

**Biodiversidad, biología y ecología del
género *Hydra* (*Cnidaria*; *Hydrozoa*) en
ambientes acuáticos continentales del
sudeste de la Provincia de Buenos Aires
y algunos comentarios sobre el hidrozoo
colonial *Cordylophora caspia***

Tesis Doctoral

Lic. MARIA IRENE DESERTI

**Director: Dr. Fabián H. Acuña
Co-Director: Dr. Daniel E. Martínez**

Departamento de Ciencias Marinas
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales
Universidad Nacional de Mar del Plata
2016

La ilustración de tapa y contratapa es una modificación de la obra de Rösel von Rosenhof
“*Historie der polypen und anderer kleiner wasserinsecten*” publicada en 1755

Agradecimientos:

Agradezco al Departamento de Ciencias Marinas (FCEyN, UNMdP) por brindar el lugar de trabajo para el desarrollo de esta tesis. A los miembros del jurado, que con sus correcciones y sugerencias mejoraron esta investigación. A todos los miembros presentes y pasados del Laboratorio de Biología de Cnidarios, en especial al Dr. Mauricio Zamponi que fomentó mi interés por estos maravillosos organismos y que me permitió formar parte de este gran grupo de personas/investigadores al cual hoy pertenezco con mucho orgullo. A la Dra. Alicia Escalante, que estuvo presente desde mis inicios y que siempre me brindó su apoyo, cordialidad y experiencia en el trabajo de campo, enseñándome a dar mis “primeros pasos” dentro de una laguna. A la Dra. Soledad Esquiú, que amigablemente siempre respondió mis inquietudes y me ayudó a ordenar mis ideas en el papel. A la Sra. Adriana Licciardo, Lic. Manuela Parietti, Dra. Alejandra Rossin, Dra. Asunción Romanelli y al Dr. Matías Merlo por su invaluable ayuda en los muestreos. Al Dr. Fabián Acuña por su predisposición desde el inicio y por su confianza y cordialidad en el trabajo cotidiano y al Dr. Daniel Martínez por su participación y ayuda como co-director del proyecto.

Por último, pero no menos importante, a Emilia, Sol, Ana y Josefina, mis hermanas, por estar en cada paso; a mi tía Adriana, por su apoyo y amistad; a mis amigas Sole, Lu, Vero y Ana, por recorrer conmigo esta hermosa carrera y ser mis entrañables confidentes y a todos mis amigos que siempre estuvieron en los buenos y malos momentos.

Esta tesis está especialmente dedicada a mis padres, que fueron y por siempre serán, mis pilares en la vida.

A todos ellos, muchas gracias!

Las investigaciones de esta tesis fueron realizadas con los subsidios: EXA 556/12 y EXA 648/14 de la Universidad Nacional de Mar del Plata y PIP 0011 del CONICET. Director de los proyectos: Dr. Fabián. H. Acuña. Parte del Doctorado de MID fue financiado por el CONICET (Beca de Posgrado tipo II).

INDICE

<i>Resumen</i>	8
<i>Abstract</i>	9
CAPITULO I: INTRODUCCION GENERAL	10
<i>Historia de taxón</i>	10
<i>El género Hydra en Sudamérica</i>	12
<i>Hydra, un fructífero modelo experimental</i>	13
<i>Biología de Hydra</i>	16
<i>Objetivos</i>	19
CAPITULO II: BIODIVERSIDAD	20
INTRODUCCIÓN	20
<i>Antecedentes taxonómicos en Argentina</i>	20
<i>Área de estudio</i>	23
MATERIALES Y METODOS	25
<i>Colecta de especímenes</i>	25
<i>Análisis Morfológico</i>	27
<i>Protocolo MEB</i>	28
<i>Protocolo de Solución Cultural</i>	28
<i>Análisis Estadísticos</i>	29
RESULTADOS	31
<i>Análisis Morfológico</i>	31
<i>Análisis Estadísticos</i>	45
DISCUSION Y CONCLUSIONES	53
CAPITULO III: ANALISIS MOLECULARES	60
INTRODUCCION	60
MATERIALES Y METODOS	63
<i>Envío de material al laboratorio del Dr. Martínez (Pomona, College, California, EE.UU)</i>	63
<i>Extracción del ADN, amplificación por PCR y secuenciación</i>	65
RESULTADOS	67
DISCUSION Y CONCLUSIONES	70
CAPITULO IV: BIOMETRIA Y ESTADISTICA DE LOS CNIDOCISTOS	73
INTRODUCCION	73
MATERIALES Y METODOS	76

<i>Muestreo de cnidocistos, descripción y tipificación</i>	76
<i>Abundancia Relativa</i>	76
<i>Análisis Estadístico</i>	76
RESULTADOS	79
<i>Muestreo de cnidocistos, descripción y tipificación</i>	79
<i>Abundancia Relativa</i>	80
<i>Análisis Estadístico</i>	82
DISCUSION Y CONCLUSIONES	89
CAPITULO V: ECOLOGIA TROFICA	94
INTRODUCCION	94
MATERIALES Y METODOS	97
<i>Calculo de parámetros tróficos y volumen de presa</i>	97
<i>Calculo de nematocistos en tentáculos de Hydra</i>	98
RESULTADOS	100
<i>Calculo de parámetros tróficos y volumen de presa</i>	100
<i>Calculo de nematocistos en tentáculos de Hydra</i>	112
DISCUSION Y CONCLUSIONES	114
CAPITULO VI: REPRODUCCION Y DISTRIBUCION ESPACIAL	117
INTRODUCCION	117
<i>Reproducción</i>	117
<i>Distribución Espacial y selección de sustrato</i>	118
MATERIALES Y METODOS	120
RESULTADOS	121
<i>Reproducción</i>	121
<i>Distribución Espacial</i>	122
<i>Selección de Sustratos</i>	122
DISCUSION Y CONCLUSIONES	125
CAPITULO VII: ASOCIACIONES	128
INTRODUCCION	128
MATERIALES Y METODOS	131
<i>Simbiosis Clorela/Hydra</i>	131
<i>Parasitosis Ameba/Hydra</i>	132
RESULTADOS	135
<i>Simbiosis Clorela/Hydra</i>	135
<i>Parasitosis Ameba/Hydra</i>	136

DISCUSION Y CONCLUSIONES	139
<i>Simbiosis Clorela/Hydra</i>	139
<i>Parasitosis Ameba/Hydra</i>	140
CAPITULO VIII: <i>Cordylophora caspia</i> Pallas, 1771	143
INTRODUCCION	143
<i>Biología de Cordylophora caspia</i>	144
<i>Antecedentes taxonómicos en Argentina</i>	145
MATERIALES Y METODOS	147
<i>Análisis Morfológicos</i>	147
<i>Análisis Estadísticos</i>	147
RESULTADOS	149
<i>Análisis Morfológicos</i>	149
<i>Análisis Estadísticos</i>	151
DISCUSION Y CONCLUSIONES	154
CONSIDERACIONES FINALES	158
CAPITULO IX: BIBLIOGRAFIA	160

Biodiversidad, biología y ecología del género *Hydra* (Cnidaria; Hydrozoa) en ambientes acuáticos continentales del sudeste de la Provincia de Buenos Aires y algunos comentarios sobre el hidrozoo colonial *Cordylophora caspia*

Lic. María Irene Deserti

RESUMEN

En 1744, Trembley, publica su grandiosa obra “*Memorias para contribuir a la historia natural de una clase de pólipo de agua dulce con brazos en forma de cuernos*” donde se describen por primera vez las hidras. A partir de ese momento, los experimentos con estos curiosos organismos se multiplicaron aceleradamente. Los aportes de Trembley no solo contribuyeron a dar origen a la taxonomía del género, sino que desde entonces, se revolucionó el estudio de los seres vivos.

En Sudamérica, los cnidarios dulceacuícolas comienzan a ser registrados a partir de 1923. Pocos son los estudios que indagan en la naturaleza del género a nivel ecológico y más escasos aun, los que utilizan herramientas moleculares para esclarecer cuestiones taxonómicas.

Este trabajo pretende resumir ciertas características de la biología de las especies del género *Hydra* halladas en tres cuerpos de aguas continentales del sudeste de la Provincia de Buenos Aires. A tal fin, se realizaron observaciones a nivel de su taxonomía, reproducción, alimentación, asociación con otros organismos y todo lo referido a la biometría y estadística de sus cnidocistos.

Además, se suman en este trabajo, los datos recolectados para el hidrozoo colonial, *Cordylophora caspia*, que apareció durante la recolección de muestras y que constituye la primera cita para el sudeste bonaerense.

Biodiversity, biology and ecology of the genus *Hydra* (Cnidaria, Hydrozoa) in continental aquatic environments of southeast the Buenos Aires Province and comments on the colonial hydrozoan *Cordylophora caspia*

Lic. María Irene Deserti

ABSTRACT

In 1744, Trembley, published his great work "*Mémoires pour servir à l'histoire d'un genre de polypes d'eau douce*" which describes the hydras for the first time. From that moment, the experiments with these curious organisms multiplied rapidly. Trembley observations not only contributed to the origin of their taxonomy, but also that revolutionized the study of living organisms.

In South America, the freshwater cnidarians begin to be recorded from 1923. There are few studies that explore the nature of gender at ecological levels and even more scarce are the use of molecular tools to clarify taxonomic issues.

This paper aims to summarize certain features of the biology of the species of the genus *Hydra* found in three freshwater bodies of the southeast of Buenos Aires Province. To this purpose, observations at the level of their taxonomy, reproduction, feeding, association with other taxa and everything related to biometrics and statistics of their cnidocytes, are explored.

In addition, we present in this thesis, the data collected for the colonial hydrozoan, *Cordylophora caspia*, which appeared during the samplings and constitutes the first record to the southeast of Buenos Aires.

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN GENERAL

Los cnidarios constituyen un phylum bien definido con más de 11.000 especies vivientes (Brusca & Brusca 2007; Zamponi, 2008) y exhiben una considerable diversidad morfológica (Hemmrich *et al.*, 2007). A él pertenecen algunos de los organismos más enigmáticos y extraordinarios del mundo animal, entre los que se encuentran las medusas, los corales, las anémonas de mar y otros pólipos (Nosrati *et al.*, 2013). Son invertebrados inferiores de la rama Eumetazoa y el grupo hermano de los Bilateria; poseen una simetría primaria radial y es uno de los primeros taxones en exhibir un plan corporal, un plexo nervioso, una construcción tisular y células germinales (Peterson & Eernisse, 2001). Este grupo zoológico es marcadamente exitoso en el ambiente marino. Sólo unas pocas especies están representadas en las aguas continentales, pudiendo hallarse tanto en lagos como lagunas, ríos, charcas y estanques (Jankowski *et al.*, 2008).

