse como una estrategia reproductiva. Los individuos de *H. parchappii* reclutados durante el invierno tendrían una menor probabilidad de infestarse con los digeneos y por lo tanto mayores probabilidades de desarrollarse y reproducirse exitosamente. Estos cambios en la historia de vida podrían ser menos costosos en términos energéticos, para escapar o al menos minimizar las pérdidas del éxito reproductivo por parte de los caracoles e inducido por los parásitos (Minchella, 1985).

Con respecto a los hospedadores definitivos, se pudo observar que el mayor aporte de digeneos al ambiente está dado por las aves y los mamíferos. No se cuenta con información completa sobre la fauna de mamíferos en la laguna, pero durante los muestreos se pudieron observar carpinchos (*Hydrochoerus hydrochaeris* Linnaeus, 1766) y coipos (*Myocastor coypus* Molina, 1782). En contraste con esta falta de información, Josens (2011) realizó un exhaustivo trabajo en la determinación y cuantificación de la avifauna en la laguna. Si bien la diversidad de digeneos larvales en el primer hospedador intermediario, depende directamente de la presencia y abundancia de hospedadores definitivos (Kuris & Lafferty 1994; Huspeni *et al.*, 2005; Hechinger *et al.*, 2008), los valores de prevalencia y riqueza específica de digeneos larvales no estuvieron correlacionados con los valores de la abundancia y riqueza de aves. Sin embargo, los meses que presentaron una mayor similitud en la composición de especies de aves presentaron también una mayor similitud en la composición de especies de digeneos. Además, los patrones de variación estacional de la prevalencia y riqueza (mayores en primavera y verano) de digeneos larvales, coinciden con las variaciones estacionales de la riqueza y abundancia de aves observadas por Josens (2011). Si bien no se obtuvo una correlación directa entre los digeneos larvales en el primer hospedador intermediario y la presencia de aves, la relación entre estos dos niveles ha sido demostrada con anterioridad por Smith (2001; 2007), Hechinger & Lafferty (2005) y Fredensborg *et al.* (2006).

La detección de variaciones en los valores de prevalencia y, en menor medida, en la

riqueza específica de digeneos larvales a escala mensual, podrían ser atribuidas a la dinámica poblacional del primer hospedador intermediario y a la distribución y abundancia heterogénea de los hospedadores definitivos. Las diferencias entre meses consecutivos ocurre principalmente entre septiembre y marzo. Coincidentemente, en este período del año se produce un aumento en la densidad y la reproducción de *H. parchappii*, como así también el ingreso de aves a la laguna. Además, la información obtenida a esta escala temporal permitió detectar una periodicidad de la similitud en la estructura de los ensambles de digeneos larvales en función del tiempo. Esta periodicidad en la similitud de los ensambles de digeneos larvales podría alterarse por procesos o factores no inherentes al ambiente, como la polución, la eutrofización o algún tipo de stress ambiental causado por el hombre. Por ejemplo, el aumento de nutrientes debido a la eutrofización de las lagunas promueve el crecimiento desmedido y momentáneo de algas (algal bloom) las cuales sirven de alimento a las diferentes especies de moluscos. Esta mayor disponibilidad de alimento podría cambiar la dinámica de la población del molusco y la de los ensambles de digeneos larvales asociados (Johnson & Chase, 2004; Johnson *et al.*, 2007). Estas variaciones podrían ser detectadas si se cuenta con información a lo largo del tiempo de la estructura mensual de los ensambles de digeneos larvales. Así, el conocimiento de la similitud de los ensambles de digeneos larvales, en función del tiempo, puede ser una herramienta útil para detectar cambios en el medio ambiente causados por agentes externos.

Las 22 especies de digeneos halladas en *H. parchappii* presentan una amplia diversidad de estrategias para completar su ciclo de vida. Algunas especies presentan estadios de cercarias que se enquistan en un hospedador intermediario secundario o en el ambiente para transformarse en metacercarias. Otras especies se enquistan directamente en el hospedador intermediario molusco e, incluso, una especie utiliza a *H. parchappii* como hospedador definitivo. Además, cada especie de digeneo hallada presentó una dinámica temporal diferente

que podría estar influenciada por las migraciones de los hospedadores definitivos. Sobre la base de la naturaleza de los ciclos de vida de digeneos y la de sus hospedadores definitivos, Esch *et al.* (1988) propuso una clasificación que reconoce dos grupos. El primero incluye a las especies autogénicas o con ciclos de vida autogénicos: son aquellas especies de digeneos cuyos ciclos de vida se completan dentro de los límites de un mismo hábitat marino o dulceacuícola (sus hospedadores intermediarios y definitivos son residentes permanentes de ese hábitat). El segundo grupo corresponde a las especies alogénicas o con ciclos de vida alogénicos: son aquellas especies de digeneos que completan sus ciclos de vida en hospedadores que son visitantes temporarios en el hábitat. En base a esta clasificación, el 63,63% de las especies de digeneos halladas en la laguna presentarían ciclos de vida autogénicos, mientras que el 36,37% presentarían ciclos de vida alogénicos.

Además de la influencia de los hospedadores definitivos, las variaciones temporales podrían estar asociadas a procesos de selección natural y de competencia interespecífica. Como se mencionó anteriormente, la selección natural puede actuar en lo que se suele denominar tiempo ecológico; así, las variaciones temporales de las especies autogénicas podrían ser resultado de selección natural. Por ejemplo, la especie C21 presentó una prevalencia al inicio del estudio superior al 25%, luego de un año su prevalencia cayó al 5% y sobre el final del estudio se puede observar un aumento de la prevalencia, la cual llega a valores del 15% (Fig 5.4 J). Dado que esta especie alcanzó la mayor prevalencia en todo el estudio y estuvo presente durante todos los meses del mismo, se puede pensar que la disminución de su prevalencia estaría asociada, en parte, a un aumento de la resistencia de los individuos de *H. parchappii* a ser infestados por esta especie de digeneo. Este patrón de dinámica temporal, con altos valores de prevalencia al inicio del estudio que luego disminuyen, se puede observar también para las especies C2, C4, C28 y C29 (Fig 5.4 B, C, D y E).

Por otra parte, dado que el sistema molusco-digeneo en la Laguna Nahuel Rucá se

reestableció luego de la sequía, la competencia interespecífica podría haber disminuido los valores de prevalencia para algunas especies. Algunos autores sostienen que esta interacción, en el interior del molusco, elimina el 13% de las infestaciones (Kuris & Lafferty, 1994; Lafferty *et al.*, 1994). Un modelo que estima las frecuencias esperadas antes de la interacción y de la eliminación de las especies subordinadas fue desarrollado por Lafferty *et al.* (1994); sin embargo, para poder aplicar dicho modelo, es necesario establecer claramente una jerarquía en la dominancia de especies. Sousa (1993) postuló mediante un estudio de captura y recaptura, una jerarquía de dominancia de las larvas de digeneos de *Cerithidea californica* en la Laguna Bolinas, Estados Unidos. El autor observó que existían especies fuertemente dominantes (equinostomátidos, filoftálmidos, heterófidios), débilmente dominantes (notocotílicos, schistosomátidos) y subordinadas (xifidiocercarias, strigeidos). En esta tesis, no se utilizó el modelo propuesto por Lafferty *et al.* (1994) para el estudio de la competencia debido a la falta de conocimiento de la jerarquía en la dominancia de las especies aquí descritas. Sin embargo, los porcentajes de infestaciones múltiples, los cuales son indicadores de competencia interespecífica, hallados en la laguna, son del 1,94%. Este valor se asemeja al hallado por Alda (2011) quien encontró un rango de infestaciones múltiples de 0,54% a 4,74% dependiendo de la zona de muestreo. Mientras que Etchegoin (1997) halló porcentajes de infestaciones múltiples en el rango de 0,07% al 0,27%. Además el 72,72% de las infestaciones múltiples registradas ocurrieron el primer año. Este alto porcentaje de infestaciones múltiples en el primer año coincidiría con la reestructuración de los ensambles de digeneos luego de la sequía y con las bajas densidades de individuos de *H. parchappii*. Por lo tanto la competencia interespecífica no puede ser descartada como un factor estructurador de los ensambles de digeneos larvales en *H. parchappii*.

Por lo expuesto anteriormente la heterogeneidad temporal de los ensambles de digeneos larvales de *H. parchappii*, observada en la Laguna Nahuel Rucá, estaría relacionada con la

dinámica de las variables ambientales, con la dinámica poblacional del hospedador molusco, con las fluctuaciones en la presencia de hospedadores definitivos, por la competencia interespecífica y posiblemente con procesos de selección natural. Sin embargo, estos factores de heterogeneidad temporal no actuarían de forma independiente sino que interactuarían entre sí. Los mismos factores de heterogeneidad temporal fueron propuestos por Kuris & Lafferty (1994), Etchegoin (1997, 2001), Kube *et al.* (2002), Huspeni *et al.* (2005) y Faltýnková *et al.* (2008).

En base a los resultados obtenidos, es interesante destacar que el análisis de los ensamblajes de digeneos larvales a diferentes escalas temporales permite detectar una variedad de factores que podrían regular la estructura de los mismos. Así, la escala anual permitiría detectar diferencias asociadas a procesos evolutivos, cambios climáticos, y procesos climáticos periódicos como, por ejemplo, los períodos Del Niño y la Niña. Por otra parte, el estudio estacional de las variaciones en la estructura de los ensamblajes de digeneos larvales se asocia más a procesos locales, de periodicidad más corta en el tiempo. Y finalmente, el estudio mensual de los ensamblajes de digeneos larvales permitiría detectar procesos de polución, y de otros efectos antrópicos.

Para considerar a los ensamblajes de digeneos larvales como indicadores de fluctuaciones ambientales Huspeni *et al.* (2005) propusieron una serie de características a tener en cuenta: alta prevalencia y riqueza específica de digeneos, heterogeneidad temporal de los mismos y una alta densidad del hospedador. Los ensamblajes de digeneos en *H. parchappii* reúnen todas estas características, además de la periodicidad en la similitud de los ensamblajes a través del tiempo. Por tal motivo, el sistema conformado por los digeneos larvales de *H. parchappii* podría considerarse como un buen indicador de fluctuaciones ambientales, al igual que los ensamblajes de digeneos larvales de *H. conexa* en la laguna costera Mar Chiquita (Merlo & Etchegoin, 2010).

Capítulo VI  
Dinámica temporal de los ensambles de  
digeneos larvales en las lagunas de los Padres  
y La Brava

## 6.1. Introducción

Continuando con los estudios de la heterogeneidad temporal de los ensamblajes de digeneos larvales en ambientes lénticos, iniciados en el Capítulo V, en el presente capítulo se plantearon los siguientes objetivos:

1. Analizar la variabilidad temporal de los ensamblajes de digeneos larvales que parasitan a *Heleobia parchappii* en las lagunas de los Padres y La Brava.
2. Identificar y analizar los factores que contribuyen a estructurar temporalmente los ensamblajes de digeneos larvales en estas lagunas.

## 6.2. Materiales y Métodos

Las tareas de muestreo se realizaron en la Laguna de los Padres y en la Laguna La Brava situadas a 20 y 57 km de la ciudad de Mar del Plata, respectivamente. Los muestreos fueron realizados estacionalmente, desde el invierno de 2010 hasta el otoño de 2011. En ambas lagunas, se realizó un viaje de campaña por cada estación. En cada viaje, se tomaron 5 muestras de caracoles, las cuales fueron utilizadas como réplicas en los análisis estadísticos posteriores. En cada laguna se estableció una transecta de 120 m, paralela a la línea de costa, y cada 30 m se procedió a colectar los moluscos. Los ejemplares de *H. parchappii* fueron localizados entre la vegetación sumergida, sobre y dentro del sustrato y colectados con la ayuda de tamices (0,5mm de abertura de malla) y pinzas. Los muestreos, conducidos siempre por la misma persona para evitar sesgos en el mismo, se desarrolló por tiempo de esfuerzo (número de caracoles capturados por hora). Además, en cada muestreo se utilizó un termómetro digital y una varilla métrica de aluminio para medir la temperatura y la altura de la columna del agua, respectivamente. Posteriormente, los moluscos colectados fueron trasladados al laboratorio y allí fueron colocados en recipientes de 1 l de capacidad, con agua filtrada de la laguna y con aireador

En el laboratorio se aislaron individualmente 60 caracoles, por cada réplica, en recipientes

de 10 ml. de capacidad, que fueron expuestos a la luz de una lámpara de 75 watt o a la luz natural durante un período de 48 hs para favorecer la emisión de las cercarias. Aquellos caracoles que presentaron emisiones espontáneas de cercarias, fueron separados y medidos (largo total de la conchilla en mm). Posteriormente, fueron disecados bajo microscopio estereoscópico para detectar posibles infestaciones múltiples. Los moluscos que no presentaron emisiones espontáneas de cercarias fueron medidos y disecados bajo microscopio estereoscópico para detectar la presencia de infestaciones prepatentes (esporocistos, redias y cercarias poco desarrolladas) (Curtis & Hubbard, 1990).

Las cercarias, los esporocistos y las redias detectadas en las infestaciones se estudiaron “in vivo” bajo microscopio óptico y fueron identificados taxonómicamente de acuerdo a Szidat (1956), Yamaguti (1975), Martorelli (1986a; 1989b; 1990), Martorelli & Etchegoin (1996), Etchegoin (1997), Etchegoin & Martorelli (1998) y Parietti (2011).

Con el fin de analizar las características de los ensambles de digeneos larvales se calculó, 1) el número de especies de digeneos que utilizan a *H. parchappii* como primer o segundo hospedador intermediario o como hospedador definitivo; 2) el número y las combinaciones de infestaciones múltiples, así como la frecuencia de ocurrencia de estas infestaciones en cada estación y, 3) el porcentaje de especies de digeneos que utilizan aves, mamíferos, peces, anfibios o reptiles como hospedadores definitivos (a fin de estimar la contribución de cada grupo de vertebrados a los ciclos de vida de los digeneos).

Con el objeto de comparar la dinámica temporal de los ensambles de digeneos larvales de *H. parchappii* en las lagunas de los Padres y La Brava, se calcularon los siguientes índices: a) la prevalencia (número de hospedadores parasitados/número total de hospedadores examinados) (Margolis *et al.*, 1982) este índice se calculó para cada réplica; b) la riqueza específica promedio (suma de la riqueza específica de cada réplica/ número total de réplica).

Para cada laguna, el estudio de la dinámica temporal de la prevalencia se realizó mediante

análisis de la covarianza (ANCOVA), utilizando a la talla de los caracoles como covariable. Mientras que, la comparación estacional de la riqueza específica promedio, se realizó por medio de análisis de la varianza (ANOVA). Cuando los análisis (ANCOVAs y ANOVAs) detectaron diferencias significativas, los valores de prevalencia y riqueza específica promedio fueron comparados con la prueba de Tukey. En todos los casos se verificó que se cumplieran los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas.

Para conocer si existe relación entre los factores abióticos (temperatura y altura de la columna del agua) y la prevalencia, así como entre la densidad de caracoles y la prevalencia, se realizaron análisis de correlación de Pearson.

### 6.3. Resultados

#### 6.3.1. Dinámica temporal de los ensamblajes de los digeneos larvales en la Laguna de los Padres

En la Laguna de los Padres se examinaron 1.200 ejemplares de *H. parchappii*, hallándose en 13 especies de digeneos, pertenecientes a 11 familias (Tabla 4.1). Estas especies de digeneos utilizaron principalmente a *H. parchappii* como primer hospedador intermediario (92,31%), mientras que el 7,69% utilizó a este gasterópodo como primer y segundo hospedador intermediario. No se registraron infestaciones múltiples a lo largo del estudio.