Las especies dulceacuícolas pertenecen a cuatro grupos filogenéticamente separados (Bouillon & Boero, 2000a, b; Collins, 2002): (1) los pólipos solitarios del género *Hydra*, (2) los pólipos coloniales de los géneros *Cordylophora* y *Pachycordyle*, (3) las medusas de los géneros *Craspedacusta*, *Limnocoñida*, *Calpasoma*, *Astrohydra*, *Mansariella*, *Keralika*, *Australomedusa* y *Moerisia* y (4) un raro pólipo parásito de huevos de peces, perteneciente al género *Polypodium* (Bouillon & Boero, 2000a). La diversidad global de los cnidarios dulceacuícolas es muy baja, con menos de 40 especies agrupadas en menos de 15 géneros (Jankowski *et al.*, 2008). Si bien la identificación no es difícil en lo que respecta a medusas, pólipos coloniales y al pólipo parásito, no sucede lo mismo con las especies de hidras. Para este género los criterios taxonómicos exigen el estudio de ejemplares vivos y cultivos de laboratorio (Dioni, 1977; Zamponi, 1991). Históricamente se describieron gran cantidad de especies nuevas, muchas de ellas de manera errónea e indiscriminada, utilizando nombres de manera inconsistente (Holstein *et al.*, 1990; Slobodkin & Bossert, 1991).

Historia del taxón

Campbell (1989) divide la taxonomía del género *Hydra* en cuatro períodos: Descubrimiento, Exploración, Consolidación y Trabajos Modernos. Durante el período de Descubrimiento, se describen la forma, brotación, y comportamiento de diferentes tipos de hidras, a las que hasta entonces llamaban, “animálculos”. En 1744, Trembley, publica su grandiosa obra “*Memorias para contribuir a la historia natural de una clase de pólipo de agua dulce con brazos en forma de cuernos*” donde describe tres tipos diferentes de hidras.

Posteriormente, Rösel von Rosenhof (1755) reconoce los tres tipos de Trembley y agrega un cuarto. Linnaeus (1746) fue el primero en reconocer a las hidras con la nomenclatura pre-binomial, como *Hydra viridis*, pero posteriormente, en su *Sistema Naturae* (Linnaeus, 1758), establece el binomial *Hydra polypus*. Finalmente Pallas (1766) propone los siguientes cuatro nombres: *H. viridissima*, *H. vulgaris*, *H. oligactis* e *H. attenuata* y Linnaeus (1767) las renombra como *H. viridis*, *H. grisea*, *H. fusca* e *H. pallens*, respectivamente.

Los próximos cien años corresponden al período de Exploración. Aquí se generan numerosas colecciones y descripciones de diferentes especies. Como las características sistemáticas resultan muy plásticas, los nombres propuestos por Pallas y Linnaeus comienzan a usarse de manera indiscriminada y se describen nuevas especies basadas en características triviales como el color o la forma (Campbell, 1989).

El período de Consolidación coincide con el perfeccionamiento del microscopio y el interés por la histología. Esto permitió estudiar en detalle características que resultarían indispensables al momento de clasificar, como lo son, la estructura de los nematocistos (Jickeli, 1882; Toppe, 1910), el patrón de crecimiento tentacular en los jóvenes brotes (Merechowsky, 1878; Haacke, 1880) y ciertas características asociadas a la reproducción sexual (Brauer, 1891). Estos descubrimientos estimularon varios ensayos destinados a comprender la identidad de los cuatro tipos dispuestos por Pallas. Sin embargo, la confusión aún no se esclarece totalmente, ya que no resultan claras las diferencias entre *H. vulgaris* e *H. attenuata*. Muchas especies comienzan a ser dudosas y para otras, se establecen las sinonimias (Campbell, 1989). Este período culmina con la publicación de la monografía de Schulze (1917) en la que resume la bibliografía existente, describe nuevas especies y establece tres géneros; *Pelmatohydra*, *Chlorohydra* e *Hydra*. Desafortunadamente, también comete un error; le asigna el nombre *H. vulgaris* (nombre dado por Pallas a las hidras comunes) a las hidras marrones poco comunes o más raras. Lamentablemente este desacierto es arrastrado *a posteriori* en otros trabajos científicos (Campbell, 1989).

El último de los períodos, según Campbell (1989), el de los Trabajos Modernos, implica la aceptación inmediata del sistema de clasificación de Schulze. Siguiendo este esquema, surgen innumerables trabajos taxonómicos. Brien & Reniers-Decoen (1949, 1951), Semal-van Gansen (1954) y Brien (1965) proveen un estudio detallado sobre el crecimiento, la estructura y reproducción de las tres hidras más comunes en Europa. Hyman (1929, 1930, 1931a, 1931b, 1938) en conjunto con Hadley & Forrest (1949) y Forrest (1959, 1963) describen en detalle la mayoría de las especies de América del Norte. El trabajo de Ewer (1948) se convierte en una

guía sobre caracteres, sinónimos y especies del mundo y Grayson (1971) realiza una revisión completa sobre la taxonomía de las hidras europeas.

Como podemos ver, la taxonomía de este género está centrada en las especies europeas y norteamericanas (Holstein, 1995; Chen & Wang, 2008) a pesar de que ha sido reportado en todos los continentes, excepto en el antártico (Jankowski *et al.*, 2008). Actualmente casi la totalidad de los autores acepta la existencia de cuatro grupos clasificatorios: grupo *viridissima* (hidras verdes), grupo *vulgaris* (hidras comunes), grupo *oligactis* (hidras pedunculadas) y grupo *braueri* (hidras gráciles), todos ellos incluidos en un solo género, el género *Hydra* (Campbell, 1989).

El género Hydra en Sudamérica

En Sudamérica, los cnidarios dulceacuícolas comienzan a ser registrados con Gaggero a partir de 1923. Estos trabajos son escasos y en su gran mayoría se ocupan solo de la sistemática de las especies (Dioni, 1977).

En Argentina, Gaggero (1923) da a conocer la primera cita sobre la presencia del pólipo colonial *Cordylophora lacustris* Allmann, en aguas del Rio Santiago (Ensenada, Prov. de Buenos Aires). Los estudios se continuaron con los trabajos de Dioni (1968) quien realiza una completa descripción detallada sobre una nueva especie de hidra verde, *Hydra (Chlorohydra) plagiodesmica* hallada en el Rio Salado, trabajo que fue acompañado con una síntesis sobre la información disponible de las hidras sudamericanas. En 1974, el mismo autor reporta la presencia de *Calpasoma dactyloptera* Fuhrmann, 1939 en Argentina y en Uruguay. En ese lapso fueron editados los trabajos de Ringuélet (1950) sobre la medusa *Craspedacusta sowerbyi* Lankester, 1880 y Ringuélet & Olivier (1954) en torno a *C. caspia* Pallas, 1771 (= *C. lacustris* Allman) para las lagunas de Chascomús y Lobos (provincia de Buenos Aires). Posteriormente Boltovskoy & Battistoni (1981) nuevamente reportan la aparición de *C. sowerbyi* en el embalse del Rio Tercero en la provincia de Córdoba y Richard (1990) en San Luis y Tucumán.

Schulze (1927) reporta para el estrecho de Magallanes en Punta Arenas, Chile, la especie *H. magellanica*, de la cual solo brinda algunos detalles de sus nematocistos. También para Chile, Burger (1906) cita a *H. viridis* y probablemente a la especie europea *H. grisea*. Sin embargo para esta última, el autor expresa sus dudas por escrito, ya que solo observa ejemplares con órganos masculinos, siendo *H. grisea*, hermafrodita. A pesar de dicha diferencia, la procedencia europea del contenido animal y vegetal del estanque donde extrajo los especímenes, llevan al autor a proponer dicha especie. Cordero (1939, 1941a, b) desarrolla una serie de descripciones taxonómicas detalladas sobre las hidras sudamericanas, citando a

Chlorohydra viridissima Pallas, 1766 para Brasil, Venezuela y Uruguay; *H. iheringi* para Brasil e *H. attenuata thomseni* para Uruguay. En todos sus trabajos, Cordero se refiere a este género como “un abundante componente de la fauna menuda” y reporta dichas especies en acequias, charcas, cañadas y arroyos. En su publicación del año 1939, Cordero cita a Schubart (1938) indicando que dicho autor habría reportado la presencia de *C. viridissima* en el nordeste de Brasil, basándose en ejemplares clasificados directamente por Schulze. Cernosvitov (1935) describe para un pequeño estanque, en Paraguay, la especie denominada *H. paranensis*, una hidra de mediano tamaño, de color amarillento y sin pedúnculo. Asimismo, Carvalho Wolle (1978) y Lang da Silveira *et al.*, (1997) citan también para ciertas regiones de Brasil a *H. intermedia*, *C. viridissima* e *H. salmacidis*.

Hasta el momento, cerca de 80 especies se encuentran citadas en la literatura científica mundial, aunque quizá, menos de 15 sean realmente distintas (Jankowski *et al.*, 2008). El número de especies descritas caen en alguno de los cuatro grupos definidos, sin embargo no está del todo claro aún cuántas de ellas son realmente válidas o cuáles son sinónimos entre sí (Ewer, 1948; Campbell, 1987; Slobodkin & Bossert, 1991).

El desarrollo de novedosas herramientas moleculares y diversos recursos genómicos, han puesto luz en lo que refiere a las relaciones filogenéticas de las especies y su biogeografía (Hemrich *et al.*, 2007; Kawaida *et al.*, 2010; Martínez *et al.*, 2010; Schwentner & Bosh, 2015). Los resultados de estas metodologías se incluyen además en las descripciones de nuevas especies o nuevos reportes (Wang *et al.*, 2009, 2012; Reddy *et al.*, 2011; Campbell *et al.*, 2013).