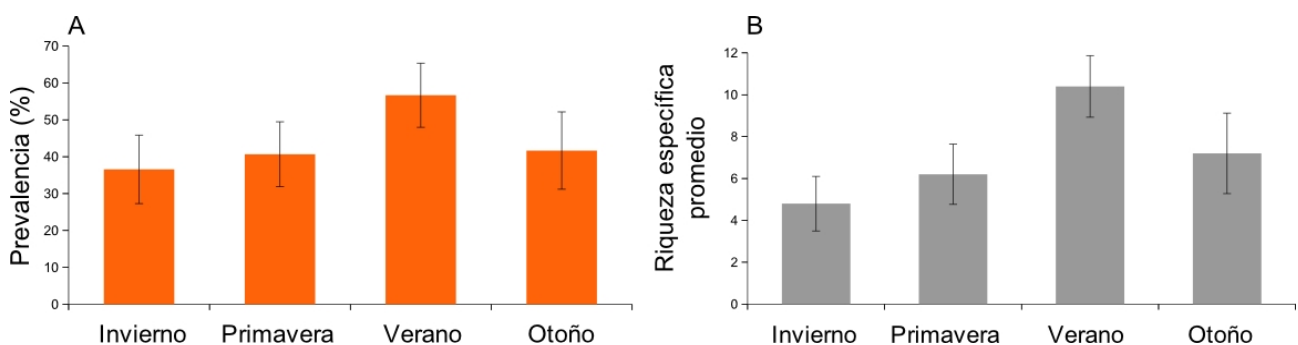
El espectro de hospedadores definitivos que contribuirían a conformar los ensamblajes de digeneos larvales en *H. parchappii* estuvo conformado por las aves y los mamíferos con una contribución del 58,33%, seguidos por aves, mamíferos y peces 16,67% y peces con un 16,37% y por los peces, reptiles y anfibios con un 8,33%. Estos porcentajes, sin embargo, podrían modificarse en algunos casos debido, fundamentalmente, al desconocimiento de los ciclos de vida de los digeneos en la laguna.

La comparación de la prevalencia realizada mediante el análisis de la covarianza

(ANCOVA) reveló que la covariable (talla de *H. parchappii*) posee un efecto significativo sobre la variable en estudio (prevalencia) ( $F_{1;15}= 4,81$ ;  $P<0,05$ ) y, una vez realizado el ajuste de la prevalencia debido al efecto de la talla, no existieron diferencias significativas entre las estaciones del año ( $F_{3;15}=1,93$ ;  $P=0,17$ ) (Fig 6.1 A).

El análisis de la varianza (ANOVA) reveló diferencias significativas de las riquezas específicas promedio entre las estaciones del año ( $F_{3;16}=10,89$ ;  $P<0,05$ ). El análisis de a pares realizado posteriormente, reveló que el verano fue la estación con mayor número de especies (10,4), siendo estadísticamente diferente a las tres estaciones restantes ( $P<0,05$ ; para todos los casos). Las estaciones invierno, primavera y otoño no fueron diferentes entre sí ( $P>0,05$ ; para todos los casos) (Fig 6.1 B).

Los análisis de correlación realizados entre las variables abióticas (temperatura y altura de la columna de agua) y la prevalencia, así como la correlación entre la densidad de caracoles y la prevalencia no revelaron relaciones significativas entre algunas de ellas (temperatura vs prevalencia:  $R=0,41$ ;  $P=0,07$ ; altura columna de agua vs prevalencia:  $R=0,05$ ;  $P=0,84$ ; densidad gasterópodos vs prevalencia:  $R=-0,14$ ;  $P=0,51$  )



**Fig 6.1.** Valores estacionales de la prevalencia ( $\pm$  desvío estándar) (A) y riqueza específica promedio ( $\pm$  desvío estándar) (B) de los digeneos larvales que parasitan a *Heleobia parchappii* en la Laguna de los Padres.

### 6.3.2. Dinámica temporal de los ensambles de digeneos larvales en la Laguna La Brava

En la Laguna La Brava se examinaron 1.200 ejemplares de *H. parchappii*, en los cuales se halló un total de doce especies de digeneos, pertenecientes a nueve familias (Tabla 4.1). El 83,33% de las especies de digeneos halladas utilizan a *H. parchappii* como primer hospedador intermediario, mientras que el 8,33% utiliza a este gasterópodo como primer y segundo hospedador intermediario y el 8,33% restante lo utiliza como hospedador definitivo.

Las infestaciones múltiples estuvieron representadas por nueve infestaciones dobles a lo largo del año, representando el 2,31% de las infestaciones totales registradas. De las 66 combinaciones de especies de digeneos para posibles infestaciones dobles, solamente se registraron tres, siendo la combinación C21 + C30 la que tuvo mayor frecuencia (Tabla 6.1).

Infestaciones Múltiples	Invierno	Primavera	Verano	Otoño	Total
C21 + C30	0	0	3	4	7
C20 + C31	1	0	0	0	1
C27 + C28	0	1	0	0	1
Total	1	1	3	4	9

**Tabla 6.1.** Número estacional y total de infestaciones múltiples de digeneos en *Heleobia parchappii* en la Laguna La Brava. Las abreviaturas utilizadas se indican en la Tabla 4.1.

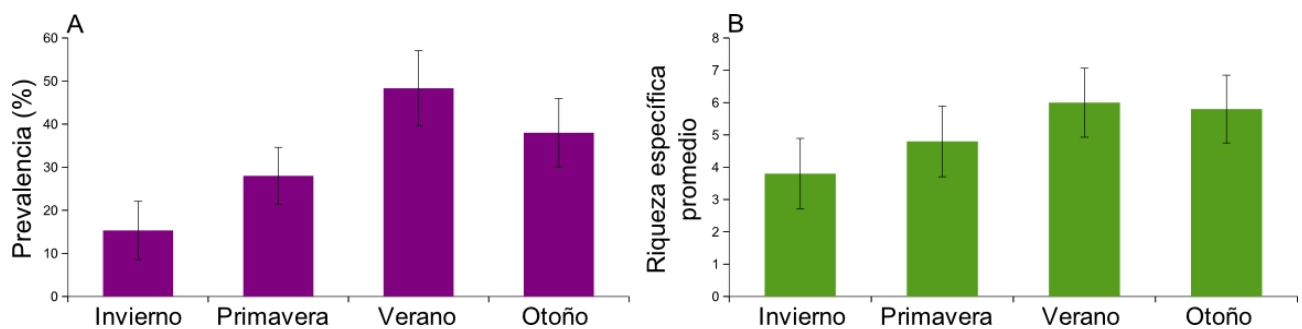
El espectro de hospedadores definitivos que contribuirían a conformar los ensambles de digeneos larvales en *H. parchappii* estuvo conformado por: las aves y los mamíferos con una contribución del 66,67%, seguidos por los peces con un 16,66% y por los peces, reptiles y anfibios, con un 8,33%. Como se mencionó anteriormente, estos porcentajes podrían modificarse debido al desconocimiento de los ciclos de vida de los digeneos en la laguna.

El estudio de la variación de la prevalencia mediante el análisis de la covarianza (ANCOVA) reveló que la covariable (talla de *H. parchappii*) no tiene un efecto significativo sobre la variable en estudio ( $F_{1,15}=0,05$ ;  $P=0,83$ ). Asimismo, este análisis reveló la existencia de heterogeneidad

temporal en la prevalencia ( $F_{3;15}=9,99$ ;  $P<0,05$ ). La prueba de Tukey detectó diferencias significativas entre: verano-primavera, verano-invierno y otoño-invierno ( $P<0,05$ ; para todos los casos) (Fig 6.2 A).

El análisis de la varianza (ANOVA) no reveló diferencias significativas de la riqueza específica promedio entre las estaciones del año ( $F_{3;16}=2,14$ ;  $P=0,13$ ) (Fig 6.2 B).

Los análisis de correlación realizados entre las variables abióticas (temperatura y altura de la columna de agua) y la prevalencia no evidenciaron relaciones significativas entre algunas de ellas (temperatura vs prevalencia:  $R=0,39$ ;  $P=0,08$ ; altura columna de agua vs prevalencia:  $R=-0,21$ ;  $P=0,37$ ). Por el contrario, la densidad de gasterópodos mostró una correlación positiva con la prevalencia total ( $R=0,64$ ;  $P<0,01$ ).



**Fig 6.2.** Valores estacionales de la prevalencia ( $\pm$  desvío estándar) (A) y de la riqueza específica promedio ( $\pm$  desvío estándar) (B) de los digeneos larvales que parasitan a *Heleobia parchappii* en la Laguna La Brava.

## 6.4. Discusión

### 6.4.1. Dinámica temporal de los ensambles de los digeneos larvales en la Laguna de los Padres

La dinámica temporal de la prevalencia y de la riqueza específica promedio de los ensambles de digeneos larvales, en la Laguna de los Padres, presentaron resultados antagónicos. Por

un lado, los valores de prevalencia se mantuvieron constantes a lo largo del año, no presentando la heterogeneidad temporal característica de los ensamblajes de digeneos larvales. Mientras que, la riqueza específica promedio a lo largo del año, presentó variabilidad temporal, aumentando en las estaciones de clima cálido.

La ausencia de heterogeneidad temporal de los ensamblajes de digeneos larvales es una característica atribuida a los sistemas molusco-digeneo en ambientes tropicales y/o a aquellos en que la especie de caracol interviniente presenta un ciclo de vida longevo (Rhode, 1981; Sousa, 1993; Fernández & Esch, 1994). Estas características no se adecuan al sistema conformado por los digeneos y el gasterópodo *H. parchappii* en esta laguna, por lo tanto no explicaría la dinámica temporal observada. Como se mencionó en el capítulo anterior, la estructura de los ensamblajes de digeneos larvales en el primer hospedador intermediario depende de múltiples procesos, tanto ecológicos como evolutivos. Estos procesos interactúan, también, con los factores ambientales, con las características propias de todos los hospedadores involucrados en los ciclos de vida de los digeneos y con distintos aspectos de las especies de parásitos involucradas. Sin embargo, los posibles factores estructuradores de los ensamblajes de digeneos larvales analizados (temperatura, altura de la columna del agua y densidad de caracoles) no presentaron ningún tipo de relación con la prevalencia. Además, en la Laguna de los Padres existen patrones estacionales de riqueza y abundancia de aves (principal grupo de vertebrados que actúa como hospedadores definitivos para los digeneos) (Josens, 2011). Dichos patrones no coinciden con la ausencia de fluctuaciones estacionales de los valores de prevalencia de los digeneos larvales en *H. parchappii*. Nuevamente, estos factores no permiten explicar la ausencia de heterogeneidad temporal observada en este ambiente.

Los ensamblajes parasitarios en moluscos, también están influenciados por los disturbios ambientales debidos a las actividades humanas (Kuris & Lafferty, 1994; Keas & Blankespoor, 1997; Huspeni & Lafferty, 2004). La Laguna de los Padres presenta un uso recreacional durante todo el

año, intensificándose en primavera y verano. En estas estaciones se estimó que la laguna puede ser visitada por unas 10.000 personas en un solo día (Cardoni *et al.*, 2008). Las actividades recreativas, realizadas por estos visitantes, afectan a las comunidades de aves que utilizan las aguas poco profundas y las orillas para alimentarse (i.e., Rallidae, Anatidae y Ardeidae), reduciendo la abundancia y el tiempo que estas pasan en la costa (Cardoni *et al.*, 2008). Por lo tanto, la presencia de visitantes en la orilla de la laguna (hábitat de *H. parchappii*), podría actuar como una barrera para el parásito, impidiendo que el hospedador definitivo y el hospedador intermediario se solapen en el ambiente, reduciendo la probabilidad de contacto entre el estadio infestante del parásito y su primer hospedador intermediario.

Como se mencionó anteriormente, el número de especies que parasitan a *H. parchappii* varió a lo largo del año, aumentando hacia el verano. Estas fluctuaciones estacionales se correspondieron principalmente con el patrón temporal de la diversidad de aves en el ambiente, dado que la riqueza específica de este grupo de vertebrados varió entre las estaciones de verano e invierno, contabilizándose un total de 53 y 11 especies de aves respectivamente (Josens, 2011).

#### 6.4.2. Variación temporal de los ensambles de los digeneos larvales en la Laguna Brava

La dinámica temporal de la prevalencia y la riqueza específica promedio de los ensambles de digeneos larvales en la Laguna La Brava, nuevamente, presentaron resultados antagónicos. Por un lado, los valores de prevalencia presentaron heterogeneidad temporal. Mientras que, el número de especies halladas a lo largo del año, no presentó variabilidad, manteniéndose constante.

La heterogeneidad temporal de la prevalencia es una característica común de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a los gasterópodos del género *Heleobia* (ver Capítulo V; Etchegoin, 1997; Alda, 2011; Merlo & Etchegoin, 2011; Parietti, 2011). Como se mencionó en el capítulo anterior, se han sugerido cuatro factores principales como responsable de las fluctuaciones estacionales de la infestación por digeneos en el primer hospedador intermediario: 1) cambios de las

variables ambientales, 2) historia de vida del caracol (primer hospedador intermediario), 3) la biología de los hospedadores definitivos y, 4) disturbios ambientales causados por el hombre. De los posibles factores estructuradores de los ensambles de digeneos larvales analizados (temperatura, altura de la columna del agua y densidad de caracoles) solamente la densidad de caracoles presentó una correlación positiva con la prevalencia. Además, en la Laguna La Brava existen variaciones de la riqueza y abundancia de aves entre el verano y el invierno (Josens, 2011). Estas variaciones coinciden con las fluctuaciones estacionales de los valores de prevalencia de los digeneos larvales en *H. parchappii*. Por último, esta laguna también posee un uso recreacional, con actividades relacionadas a la pesca y a los deportes náuticos. Sin embargo, la cantidad de visitantes es menor a la de la Laguna de los Padres, no existiendo un registro del número de visitantes que se acercan a la laguna. Además del menor número de visitantes, la estructura de sus costas (ver caracterización del área de estudio) y la existencia de zonas a las cuales los visitantes no tienen acceso, permiten suponer que el impacto producido por el hombre es menor que en la Laguna de los Padres. Sin embargo, la variabilidad temporal no puede ser asignada a un único factor y se debe a la interacción de todos ellos.

Contrariamente a la dinámica temporal de la prevalencia, la riqueza específica promedio de digeneos parásitos de *H. parchappii* en la Laguna La Brava se mantuvo constante a lo largo del año. Este resultado no es coincidente con lo hallado en la Laguna Nahuel Rucá (ver Capítulo V) ni en la Laguna de los Padres. Además, teniendo en cuenta que la heterogeneidad temporal del número de especies parásitas de los gasterópodos está asociada a la presencia de los hospedadores definitivos y, dado que Josens (2011) halló una variación en el número de especies de aves entre las estaciones cálidas y frías, el resultado obtenido para la riqueza es inesperado. La homogeneidad de la riqueza específica en el tiempo podría deberse en parte a la competencia interespecífica de digeneos en el primer hospedador intermediario, la cual podría impedir que se instalen otras especies. Las infestaciones múltiples representaron el 2,31% de las infestaciones totales, y su frecuencia aumentó

hacia el verano. Este valor es similar a los hallados en los ensambles de digeneos larvales de la Laguna Nahuel Rucá (ver Capítulo V) y en el estuario de Bahía Blanca (provincia de Buenos Aires) para *H. australis* (Alda, 2011), en los cuales se consideran que la competencia interespecífica puede estar estructurando los ensambles de digeneos larvales.

La heterogeneidad temporal es una característica común de los sistemas molusco-digeneo, sin embargo, en base a los resultados obtenidos en el capítulo anterior y en el presente, la dinámicas de esta heterogeneidad temporal pueden variar al estudiar diferentes ensambles de digeneos larvales en diferentes ambientes lénticos, aún cuando el primer hospedador intermediario sea el mismo. Como consecuencia, para poder determinar qué procesos (ecológicos y/o evolutivos) y qué factores (ambientales, biológicos, etc) estructuran los ensambles de digeneos larvales y además, para determinar la utilización de los digeneos en el primer hospedador intermediario como indicadores de fluctuaciones ambientales, es imprescindible estudiar la dinámica temporal inherente a dichos ensambles en cada ambiente.

Capítulo VII  
Variación espacial de los ensambles de  
digeneos larvales que parasitan a *Heleobia*  
*parchappii*

## 7.1. Introducción

La necesidad de conservar o restaurar ambientes en el marco del cambio climático global ha impulsado a los investigadores a realizar estudios que permitan desarrollar estrategias apropiadas para la conservación y el uso sustentable de la biodiversidad. Sin embargo, dichos estudios no incluyen con frecuencia a los parásitos, a pesar de su importancia numérica, ecológica, económica y médica (De Meeûs & Renaud, 2002; De Meeûs *et al.*, 2003; Poulin & Morand, 2004; Loreau *et al.*, 2005; Bartoli & Boudouresque, 2007).

En la mayoría de los estudios se considera a la diversidad específica, estimada generalmente a través de la riqueza específica, como referente de la biodiversidad (Poulin & Morand, 2004). La evaluación de la biodiversidad se puede realizar desde distintas perspectivas, siendo una de ellas la relativa a los patrones de distribución espacial de los seres vivos. Tradicionalmente, se reconocen tres componentes de la diversidad específica: 1) la diversidad alfa ( $\alpha$ ) que representa el número de especies presentes en un lugar o diversidad local; 2) la diversidad beta ( $\beta$ ) que expresa el recambio o reemplazo (*turnover*) de especies entre dos o más áreas y 3) la diversidad gamma ( $\gamma$ ) que representa el número de especies a escala regional (Whittaker, 1960; 1976; Whittaker *et al.*, 2001; Halffter & Moreno, 2005; Koleff, 2005). Los tres componentes de la diversidad, mencionados previamente, se hallan interrelacionados de modo tal que si se logra una correcta cuantificación de la diversidad local ( $\alpha$ ) y de la variación de especies en entre zonas (diversidad  $\beta$ ) y se identifican los factores bióticos y abióticos que determinan dichas diversidades, se podrá llegar a definir el panorama de la diversidad regional ( $\gamma$ ) o del *pool* regional de especies (Halffter & Moreno, 2005; Koleff, 2005).

Los estudios sobre diversidad regional o global se basan principalmente en el estudio de la riqueza específica de comunidades (o ensamblajes) de vertebrados e invertebrados de vida libre así como de vegetales. En lo que se refiere a los parásitos la situación es totalmente distinta y, en algunos puntos, contradictoria. Uno de los aspectos explorados por la parasitología refiere a uno de

los patrones globales de biodiversidad, el gradiente latitudinal. Como regla general, se supone que la riqueza de especies es mayor en los trópicos que en latitudes más altas. Sin embargo, no todos los ensambles parasitarios han respondido a dicha regla (Poulin, 2010a). Otro de los aspectos explorados por la parasitología está relacionado con la primer ley de la geografía: “la similitud entre dos puntos disminuye a medida que se incrementa la distancia entre ellos”. En términos ecológicos, podría expresarse como: “la diversidad ( $\beta$ ) entre dos puntos debería incrementarse a medida que aumenta la distancia espacial entre los mismos” (Rocchini, 2007). El recambio espacial de especies, diversidad ( $\beta$ ), induce entonces una disminución en la similitud de ensambles a lo largo de una distancias geográfica (fenómeno conocido como relación distancia-disminución o *distance-decay relationship*) (Morlon *et al.*, 2008). Los estudios parasitológicos asociados con éste tema incluyen a los vertebrados y, en menor medida, a los invertebrados como hospedadores (por ejemplo: Poulin, 2003; 2010b; Thieltges *et al.*, 2009a; Timi *et al.*, 2010).

Los capítulos V y VI de esta tesis se basaron en el estudio de la diversidad local ( $\alpha$ ) y en la identificación de los factores que determinan dicha diversidad. Y, como se mencionó previamente, para lograr definir el panorama de la diversidad regional, se necesita comprender la variación de especies entre zonas (diversidad  $\beta$ ), por lo tanto para el presente capítulo se plantearon los siguientes objetivos.

1. Analizar la variabilidad espacial de la prevalencia y riqueza específica de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *Heleobia parchappii* en las lagunas Nahuel Rucá, de los Padres y La Brava.
2. Determinar si la similitud en la composición de especies de los ensambles de digeneos larvales de *H. parchappii* tiende a decaer con el aumento de la distancia espacial.

## 7.2. Materiales y Métodos

### 7.2.1. Heterogeneidad espacial

Para llevar a cabo los análisis estadísticos planteados en este capítulo, se utilizaron los datos estacionales de los ensambles de digeneos larvales en *H. parchappii*, relevados en los Capítulos V y VI. Para igualar el número de muestras obtenidas en cada laguna, de los datos obtenidos para la Laguna Nahuel Rucá (Capítulo V), solamente se utilizaron los valores estacionales del primer año de muestreo, correspondientes al mismo año y periodo que los datos obtenidos para las lagunas de los Padres y La Brava.

La prevalencia anual fue comparada entre las lagunas mediante análisis de la covarianza (ANCOVA), utilizándose la talla de los caracoles como covariable. La prevalencia anual en cada laguna fue calculada como el promedio de la prevalencia de cada una de las muestras analizadas durante todo el año.

Debido a que cada laguna presentó una dinámica temporal diferente de la prevalencia y la riqueza específica promedio (ver Capítulos V y VI), se decidió analizar la heterogeneidad espacial de ambos índices para cada estación del año. El análisis de las prevalencias entre las lagunas se realizó mediante el análisis de la covarianza (ANCOVA), utilizándose nuevamente la talla de *H. parchappii* como covariable. La heterogeneidad espacial de la riqueza específica promedio se analizó mediante análisis de la varianza (ANOVA). En los análisis ANCOVAs y ANOVAs que arrojaron diferencias significativas, los valores de prevalencia y riqueza se compararon mediante la prueba de Tukey. En todos los casos se verificó que se cumplieran los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas.

Las variables ambientales (temperatura y altura de la columna de agua) y la densidad de los caracoles fueron comparadas entre las lagunas mediante análisis de la varianza (ANOVA).

### 7.2.2. Biodiversidad

La similitud en la composición de especies entre los ensambles de digeneos larvales se calculó mediante el índice de similitud de Jaccard. Se utilizó este índice dada su simpleza en los

cálculos, para los cuales se necesitan los datos de presencia-ausencia de especies, y además porque fue utilizado previamente en numerosos estudios sobre la variación de la composición de especies y por lo tanto se pueden realizar comparaciones entre los mismos. Este índice se calculó, dentro de cada estación, para todas las posibles combinaciones, de a pares, de las distintas réplicas de cada laguna. Posteriormente, se agruparon todos estos datos para determinar si el patrón de variación de la diversidad es dependiente o no de la época del año.

La determinación de la tasa de variación de la similitud de la composición de especies en función de la distancia geográfica se realizó mediante un análisis de regresión lineal. Sin embargo, debido a que estas medidas no son totalmente independientes (se utilizaron los mismos valores de similitud más de una vez), se evaluó mediante técnicas de permutación, empleando el programa estadístico Resampling (Howell, 2000), si la asociación (positiva o negativa) es más robusta de lo que cabría esperar por puro azar.

En base a la ecuación de regresión obtenida para los análisis realizados en cada estación y para el total de los datos, se calculó la distancia media (*halving distance*) necesaria para que la similitud decaiga a la mitad de la similitud inicial. La distancia media se calculó según la siguiente fórmula: (valor de la pendiente de la recta de regresión - valor de la ordenada al origen de la recta de regresión)/(2 x valor de la pendiente de la recta de regresión) (Soininen *et al.*, 2007). La similitud inicial se obtiene del valor de la ordenada al origen de la recta de regresión.

La distancia geográfica entre las lagunas fue calculada utilizando la función de medición del Google Earth, para la medición se consideró las coordenadas geográficas mencionadas en el Capítulo I.

## 7.3. Resultados

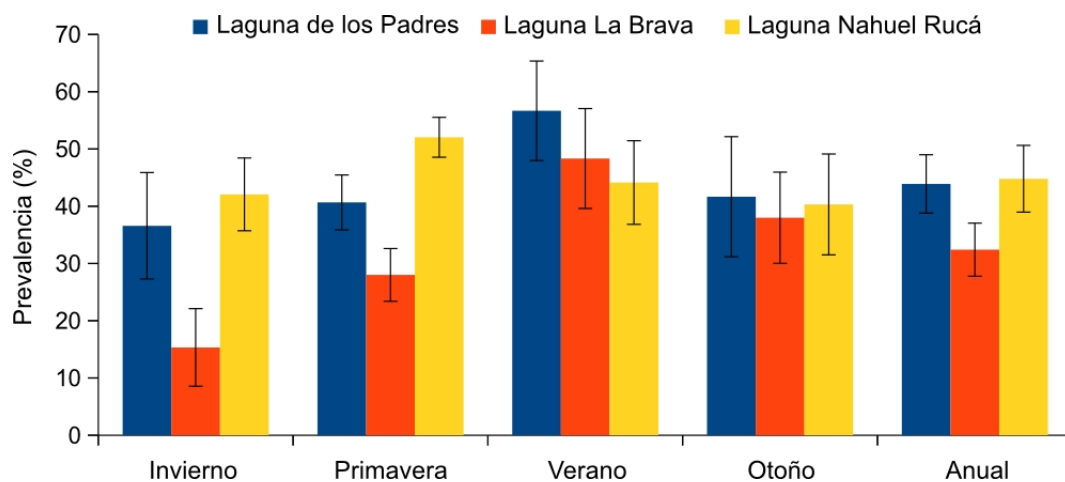
### 7.3.1. Variabilidad espacial de los ensamblajes de digeneos larvales

El estudio de la prevalencia anual realizado mediante el análisis de covarianza (ANCOVA)

reveló un efecto de la talla (covariable) sobre la prevalencia anual ( $F_{1,56}=16,26$ ;  $P<0,01$ ). Luego del ajuste de la prevalencia anual realizado por el programa estadístico, a fin de compensar el efecto de la talla del hospedador, se hallaron diferencias significativas entre las lagunas estudiadas ( $F_{2,56}=9,99$ ;  $P<0,01$ ). El análisis de a pares reveló que la Laguna Nahuel Rucá presentó el mayor valor de prevalencia, el cual fue significativamente diferente a los valores de las lagunas de los Padres y La Brava ( $P<0,01$ ; para ambos casos). Las laguna de los Padres y La Brava no presentaron diferencias significativas entre sí ( $P>0,05$ ) (Fig 7.1).

El estudio estacional de la variación de la prevalencia mediante el análisis de la covarianza (ANCOVA) presentó resultados dispares para cada estación (Fig 7.1):

- Invierno: los valores de prevalencia fueron estadísticamente diferente entre las lagunas ( $F_{2,11}=6,45$ ;  $P<0,05$ ), la talla de los caracoles no tuvo un efecto significativo sobre esta variable ( $F_{1,11}=2,87$ ;  $P=1,12$ ). La prevalencia de las lagunas Nahuel Rucá y de los Padres fueron similares entre sí ( $P>0,05$ ), mientras que, la prevalencia registrada en la Laguna La Brava fue significativamente diferente a los valores de las otras dos lagunas ( $P<0,05$ ; para ambos casos).
- Primavera: la comparación de la prevalencia reveló diferencias entre las lagunas ( $F_{2,11}=41,4$ ;  $P<0,01$ ), aunque no se observó un efecto de la talla de los caracoles ( $F_{1,11}=1,99$ ;  $P=1,18$ ). El análisis de a pares realizado posteriormente arrojó diferencias significativas entre las lagunas Nahuel Rucá - de los Padres, Nahuel Rucá - La Brava, de los Padres - La Brava ( $P<0,05$ ; en todos los casos).
- Verano y otoño: el análisis de la prevalencia en ambas estaciones no reveló diferencias significativas (verano:  $F_{2,11}=0,33$ ;  $P=0,72$ ; otoño:  $F_{2,11}=1,65$ ;  $P=0,23$ ). El otoño fue la única estación en que se observó un efecto de la talla sobre la prevalencia (verano:  $F_{1,11}=0,07$ ;  $P=0,79$ ; otoño:  $F_{1,11}=5,47$ ;  $P<0,05$ ).



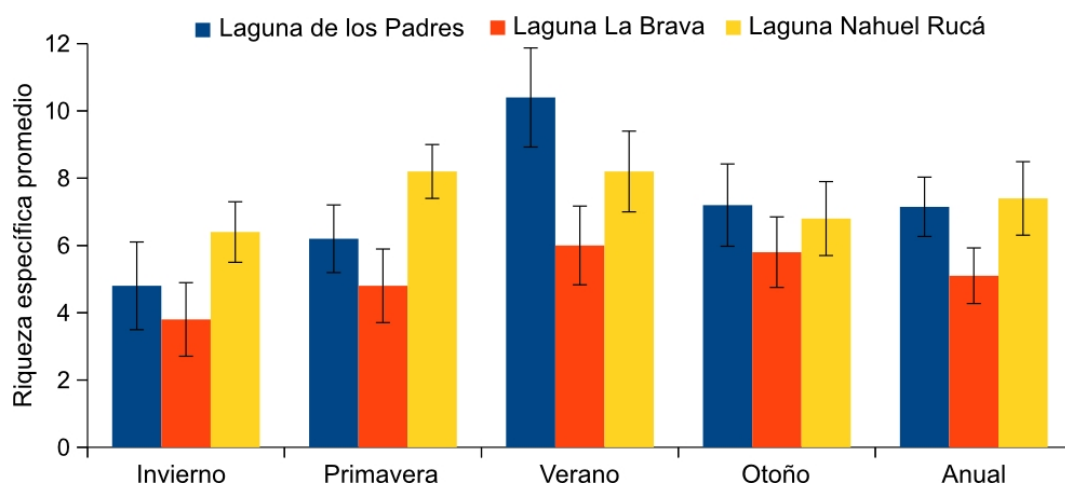
**Fig 7.1.** Valores estacionales y anuales de la prevalencia ( $\pm$  desvío estándar) de los digeneos larvales que parasitan a *Heleobia parchappii* en las lagunas de los Padres, La Brava y Nahuel Rucá.

El análisis de la varianza (ANOVA) de la riqueza específica promedio anual reveló diferencias significativas ( $F_{2,57}=8,36$ ;  $P<0,01$ ). La comparación posterior de a pares mostró que el número de especies de digeneos hallados en las lagunas de los Padres y Nahuel Rucá fueron significativamente diferente a los encontrados en la Laguna La Brava ( $P<0,05$ ; en ambos casos) (Fig 7.2).

El estudio estacional de la variación de la riqueza específica promedio entre lagunas, realizado mediante el análisis de la varianza (ANOVA) presentó resultados diferentes dentro de cada estación del año (Fig 7.2):

- Invierno: la riqueza fue estadísticamente diferente ( $F_{2,12}=6,97$ ;  $P<0,05$ ). Las lagunas Nahuel Rucá y de los Padres presentaron un número de especies similares entre sí ( $P>0,05$ ). Un resultado similar se obtuvo entre las lagunas de los Padres y La Brava ( $P>0,05$ ). Contrariamente, la Laguna Nahuel Rucá presentó mayor riqueza que la Laguna La Brava ( $P<0,05$ ).
- Primavera: nuevamente, la riqueza de especies entre lagunas fue estadísticamente diferente ( $F_{2,12}=12,17$ ;  $P<0,05$ ). La Laguna Nahuel Rucá presentó mayor número de especies que las lagunas de los Padres y La Brava ( $P<0,05$ ; en ambos casos).