Hydra, un fructífero modelo experimental

Cabe destacar, que los aportes de Trembley (1744) no solo contribuyeron a dar origen a la taxonomía del género, sino que permitieron el estudio de numerosos mecanismos. Sus observaciones en hidras derivaron en experimentos que revolucionaron el estudio de los seres vivos (Lenhoff & Lenhoff, 1989). En uno de ellos, demostró por primera vez, que organismos sin ojos o estructuras sensoriales similares podían presentar comportamientos de fototaxis (Trembley, 1744). Pero probablemente los más significativos sean aquellos dedicados a estudiar la regeneración. Este descubrimiento constituía el primer y gran desafío a la aceptada “ley natural” de que, para la reproducción resultaba inexcusablemente el apareamiento (Lenhoff & Lenhoff, 1989). Muchos autores replicaron sus metodologías y ampliaron los estudios en este aspecto (Peebles, 1896, 1898; Bode, 2003; Bosch, 2007; Krahe *et al.*, 2012; Sahadevan *et al.*, 2013; Govindasamy *et al.*, 2014). A esto, Trembley (1744) le sumó sus investigaciones sobre la brotación; el desarrollo de una pequeña protuberancia en la columna de una hidra adulta, que

podía desarrollar sus tentáculos, desprenderse y convertirse en una pequeña réplica de su parental. Hoy se conoce en su totalidad las características de este mecanismo y a que parámetros ambientales responde como estrategia biológica y ecológica (Sersig & Lesh-Laurie, 1981; Lenhoff, 1983; Bell & Wolfe, 1985; Kaliszewics, 2011; Kaliszewicz & Lipińska, 2013). Sus experimentos pusieron en claro la existencia de la brotación como mecanismo de reproducción asexual, en donde los brotes no se desarrollaban a partir de huevos (Trembley, 1744). Pero aquí no terminó su curiosidad con las hidras. Logró revertirlas a modo de guante, observó y experimentó sobre el primer injerto, desarrolló la primera técnica de “tinción vital” y fue el primero en describir el protoplasma. Sus hallazgos causaron gran revuelo en universidades y sociedades científicas con una reacción inicial de incredulidad, que dio paso al entusiasmo por las claves de la naturaleza que Trembley había descubierto (Lenhoff & Lenhoff, 1989). Así, un sinnúmero de investigadores adoptaron a las hidras como objeto de estudio (Galliot, 2012).

Varias características convirtieron a estos organismos en el objeto ideal de numerosos experimentos. Una de ellas es la ubicuidad del género, su amplia distribución mundial en ambientes lénticos y lóxicos y la diversidad de sustratos (Zamponi, 1991), el fácil y poco costo de mantenimiento y alimentación (Trottier *et al.*, 1997; Pica Granados *et al.*, 2004) y su simplicidad morfológica (Quinn *et al.*, 2012). Su estructura corporal es mucho más simple que la de los vertebrados con un sistema nervioso y órganos especializados, pero más complejo que un cultivo celular. Esto hace a las hidras comparables a un tejido vivo cuyas células y regiones distantes están fisiológicamente conectadas (Galliot, *et al.*, 2006).

Por todo lo expuesto, el género *Hydra* se convirtió en un fructífero modelo experimental que tiene ya más de 270 años de uso (Galliot, 2012).

Sus aplicaciones son numerosas. Se utiliza animadamente para experimentos de fisiología (Greenwood, 1888), biología celular (Weismann, 1883; Hadzi, 1909) y biología del desarrollo (Rand, 1899; Browne, 1909; Hyman, 1928; Takahashi *et al.*, 2005; Guder *et al.*, 2006; Augustin *et al.*, 2006).

Entre otros tantos campos de estudio, se las utilizó para indagar en el fenómeno de la inducción (Browne, 1909), en el estudio de las células multipotentes (David & Murphy, 1977; Bosch & David, 1986), en el sistema de señalización de muerte celular (Cikala *et al.*, 1999; Technau *et al.*, 2003; Chera *et al.*, 2006, 2009), en aspectos de la neurogénesis y neurofisiología (MacConell, 1932; Loomis, 1955; Lenhoff, 1961; Burnet & Diehl, 1964; Koizumi & Bode, 1986), en la respuesta inmune y en la señalización de factores de crecimiento (Bosch & David, 1986; Hobmayer *et al.*, 2000; Reinhardt *et al.*, 2004), así como también en la naturaleza de la embriogénesis (Brauer, 1891; Hyman, 1928; Loomis, 1954; Martin *et al.*, 1997) y en la

respuesta al estrés y el envejecimiento (Brien, 1953; Martínez, 1998; Martínez & Bridge, 2012; Quinn *et al.*, 2012; Schaible *et al.*, 2015).

Las herramientas moleculares y el avance en la genómica han generado nuevas perspectivas en las investigaciones en este género y hoy se conoce que diferentes especies sirven para diferentes propósitos analíticos (Hemmrich *et al.*, 2007). Así, *H. vulgaris* e *H. magnipapillata* son utilizadas principalmente para estudios de desarrollo (Takahashi *et al.*, 2005; Guder *et al.*, 2006; Augustin *et al.*, 2006); *H. viridissima* se utiliza en estudios de simbiosis (Rahat & Reich, 1984; Habetha *et al.*, 2003, Habetha & Bosch, 2005; Kovačević *et al.*, 2010; Bosch, 2012; Kovačević, 2012; Rajević *et al.*, 2015); *H. oligactis* para investigaciones de carácter reproductivo (Schmidt, 1922; Littlefield *et al.*, 1991; Nishimiya-Fujisawa & Sugiyama, 1993, 1995) e *H. robusta* e *H. oligactis* para estudios de patrones axiales de diferenciación (Kobayakawa & Kodama, 2002; Bode, 2003; Amimoto *et al.*, 2006).

Otra destacada aplicación es la de ser utilizada como organismo de prueba para bioensayos de toxicidad (Pica Granados *et al.*, 2004; Quinn *et al.*, 2012). Esto se debe a la rápida facilidad de cultivo y reproducción, su estructura tisular primaria y su potencial para detectar compuestos tóxicos presentando cambios morfológicos fácilmente reconocibles bajo condiciones progresivas de intoxicación (Trottier *et al.*, 1997). Estos ensayos permiten determinar la letalidad potencial de diversas sustancias puras o diferentes aguas (Pica Granados *et al.*, 2004; Bossert & Galliot, 2012). Actualmente son de gran utilidad para probar y detectar el efecto de diversos compuestos como pesticidas (Demetrio *et al.*, 2012), compuestos farmacéuticos y xenobióticos (Pollino & Holdway, 1999; Pascoe *et al.*, 2003; Quinn *et al.*, 2008, 2009) y una gran diversidad de químicos (Jhonson *et al.*, 1986; Mayura *et al.*, 1991; Bowden *et al.*, 1995; Mitchell & Holdway, 2000; Ostroumova & Markova, 2002; Pachura-Bouchet *et al.*, 2006; Karntanut & Pascoe, 2007).

Esta cascada de estudios permiten incluso utilizarla en aulas y laboratorios para enseñar e ilustrar diversos aspectos de la biología. En 2012, Bossert & Galliot publican un trabajo denominado “How to use Hydra as a model system to teach biology in the classroom”, en el cual brindan una serie de experimentos sencillos y de bajo costo para enseñar conceptos básicos de la biología, como la respuesta a factores ambientales, conceptos de ecología y evolución, de ecología aplicada, biología del desarrollo y biología celular.

Biología y anatomía del género Hydra

Las hidras son pequeños pólipos solitarios, cuyo tamaño corporal oscila entre 5 a 20 mm de largo y de 0.3 a 1 mm de ancho. Es básicamente un tubo con un solo orificio de comunicación

al exterior en su extremo distal, la boca, rodeado por una corona de tentáculos contráctiles huecos de número variable (Campbell & Bode, 1983).

La boca está localizada sobre una estructura en forma de domo, denominada hipostoma. La boca, el hipostoma y la corona tentacular se denominan en conjunto, el hidrante. Debajo del hidrante, en la columna de una hidra brotada, se distinguen las siguientes regiones: (1) la región gástrica, entre los tentáculos y el primer brote, (2) la región de brotación, desde el primer brote hasta el último, (3) el pedúnculo, que se encuentra entre el último brote y el disco basal (usualmente es una zona más afinada y transparente que no siempre se encuentra presente) y (4) el disco basal o pedal, es la zona terminal de la hidra, que secreta un material viscoso para adherir el pólipo al sustrato (Campbell & Bode, 1983).

Adicionalmente, otra nomenclatura puede utilizarse para dividir en regiones el cuerpo de una hidra. Esta terminología distingue: (1) tentáculos, (2) hipostoma o región de la boca, (3) columna o estómago, (4) pedúnculo y (5) disco basal (Hess, 1961). Esta representación de la estructura corporal es útil para describir la disposición histológica en experimentos de injertos (Campbell & Bode, 1983).

La pared del cuerpo posee una estructura primaria. Está formada por dos capas de tejido, ectodermo (o epidermis), en contacto con el medio ambiente y endodermo (o gastrodermis), que recubre la cavidad gastro-vascular o celenterón. Estas dos capas están separadas por una lámina delgada denominada mesoglea (Hess, 1961). Dicha estructura tri-laminar se extiende a través de toda la columna, los tentáculos y los brotes (Campbell & Bode, 1983).

Los tejidos contienen diferentes tipos celulares. El ectodermo posee células epitelio-musculares, intersticiales, mucosas, receptoras, nerviosas y cnidocitos. El endodermo posee células nutritivo-musculares, glandulares enzimáticas, mucosas y nerviosas (éstas últimas, en menor cantidad que en el ectodermo) (Ruppert & Barnes, 1996). La mesoglea es acelular, pero posee porciones de citoplasma que conectan el ecto y el endodermo (Hess, 1961).

Las células nerviosas constituyen una red o plexo irregular en la base del ectodermo y endodermo, encontrándose en altas concentraciones alrededor de la boca (Ruppert & Barnes, 1996).

Las células epitelio-musculares permiten a los organismos extenderse, contraerse e inclinarse de uno a otro lado. El fluido existente dentro del celenterón juega un importante papel como esqueleto hidrostático y contribuye al movimiento (Ruppert & Barnes, 1996). Si bien están adheridas al sustrato por su disco basal, las hidras pueden desprenderse y cambiar de lugar, con desplazamientos horizontales (Brusca, 2007) o verticales mediante la producción de una burbuja de gas debajo de su disco pedal (Kepner & Thomas, 1928; Lomnicki & Slobodkin,

1966). Además, pueden aprovechar las corrientes de agua y trasladarse hacia nuevos sustratos (Mackie, 1974). La contracción y retracción del cuerpo ocurre constantemente. Esto provoca que los tamaños y proporciones de un organismo no sean constantes (Campbell & Bode, 1983).

Las hidras son animales desnudos, por lo tanto, sus epitelios están en contacto directo con el medio acuoso que las rodea (Lenhoff, 1983). El intercambio gaseoso ocurre a través de la pared del cuerpo. Los residuos nitrogenados (amoníaco) se difunden también a través de toda la superficie corporal (Brusca, 2007). Como sucede en otros animales de agua dulce, existe una corriente continua de agua hacia el interior del celenterón a través de la pared del cuerpo. Este exceso de agua, que es hipo-osmótica respecto a los fluidos tisulares, se expulsa periódicamente por la boca (Ruppert & Barnes, 1996).

Las hidras son carnívoras (Ruppert & Barnes, 1996; Brusca, 2007) y son consideradas como eficientes predadores (Slobodkin & Bossert, 2001). Incluso, Massaro *et al.* (2013) considera a este género como un predador tope en la cadena alimenticia que las incluye.

Para el caso particular de las especies del grupo *viridissima*, estas mantienen una estrecha relación de simbiosis con algas unicelulares del género *Chlorella* sp. Estas algas se hospedan en las células del endodermo (Kanaev, 1969; Burnett, 1973; Tardent, 1988), colorean de verde brillante a su hospedador y le suministran los productos resultantes de su fotosíntesis (Ruppert & Barnes, 1996). El mantenimiento de esta simbiosis es bidireccional y está estrechamente relacionada al *fitness* del hospedador. Por su parte, las algas obtienen un hábitat protegido, usando además los productos metabólicos generados por la hidra (McAuley *et al.*, 1996).

Estos organismos pueden reproducirse asexualmente y sexualmente. Asexualmente lo hacen mediante brotación (=gemación). Un brote (o yema) se produce como una simple evaginación de la pared del cuerpo que contiene una extensión de la cavidad gastrovascular (Campbell & Bode, 1983; Brusca, 2007). La boca y los tentáculos se forman en el extremo distal del cuerpo y eventualmente el brote se desprende del progenitor y se convierte en una hidra independiente (Ruppert & Barnes, 1996). Este brote es típicamente un clon de aquel que le dio origen (Kaliszewicz, 2009). Teniendo en cuenta su facilidad para reproducirse asexualmente, no es sorprendente entonces que tengan un considerable potencial de regeneración (Brusca, 2007). Existe actividad mitótica en toda la columna (Campbell, 1965; David & Campbell, 1972), pero la velocidad de producción de nuevas células es mayor por debajo del hipostoma. Puesto que las puntas de los tentáculos, el disco basal y los brotes son sitios de pérdida o muerte celular, existe una migración gradual de células hacia estas regiones desde la zona mitótica. Sin embargo, las hidras no crecen en masa (Bode & Flick, 1976),

después de unas semanas, todas las células del cuerpo se han reemplazado: así, las hidras, nunca llegan a envejecer (Ruppert & Barnes, 1996).

En cuanto a la reproducción sexual, las células intersticiales generan células germinales que se agrupan y forman engrosamientos (o estructuras epidérmicas) simples y transitorias a lo largo de la columna: los ovarios y los testículos (Brusca, 2007). La forma medusa se encuentra ausente en este género (Jankowski *et al.*, 2008). Dependiendo de las especies, todas las estrategias reproductivas son posibles; pueden ser hermafroditas (monoicas), hermafroditas proterándricas o gonocóricas (dioicas) (Zamponi, 1991).

El phylum Cnidaria contiene una característica que lo define como tal; la posesión de células urticantes denominadas cnidocitos, considerados uno de los más complejos y elaborados tipos celulares del reino animal (Weber, 1990). En el género *Hydra* el cnidoma (dotación completa de cnidocitos de una especie) está compuesto por cuatro tipos de cnidocitos (Kanaev, 1969; Campbell & Bode, 1996): *estenotele*, *desmoneme*, *atrico isorriza* y *holotrico isorriza*. Los desmonemes son los más numerosos, y junto con los estenoteles (de mayor tamaño) son utilizados para la captura de presas. Tanto los atricos como holotricos isorrizas, se utilizan para adherencia al sustrato durante la locomoción y fijación (Ewer, 1947). El desarrollo de los cnidocitos a partir de las células intersticiales, es un proceso que requiere de seis a siete días (David & Gierer, 1974) y se realiza constantemente. Una vez maduros, los cnidocitos migran a través del ectodermo hacia los tentáculos (Tardent & Morgenthaler, 1966; Herlands & Bode, 1974). Una vez repuestos en los tentáculos, los cnidocitos restantes se localizan en el ectodermo del resto del cuerpo (Bode & Flick, 1976).

Las especies de este género pueden hallarse en lagunas, ríos, lagos, charcas y estanques, haciéndose más frecuentes en ambientes mesotróficos y eutróficos (Jankowski *et al.*, 2008). Sin embargo, prefieren aguas tranquilas con poca intensidad de corriente (Zamponi, 1991).

Diferentes especies de hidras han sido reportadas en gran cantidad de sustratos. Entre ellos, tallos y hojas de macrófitas formadoras de carpeta vegetal flotante o sumergida (Hershey & Dodson, 1987), sobre rocas (Cuker & Mosley, 1981), en el plancton (Batha, 1974) como así también sobre diversos restos vegetales muertos (Slobodkin & Bossert, 2001).

Objetivos

El objetivo general de esta tesis fue estudiar y conocer la biodiversidad y diversos aspectos sobre la biología y ecología de las hidras, en los cuerpos de agua dulce del sudeste bonaerense.

Con el fin de alcanzar el objetivo general se plantearon los siguientes objetivos específicos:

- Realizar un inventario de las especies presentes en las zonas de estudio.
- Aplicar técnicas moleculares para la identificación de especies.
- Analizar la biometría de los distintos tipos de nematocistos.
- Analizar la aparición de estructuras sexuales y asexuales en cada especie.
- Analizar la distribución espacial de los organismos en la muestra.
- Estudiar la alimentación.
- Determinar las posibles asociaciones con otros organismos de la comunidad.

Desde los inicios, el objetivo de esta tesis fue trabajar con el género *Hydra* presente en los ambientes del sudeste bonaerense. Sin embargo, el hallazgo de *Cordylophora caspia* nos tomó por sorpresa y dada la cercanía con nuestro objeto de estudio y las características de especie invasora, nos pareció pertinente presentarla formalmente en esta tesis.

Por esta razón, en el Capítulo VIII se la describe morfológicamente y se indagan sobre algunos aspectos de su biología.

CAPÍTULO II: BIODIVERSIDAD

INTRODUCCIÓN

Antecedentes taxonómicos en Argentina

Los cnidarios dulceacuícolas, incluyendo el género *Hydra*, son poco conocidos para las aguas continentales de la República Argentina (Dioni, 1977; Zamponi, 1991). Hasta el momento, estas son las especies descritas para nuestro país:

***Hydra (Chlorohydra) plagiodesmica* Dioni (1968).**

Especie de mediano tamaño, delicada y de color verde brillante. Columna cilíndrica, sin un pedúnculo diferenciado. Posee de 6 a 8 tentáculos finos con tres patrones de aparición en los brotes.

Esta especie es hermafrodita proterándrica. La embrioteca está formada por una serie de prismas penta o hexagonales de extremidad chata. Sólo en embriones jóvenes, suele observarse una lenticula hueca o cámara basal pequeña en la zona de unión de la embrioteca con el rodete placentario.

En cuanto a los nematocistos, los estenoteles son piriformes. El estilete ocupa aproximadamente un 60% del largo de la cápsula y el filamento se enrolla contra la pared, ocupando su mitad inferior. Los desmonemes son ovalados y anchos. El ápice muestra una pequeña indentación en la que comienza el filamento, marcando un plano de simetría bilateral. Los atricos isorrizas poseen en su interior un apretado y fino filamento enrollado verticalmente y en muchos casos, retorcido en forma de 8. Los holotricos isorrizas presentan forma oval y alargada. Muestra dos o tres espiras gruesas, generalmente de disposición oblicua y un fino filamento enrollado, a modo de ovillo, cuyos bucles muestran una disposición transversal. Este tipo de nematocisto es, sin embargo, muy variable, habiéndolos anchamente ovoides, cilíndricos o simétricos y reniformes.

Esta especie fue hallada adherida a raíces de *Eichhornia* sp. proveniente del Río Salado (provincia de Santa Fé), a la altura de la ciudad de Santo Tomé.

***Hydra vulgaris* Pallas, 1766** (Deserti & Zamponi, 2011).

Especie de mediano tamaño y color marrón. Sus tentáculos son moniliformes, con un largo relativo de $\frac{3}{4}$ el largo de la columna. Se registraron entre 6 y 9 tentáculos, siendo 7 el número más frecuente (Figura 2).

La especie parece ser dioica. Se observaron hasta tres testículos en un mismo individuo. Son de color blanquecino, presentan un pezón donde puede observarse el esperma en movimiento y se desarrollan por debajo de los tentáculos. La embrioteca, localizada en la región de brotación, es redonda y del mismo color que los testículos.

En cuanto a sus nematocistos, los desmonemes fueron los más abundantes, hallados en los tentáculos. Se observaron piriformes y con el filamento enrollado dando una vuelta y media dentro de la cápsula. Los estenoteles siguen en abundancia, hallados en tentáculos y columna. De forma eudipleural piriforme, el dardo ocupa aproximadamente el 60% de la cápsula y el filamento está enrollado ocupando la mitad inferior. Los atricos isorrizas son el tercer tipo más abundante, hallándolos sólo en los tentáculos. Presentan forma de semilla y un filamento muy fino enrollado sobre sí mismo verticalmente, ocupando casi la totalidad de la cápsula. Los menos abundantes, los holotricos isorrizas, tienen la típica forma de paramecio o suela de zapato, se registraron de 3 a 4 espiras gruesas, de posición oblicua y una masa de filamento más denso y fino, enrollado a modo de ovillo, en la mitad inferior de la cápsula.

Esta especie fue recolectada en mayo del 2009 en laguna Los Padres (partido de General Pueyrredón, provincia de Buenos Aires), en tallos del junco *Schoenoplectus californicus*.

Hydra vulgaris pedunculata (Deserti, Zamponi & Escalante, 2011).

Especie de color marrón y mediano tamaño. En su parte inferior, cercano al disco basal presenta un pedúnculo translúcido. El número de tentáculos varía entre 6 y 7, siendo 6 el número más frecuente. El desarrollo de los mismos en los brotes sigue un patrón discontinuo (Figura 2).

No se observaron caracteres sexuales.

En relación a sus nematocistos, los desmonemes fueron los más abundantes, con formas esféricas y un filamento dando una vuelta en el interior de la cápsula. Los estenoteles son los que presentan el mayor tamaño y poseen la clásica forma de pera. El dardo ocupa aproximadamente un 60% de la cápsula y un filamento más fino se enrolla en la mitad inferior de la cápsula. Los atricos isorrizas poseen forma de semilla y un fino filamento se enrolla

ocupando la totalidad de la cápsula. Los holotricos isorrizas, menos abundantes, poseen la clásica forma de paramecio o suela de zapato. Se observan de 3 a 4 espiras gruesas de disposición oblicua y un filamento más fino densamente enrollado en la parte inferior de la cápsula.