- Verano: al igual que en el invierno y la primavera, el número de especies varió entre lagunas ( $F_{2,12}=9,07$ ;  $P<0,05$ ). La riqueza específica hallada en la Laguna Nahuel Rucá fue similar a la hallada en las lagunas de los Padres y La Brava ( $P>0,05$ ; en ambos casos). Mientras que, el número de especies hallados en la Laguna de los Padres fue mayor que el hallado en la Laguna La Brava ( $P<0,05$ ).
- Otoño: contrariamente a lo observado para las otras estaciones, el número de especies halladas entre las lagunas fue similar ( $F_{2,12}=0,74$ ;  $P=0,49$ ).



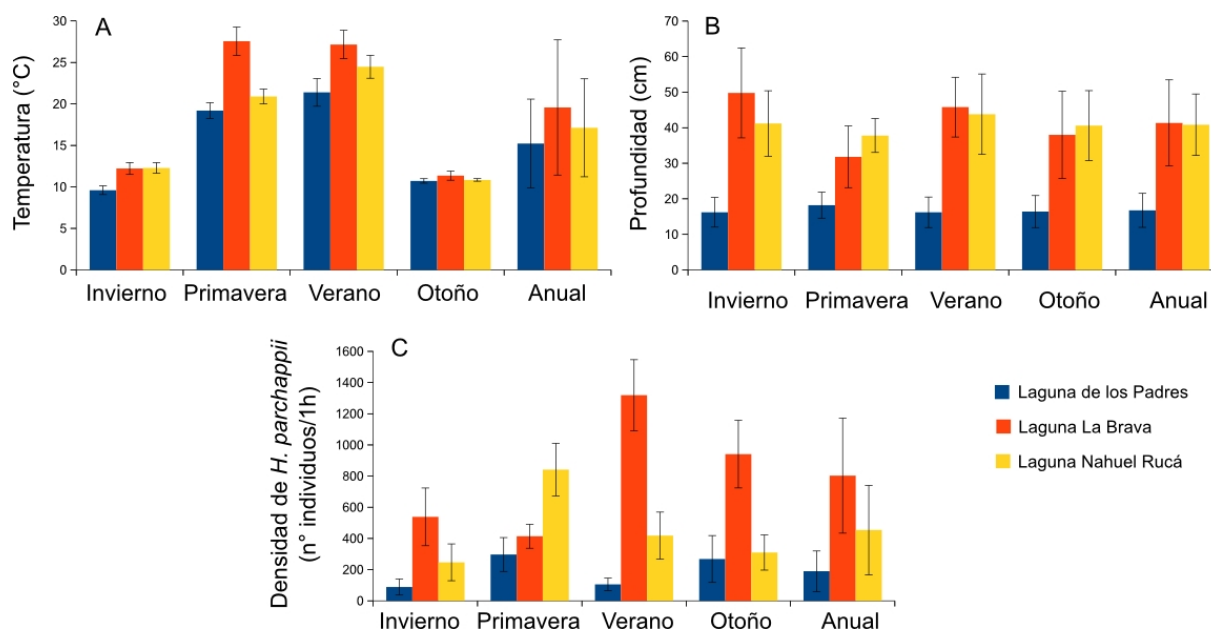
**Fig 7.2.** Valores estacionales y anuales de la riqueza específica promedio ( $\pm$  desvío estándar) de los digeneos larvales que parasitan a *Heleobia parchappii* en las lagunas de los Padres, La Brava y Nahuel Rucá.

El análisis de la varianza (ANOVA) reveló que la temperatura promedio anual del agua de las lagunas estudiadas son similares entre sí ( $F_{2,57}=2,19$ ;  $P=0,12$ ). Sin embargo, la temperatura del agua varió entre las lagunas, cuando fue analizada para cada estación (Tabla 7.1). Por otro lado, la altura de la columna de agua y la densidad de caracoles anuales presentaron diferencias significativas entre las lagunas (altura columna de agua:  $F_{2,57}=52,75$ ;  $P<0,01$ ; densidad de caracoles  $F_{2,57}=17,78$ ;  $P<0,01$ ). Al igual que lo ocurrido con la temperatura del agua, el análisis de la varianza

para estas variables, dentro de cada estación reveló diferencias significativas (Tabla 7.1; Fig 7.3)

Variable	Estación	Nahuel Rucá vs de los Padres	Nahuel Rucá vs La Brava	de los Padres vs La Brava
Temperatura	Invierno	P<0,01	Ns	P<0,01
	Primavera	Ns	P<0,01	P<0,01
	Verano	P<0,01	Ns	P<0,01
	Otoño	Ns	Ns	Ns
Profundidad	Invierno	P<0,01	Ns	P<0,01
	Primavera	P<0,01	Ns	P<0,01
	Verano	P<0,01	Ns	P<0,01
	Otoño	P<0,01	Ns	P<0,01
Densidad	Invierno	Ns	Ns	P<0,01
	Primavera	P<0,01	P<0,01	Ns
	Verano	Ns	P<0,01	P<0,01
	Otoño	Ns	P<0,01	P<0,01

**Tabla 7.1.** Prueba de Tuckey. Comparación de las variables ambientales (temperatura y profundidad del agua) y la densidad de individuos de *Heleobia parchappii*, entre las lagunas estudiadas. Ns (no significativo).



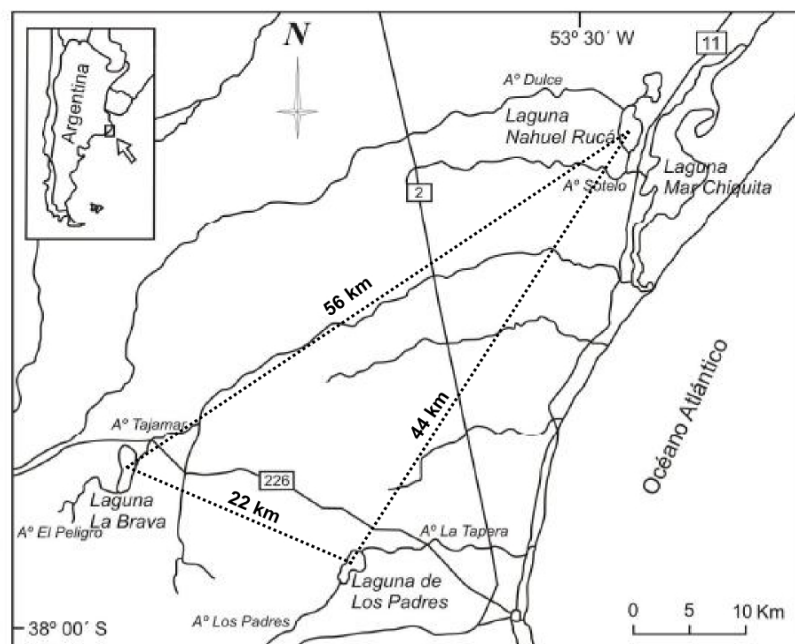
**Fig 7.3.** Valores estacionales de la temperatura (°C), profundidad (cm) y densidad de individuos de *Heleobia parchappii* ( $\pm$  desvío estándar) en las lagunas de los Padres, La Brava y Nahuel Rucá.

### 7.3.2. Similitud en la composición de los ensamblajes de digeneos larvales y la distancia

geográfica

La distancia geográfica calculada mediante la función de medición del Google Earth arrojó los siguientes resultados: Nahuel Rucá - de los Padres 44 km, Nahuel Rucá - La Brava 56 km y de los Padres - La Brava 22km (Fig 7.4).

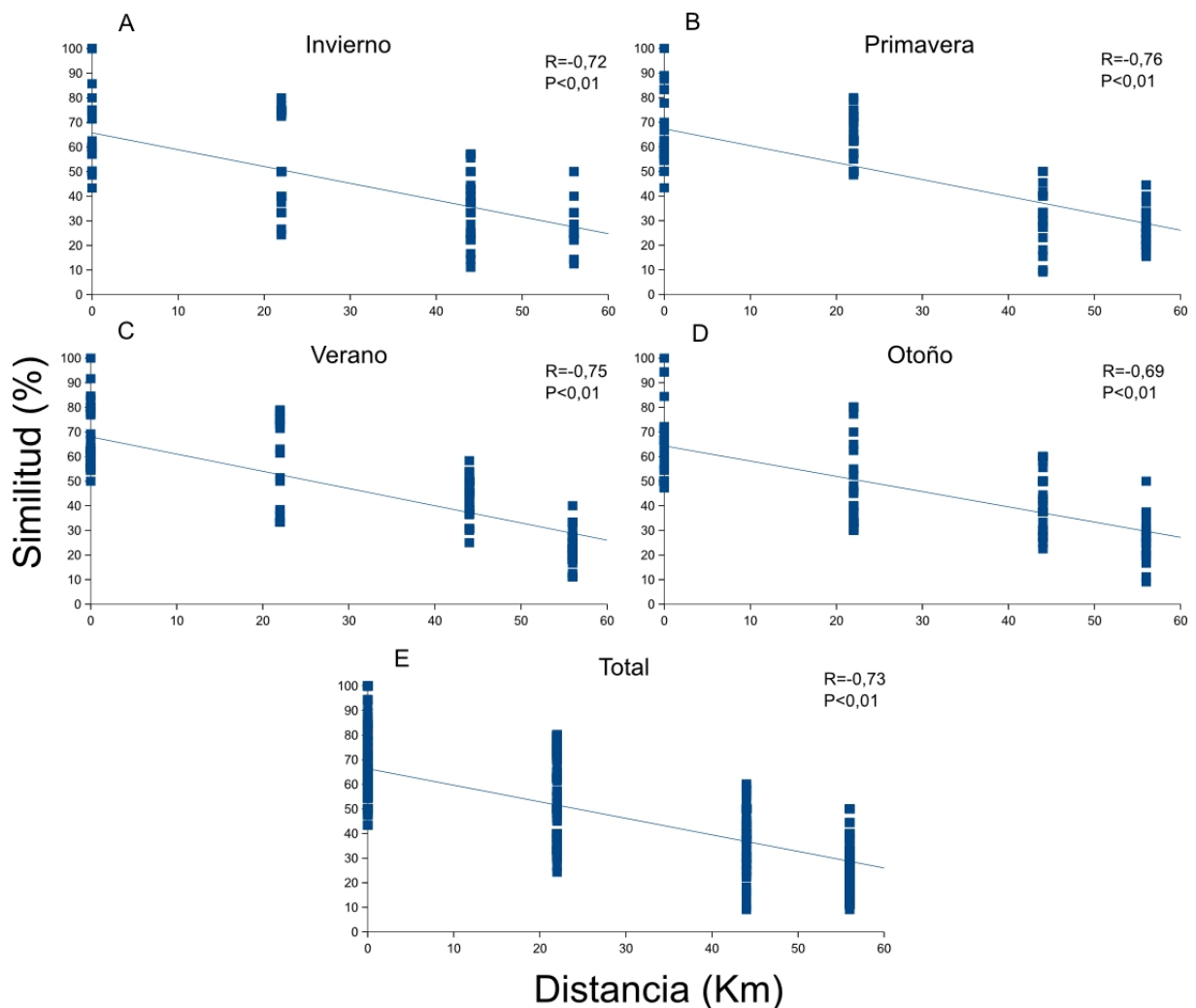
Los análisis de regresión lineal revelaron que la similitud de los ensambles de digeneos larvales disminuye con el aumento de la distancia geográfica de las comunidades de *H. parchappii*. Esta relación negativa se observó en las cuatro estaciones del año y cuando se utilizaron como un único set de datos (Tabla 7.2; Fig 7.5). En todos los casos, la asociación negativa entre similitud y distancia fue más robusta de lo que cabría esperar por puro azar. La similitud inicial de los ensambles de digeneos larvales y la distancia geográfica necesaria para que dicha similitud descienda al 50%, se mantuvo constante entre las cuatro estaciones (Tabla 7.2).



**Fig 7.4.** Localización de las tres lagunas en estudio (Nahuel Rucá, de Los Padres y La Brava) indicando la distancia geográfica entre ellas.

Estación	Ecuación de regresión	P	R <sup>2</sup>	Similitud Inicial (%)	Distancia Media (Km)
Invierno	Sim = -0,68 D + 65,76	<0,01	0,52	65,76	48,85
Primavera	Sim = -0,68 D + 67,33	<0,01	0,58	67,33	50,00
Verano	Sim = -0,70 D + 68,02	<0,01	0,57	68,02	49,08
Otoño	Sim = -0,62 D + 64,37	<0,01	0,48	64,37	52,41
Total	Sim = -0,67 D + 66,37	<0,01	0,54	66,37	50,03

**Tabla 7.2.** Relación entre la similitud de los ensambles de los digeneos larvales (Sim) en *Heleobia parchappii* y la distancia geográfica (D). Coeficiente de regresión (R<sup>2</sup>).



**Fig 7.5.** Relación total y estacional entre la similitud de los ensambles de los digeneos larvales que parasitan a *Heleobia parchappii* y la distancia geográfica entre lagunas. Coeficiente de correlación (R).

## 7.4. Discusión

### 7.4.1. Variabilidad espacial de los ensambles de digeneos larvales

La prevalencia y la riqueza específica promedio de los ensambles de digeneos larvales en *H. parchappii* presentaron heterogeneidad espacial entre las lagunas Nahuel Rucá, de los Padres y La Brava. Esta variabilidad, mencionada en numerosos estudios previos, ha sido relacionada con la heterogeneidad de las características del ambiente donde se encuentran los hospedadores y, principalmente, con la distribución heterogénea de los hospedadores definitivos (ver: Kuris, 1990; Kuris & Lafferty, 1994; Galaktionov, 1996; Etchegoin, 1997; Smith, 2007; Thieltges *et al.*, 2009a; Alda, 2011; Parietti, 2011; Soldánová *et al.*, 2012).

Los factores ambientales asociados con el hábitat del primer hospedador intermediario pueden repercutir en la movilidad y el desarrollo del miracidio y de las cercarias (ver Capítulo V; Fernández & Esch, 1994; Sukhdeo & Sukhdeo, 2004). En este capítulo, las variables ambientales analizadas (temperatura y altura de la columna de agua) y la densidad de individuos de *H. parchappii* presentaron diferentes valores en las lagunas y, por lo tanto, parte de la variación espacial observada podría deberse a estos factores.

La localización, en el ambiente, de los primeros hospedadores intermediarios puede ser otro factor causante de heterogeneidad espacial en la estructura de los ensambles de digeneos larvales. Los individuos de *H. parchappii* se encuentran estrechamente relacionados con la vegetación de la zona litoral; sin embargo, los moluscos presentan diferente localización en relación a la vegetación. La vegetación ribereña cumple una función clave, ya que actúa a modo de barrera entre el sistema terrestre y el acuático. Asimismo, las macrófitas reducen el ingreso de diferentes elementos, tales como nutrientes, sedimento, contaminantes, y proveen microambientes para la diferenciación de sectores ecológicos dentro del propio ambiente (van de Haterd & Ter Heerdt, 2007; Grosman, 2008). En la Laguna Nahuel Rucá, los individuos de *H. parchappii* se localizan en la zona litoral vegetada, principalmente en la base de los juncos de crecimiento más reciente, estos juncos son los

que se encuentran a mayor distancia de la línea de costa. Esta zona es constantemente utilizada por las aves para alimentarse y como zona de nidificación. Este solapamiento entre los hospedadores definitivos y los intermediarios aumentaría la probabilidad de concluir el ciclo de vida para los parásitos. Contrariamente, en la Laguna de los Padres los caracoles se encuentran principalmente entre la orilla y la zona litoral vegetada y, en menor medida, entre los juncos de la zona litoral vegetada. Como se mencionó previamente en el Capítulo VI esta zona está sometida a un efecto antrópico, el cual modificaría el comportamiento de las aves en las orillas, por lo que la probabilidad de encuentro entre los parásitos y sus hospedadores disminuiría. Finalmente, en la Laguna La Brava, los caracoles se encuentran entre los juncos que conforman la zona litoral vegetada. En el área de muestreo que se utilizó en esta laguna, los juncos se hallan agrupados formando lo que se denomina juncal, haciendo dificultosa la movilidad entre los mismos, por lo que las aves utilizan estas áreas en menor medida para alimentarse. Además, este juncal no es utilizado como zona de nidificación (obs. pers.). Asimismo, existe un efecto antrópico, aunque de menor envergadura que en la Laguna de los Padres, que alteraría el comportamiento de los hospedadores definitivos. Todos estos factores podrían estar actuando sobre la probabilidad de encuentro entre los estadios infestantes del parásito y sus hospedadores. Por lo tanto, las diferencias en la localización de los caracoles podrían favorecer y/o disminuir el contacto de los parásitos con sus hospedadores intermediarios y/o definitivos.