Esta especie fue recolectada en mayo del 2009 en laguna Los Padres (partido de General Pueyrredón, provincia de Buenos Aires), en tallos del junco *Schoenoplectus californicus*, en coexistencia con *H. vulgaris* descrita en Deserti & Zamponi (2011).

***Hydra pseudoligactis* Hyman (1931)** (Deserti, Zamponi y Escalante, 2012).

Especie de color marrón, la columna varía entre 2,12 a 5,78 mm de largo y 0,14 a 1,06 de ancho. Presenta un conspicuo y translúcido pedúnculo en la zona cercana al disco basal que oscila entre 0,07 y 0,46 de ancho en su parte más estrecha. Los tentáculos varían en número entre 6 y 9, siendo 6 el número más frecuente. Son transparentes y moniliformes y tienen un largo relativo de más de la mitad del largo de columna. Su patrón de crecimiento se inicia con el desarrollo temprano de los tentáculos 1,2 y 3, localizados opuestos entre sí. Sin embargo no se ha podido registrar con seguridad, si el tercer tentáculo corresponde al primer o segundo ciclo de crecimiento. Se observaron entre 1 y 2 brotes, siendo un solo brote lo más frecuente. Sólo aparecieron individuos con testículos. Estos se observaron mamiformes y con un pezón de forma cónica.

Presentaron los cuatro tipos de nematocistos. Los desmonemes fueron los más abundantes, con formas esféricas y el filamento enrollado dando una vuelta en el interior de la cápsula. Le siguen en abundancia los estenoteles, que presentan los tamaños más grandes con respecto a los tres tipos restantes. Los atrico isorrizas son los terceros en abundancia, presentan forma de semilla y el fino filamento se enrolla ocupando todo el interior de la cápsula. Los holotricos isorrizas, son los menos abundantes, con la usual forma de paramecio o suela de zapato. Presentan 3 o 4 espiras gruesas, de posición oblicua y un filamento más fino se enrolla densamente en la mitad inferior. Este enrollamiento es transversal con respecto al eje principal de la cápsula

Esta especie fue recolectada en septiembre y diciembre del 2009 en laguna Nahuel Rucá (partido de Mar Chiquita, provincia de Buenos Aires), en tallos del junco *Schoenoplectus californicus*.

Áreas de estudio

La Brava (37° 53' S; 57° 58' O) (Figura 1)

Pertenece al partido de Balcarce, se encuentra situada en el Sistema Serrano de Tandilia, un sistema de bloques montañosos con una elevación máxima de 250 m por encima del nivel del mar (Romanelli *et al.*, 2013). De origen estructural y también producto de embalsado por médanos (Ringuelet, 1962). Tiene como afluente el arroyo El Peligro y como efluente, el arroyo Tajamar (Quirós & Drago, 1999). Posee un área de 4 km² y una profundidad máxima de 1.24 m (Pozzobon & Tell, 1995; Grosman & Sanzano, 1999). Este cuerpo de agua es permanente y contiene abundante materia orgánica y altas concentraciones de nutrientes, determinando un alto nivel de eutrofización desde sus orígenes (Quirós & Drago, 1999). Presenta en su zona litoral una abundante vegetación acuática emergente (Romanelli *et al.*, 2010).

En el sector norte de la laguna se encuentra una zona residencial (villa La Brava) con una importante población permanente de más de 300 residentes (Romanelli *et al.*, 2013). El uso de suelo en las cercanías de esta laguna es casi exclusivamente de tipo agropecuario, predominando los cultivos de trigo, maíz, soja, girasol y papa. En algunas zonas se practica la ganadería extensiva (Romanelli *et al.*, 2010).

Los Padres (37° 56' S; 57° 44' O) (Figura 1)

Pertenece al partido de General Pueyrredón, se encuentra ubicada en el ámbito de la Reserva Integral Laguna Los Padres y se sitúa en el centro de uno de los cinturones agrícolas de mayor importancia de la provincia de Buenos Aires (Cichino, 2006). Posee un área de 2,16 km² y una profundidad máxima de 4.57 m (Pozzobon & Tell, 1995; Grosman & Sanzano, 1999). También se encuentra situada en el Sistema Serrano de Tandilia, pero su origen se debe a procesos de deflación eólica y de acumulación (Martínez, 2000). Es una laguna de carácter permanente y no posee estratificaciones químicas ni termales (Ringuelet *et al.*, 1967; Ringuelet, 1972). Contiene abundante materia orgánica y altas concentraciones de nutrientes, haciendo de este espejo de agua, un ambiente altamente eutrófico (Quirós & Drago, 1999). Posee como afluente el arroyo Los Padres y como efluente, el arroyo La Tapera (Quirós & Drago, 1999) y su zona litoral se encuentra ampliamente vegetada por especies acuáticas emergentes (Romanelli, *et al.*, 2010).

Esta laguna es un importante centro de recreación y actividades antrópicas (Romanelli *et al.*, 2013). En sus alrededores se encuentra situado el Cinturón Hortícola de la ciudad de Mar

del Plata con parcelas de tierra dedicadas a la producción de hortalizas, frutillas y plantas ornamentales (Romanelli, *et al.*, 2010). Además, cercana a la misma se encuentra asentado un barrio residencial (villa Los Padres) donde viven un centenar de familias (Romanelli *et al.*, 2013).

Nahuel Rucá (37° 40' O; 57° 23' O) (Figura 1)

Pertenece al partido de Mar Chiquita y se encuentra paleoecológicamente asociada a dos sitios, la laguna costera Mar Chiquita y laguna Hinojales, siendo el área entera, afectada por las fluctuaciones del nivel del mar durante el Holoceno (Stutz *et al.*, 2010).

Actualmente, Nahuel Rucá es una cuenca de depresión somera ocupada permanentemente por agua dulce (Ringuelet, 1962; Stutz & Prieto, 2003). Tiene como afluente el arroyo Dulce y como efluente, el arroyo Sotelo (Quirós & Drago, 1999).

Posee un área de 2,71 km² y una profundidad de 0.60 m. Al igual que las lagunas anteriormente mencionadas, contiene gran cantidad de nutrientes y materia orgánica, siendo típicamente un ambiente eutrófico (Quirós & Drago, 1999).

La vegetación está caracterizada por una comunidad de hidrófitas sumergidas, flotantes y palustres. Esta vegetación presenta una zonación muy común en las lagunas bonaerenses (Olivier, 1961).

Este cuerpo de agua se encuentra incluido en una estancia privada dedicada a la cría del ganado bovino y el acceso a la misma es restringido (Romanelli *et al.*, 2013), por lo cual, no recibe el impacto de actividades antrópicas recreativas.

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos del relevamiento de especies del género *Hydra* en los tres ambientes antes mencionados. Además se evalúan las posibles diferencias y similitudes entre las especies recolectadas y su posible relación con los parámetros de cada cuerpo de agua.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de especímenes

Se efectuó un muestreo estacional en los tres cuerpos de agua antes mencionados (Figura 1): La Brava, Los Padres y Nahuel Rucá, durante dos años consecutivos (entre el otoño del 2013 hasta el verano del 2015). Esto resultó en 4 muestras de cada laguna por año (24 muestras en total). En cada sitio se extrajeron:

- ▶ Dos muestras de juncos (15 a 20 tallos por muestra) en aquella zona del juncal libre de barro. Para ello se cortaron unos 20 cm de la porción sumergida de cada junco que fueron envasados en recipientes de 1 litro con agua del ambiente.
- ▶ Dos muestras de carpeta vegetal flotante extraída con un cuadrado de 30x30 cm (900 cm²) y envasadas en recipientes de 1 litro con agua del ambiente.
- ▶ Dos muestras de carpeta vegetal sumergida, que consistió en cierta cantidad de material vegetal envasada en recipientes de 1 litro con agua del ambiente (metodologías de extracción según Tell & Mazzoni, 1995).

En cada zona de muestreo se midieron *in situ* las siguientes variables ambientales: T° del agua, *transparencia* (con disco de Secchi), *profundidad* y *pH* (con peachímetro digital). Además, se extrajeron muestras de agua para estimar *oxígeno disuelto (OD)* (según Método de Winckler).

La totalidad de las muestras se trasladaron al laboratorio y se acondicionaron en acuarios estándar con aireadores, a T° ambiente y con un fotoperíodo de 12 hs luz y 12 hs de oscuridad mediante una fuente de luz continua de 75 W, para mantener los ejemplares vivos.

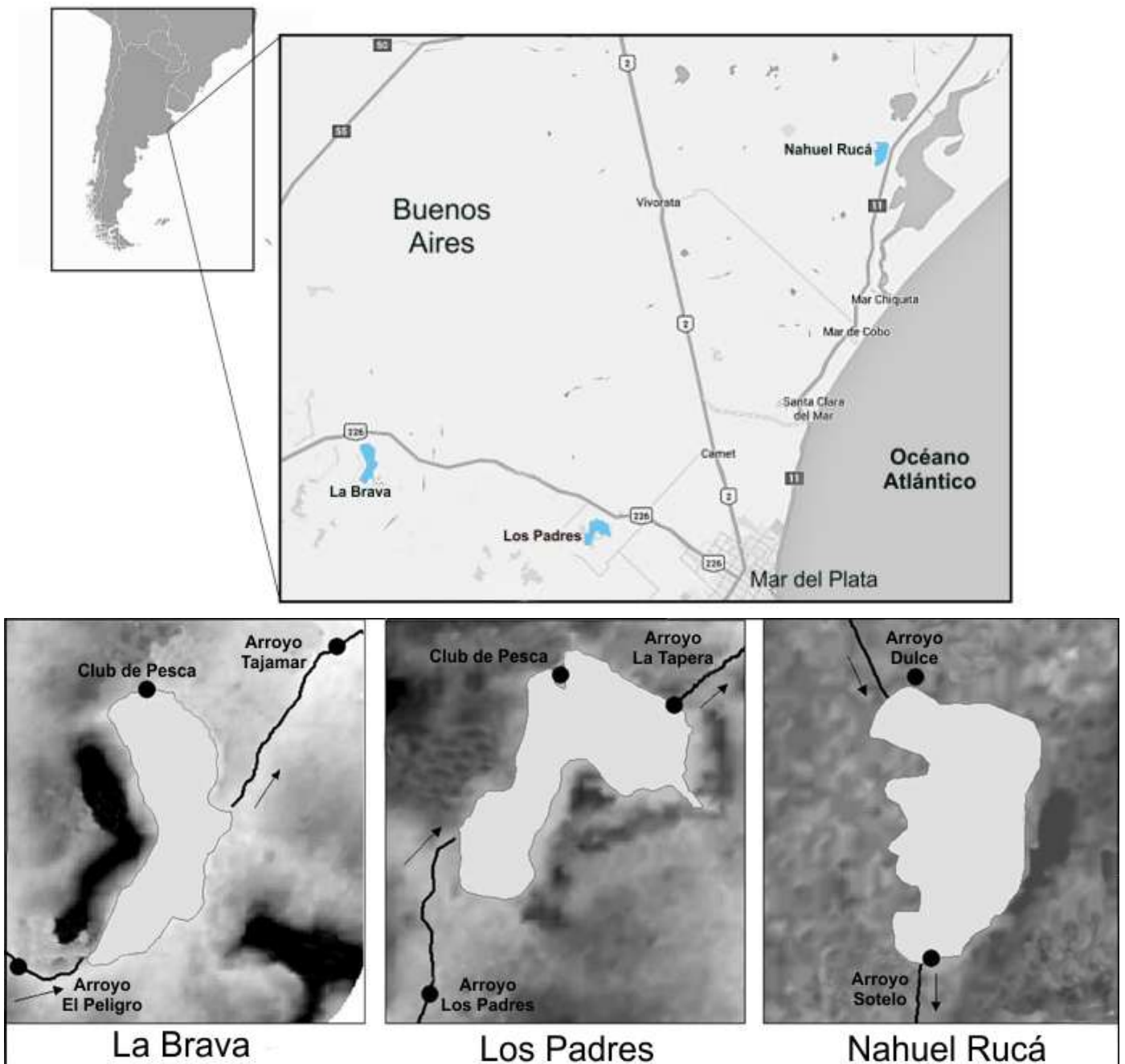


Figura 1: Detalle de los sitios de muestreo: lagunas La Brava ($37^{\circ} 53' S$; $57^{\circ} 58' O$), Los Padres ($37^{\circ} 56' S$; $57^{\circ} 44' O$) y Nahuel Rucá ($37^{\circ} 40' O$; $57^{\circ} 23' O$). Modificado de Romanelli, *et al.* (2013).

Análisis morfológicos

Para la diagnosis del status taxonómico se utilizaron ejemplares vivos analizados inmediatamente después de haber sido extraídos. Para cada ejemplar, se consideraron los siguientes caracteres morfológicos:

-Permanentes: color, por observación directa. Largo y ancho de columna bajo lupa, anexando un ocular micrométrico. Número de tentáculos, disposición, patrón de crecimiento, forma y tamaño. Se determinaron los diferentes tipos de nematocistos para cada especie. Mediante la realización de *squash* se registró el largo y ancho de al menos 30 cápsulas sin descargar de cada tipo, tomadas al azar, utilizando un microscopio Zeiss Axiolab con una magnificación de 1000X. Se estimó además la abundancia, enfocando cuatro campos ópticos distintos al azar en cada preparado, contabilizándose los distintos tipos que fueran perfectamente individualizables. Se registró el número de brotes por individuo y su ubicación en la columna. Cada brote además, fue descrito y tipificado.

-Transitorios: Presencia/ausencia de testículos, ovarios y teca embrionaria. Cuando estuvieron presentes se midieron en largo y ancho, y se consideró su ubicación en la columna, forma y aspecto externo.

Los datos obtenidos para cada carácter diagnóstico fueron comparados con los valores citados en fuentes bibliográficas (Cordero, 1939; 1941a, b; Dioni, 1968; Carvalho Wolle, 1978; Campbell, 1983, 1987, 1989; Holstein *et al.*, 1990; Lang da Silveira *et al.*, 1997; Deserti & Zamponi, 2011; Deserti *et al.*, 2011, 2012), entre otros.

Las hidras son animales proteiformes, por lo que la medición de su tamaño puede dificultarse. Tanto el ancho como el largo, así como su forma, varía de acuerdo a cuan elongado o contraído esté el individuo. En estado relajado, puede asumirse que el cuerpo de una hidra tiene forma de cilindro, y así calcular su área y volumen, medidas alternativas de su tamaño corporal (Levitis & Goldstein, 2013). Para estos cálculos, deben excluirse la corona tentacular, las protuberancias sexuales y los brotes. La superficie lateral cilíndrica (S_H) de un individuo se expresó mediante la siguiente ecuación (Kaliszewicz, 2011):

$$S_H = \pi.l.a$$

donde a es el ancho (mm) y l el largo (mm). El volumen (V), se calculó entonces con la ecuación (Levitis & Goldstein, 2013):

$$V = \pi. (a/2)^2.l$$

El tamaño de cada individuo varía considerablemente, incluso cuando su entorno se mantiene constante. Algunos de estos cambios son atribuibles a esfuerzos reproductivos o al tiempo de ingestión del último alimento, por lo que la medición de los individuos debe ser minuciosa (Levitis & Goldstein, 2013). Los ejemplares aquí elegidos para representar el tamaño de las especies fueron seleccionados sin estructuras reproductivas sexuales ni asexuales, sin contenido en el celenterón, además de presentar un estado visiblemente saludable.

Protocolo MEB

Algunos especímenes de las especies *Hydra viridissima* recolectada en laguna Los Padres en el otoño 2013 e *Hydra vulgaris* recolectada en Nahuel Rucá en el verano del 2014, se utilizaron para ser observados bajo el microscopio electrónico. Para tal fin se las trató con el siguiente protocolo de deshidratación gradual en etanol: la muestra fue sometida a 3 lavados de 15 minutos cada uno, con buffer cacodilato de sodio (0.1 M). Posteriormente, el material fue deshidratado con lavados (diez minutos cada uno) de etanol 50%, 70%, 80%, 90%, 95% y dos lavados finales en etanol absoluto. El material fue secado con un lavado de 5 minutos con HDMS (Hexamethyldisilazane) y posteriormente se colocó nuevamente en HDMS dejándolo semi cubierto toda una noche. Finalmente se montó el material sobre un porta-muestras de aluminio y se materializó con oro-paladio para una posterior observación en un microscopio electrónico de barrido de última generación JEOL JSM-6460 LV, perteneciente al Servicio de Microscopía Electrónica de la UNMdP.

Protocolo de solución cultural

Para el mantenimiento *in vivo* de algunos ejemplares se utilizó la solución cultural M (Lenhoff, 1983), genérica para hidras verdes y marrones. La composición se detalla a continuación:

Solución Stock	Dilución (para SN final M)	[] Final
Buffer Tris-HCl (1.166 M)	6 en 1000	10 ⁻³ M
NaHCO ₃ (0.166 M)		10 ⁻³ M
KCl (0.016 M)		10 ⁻⁴ M
MgCl ₂ (0.016 M)		10 ⁻⁴ M
CaCl ₂ (1.0 M)	1 en 1000	10 ⁻³ M

Para la preparación de 3 litros de SN Stock M (pH 7.8) deben mezclarse 1000 ml de Buffer Tris-HCl (0.5 M, pH 7,6-7.8), 500 ml de NaHCO₃ (1 M), 50 ml KCl (1 M), 50 ml de MgCl₂ (1 M) en 1400 ml de agua destilada.

Tanto la Solución Stock como el CaCl₂ deben almacenarse en freezer. Una vez preparada la solución final M, debe refrigerarse.

Análisis estadísticos

Todas las exploraciones estadísticas fueron realizadas con el software R (www.r-project.com) de descarga gratuita en la red.

Para realizar diversos análisis se utilizaron las variables morfológicas (dependientes o explicadas), *largo columna* y *volumen*. Estas variables fueron agrupadas bajo tres factores distintos, con el propósito de conocer las variaciones existentes entre las diferentes especies, lagunas y estaciones climáticas. Los factores mencionados son:

1. **Factor “Estación”**: los valores de las variables morfológicas *largo columna* y *volumen* (de cada especie, por laguna), fueron agrupados por estaciones climáticas. Este análisis permitió conocer si en dichas variables, las especies de un cuerpo de agua particular, presentaron variaciones en las diferentes estaciones climáticas donde fueron halladas.
2. **Factor “Laguna”**: los valores de las variables morfológicas *largo columna* y *volumen* de una misma especie, fueron agrupadas por lagunas. Este análisis permitió conocer si las especies presentaron variaciones en sus variables morfológicas, en las distintas lagunas donde fueron halladas.
3. **Factor “Especie”**: los valores de las variables morfológicas *largo columna* y *volumen* fueron agrupadas en su totalidad por especies. Este análisis permitió conocer si dichas variables varían significativamente entre especies.

Para las comparaciones estadísticas citadas anteriormente, se aplicaron los siguientes test:

- Test de Shapiro-Wilks: para analizar el tipo de distribución de las variables morfológicas *largo columna* y *volumen*.
- Test de Kruskal-Wallis: para detectar la existencia de diferencias significativas entre grupos.
- Test de Mann-Whitney: en caso de existir diferencias entre grupos, este test fue realizado para cada par de estaciones, lo que permitió detectar entre que grupos difieren los valores de las variables explicadas.

Para indagar en la naturaleza de las variables morfológicas, se las analizó en conjunto con los diferentes parámetros limnológicos (variables independientes o explicativas). Estas variables son: *temperatura*, *profundidad*, *transparencia*, *pH* y *oxígeno disuelto*. Con este propósito se realizaron los siguientes test:

Análisis de Componentes Principales (ACP): este análisis se realizó sobre la matriz de correlación de los cinco parámetros limnológicos para cada laguna. De esta manera, se identificaron aquellos componentes que recogieron la mayor varianza de las variables originales, permitiendo reducirlas en número, eliminando aquella información redundante.

Modelo de Regresión: permite conocer la relación y posible predicción de las variables *largo columna* y *volumen* con los componentes principales elegidos mediante el Análisis de Componentes Principales (ACP).

RESULTADOS

En la Tabla 1 se listan los parámetros morfológicos calculados en cada estación para cada sitio de muestreo, indicando además, los sustratos recolectados y las especies encontradas.

A continuación se presenta la diagnosis taxonómica de cada especie encontrada por cuerpo de agua.

Análisis morfológico

Laguna La Brava

***Hydra vulgaris* Pallas, 1766**

Esta especie fue hallada en dos estaciones climáticas distintas, en la muestra correspondiente al invierno 2013 y la correspondiente al otoño 2014. Los ejemplares presentaron una coloración marrón y un mediano tamaño, con una columna cilíndrica y sin pedúnculo presente. El número de tentáculos osciló entre 5 y 8, siendo 7 el número más frecuente. El largo relativo de los mismos fue de $\frac{3}{4}$ el largo de la columna y se observaron transparentes y moniliformes, siendo perfectamente distinguibles las baterías de nematocistos en tentáculos elongados. El hipostoma se observó cónico y marrón, aunque a veces la coloración estuvo más o menos ausente, siendo casi transparente.