La distribución y abundancia heterogénea de los hospedadores definitivos en el ambiente, han sido mencionadas como causantes de heterogeneidad espacial de la prevalencia y de la riqueza específica de digeneos larvales (Smith, 2001; Hechinger & Lafferty, 2005; Fredensborg *et al.*, 2006; Hudson *et al.*, 2006; Whitney *et al.*, 2007). Esto se debe a que estos hospedadores son considerados agentes de dispersión para los digeneos, debido a la capacidad que poseen de desplazarse de un ambiente a otro. Josens (2011) realizó un importante estudio de la composición y abundancia de aves en las lagunas Nahuel Rucá, de los Padres y La Brava, en el cual determinó que para estos

humedales, la riqueza específica varió espacial y temporalmente y que la abundancia de aves fue sincrónica con los cambios en la riqueza, siendo mayor en el período estival. Las variaciones de los ensambles de digeneos larvales, aquí observadas, concuerdan en gran parte con las fluctuaciones espaciales halladas por Josens (2011).

Por lo expuesto previamente, la heterogeneidad espacial en la estructura de los ensambles de digeneos larvales en *H. parchappii* estaría influenciada por factores como las características del hábitat y la distribución heterogénea de los hospedadores intermediarios y definitivos en los diferentes humedales estudiados. Sin embargo, la variabilidad espacial no es producto de un único factor, sino que se debe a la interacción de todos ellos.

#### 7.4.2. Similitud de los ensambles de digeneos larvales y la distancia geográfica

La relación de la similitud de los ensambles de parásitos con la distancia geográfica entre las comunidades de hospedadores fue estudiada con anterioridad en numerosos trabajos, con resultados dispares. Algunos hallaron que la similitud disminuía con el aumento de la distancia, mientras que otros no encontraron relación entre ambas variables (Poulin & Morand, 1999; Poulin, 2003; Karvonen & Valtonen, 2004; Krasnov *et al.*, 2005; Poulin *et al.*, 2011). Sin embargo, la mayoría de los trabajos en los cuales no se hallaron relación se basan en lo que se denomina meta-análisis, los cuales utilizan datos provenientes de trabajos publicados previamente. Es frecuente que los estudios que realizan metaanálisis tengan en cuenta el esfuerzo de muestreo pero, no es común que consideren factores que *a priori* podrían generar variación espacial y temporal en los ensambles parásitos. Por ejemplo, no tienen en cuenta las tallas del hospedador, su distribución en el ambiente ni la dinámica temporal de los ensambles parasitarios. Además, los metaanálisis realizados con los digeneos larvales en el primer hospedador intermediario presentan un problema adicional, que es la identificación taxonómica de los mismos, realizada por diferentes investigadores (Locke *et al.*, 2012).

En el estudio de la relación de la similitud de los ensambles de digeneos larvales y la

distancia geográfica de las comunidades de sus hospedadores realizado en este capítulo, se tuvieron en cuenta algunos de los factores mencionados previamente, la talla y la dinámica temporal del primer hospedador intermediario y, para evitar problemas de identificación taxonómica, la identificación de las larva fue realizada por la misma persona. Así, Los resultados obtenidos revelaron una disminución de la similitud de los ensambles de digeneos larvales cuando la distancia entre las comunidades de *H. parchappii* aumenta. Este resultado concuerda con lo hallado por Thieltges *et al.* (2009b), único trabajo, hasta el momento, que analizó la relación similitud-distancia geográfica utilizando el sistema molusco-digeneo.

La similitud de los ensambles de digeneos larvales en función de la distancia geográfica de las comunidades de *H. parchappii*, presentaron una correlación negativa en cada una de las estaciones estudiadas, mismo resultado que se observó cuando se utilizaron todos los datos como un único set. La beta diversidad o reemplazo de especies de digeneos entre lagunas, calculada como la pendiente de la recta de regresión lineal y la distancia media, fue menor en otoño. Esta estación también presentó el menor valor de similitud inicial (calculado como la ordenada al origen de la recta de regresión lineal). Coincidentemente, en esta estación se pudo observar que las comunidades de *H. parchappii* en las diferentes lagunas estaban compuestas por individuos de tallas diferentes., la cual podría afectar los resultados. Sin embargo, los valores de beta diversidad obtenidos en las cuatro estaciones son similares, por lo que la talla tendría un efecto menor sobre el reemplazo de especies.

En el análisis de los todos los datos como un único set los valores de similitud inicial y distancia media son intermedios entre los máximos observados en primavera y los mínimos observados en otoño. Además, también existe diferencia en las tallas de los caracoles estudiados. Por lo tanto, las diferentes estaciones del año y la talla del hospedador estarían actuando conjuntamente sobre los resultados de la relación entre la similitud de digeneos larvales y la distancia geográfica de las comunidades de su hospedador como plantearon Pérez-del-Olmo *et al.*

(2009) y Locke *et al.* (2012).

El análisis de la distancia media, como medida de beta diversidad, debe ser considerado como experimental, debido a que los estudios sobre la relación entre la similitud y la distancia en los sistemas parásito-hospedador son todavía escasos (Locke *et al.*, 2012). Además, los diferentes grupos de hospedadores y los diferentes hábitats han sido representados en forma desigual en los estudios realizados (Poulin, 2007). La distancia media calculada en este capítulo varió entre 48 y 52 km, si bien es menor a la distancia registrada en otros estudios, esto se debe a la escala espacial a la cual se realizó el presente estudio. La distancia máxima registrada entre las lagunas fue de 56 km (lagunas Nahuel Rucá-La Brava), por lo tanto la distancia media representa el 85,71-92,85% de la distancia total, estos valores son mayores a los calculados por Thieltges *et al.* (2009b) (71,18%). El porcentaje que representa la distancia media de la distancia total se puede considerar como una medida de la beta diversidad, altos porcentajes indican un menor reemplazo de especies (beta diversidad), mientras que porcentajes bajos de la distancia media representan un elevado recambio de especies. Según este concepto, la beta diversidad de este sistema es baja en comparación con lo hallado por Thieltges *et al.* (2009b). Dicho resultado es lógico y esperable, dado que estos autores realizaron un estudio cuya escala espacial abarcó 1600 km y la escala aquí utilizada fue de 56 km.

La ausencia de relación entre la similitud de los ensambles de parásitos en un determinado hospedador y la distancia geográfica, o una baja beta diversidad, fue asociada con la vagilidad de las especies que actúan como hospedadores definitivos (a mayor vagilidad se esperaría encontrar una tasa menor de reemplazo de especies) (Thieltges *et al.*, 2009b; Locke *et al.*, 2012). Esta hipótesis coincide con lo planteado por varios autores, quienes sostienen que la heterogeneidad espacial en la estructura de los ensambles de digeneos larvales está estrechamente relacionada con la distribución de los hospedadores definitivos. Sin embargo, Locke *et al.* (2012) hallaron que la similitud en la estructura de los ensambles de digeneos en aves disminuía abruptamente con la distancia e indicaron que esto se podría deber a factores ambientales dispuestos en un gradiente

latitudinal.

Los resultados obtenidos a lo largo de todos los capítulos de esta tesis, revelan que cada sistema molusco-digeneo debe ser estudiado independientemente y que se debe evitar arribar a conclusiones drásticas y generalistas. Aquí, la tasa de recambio de especies observada podría ser explicada en relación a la distribución de las aves entre las lagunas, pero también a la distribución y a las características del microambiente utilizado por el primer hospedador intermediario. Ambos factores podrían cumplir un rol fundamental en el patrón de la disminución en la similitud con el aumento en la distancia observado para las comunidades de digeneos larvales de *H. parchappii*.

# Conclusiones

Capítulo II: Aspectos ecológicos y reproductivos del caracol *Heleobia parchappii* en la Laguna Nahuel Rucá.

- Durante este estudio se realizó por primera vez el seguimiento mes a mes, desde su reclutamiento y hasta su desaparición, de tres cohortes del gasterópodo *Heleobia parchappii*, pudiendo determinarse que el ciclo de vida de este molusco en la Laguna Nahuel Rucá presenta una duración promedio de 20,33 meses y de dos a tres períodos reproductivos por año, ocurriendo por lo menos un período reproductivo en los meses cálidos y otro en los meses fríos.

Capítulo III: Estimadores no paramétricos de riqueza específica aplicados a los estudios de diversidad de los ensambles de digeneos larvales de *Heleobia parchappii*.

- Los estimadores, ACE, ICE y Chao 1 y 2 demostraron ser los mejores para: a) la estimación de la riqueza específica de digeneos larvales en *Heleobia parchappii* y b) la estimación de la muestra mínima necesaria para los estudios de diversidad de los ensambles de digeneos larvales. Sin embargo, este resultado no se puede generalizar a otros estudios de diversidad de parásitos. En cada sistema hospedador-parásito, los estimadores deben ser probados y analizados con el fin de seleccionar el más adecuado para cada estudio en particular.
- La utilización de los estimadores no paramétricos fue sugerida para reducir costos (económicos, de tiempo, etc.); sin embargo, no es posible cuantificar el error que pueden introducir en los estudios de biodiversidad. Por lo tanto, el uso de estos estimadores para completar los inventarios taxonómicos de un ambiente determinado deben ser utilizados con precaución.

Capítulo IV: Estadios larvales de digeneos presentes en *Heleobia parchappii*: descripción y comentarios.

- En el molusco *H. parchappii* se corroboró la existencia de 24 especies de digeneos y se describieron siete tipos morfológicos de cercarias hallados por primera vez.

Capítulos V y VI: Dinámica temporal de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *H. parchappii* en las lagunas Nahuel Rucá, de los Padres y La Brava.

- La heterogeneidad temporal y espacial de los ensambles de digeneos larvales estarían influenciadas por las fluctuaciones temporales de la temperatura del agua, por la dinámica poblacional de hospedadores intermediarios y definitivos (principalmente aves), por procesos evolutivos y por un efecto antrópico, los cuales no actúan independientemente sino que interactúan entre sí.
- Los ensambles de digeneos larvales de *Heleobia parchappii* en las tres lagunas estudiadas presentaron diferentes dinámicas temporales. Estas diferencias, sugieren que cada sistema molusco-digeneo debe ser estudiado independientemente en cada ambiente y se debe evitar arribar a conclusiones drásticas y generalistas.
- La estructura de los ensambles de digeneos larvales de *Heleobia parchappii* en la Laguna Nahuel Rucá, presentan un ciclo repetitivo, cuyo intervalo de tiempo es de 12 a 14 meses.
- Los digeneos constituyen una herramienta útil para realizar estudios de monitoreo ambiental, ya que representan un elemento ubicuo en la fauna de los ambientes lénticos y debido a sus ciclos de vida complejos, interactúan con organismos en varios niveles de la redes tróficas. Por tanto, los disturbios ambientales repercutirían directamente en la dinámica de los ensambles de estos parásitos.

Capítulo VII: Variación espacial de los ensambles de digeneos larvales

- La disminución en la similitud de los ensambles de digeneos con el aumento en la distancia geográfica observado para las ensambles de digeneos larvales de *Heleobia parchappii*

estaría relacionada con la distribución de las aves entre las lagunas, pero también con la distribución y a las características del micro-ambiente utilizado por el primer hospedador intermediario.

# Bibliografía

- Alda, P.** (2011). Estadios larvales de digeneos parásitos de *Heleobia australis* (d'Orbigny 1835) en el estuario de Bahía Blanca. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de La Plata.
- Anderson, M.J., Gorley, R.N. and Clarke, K.R.** (2008). PERMANOVA+ for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods. PRIMER-E, Plymouth, UK.
- Archibold, O.W.** (1995). Ecology of world vegetation. Chapman & Hall Ltd.
- Baccaro, K., Degorgue, M., Lucca, M., Picone, L., Zamuner, E. and Andreoli, A.** (2006). Calidad del agua para consumo humano y riego en muestras del cinturón frutihortícola de Mar del Plata. *Ría* 35, 95-100.
- Ballabeni, P.** (1995). Parasite-induced gigantism in a snail: a host adaptation?. *Functional Ecology* 9, 887–893.
- Baltanás, A.** (1992). On the use of some methods for the estimation of species richness. *OIKOS* 65, 484–492.
- Bartoli, P. and Boudouresque, C.F.** (2007). Effect of the digenean parasites of fish on the fauna of Mediterranean lagoons. *Parassitologia* 49, 111-117.
- Blanchard, G.F., Guarini, J.M., Provot, L., Richard, P. and Sauriau, P.G.** (2000). Measurement of ingestion rate of *Hydrobia ulvae* (Pennant) on intertidal epipellic microalgae: the effect of mud snail density. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 255, 247–260.
- Bocanegra, E. and del Río, J.L.** (1991). Laguna de Los Padres, su sedimentología e hidrología (Partido de Gral. Pueyrredon, Prov. de Buenos Aires). *Biología Acuática* 15,12-13.
- Brosse, S., Beauchard, O., Blanchet, S., Dürr, H.H., Grenouillet, G., Hugueny, B., Lauzeral, C., Leprieur, F., Tedesco, P.A. and Villéger, S.** (2013). Fish-SPRICH: a database of freshwater fish species richness throughout the World. *Hydrobiologia* 700, 343–349.
- Byers, J.E., Blakeslee, A.M.H., Linder, E., Cooper, A.B. and Maguire, T.J.** (2008). Controls of

spatial variation in the prevalence of trematode parasites infecting a marine snail. *Ecology* 89, 439–451.

**Camara, I.A., Bony, Y.K., Diomandé, D., Edia, O.E., Konan, F.K., Kouassi, C.N., Gourène, G. and Pointier, J.P.** (2012). Freshwater Snail Distribution Related to Environmental Factors in Banco National Park, An Urban Reserve in the Ivory Coast (West Africa). *African Zoology* 47, 160–168.

**Campana, M.A., Panzeri, A.M., Escalante, A.H., Moreno, V.J. and Dulout, F.N.** (2001). Micronucleus test in fish from a pampasic pond (Argentina): an estimation of the presence of genotoxic compounds. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* 20, 325-331.

**Canepuccia, A.D., Isacch, J.P., Gagliardini, D.A., Escalante, A.H. and Iribarne, O.O.** (2007). Waterbird response to changes in habitat area and diversity generated by rainfall in a SW Atlantic coastal lagoon. *Waterbirds* 30, 541–553.

**Carcedo, M.C. and Fiori, S.M.** (2012). Long-term study of the life cycle and growth of *Heleobia australis* (Caenogastropoda, Cochliopidae) in the Bahía Blanca estuary, Argentina. *Ciencias Marinas* 38, 589–597.

**Cardoni, D.A., Favero, M. and Isacch, J.P.** (2008). Recreational activities affecting the habitat use by birds in Pampa's wetlands, Argentina: implications for waterbird conservation. *Biological Conservation* 141, 797–806.

**Cazzaniga, N.J.** (1981). Estudios bio-ecológicos de gasteropodos dulceacuicolas relacionados con la invasión de canales por malezas acuáticas. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

**Cazzaniga, N.J.** (Ed.) (2011). El género *Heleobia* (Caenogastropoda: Cochliopidae) en América del Sur. *Amici Molluscarum*, Número especial. 12-48.

**Chao, A. and Lin, C.W.** (2012). Nonparametric lower bounds for species richness and shared species richness under sampling without replacement. *Biometrics* 68, 912–921.

**Chappell, L.H.** (1980). *Physiology of parasites*. Blackie & Son. Glasgow and London.

**Chazdon, R.L., Colwell, R.K., Denslow, J.S. and Guariguata, M.R.** (1998). Statistical methods for estimating species richness of woody regeneration in primary and secondary rain forests of northeastern Costa Rica. En: Dallmeier F, Comiskey J (eds) Forest biodiversity research, monitoring and modeling: conceptual background and Old World case studies. Pantheon.

**Chiodi, L.** (2005). Dinámica de metales pesados en sedimentos, hidrófitas y peces de la laguna Nahuel-Rucá (Cuenca de la laguna costera Mar Chiquita, Prov. de Bs. As.). Tesis de Grado. Universidad Nacional de Mar del Plata.

**Clarke, K.R. and Warwick, R.M.** (2001). Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation, 2nd edn. PRIMER-E, Plymouth, UK.

**Clarke, K.R. and Gorley, R.N.** (2006). PRIMER V6: User Manual/Tutorial. PRIMER-E, Plymouth, UK.

**Colwell, R.K.** (2009). EstimateS: Statistical estimation of species richness and shared species from samples. Version 8.2. User's Guide and application. <http://purl.oclc.org/estimates>.

**Colwell, R.K. and Coddington, J.** (1994). Estimating terrestrial biodiversity through extrapolation. Philosophical Transactions of the Royal Society of London B 345, 101–118.

**Convención de Ramsar.** (2006). Manual de la Convención de Ramsar: Guía a la Convención sobre los Humedales (Ramsar, Irán, 1971). 4a. edición. Gland, Suiza.

**Cordini, R.I.** (1942). Laguna La Brava (Provincia de Buenos Aires). Contribución a su conocimiento limnológico. Revista Argentina de Zoogeografía 2:3-53.

**Curtis, L.A. and Hurd, L.E.** (1983). Age, sex, and parasites: Spatial heterogeneity in a sandflat population of *Ilyanassa obsoleta*. Ecology 819–828.

**Curtis, L.A. and Hubbard, K.M.** (1990). Trematode infections in a gastropod host misrepresented by observing shed cercariae. Journal of Experimental Marine Biology and Ecology. 143,

**Dale, V.H. and Beyeler, S.C.** (2001). Challenges in the development and use of ecological indicators. *Ecological Indicators* 1, 3–10.

**De Francesco, C.G.** (2002). Significado paleobiológico y paleoambiental de las concentraciones holocenas de *Heleobias* (Gastropoda) presentes en el sudeste de las Provincia de Buenos Aires. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Mar del Plata.

**De Francesco, C.G. and Isla, F.I.** (2004a). The life cycle and growth of *Heleobia australis* (D'Orbigny, 1835) and *H. conexa* (Gaillard, 1974)(Gastropoda: Rissoidae) in Mar Chiquita Coastal Lagoon (Argentina). *Journal of Molluscan Studies* 70, 173–178.

**De Francesco, C.G. and Isla, F.I.** (2004b). Reproductive period and growth rate of the freshwater snail *Heleobia parchappii* (d'Orbigny, 1835)(Gastropoda: Rissoidae) in a shallow brackish habitat (Buenos Aires Province, Argentina). *Malacologia* 45, 443–450.

**De Meeûs, T. and Renaud, F.** (2002). Parasites within the new phylogeny of eukaryotes. *Trends in Parasitology* 18, 247–251.

**De Meeûs, T., Durand, P. and Renaud, F.** (2003). Species concepts: what for? *Trends in Parasitology* 19, 425–427.

**De Montaudouin, X., Blanchet, H., Kisielewski, I., Desclaux, C. and Bachelet, G.** (2003). Digenean trematodes moderately alter *Hydrobia ulvae* population size structure. *Journal of the Marine Biological Association of the UK* 83, 297–305.

**Dove, A.D.M. and Cribb, T.H.** (2006). Species accumulation curves and their applications in parasite ecology. *Trends in Parasitology* 22, 568–574.

**Dybdahl, M.F. and Lively, C.M.** (1998). Host-parasite coevolution: evidence for rare advantage and time-lagged selection in a natural population. *Evolution* 1057–1066.

**Esch, G.W. and Fernandez, J.C.** (1994). Snail-trematode Interactions and Parasite Community

Dynamics in Aquatic Systems: A Review. *American Midland Naturalist* 131, 209–237.

**Esch, G.W., Curtis, L.A. and Barger, M.A.** (2001). A perspective on the ecology of trematode communities in snails. *Parasitology* 123, S57–S75.

**Esch, G.W., Barger, M.A. and Fellis, K.J.** (2002). The Transmission of Digenetic Trematodes: Style, Elegance, Complexity1. *Integrative and Comparative Biology* 42, 304–312.

**Esch, G.W., Kennedy, C.R., Bush, A.O. and Aho, J.M.** (1988). Patterns in helminth communities in freshwater fish in Great Britain: alternative strategies for colonization. *Parasitology* 96, 519–532.

**Esquiús, K.S.** (2009). Perifiton del “junco” *Schoenoplectus californicus* y el efecto de la herbivoría sobre su estructura comunitaria en arroyos de la cuenca de la Laguna de Los Padres (Prov. De Buenos Aires). Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Mar del Plata.

**Etchegoin, J. A.** (1997). Sistemas parasitarios presentes en la albufera Mar Chiquita. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional de Mar del Plata.

**Etchegoin, J.A. and Martorelli, S.R.** (1998). Nuevas cercarias en *Heleobia conexa* (Mollusca: Hydrobiidae) de la albufera Mar Chiquita. *Neotropica* 44, 41–50.

**Etchegoin, J.A., Merlo, M.J., Gilardoni, C. and Cremonte, F.** (2013). Digeneos larvales que parasitan a moluscos de ambientes marinos y estuariales de Argentina: relevamiento y perspectivas de estudio. *Revista Argentina de Parasitología* 1, 10-27.

**Faltýnková, A., Valtonen, E.T. and Karvonen, A.** (2008). Spatial and temporal structure of the trematode component community in *Valvata macrostoma* (Gastropoda, Prosobranchia). *Parasitology* 135, 1691–1699.

**Federman, M.** (2003). Mapeo y caracterización de la comunidad de macrófitas en tres lagos someros del Sudeste Bonaerense. Tesis de Grado. Universidad Nacional de Mar del Plata.

**Fernandez, J., and Esch, G.W.** (1991a). Guild structure of larval trematodes in the snail *Helisoma anceps*: patterns and processes at the individual host level. *Journal of Parasitology* 77, 528–539.

- Fernandez, J. and Esch, G.W.** (1991b). Effect of parasitism on the growth rate of the pulmonate snail *Helisoma anceps*. *Journal of Parasitology* 77, 937–944.
- Ferrell, D.L., Negovetich, N.J. and Wetzel, E.J.** (2001). Effect of temperature on the infectivity of metacercariae of *Zygocotyle lunata* (digenea: paramphistomidae). *Journal of Parasitology* 87, 10–13.
- Ferrero, L.** (2001). Avifauna de Mar Chiquita (Síntesis del trabajo de Mariano M. Martínez). En: Iribarne, O.O. (Ed.). Reserva de Biosfera Mar Chiquita: Características físicas, biológicas y ecológicas. Editorial Martín. Mar del Plata, Argentina.
- Fingerut, J.T., Zimmer, C.A. and Zimmer, R.K.** (2003). Patterns and Processes of Larval Emergence in an Estuarine Parasite System. *The Biological Bulletin* 205, 110–120.
- Finlayson, C.M., Davidson, N.C., Spiers, A.G. and Stevenson, N.J.** (1999). Global wetland inventory—current status and future priorities. *Marine and Freshwater Research* 50, 717–727.
- Fleishman, E., Noss, R.F. and Noon, B.R.** (2006). Utility and limitations of species richness metrics for conservation planning. *Ecological Indicators* 6, 543–553.
- Flores, V.R. and Semenas, L.G.** (2008). Larval Digenean Community Parasitizing the Freshwater Snail, *Chilina dombeyana* (Pulmonata: Chiliniidae) in Patagonia, Argentina, with Special Reference to the Notocotylid *Catatropis chilinae*. *Journal of Parasitology* 94, 305–313.
- Flores, V.R., Semenas, L.G. and Veleizán, A.A.** (2010). Larval Digenean Community Parasitizing the Freshwater Snail, *Biomphalaria peregrina* (Pulmonata: Planorbidae), From a Temporary Pond in Patagonia, Argentina. *Journal of Parasitology* 96, 652–656.
- Foggo, A., Attrill, M.J., Frost, M.T. and Rowden, A.A.** (2003). Estimating marine species richness: an evaluation of six extrapolative techniques. *Marine Ecology Progress Series* 248, 15–26.
- Franks, S.J. and Weis, A.E.** (2008). A change in climate causes rapid evolution of multiple life-history traits and their interactions in an annual plant. *Journal of Evolutionary Biology* 21,

1321–1334.

**Franks, S.J., Sim, S. and Weis, A.E.** (2004). Rapid evolution of flowering time by an annual plant in response to a climate fluctuation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* *104*, 1278–1282.

**Fredensborg, B.L., Mouritsen, K.N. and Poulin, R.** (2006). Relating bird host distribution and spatial heterogeneity in trematode infections in an intertidal snail—from small to large scale. *Marine Biology* *149*, 275–283.

**Galaktionov, K.V.** (1996). Impact of seabird helminths on host populations and coastal ecosystems. *Bulletin of the Scandinavian Society for Parasitology*. *6*, 50–64.

**Gaston, K.J.** (2000). Global patterns in biodiversity. *Nature* *405*, 220–227.

**Gayanilo, F.C., Sparre, P. and Pauly, D.** (1995). The FAO-ICLARM Stocks Assessment Tools (FiSAT). User's Guide. FAO Computerized Information Series (Fisheries) 8.

**Gilardoni, C., Ituarte, C. and Cremonte, F.** (2012). Castrating effects of trematode larvae on the reproductive success of a highly parasitized population of *Crepidatella dilatata* (Caenogastropoda) in Argentina. *Marine Biology* *159*, 2259–2267.

**González Sagrario, M. de los A., Miglioranza, K.S., Aizpún de Moreno, J.E., Moreno, V.J. and Escalante, A.H.** (2002). Polychlorinated biphenyls in different trophic levels from a shallow lake in Argentina. *Chemosphere* *48*, 1113–1122.

**Gotelli, N.J. and Colwell, R.K.** (2001). Quantifying biodiversity: procedures and pitfalls in the measurement and comparison of species richness. *Ecology Letters* *4*, 379–391.

**Grabda-Kazubska, B.** (1971). Main morphological characters in xiphidiocercariae armatae Lühe, 1909 and their taxonomic importance. *Parasitol. Schriftenreihe* *21*, 49–55.

**Graham, A.L.** (2003). Effects of snail size and age on the prevalence and intensity of avian schistosome infection: Relating laboratory to field studies. *89(3)*, 458-463.

- Granovitch, A.I., Sergievsky, S.O. and Sokolova, I.M.** (2000). Spatial and temporal variation of trematode infection in coexisting populations of intertidal gastropods *Littorina saxatilis* and *L. obtusata* in the White Sea. *Diseases of Aquatic Organisms* 41, 53–64.
- Grosman, F.** (2008). Espejos en la llanura. Nuestras lagunas de la región pampeana”. Ed. Universidad Nacional del Centro de la Provincia de Buenos Aires.
- Grosman, F. and Sanzano, P.** (1999). Estudio ictiológico Laguna La Brava, Partido de Balcarce, Provincia de Buenos Aires. Informe Final. Facultad de Ciencias Veterinarias. Universidad Nacional del Centro.
- Grosman, F. and Sanzano, P.** (2008). Las lagunas seleccionadas y rutinas de muestreo. En: Grosman, F. (Ed). Espejos en la llanura. Nuestras lagunas de la región Pampeana. Universidad Nacional del Centro de la provincia de Buenos Aires, Tandil, Argentina.
- Hamann, M.I., Rumi, A. and Ostrowski de Nuñez, M.** (1993). Aspectos biológicos sobre los parásitos y la dinámica poblacional de *Drepanotrema* spp. (Mollusca, Planorbidae) en un biotopo lenítico del nordeste argentino. *Ambiente Subtropical* 3, 19–38.
- Halffter, G. and Moreno, C.E.** (2005). Significado biológico de las diversidades alfa, beta y gamma. En: Halffter, G. (Eds). Sobre diversidad biológica: el significado de las diversidades alfa, beta y gamma. Monografías Tercer Milenio. Sociedad Entomológica Aragonesa, Zaragoza, España.
- Hamilton, W.D.** (1980). Sex versus non-sex versus parasite. *Oikos* 282–290.
- Hechinger, R.F. and Lafferty, K.D.** (2005). Host diversity begets parasite diversity: bird final hosts and trematodes in snail intermediate hosts. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 272, 1059–1066.
- Hechinger, R.F., Lafferty, K.D. and Kuris, A.M.** (2008). Trematodes Indicate Animal Biodiversity in the Chilean Intertidal and Lake Tanganyika. *Journal of Parasitology* 94, 966–968.

- Hellmann, J.J. and Fowler, G.W.** (1999). Bias, precision, and accuracy of four measures of species richness. *Ecological Applications* 9, 824–834.
- Hendry, A.P. and Kinnison, M.T.** (1999). Perspective: the pace of modern life: measuring rates of contemporary microevolution. *Evolution* 53, 1637–1653.
- Hendry, A.P., Wenburg, J.K., Bentzen, P., Volk, E.C. and Quinn, T.P.** (2000). Rapid evolution of reproductive isolation in the wild: evidence from introduced salmon. *Science* 290, 516–518.
- Hortal, J., Borges, P.A.V. and Gaspar, C.** (2006). Evaluating the performance of species richness estimators: sensitivity to sample grain size. *Journal of Animal Ecology* 75, 274–287.
- Howell, D.C.** (2000). Resampling. Version 1.3. University of Vermont. <http://www.uvm.edu/~dhowell/StatPages/Resampling/Resampling.html>
- Hudson, P.J., Dobson, A.P. and Lafferty, K.D.** (2006). Is a healthy ecosystem one that is rich in parasites?. *Trends in Ecology and Evolution* 21, 381–385.
- Hughes, J.B., Hellmann, J.J., Ricketts, T.H. and Bohannon, B.J.M.** (2001). Counting the Uncountable: Statistical Approaches to Estimating Microbial Diversity. *Applied And Environmental Microbiology* 67, 4399–4406.
- Huspeni, T.C. and Lafferty, K.D.** (2004). Using larval trematodes that parasitize snails to evaluate a saltmarsh restoration project. *Ecological Application*. 14, 795–804.
- Huspeni, T.C., Hechinger, R.F. and Lafferty, K.D.** (2005). Trematode parasites as estuarine indicators: opportunities, applications and comparisons with conventional community approaches. En: Bortone S.A (Eds). *Estuarine Indicators*. CRC Press, Boca Raton.
- Hutchinson, G.E.** (1959). Homage to Santa Rosalia or why are there so many kinds of animals? *The American Naturalist* 93, 145–159.
- Isacch, J.P.** (2001). Mapa de la vegetación del área de la Reserva Mar Chiquita y áreas circundantes. En: Iribarne, O.O. (Ed.) *Reserva de Biosfera Mar Chiquita: Características físicas,*

biológicas y ecológicas. Editorial Martín. Universidad Nacional de Mar del Plata.

**Johnson, P.T. and Chase, J.M.** (2004). Parasites in the food web: linking amphibian malformations and aquatic eutrophication. *Ecology Letters* 7, 521–526.