Los brotes se localizaron en la zona media de la columna (zona de brotación), en pares opuestos, con tentáculos en número igual o menor a la de su progenitor. Se contabilizaron uno y dos brotes, siendo un brote por individuo, lo más usual. El patrón de crecimiento tentacular se registró discontinuo.

Los sexos están separados. Se observaron ejemplares con testículos y un ejemplar con ovario. Los testículos, más o menos marrones en el centro y blanquecinos hacia los bordes, mamiformes y con pezones transparentes, se localizaron inmediatamente después de la zona de crecimiento tentacular. Se contabilizaron hasta 8 testículos en un mismo individuo, en distinto grado de desarrollo.

Tabla 1. Parámetros limnológicos en cada sitio de muestreo por estación. Prof.: profundidad, Transp.: transparencia, OD: oxígeno disuelto. Las abreviaturas de los sustratos corresponden a las siguientes especies, a: *Schoenoplectus californicus*, b: *Ceratophyllum demersum*, c: *Potamogeton striatum*, d: *Myriophyllum elatinoides*, e: *Ricciocarpus natans*, f: *Azolla filiculoides*, g: *Hydrocotyle ranunculoides*, h: *Ludwigia uruguayensis*.

Estación	Laguna	T° (C°)	Prof. (cm)	Transp. (cm)	pH	OD (mg/l)	Sustrato	Especies
Otoño 2013	LB	4	40	10	8.5	9.0	a	X
	LP	17	105	20	8.8	5.7	a	<i>H. viridissima</i>
	NR	12.5	55	20	8.5	4.0	a e f g	<i>H. vulgaris/H. viridissima</i>
Invierno 2013	LB	9	60	15	8.5	9.3	a b c	<i>H. vulgaris pedunculata/H. vulgaris</i>
	LP	10	30	10	8.9	7.0	a	X
	NR	9	30	5	8.3	7.1	a b e f g h	<i>H. vulgaris</i>
Primavera 2013	LB	19	55	20	8.3	8.7	a b e g h	X
	LP	11.5	40	8	8.5	11.5	a	X
	NR	19.5	65	5	8.2	6.2	a b	<i>H. vulgaris pedunculata/H. vulgaris</i>
Verano 2014	LB	20	35	20	8.3	5.8	a b c d	X
	LP	22	10	10	8.8	9.3	a	<i>H. vulgaris pedunculata</i>
	NR	18	6	3	8.1	6.0	a b	<i>H. vulgaris/C. caspia</i>
Otoño 2014	LB	8	45	15	8.6	4.4	a b c e	<i>H. vulgaris</i>
	LP	19	30	20	8.6	3.4	a	X
	NR	8	60	10	8.6	5.4	a b	<i>H. vulgaris</i>
Invierno 2014	LB	9.5	80	35	8.4	9.0	a	X
	LP	7	45	15	8.5	9.0	a e	X
	NR	19	40	5	8.3	5.9	a b	<i>H. vulgaris/C. caspia</i>
Primavera 2014	LB	20	50	40	8.6	8.9	a b c	X
	LP	26	45	20	9.1	6.9	a c	<i>H. vulgaris pedunculata/H. vulgaris</i>
	NR	21.5	30	5	8.6	4.4	a b	<i>H. vulgaris pedunculata/H. vulgaris/C. caspia</i>
Verano 2015	LB	21	30	15	8.3	5.2	a b c d	X
	LP	18	22	10	8.8	10.4	a	<i>H. vulgaris</i>
	NR	14.9	60	5	8.3	5.3	a b	<i>H. vulgaris pedunculata/H. vulgaris/C. caspia</i>

En aquellos menos desarrollados, la forma fue más o menos redondeada, sin un pezón claramente visible. Las medidas oscilaron entre 213 a 409 μm de ancho y 573 a 796 μm de largo. Un solo individuo desarrolló un ovario. Esta estructura comenzó como un engrosamiento alrededor de la columna, por encima del brote existente y alcanzó su desarrollo máximo en aproximadamente 24 horas. Este engrosamiento fue de 816 μm de largo por 132 μm de ancho. Desarrollado por completo, presentó una estructura esférica y coloración blanquecina, se localizó en la mitad del cuerpo y apoyado sobre una especie de lentícula deprimida de 701 μm de largo por 173,6 μm de ancho, más o menos transparente. El diámetro del ovario fue de 714 μm . Luego de aproximadamente 48 hs, el ovario se desprendió del parental, sin ser fecundado. Ambas estructuras sexuales solamente fueron observadas en invierno.

Los cuatro tipos de nematocistos estuvieron presentes. Los estenoteles con la clásica forma piriforme (eudipleural o de pera), fueron los de mayor tamaño y se hallaron tanto en tentáculos como en columna. Al observar cápsulas descargadas, puede apreciarse que el dardo posee tres espinas de igual tamaño. Toda esta estructura ocupa entre el 60% y el 70% de la cápsula, mientras que un fino filamento se enrolla sobre la porción inferior restante, en posición más o menos perpendicular al eje principal de la cápsula. Los desmonemes, con formas casi esféricas, abundaron en tentáculos. Presentaron el filamento enrollándose en una vuelta o una vuelta y media dentro de la cápsula. Los atricos isorrizas fueron también hallados en tentáculos. Con forma de semilla, presentaron un filamento fino enrollado, más o menos densamente, ocupando todo el interior de la cápsula. Por último, los holotricos isorrizas fueron hallados en la columna cercanos al disco basal. Con la usual forma de paramecio (o suela de zapato), presentaron de tres a cuatro espiras gruesas de posición más o menos oblicua en la porción más distal y un filamento más fino enrollado en la mitad inferior de la cápsula. Las abundancias relativas fueron (en orden decreciente): desmonemes, estenoteles, atricos isorrizas y holotricos isorrizas (Figura 6, Capítulo IV). En los cuatro tipos, cuando las cápsulas están descargadas, las medidas se reducen.

En la Tabla 2 se listan las mediciones correspondientes de la especie para cada estación climática.

Tabla 2. Medidas morfológicas de *Hydra vulgaris* hallada en laguna La Brava en invierno 2013 y otoño 2014. a: ancho, l: largo, desv st: desviación estándar.

		Columna (mm)		Área (mm ²)	Vol. (mm ³)	Estenotele (µm)		Desmoneme (µm)		Atrico isorriza (µm)		Holotrico isorriza (µm)	
		a	L			a	l	a	l	a	l	a	l
Invierno 2013	promedio	0.12	4.46	0.06	1.73	10.23	13	5.08	7.11	3.95	7.66	4.65	10.42
	mediana	0.09	4.56	0.03	1.48	10.50	13	5	7	4	7.5	4.5	10.5
	desv st	0.05	0.63	0.06	0.87	1.21	1.45	0.60	0.64	0.40	0.75	0.51	0.75
	mínimo	0.07	3.34	0.01	0.83	7.5	9.5	3.5	5.5	3	4.5	3.5	8
	máximo	0.22	5.16	0.18	3.26	13.5	17	6.5	8.5	5	9	6	12
Otoño 2014	promedio	0.12	4.09	0.05	1.48	10.41	13.13	5.05	6.91	4	7.75	4.54	10.52
	mediana	0.08	4.12	0.02	1.14	10.5	13	5	7	4	8	4.5	10.50
	desv st	0.06	0.55	0.04	0.58	1.34	1.59	0.64	0.65	0.41	0.79	0.49	0.76
	mínimo	0.07	3.22	0.01	0.98	7.5	9.5	3.5	5.5	3	4.5	3.5	8
	máximo	0.22	4.56	0.13	2.30	15	17.5	6.5	8.5	5	9.5	5.5	12.5
Totales	promedio	0.12	4.30	1.63	0.06	10.31	13.05	5.06	7.02	3.97	7.70	4.61	10.46
	mediana	0.09	4.34	1.32	0.03	10.5	13	5	7	4	8	4.5	10.5
	desv st	0.05	0.605	0.75	0.05	1.27	1.51	0.61	0.65	0.40	0.77	0.50	0.76
	mínimo	0.08	3.22	0.84	0.02	7.5	9.5	3.5	5.5	3	4.5	3.5	8
	máximo	0.23	5.16	3.27	0.19	15	17.5	6.5	8.5	5	9.5	6	12.5

Hydra vulgaris pedunculata (Deserti et al., 2011)

Esta subespecie perteneciente al grupo *vulgaris* fue hallada solo en una muestra, correspondiente al invierno 2013.

Son ejemplares de pequeño a mediano tamaño, de color marrón, con un conspicuo y translúcido pedúnculo, cercano al pie, que se mantiene constante, independientemente de los movimientos del animal.

El número de tentáculos varía entre 6 y 8, con un largo relativo de $\frac{3}{4}$ el largo de la columna y son transparentes y moniliformes. Son perfectamente distinguibles las baterías de nematocistos, principalmente en tentáculos elongados. El hipostoma se observó cónico y marrón o más o menos transparente.

Los brotes se localizaron en la zona media de la columna. Se observaron individuos con uno a tres brotes, siendo un solo brote lo más frecuente. El número de tentáculos en los brotes es igual o en número menor al de su progenitor y el patrón de crecimiento se registró discontinuo. No se observaron estructuras reproductivas sexuales.

Los cuatro tipos de nematocistos estuvieron presentes. Los estenoteles, hallados en tentáculos y columna, son de forma piriforme y los de mayor tamaño con respecto a los tres tipos restantes. El dardo presenta 3 espinas de igual tamaño y ocupa poco más del 60% de la cápsula. En el espacio restante, se enrolla de manera más o menos perpendicular al eje principal

de la cápsula, un filamento fino. Los desmonemes, hallados en tentáculos, son esféricos y el filamento da una vuelta o vuelta y media en el interior de la cápsula. Los atricos isorrizas, también hallados en tentáculos, presentan forma de semilla y el filamento enrollado ocupando todo su interior. Por último, los holotricos isorrizas, presentes en la columna y cercanos al disco basal, poseen forma de paramecio o suela de zapato, con tres a cuatro espiras gruesas de disposición oblicua. El filamento más fino se enrolla en la mitad inferior de la cápsula. Las abundancias relativas fueron (en orden decreciente): desmonemes, estenoteles, atricos isorrizas y holotricos isorrizas (Figura 6, Capítulo IV). En los cuatro tipos, cuando las cápsulas están descargadas, las medidas se reducen.