**Johnson, P.T., Chase, J.M., Dosch, K.L., Hartson, R.B., Gross, J.A., Larson, D.J., Sutherland, D.R. and Carpenter, S.R.** (2007). Aquatic eutrophication promotes pathogenic infection in amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104, 15781–15786.

**Jokela, J. and Lively, C.M.** (1995a). Spatial variation in infection by digenetic trematodes in a population of freshwater snails (*Potamopyrgus antipodarum*). *Oecologia* 103, 509–517.

**Jokela, J. and Lively, C.M.** (1995b). Parasites, sex, and early reproduction in a mixed population of freshwater snails. *Evolution* 49, 1268–1271.

**Jokela, J., Dybdahl, M.F. and Lively, C.M.** (2009). The Maintenance of Sex, Clonal Dynamics, and Host-Parasite Coevolution in a Mixed Population of Sexual and Asexual Snails. *The American Naturalist* 174, S43–S53.

**Jones, L.E., Becks, L., Ellner, S.P., Hairston, N.G., Yoshida, T. and Fussmann, G.F.** (2009). Rapid contemporary evolution and clonal food web dynamics. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364, 1579–1591.

**Josens, M.L.** (2011). Rol de las Comunidades de Aves Acuáticas en Lagunas Continentales del Sudeste Bonaerense: Un estudio de su Estructura, Impacto y Estacionalidad. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Mar del Plata.

**Karvonen, A. and Valtonen, T.** (2004). Helminth assemblages of whitefish (*Coregonus lavaretus*) in interconnected lakes: similarity as a function of species specific parasites and geographical separation. *Journal of Parasitology* 90, 471–476.

**Keas, B.E. and Blankespoor, H. D.** (1997). The Prevalence of Cercariae from *Stagnicola emarginata* (Lymnaeidae) over 50 Years in Northern Michigan. *Journal of Parasitology* 83, 536–540.

**Keas, B.E. and Esch, G.W.** (1997). The effect of diet and reproductive maturity on the growth and reproduction of *Helisoma anceps* (Pulmonata) infected by *Halipegus occidualis* (Trematoda). *Journal of Parasitology* 83, 96–104.

**Koleff, P.** (2005). Conceptos y medidas de la diversidad beta. En: Halffter (Eds). Sobre diversidad biológica: el significado de las diversidades alfa, beta y gamma. Monografías Tercer Milenio. Sociedad Entomológica Aragonesa, Zaragoza, España.

**Koskella, B. and Lively, C.M.** (2009). Evidence for negative frequency-dependent selection during experimental coevolution of a freshwater snail and a sterilizing trematode. *Evolution* 63, 2213–2221.

**Krasnov, B.R., Shenbrot, G.I., Mouillot, D., Khokhlova, I.S. and Poulin, R.** (2005). Spatial variation in species diversity and composition of flea assemblages in small mammalian hosts: geographical distance or faunal similarity? *Journal of Biogeography* 32, 633–644.

**Kube, J., Kube, S. and Dieschke, V.** (2002). Spatial and temporal variations in the trematode component community of the mudsnail *Hydrobia ventrosa* in relation to the occurrence of waterfowl as definitive hosts. *Journal of Parasitology* 88, 1075–1086.

**Kuris, A.M.** (1979). *Echinostoma liei* miracidia and *Biomphalaria glabrata* snails: effect of egg age, habitat heterogeneity, water quality and volume on infectivity. *International Journal for Parasitology* 10, 21–25.

**Kuris, A.M.** (1990). Guild structure of larval trematodes in molluscan hosts: prevalence, dominance and significance of competition. En: Esch, G.W., Bush, A.O. and Aho, J.M. (Eds.). *Parasite Communities: Patterns and Processes*. Chapman & Hall, London, England.

**Kuris, A.M. and Lafferty, K.D.** (1994). Community structure: larval trematodes in snail host. *Annual Review of Ecology and Systematics*. 25, 189–217.

**Kuris, A.M. and Lafferty, K.D.** (2005). Population and communities ecology of larval trematodes in molluscan first intermediate host. In: Rohde, K (Ed). *Marine Parasitology*. CSIRO Publishing.

**Lafferty, K.D.** (1997). Environmental parasitology: what can parasites tell us about human impacts on the environment?. *Parasitology Today* 3, 251–255.

**Lafferty, K.D., Sammond, D.T. and Kuris, A.M.** (1994). Analysis of larval trematode communities. *Ecology* 75, 2275–2285.

**Lafferty, K.D., Hechinger, R.F., Shaw, J.C., Whitney, K.L. and Kuris, A.M.** (2006). Food webs and parasites in a salt marsh ecosystem. En: Collinge, S. and Ray, C. (eds). *Disease Ecology: Community Structure and Pathogen Dynamics*. Oxford University Press. UK.

**Lefcort, H., Freedman, Z., House, S. and Pendleton, M.** (2008). Hormetic effects of heavy metals in aquatic snails: is a little bit of pollution good?. *EcoHealth* 5, 10–17.

**Lefcort, H., Aguon, M.Q., Bond, K.A., Chapman, K.R., Chaquette, R., Clark, J., Kornachuk, P., Lang, B.Z. and Martin, J.C.** (2002). Indirect effects of heavy metals on parasites may cause shifts in snail species compositions. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 43, 34–41.

**Leitner, W. and Turner, W.R.** (2001). Measurement and analysis of biodiversity. *Encyclopedia of Biodiversity* 4, 123–144.

**Locke, S.A., Levy, M.S., Marcogliese, D.J., Ackerman, S. and McLaughlin, J.D.** (2012). The decay of parasite community similarity in ring-billed gulls *Larus delawarensis* and other hosts. *Ecography* 35, 530–538.

**Loreau, M., Roy, J. and Tilman, D.** (2005). Linking ecosystem and parasite ecology. En: Thomas, F., Renaud, F. and Guégan, J. (Eds.). *Parasitism and ecosystems*. Oxford University Press. UK.

**Lyholt, H.C.K. and Buchmann, K.** (1996). *Diplostomum spathaceum*: effects of temperature and light on cercarial shedding and infection of rainbow trout. *Diseases of Aquatic Organisms* 25, 169–173.

**Lyons, S.K. and Willig, M.R.** (2002). Species richness, latitude, and scale-sensitivity. *Ecology* 83,

47–58.

**MA.** Millennium Ecosystem Assessment. (2005). Ecosystems and Human Well-Being: Wetlands and Water Synthesis. Millennium Ecosystem Assessment report to the Ramsar Convention. World Resources Institute, Washington, DC.

**Mac Nally, R. and Fleishman, E.** (2002). Using “indicator” species to model species richness: model development and predictions. *Ecological Application* 12, 79–92.

**MacKenzie, K.** (2002). Parasites as biological tags in population studies of marine organisms: an update. *Parasitology* 124, 153–163.

**Magurran, A.E.** (2004). *Ecological Diversity and its Measurement*. Princeton University Press. Princeton, U.S.A.

**Malavé, C., Freitas, L., Lodeiros, C., Mendoza, J., Troccoli, L. and Dale, A.W.** (2012). Annual recruitment, predation rates and biocontrol of *Linatella caudata* (Mollusca: Gastropoda) in suspended enclosure culture of the pearl oyster *Pinctada imbricata*. *Aquaculture* 354, 75–83.

**Marcogliese, D.J.** (2005). Parasites of the superorganism: Are they indicators of ecosystem health? *International Journal for Parasitology* 35, 705–716.

**Margolis, L., Esch, G.W., Holmes, J.C., Kuris, A.M. and Schad, G.A.** (1982). The use of ecological terms in parasitology (report of an ad hoc committee of the American Society of Parasitologists). *Journal of Parasitology* 68, 131–133.

**Martín, P.R.** (2002). Evidence for parthenogenesis and natural imposex in the Patagonian freshwater snail *Heleobia hatcheri* (Gastropoda: Hydrobiidae). *Journal of Molluscan Studies*. 68, 291–295.

**Martin, S.M.** (2008). Individual growth of *Heleobia piscium* in natural populations (Gastropoda: Cochliopidae) from the multiple use natural Reserve Isla Martín García, Buenos Aires, Argentina. *Brazilian Journal of Biology* 68, 617–621.

**Martorelli, S.R.** (1985). Estudios parasitológicos en biotopos lénticos de la República Argentina I: el ciclo biológico de *Echinochasmus talaensis* sp. nov. (Digenea) parásita de *Pitangus sulphuratus bolivianus* (Aves: Tyrannidae). *Neotrópica* 31, 187–200.

**Martorelli, S.R.** (1986a). Estudio sistemático y biológico de un digeneo perteneciente a la familia Microphallidae Travassos, 1920. II: desarrollo del ciclo biológico de *Microphallus szidati* en dos ambientes de condiciones ecológicas diferentes. *Revista Ibéroamericana de Parasitología*. 46, 379–385.

**Martorelli, S.R.** (1986b). Estudio sistemático y biológico de un digeneo perteneciente a la familia Microphallidae Travassos, 1920. I: *Microphallus szidati* sp. nov. parásito intestinal de *Rallus sanguinolentus sanguinolentus* (Aves: Rallidae) e *Himantopus melanurus* (Aves: Recurvirostridae). *Revista Ibéroamericana de Parasitología*. 46, 373–378.

**Martorelli, S.R.** (1988). El ciclo biológico de *Levinseniella cruzi* Travassos, 1920 (Digenea, Microphallidae) parásito de los ciegos cólicos de *Rollandia rolland chilensis* (Aves, Podicipedidae) e *Himantopus melanurus* (Aves, Recurvirostridae). *Iheringia* 68, 49–62.

**Martorelli, S.R.** (1989a). Estudios parasitológicos en biotopos lénticos de la República Argentina. V. Desarrollo del ciclo biológico monoxeno de la metacercaria progenética de *Genarchella genarchella* Travassos, 1928 (Digenea, Hemiuridae) parásita de *Littoridina parchappei* (Mollusca, Hydrobiidae). *Revista del Museo de La Plata*. 14, 109–117.

**Martorelli, S.R.** (1989b). Estudios parasitológicos en la albufera de Mar Chiquita, provincia de Buenos Aires, República Argentina. II: cercarias (Digenea) parásitas de *Heleobia conexa* (Mollusca: Hydrobiidae), pertenecientes a las familias Schistosomatidae, Haploporidae y Homalometridae. *Neotrópica* 35, 81–90.

**Martorelli, S.R.** (1990). Estudios parasitológicos en la albufera de Mar Chiquita, provincia de Buenos Aires, República Argentina. III: sobre dos cercarias parásitas de *Heleobia conexa* (Mollusca: Hydrobiidae) pertenecientes a la superfamilia Echinostomatoidea. *Neotrópica* 36, 5–12.

**Martorelli, S.R. and Etchegoin, J.A.** (1996). Cercarias de la superfamilia Opisthorchioidea en *Heleobia conexa* (Mollusca: Hydrobiidae) de la albufera de Mar Chiquita. *Neotrópica* 42, 61–68.

- May, R.M.** (1988). How many species are there on earth?. *Science* 241, 1441–1449.
- Mayfield, M.M. and Levine, J.M.** (2010). Opposing effects of competitive exclusion on the phylogenetic structure of communities. *Ecology Letters* 13, 1085–1093.
- McCarthy, H.O., Fitzpatrick, S.M. and Irwin, S.W.B.** (2004). Parasite alteration of host shape: a quantitative approach to gigantism helps elucidate evolutionary advantages. *Parasitology* 128, 7–14.
- Melo, A.S. and Froehlich, C.G.** (2001). Evaluation of methods for estimating macroinvertebrate species richness using individual stones in tropical streams. *Freshwater Biology* 46, 711–721.
- Mensink, P.J. and Henry, H.A.** (2011). Rain events influence short-term feeding preferences in the snail *Cepaea nemoralis*. *Journal of Molluscan Studies* 77, 241–247.
- Merlo, M.J. and Etchegoin, J.A.** (2011). Testing temporal stability of the larval digenean community in *Heleobia conexa* (Mollusca: Cochliopidae) and its possible use as an indicator of environmental fluctuations. *Parasitology* 138, 249–256.
- Merlo, M.J., Parietti, M. and Etchegoin, J.A.** (2010). Evaluation of species richness estimators in studies of diversity involving two larval digenean communities parasitizing snail hosts. *Parasitology Research* 107, 1093–1102.
- Miglioranza, K.S., de Moreno, J.E. and Moreno, V.J.** (2004). Organochlorine pesticides sequestered in the aquatic macrophyte *Choenoplectus californicus* (CA Meyer) Soják from a shallow lake in Argentina. *Water Research* 38, 1765–1772.
- Minchella, D.J.** (1985). Host life-history variation in response to parasitism. *Parasitology* 90, 205–216.
- Miura, O., Kuris, A.M., Torchin, M.E., Hechinger, R.F. and Chiba, S.** (2006). Parasites alter host phenotype and may create a new ecological niche for snail hosts. *Proceedings of the Royal Society B* 273, 1323–1328.

- Morlon, H., Chuyong, G., Condit, R., Hubbell, S., Kenfack, D., Thomas, D., Valencia, R. and Green, J.L.** (2008). A general framework for the distance–decay of similarity in ecological communities. *Ecology Letters* *11*, 904–917.
- Morris, M.R.** (1976). Contribución al conocimiento del parasitismo de *Biomphalaria peregrina* (D'Orbigny) (Moll. Gastropoda). *Neotrópica* *22*, 93–98.
- Mouritsen, K.N. and Jensen, K.T.** (1994). The enigma of gigantism: effect of larval trematodes on growth, fecundity, egestion and locomotion of *Hydrobia ulvae* (Pennant) (Gastropoda: Prosobranchia). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* *181*, 53–66.
- Narosky, T. and Yzurieta, D.** (2010). Guía para la identificación de las aves de Argentina y Uruguay. Ed: Vazquez Mazzini. Editorial del Plata.
- Neiman, M., Warren, D., Rasmussen, B. and Zhang, S.** (2013). Complex consequences of increased density for reproductive output in an invasive freshwater snail. *Evolutionary Ecology* 1–11.
- Ondarza, P.** (2005). Dinámica de plaguicidas organoclorados en la laguna Nahuel Rucá, cuenca de la laguna costera Mar Chiquita. Sedimentos, macrófitas y peces como potenciales remediadores. Tesis de Grado. Universidad Nacional de Mar del Plata.
- Oliva, M.E. and Huaquin, L.G.** (2000). Progenesis in *Proctoeces lintoni* (Fellodistomidae), a parasite of *Fissurella crassa* (Archaeogastropoda) in a latitudinal gradient in the Pacific Coast of South America. *Journal of Parasitology* *86*, 768–772.
- Olsen, E.M., Heino, M., Lilly, G.R., Morgan, M.J., Brattey, J., Ernande, B. and Dieckmann, U.** (2004). Maturation trends indicative of rapid evolution preceded the collapse of northern cod. *Nature* *428*, 932–935.
- Olson, P.D., Cribb, T.H., Tkach, V.V., Bray, R.A. and Littlewood, D.T.J.** (2003). Phylogeny and classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda). *International Journal for Parasitology* *33*, 733–755.

- Ostrowski de Núñez, M.** (1974a). Fauna de agua dulce de la República Argentina. II. Cercaria perteneciente a la superfamilia Opisthorchioidea y parte de su ciclo evolutivo (Trematoda). *Physis Sección B* 33:1-9.
- Ostrowski de Núñez, M.** (1974b). Fauna de agua dulce de la República Argentina. III. Cercarias de la superfamilia Plagiorchioidea (Trematoda). *Neotrópica* 20, 1-8.
- Ostrowski de Núñez, M.** (1979). Ungewöhnliche xiphidiocercarie aus *Ampullaria canaliculata* nebst bemerkungen ubre *Travtrema stenocotyle*. *Angewandte Parasitologie* 20, 46-52.
- Ostrowski de Nuñez, M.** (1992). Life history studies of heterophyid trematodes in the Neotropical region: *Ascocotyle (Leighia) hadra* sp.n. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 87, 539–543.
- Ostrowski de Nuñez, M.** (1993). Life-history studies of heterophyid trematodes in the Neotropical Region: *Ascocotyle (Phagicola) diminuta* (Stunkard & Haviland, 1924) and *A. (P.) angrense* Travassos, 1916. *Systematic Parasitology* 24, 191–199.
- Ostrowski de Nuñez, M.** (1995). Life history of *Pygidiopsis crassus* n.sp. (Trematoda, Digenea, Heterophyidae) in the Neotropical Region. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 90, 13–19.
- Ostrowski de Núñez, M.** (2001). Life cycles of two new sibling species of *Ascocotyle (Ascocotyle)* (Digenea, Heterophyidae) in the Neotropical Region. *Acta Parasitologica* 46 119-129.
- Ostrowski de Núñez, M.** (2007). Life cycle of *Stephanoprora uruguayense* (Digenea: Echinostomatidae) in Argentina. *Journal of Parasitology* 93, 1090–1096.
- Ostrowski de Núñez, M. and Gil de Pertierra, A.** (1991). The life history of *Acanthostomum gnerii* Szidat, 1954 (Trematoda: Acanthostomidae), from the catfish *Rhamdia sapo* in Argentina. *Zoologischer Anzeiger* 277:58–71.
- Ostrowski de Nuñez, M., Hamann, M.I. and Rumi, A.** (1990). Larval trematode of *Schistosoma mansoni* transmitting snails, *Biomphalaria* spp., in northeastern Argentina. *Acta Parasitologica*

Polonica 35, 85–96.

**Ostrowski de Nuñez, M., Hamann, M.I. and Rumi, A.** (1991). Population dynamics of planorbid snails from a lenitic biotope in northeastern Argentina. larval trematodes of *Biomphalaria occidentalis* and analysis of their prevalence and seasonality. *Acta Parasitologica Polonica* 36, 159–166.

**Palmer, M.W.** (1990). The estimation of species richness by extrapolation. *Ecology* 71, 1195–1198.

**Parietti, M.** (2011). Distribución espacial y estabilidad temporal de la comunidad de digeneos larvales que parasitan a *Heleobia australis* (Mollusca: Cochliopidae) en la laguna de Mar Chiquita. Tesis de Grado. Universidad Nacional de Mar del Plata.

**Pérez-del-Olmo, A., Fernández, M., Raga, J.A., Kostadinova, A. and Morand, S.** (2009). Not everything is everywhere: the distance decay of similarity in a marine host–parasite system. *Journal of Biogeography* 36, 200–209.

**Pietroock, M. and Marcogliese, D.J.** (2003). Free-living endohelminth stages: at the mercy of environmental conditions. *Trends in Parasitology* 19, 293–299.

**Pimm, S.L. and Brown, J.H.** (2004). Domains of diversity. *Science* 304, 831–833.

**Poulin, R.** (1997). Species richness of parasite assemblages: evolution and patterns. *Annual Review of Ecology and Systematics* 34, 341–358.

**Poulin, R.** (1998). Comparison of three estimators of species richness in parasite component communities. *Journal of Parasitology* 84, 485–490.

**Poulin, R.** (2003). The decay of similarity with geographical distance in parasite communities of vertebrate hosts. *Journal of Biogeography* 30, 1609–1615.

**Poulin, R.** (2006). Global warming and temperature-mediated increases in cercarial emergence in trematode parasites. *Parasitology* 132, 143–151.

**Poulin, R.** (2007). Are there general laws in parasite ecology? *Parasitology* 134, 763–776.

**Poulin, R.** (2010a). Latitudinal gradients in parasite diversity:: bridging the gap between temperate and tropical areas. *Neotropical Helminthology* 4, 169–177.

**Poulin, R.** (2010b). Decay of similarity with host phylogenetic distance in parasite faunas. *Parasitology* 137, 733.

**Poulin, R. and Morand, S.** (1999). Geographical distances and the similarity among parasite communities of conspecific host populations. *Parasitology* 119, 369–374.

**Poulin, R. and Morand, S.** (2000). The diversity of parasites. *Quarterly Review of Biology* 277–293.

**Poulin, R. and Cribb, T.H.** (2002). Trematode life cycles: short is sweet? *TRENDS in Parasitology* 18, 176–183.

**Poulin, R. and Morand, S.** (2004). *Parasite biodiversity*. Smithsonian Books.

**Poulin, R. and Mouritsen, K.N.** (2006). Climate change, parasitism and the structure of intertidal ecosystems. *Journal of Helminthology* 80, 183–191.

**Poulin, R., Blanar, C.A., Thieltges, D. and Marcogliese, D.J.** (2011). The biogeography of parasitism in sticklebacks: distance, habitat differences and the similarity in parasite occurrence and abundance. *Ecography* 34, 540–551.

**Pozzobon, M.V. and Tell, G.** (1995). Estructura y dinámica de la comunidad perifítica sobre *Ricciocarpus natans* (Hepaticae) de la Laguna de Los Padres (Buenos Aires, Argentina). *Boletín de la Sociedad Argentina de Botánica* 30, 199-208.

**Prepelitchi, L.** (2009). Ecoepidemiología de *Fasciola hepatica* (Trematoda, Digenea) en el norte de la Provincia de Corrientes destacando aspectos ecológicos de *Lymnaea columella* (Pulmonata, Lymnaeidae) y su rol como hospedador intermediario. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Buenos Aires.

- Przeslawski, R.** (2005). Combined effects of solar radiation and desiccation on the mortality and development of encapsulated embryos of rocky shore gastropods. *Marine Ecology. Progress Series* 298, 169–177.
- Quirós, R.** (2005). La ecología de las lagunas de las Pampas. *Investigación y Ciencia* 1, 13.
- Quirós, R. and Drago, E.** (1999). The environmental state of Argentinean lakes: an overview. *Lakes & Reservoirs: Research & Management* 4, 55–64.
- Quirós, R., Rennella, A.M., Boveri, M.A., Rosso, J.J. and Sosnovsky, A.** (2002a). Factores que afectan la estructura y el funcionamiento de las lagunas pampeanas. *Ecología Austral* 12, 175–185.
- Quirós, R., Rosso, J.J., Rennella, A., Sosnovsky, A. and Boveri, M.** (2002b). Análisis del estado trófico de las lagunas pampeanas (Argentina). *Interciencia* 27, 584–591.
- Reichert, K., Uglund, K.I., Bartsch, I., Hortal, J., Bremner, J. and Kraberg, A.** (2010). Species richness estimation: Estimator performance and the influence of rare species. *Limnology and Oceanography Methods* 8, 294–303.
- Rocchini, D.** (2007). Distance decay in spectral space in analysing ecosystem  $\beta$ -diversity. *International Journal of Remote Sensing* 28, 2635–2644.
- Rohde, K.** (1981). Population dynamics of two snail species, *Planaxis sulcatus* and *Cerithium moniliferum*, and their trematode species at Heron Island, Great Barrier Reef. *Oecologia* 49, 344–352.
- Romanelli, A.** (2006). Estudio integral del área de la Laguna la Brava. Diagnóstico y perspectivas de gestión sustentable. Tesis de Grado. Universidad Nacional de Mar del Plata.
- Rumi, A., Gutiérrez Gregoric, D.E., Núñez, V. and Darrigran, G.A.** (2008). Malacología Latinoamericana. Moluscos de agua dulce de Argentina. *Revista de Biología Tropical* 56, 77–111.
- Sapp, K.K. and Esch, G.W.** (1994). The effects of spatial and temporal heterogeneity as structuring forces for parasite communities in *Helisoma anceps* and *Physa gyrina*. *The American*

Midland Naturalist 132, 91–103.

**Schoeman, D.S., Nel, R. and Goulart Soares, A.** (2008). Measuring species richness on sandy beach transects: extrapolative estimators and their implications for sampling effort. *Marine Ecology* 29, 134–149.

**Simberloff, D., Moore, J. and Clayton, D.H.** (1997). Community ecology of parasites and free-living animals. *Host-parasite Evolution: General Principles and Avian Models* 174–197.

**Skirnisson, K., Galaktionov, K.V. and Kozminsky, E.V.** (2004). Factors influencing the distribution of digenetic trematode infections in a mudsnail (*Hydrobia ventrosa*) population inhabiting salt marsh ponds in Iceland. *Journal of Parasitology* 90, 50–59.

**Smith, N.F.** (2001). Spatial heterogeneity in recruitment of larval trematodes to snail intermediate hosts. *Oecologia* 127, 115–122.

**Smith, N.F.** (2007). Associations between shorebird abundance and parasites in the sand crab, *Emerita analoga*, along the California coast. *Journal of Parasitology* 93, 265–273.

**Snyder, S.D. and Esch, G.W.** (1993). Trematode community structure in the pulmonate snail *Physa gyrina*. *Journal of Parasitology* 79, 205–215.

**Soberón, M.J. and Llorente, J.** (1993). La Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad de México. *Revista de la Sociedad Mexicana de Historia Natural* 3–17.

**Soininen, J., McDonald, R. and Hillebrand, H.** (2007). The distance decay of similarity in ecological communities. *Ecography* 30, 3–12.

**Sokolova, I.M.** (1995). Influence of trematode on the demography of *Littorina saxatilis* (Gastropoda: Prosobranchia: Littorinidae) in the White Sea. *Diseases of Aquatic Organisms* 21, 91–101.

**Soldánová, M., Kuris, A.M., Scholz, T. and Lafferty, K.D.** (2012). The role of spatial and temporal heterogeneity and competition in structuring trematode communities in the great pond

snail, *Lymnaea stagnalis* (L.). *Journal of Parasitology* 98, 460–471.

**Sosnovsky, A. and Quirós, R.** (2006). El estado trófico de pequeñas lagunas pampeanas, su relación con la hidrología y el uso de la tierra. *Ecología Austral* 16, 115–124.

**Stutz, S.B.** (2000). Historia de la vegetación del litoral bonaerense durante el último ciclo transgresivo-regresivo del Holoceno. Tesis Doctoral. Universidad Nacional de Mar del Plata.

**Sousa, W.P.** (1993). Interspecific antagonism and species coexistence in a diverse guild of larval trematode parasites. *Ecological Monographs* 63, 103–128.

**Sukhdeo, M.V. and Sukhdeo, S.C.** (2004). Trematode behaviours and the perceptual worlds of parasites. *Canadian Journal of Zoology* 82, 292–315.

**Szidat, L.** (1956). Über den entwicklungszyklus mit progenetischen Larvenstadien (Cercariae) von *Genarchella genarchella* Travassos, 1928 (Trematoda, Hemiuridae) und die Möglichkeit einer hormonalen Beeinflussung der Parasiten durch ihre Wirtstiere. *Zeitschrift Fur Tropenmedizin Und Parasitologie* 7, 132–153.

**Szidat, L.** (1958). Investigaciones sobre *Cercaria chascomusi* n. sp. Agente causal de una nueva enfermedad humana en la Argentina: La dermatitis de los bañistas de la laguna Chascomús. *Boletín del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia* 18, 1-16.

**Thieltges, D.W., Ferguson, M.A.D., Jones, C.S., Noble, L.R. and Poulin, R.** (2009a). Biogeographical patterns of marine larval trematode parasites in two intermediate snail hosts in Europe. *Journal of Biogeography*.

**Thieltges, D.W., Ferguson, M.A.D., Jones, C.S., Krakau, M., de Montaudouin, X., Noble, L.R., Relse, K. and Poulin, R.** (2009b). Distance decay of similarity among parasite communities of three marine invertebrate hosts. *Oecologia* 160, 163–173.

**Thompson, J.N.** (1998). Rapid evolution as an ecological process. *Trends in Ecology & Evolution* 13, 329–332.

**Timi, J.T., Luque, J.L. and Poulin, R.** (2010). Host ontogeny and the temporal decay of similarity in parasite communities of marine fish. *International Journal for Parasitology* 40, 963–968.

**Upathami, E.S.** (1972). Exposure of Caged *Biomphalaria glabrata* (Say) to Investigate Dispersion of Miracidia of *Schistosoma mansoni* Sambon in Outdoor Habitats in St. Lucia. *Journal of Helminthology* 46, 297–306.

**Van de Haterd, R.J.W. and Ter Heerdt, G.N.J.** (2007). Potential for the development of submerged macrophytes in eutrophicated shallow peaty lakes after restoration measures. *Hydrobiologia* 584, 277–290.

**VAN Valen, V.** (1973). A new evolutionary law. *Evolutionary Theory* 1, 1–30.

**Vanoverschelde, R.** (1982). Studies on the life cycle of *Himasthla militaris* (Trematoda: Echinostomatidae): influence of temperature and salinity on the life-span of the miracidium and the infection of the first intermediate host *Hydrobia ventrosa*. *Parasitology* 84, 131–135.

**Walther, B.A. and Morand, S.** (1998). Comparative performance of species richness estimation methods. *Parasitology* 116, 395–405.

**Walther, B.A. and Martin, J.** (2001). Species richness estimation of bird communities how to control for sampling effort?. *Ibis* 143, 413–419.

**Walther, B.A. and Moore, J.L.** (2005). The concepts of bias, precision and accuracy, and their use in testing the performance of species richness estimators, with a literature review of estimator performance. *Ecography* 28, 815–829.

**Walther, B.A., Cotgreave, P., Price, R.D., Gregory, R.D. and Clayton, D.H.** (1995). Sampling Effort and Parasite Species Richness. *Parasitology Today* 11, 306–309.

**Wang, W., Li, H. and Li, Y.** (2011). Impact on Susceptibility to Miracidium of *Schistosoma Japonicum* of *Oncomelania* in Different Density and at Different Distance: a Simulated Field Study. *Parasitoses and Infectious Diseases* 1, 3-6.

- Warwick, R.M. and Clarke, K.R.** (2001). Practical measures of marine biodiversity based on relatedness of species. *Oceanography and marine biology: an annual review* 39, 207–231.
- Whitney, K.L., Hechinger, R.F., Kuris, A.M. and Lafferty, K.D.** (2007). Endangered light-footed clapper rail affects parasite community structure in coastal wetlands. *Ecological Applications* 17, 1694–1702.
- Whittaker, R.H.** (1960). Vegetation of the Siskiyou mountains, Oregon and California. *Ecological Monographs* 30, 279–338.
- Whittaker, R.H.** (1976). Evolution and measurement of species diversity. *Taxon* 213–251.
- Whittaker, R.J., Willis, K.J. and Field, R.** (2001). Scale and species richness: towards a general, hierarchical theory of species diversity. *Journal of Biogeography* 28, 453–470.
- Windsor, D.A.** (1998). Controversies in parasitology, Most of the species on Earth are parasites. *International Journal for Parasitology* 28, 1939–1941.
- Yakovis, E.L., Artemieva, A.V., Fokin, M.V., Varfolomeeva, M.A. and Shunatova, N.N.** (2013). Synchronous annual recruitment variation in barnacles and ascidians in the White Sea shallow subtidal 1999–2010. *Hydrobiologia* 1–11.
- Yamaguti, S.** (1975). A synoptical review of life histories of digenetic trematodes of vertebrates: With special reference to the morphology of their larval forms. Keigaku Publishing Co.
- Zar, J.H.** (2009). *Biostatistical analysis*, 5th edition. Pearson Education, Inc. New Jersey. U.S.A.
- Zbikowska, E.** (2004). Does behavioural fever occur in snails parasitised with trematode larvae? *Journal of Thermal Biology* 29, 675–679.
- Zhou, Y. and Pan, J.** (1999). Species, distribution and damage of *Cymatium* in sea water pearl oyster culture zones of Hainan Island. *Tropic Oceanology* 18, 83–89.