En la Tabla 3 se listan las mediciones correspondientes de la especie.

Tabla 3. Medidas morfológicas de *Hydra vulgaris pedunculata* hallada en laguna La Brava en invierno 2013. a: ancho, l: largo, desv st: desviación estándar.

		Columna (mm)		Área (mm ²)	Vol (mm ³)	Estenotele (µm)		Desmoneme (µm)		Atrico isorriza (µm)		Holotrico isorriza (µm)	
		a	l			a	l	a	l	a	l	a	l
Invierno 2013	promedio	0.11	2.58	0.74	0.02	11	13.75	4.88	6.55	4.18	8.18	4.33	10.75
	mediana	0.11	2.58	0.74	0.02	10.75	13.75	5	6.5	4	8	4.5	11
	desv st	0.053	0.21	0.17	0.01	1.66	1.91	0.38	0.40	0.30	0.80	0.37	0.79
	mínimo	0.076	2.43	0.61	0.01	7.5	10	4	6	4	6	3.5	8
	máximo	0.152	2.73	0.87	0.03	15	17.5	5.5	7	5	9	5	12.5

Laguna Los Padres

Hydra viridissima Pallas (1766)

Especie de pequeño a mediano tamaño, de coloración verde brillante, dada por la presencia de clórelas simbióticas del género *Chlorella* sp. Fue encontrada en dicha laguna en la muestra correspondiente al otoño del 2013. Columna cilíndrica sin pedúnculo presente. El número de tentáculos varía entre 5 y 6, siendo más o menos transparentes y moniliformes, con un largo relativo de la mitad del largo de la columna o poco menos. El hipostoma se observó cónico y verdoso a transparente.

No se observaron ejemplares con brotes ni con estructuras reproductivas sexuales. La ausencia de brotes impidió además, registrar el patrón de crecimiento tentacular.

Las clorelas presentaron formas esféricas con diámetros entre 2.5 y 6.5 μm . La media y la mediana fueron de 4.68 y 5 μm respectivamente y la desviación estándar, de 0.95.

Los cuatro tipos de nematocistos estuvieron presentes. Los estenoteles de forma piriforme, son los de mayor tamaño y pueden encontrarse en columna y tentáculos. El dardo posee tres espinas de igual tamaño y ocupa poco más del 50% de la cápsula. En la mitad inferior, se enrolla el filamento fino, perpendicular al eje principal de la cápsula. Los desmonemes, hallados en tentáculos, son casi esféricos, con el filamento dando una vuelta completa. Los atricos isorrizas, con forma de semilla, se encuentran también en los tentáculos. El filamento se observa muy fino y enrollado en todo el interior de la cápsula. Por último los holotricos isorrizas, con formas alargadas (la forma paramécio o suela de zapato no es tan claramente distinguible), se encuentran en columna, siendo más abundantes en proximidades del disco pedal. Se observan tres o cuatro espiras gruesas de disposición oblicua. El filamento fino es difícil de distinguir. Se registraron dos morfotipos, uno más alargado con forma de banana y un segundo más aguzado en la zona proximal. Las abundancias relativas fueron (en orden decreciente): desmonemes, estenoteles, atricos isorrizas y holotricos isorrizas (Figura 6, Capítulo IV). En los cuatro tipos, cuando las cápsulas están descargadas, las medidas se reducen. En comparación con las restantes especies, los cuatro tipos de nematocistos son mucho más pequeños en tamaño, lo que dificulta su medición y observación en detalle.

En la Tabla 4 se listan las mediciones correspondientes de la especie.

Tabla 4. Medidas morfológicas de *Hydra viridissima* hallada en laguna Los Padres en el otoño del 2013. a: ancho, l: largo, desv st: desviación estándar.

	Columna (mm)		Área (mm ²)	Vol. (mm ³)	Diámetro Clorelas (μm)	Estenotele (μm)		Desmoneme (μm)		Atrico isorrizas (μm)		Holotrico isorrizas (μm)		
	a	l				a	l	a	l	a	l	a	l	
Otoño 2013	promedio	0.08	2.51	0.65	0.01	4.79	5.53	7.03	2.73	4.21	2.27	4.72	2.5	9.47
	mediana	0.08	2.60	0.74	0.01	5	5.5	7	3	4	2	5	2.5	9.5
	desv st	0.01	0.64	0.18	0.01	0.96	0.46	0.67	0.38	0.40	0.34	0.34	0.54	0.67
	mínimo	0.07	1.82	0.43	0.01	2.5	5	6	2	3.5	2	4	2	8
	máximo	0.09	3.10	0.77	0.02	6.5	7	9	3.5	5	3	5	5	10.5

Hydra vulgaris pedunculata (Deserti, Zamponi & Escalante, 2011)

Dicha subespecie fue hallada en las muestras correspondientes a la primavera y verano del 2014. Son ejemplares de pequeño a mediano tamaño, de coloración marrón, con un

conspicuo y translúcido pedúnculo, cercano al pie, que se mantiene constante, independientemente de los movimientos del animal.

El número de tentáculos varía entre 5 y 6, siendo 6 el número más frecuente. Poseen un largo relativo de $\frac{3}{4}$ el largo de la columna y son transparentes y moniliformes. Son perfectamente distinguibles las baterías de nematocistos, principalmente en tentáculos elongados. El hipostoma se observó cónico y marrón o más o menos transparente.

Los brotes se localizaron en la zona media de la columna. Se observaron individuos con uno a tres brotes, siendo un solo brote lo más frecuente. El número de tentáculos en los brotes es igual o en número menor al de su progenitor y el patrón de crecimiento se registró discontinuo. No se observaron estructuras reproductivas sexuales.

Los cuatro tipos de nematocistos estuvieron presentes. Los estenoteles, hallados en tentáculos y columna, son de forma piriforme y los de mayor tamaño con respecto a los tres tipos restantes. El dardo presenta 3 espinas de igual tamaño y ocupa poco más del 60% de la cápsula. En el espacio restante, se enrolla de manera más o menos perpendicular al eje principal de la cápsula, un filamento fino. Los desmonemes, hallados en tentáculos, son esféricos y el filamento da una vuelta o vuelta y media en el interior de la cápsula. Los atricos isorrizas, también hallados en tentáculos, presentan forma de semilla y el filamento se enrolla ocupando todo su interior. Por último, los holotricos isorrizas, presentes en la columna y cercanos al disco basal, poseen forma de paramecio o suela de zapato, con tres a cuatro espiras gruesas de disposición oblicua. El filamento más fino se enrolla en la mitad inferior de la cápsula. En varios ejemplares de esta especie, algunos holotricos isorrizas presentaron dos formas distintas. Una de ellas es la forma usual de paramecio o suela de zapato y la segunda, con forma de semilla. Sin embargo, el largo promedio de las cápsulas no varía.

Las abundancias relativas fueron (en orden decreciente): desmonemes, estenoteles, atricos isorrizas y holotricos isorrizas (Figura 6, Capítulo IV). En los cuatro tipos, cuando las cápsulas están descargadas, las medidas se reducen.

En la Tabla 5 se listan las mediciones correspondientes de la especie.

Tabla 5. Medidas morfológicas de *Hydra vulgaris pedunculata* hallada en laguna Los Padres en la primavera y verano del 2014. a: ancho, l: largo, desv st: desviación estándar.

		Columna (mm)		Área (mm ²)	Vol. (mm ³)	Estenotele (µm)		Desmoneme (µm)		Atrico isorriza (µm)		Holotrico isorriza (µm)	
		a	l			a	l	a	l	a	l	a	l
Verano 2014	promedio	0.15	3.23	1.48	0.06	9.35	11.92	4.43	6.38	3.62	7.31	4.14	10.04
	mediana	0.15	2.96	1.38	0.05	9	11.5	4.5	6.5	3.5	7.5	4	10
	desv st	0.06	0.72	0.56	0.05	1.46	1.64	0.36	0.43	0.36	0.45	0.41	0.71
	mínimo	0.07	2.73	1.01	0.02	7	9.5	4	5.5	3	6	3	8.5
	máximo	0.23	4.25	2.28	0.13	13	16.5	5.5	7.5	4.5	8.5	5	11.5
Prim 2014	promedio	0.27	2.65	2.25	0.15	9.34	11.53	4.29	6.02	4.08	7.44	4.32	9.66
	mediana	0.30	2.96	2.25	0.15	9.5	11.5	4.25	6	4	7.5	4.5	9.5
	desv st	0.09	1.05	1.05	0.13	1.33	1.30	0.36	0.44	0.29	0.51	0.39	0.65
	mínimo	0.15	1.44	1.37	0.07	7	9	3.5	5	3.5	6.5	3.5	8
	máximo	0.38	3.95	3.81	0.36	12.5	14.5	5	7	5	9	5.5	11
Totales	promedio	0.22	3.03	1.95	0.12	9.39	11.76	4.37	6.21	3.81	7.37	4.22	9.9
	mediana	0.19	2.96	1.63	0.09	9	11.5	4.5	6	4	7.5	4	10
	desv st	0.10	0.86	0.93	0.11	1.39	1.48	0.37	0.47	0.41	0.48	0.42	0.70
	mínimo	0.08	1.44	1.02	0.02	7	9	3.5	5	3	6	3	8
	máximo	0.38	4.26	3.81	0.36	13	16.5	5.5	7.5	5	9	5.5	11.5

Hydra vulgaris Pallas, 1766

Esta especie fue hallada durante la primavera del 2014 y el verano del 2015. Estos individuos presentaron coloración marrón y un pequeño tamaño, con una columna cilíndrica y sin pedúnculo presente. El número de tentáculos osciló entre 5 y 7, siendo 6 el más frecuente. El largo relativo de los mismos fue de $\frac{3}{4}$ o más el largo de la columna y se observaron transparentes y moniliformes, siendo perfectamente distinguibles las baterías de nematocistos en tentáculos elongados. El hipostoma se observó cónico y marrón, aunque a veces la coloración estuvo más o menos ausente, siendo casi transparente.

Los brotes se localizaron en la zona media de la columna, en pares opuestos, con tentáculos en número igual o menor a la de su progenitor. Se contabilizaron uno y dos brotes, siendo un brote por individuo, lo más usual. El patrón de crecimiento tentacular se registró discontinuo. No se observaron estructuras reproductivas sexuales.

Los cuatro tipos de nematocistos estuvieron presentes. Los estenoteles con la clásica forma piriforme (eudipleural o de pera), fueron los de mayor tamaño y se hallaron tanto en tentáculos como en columna. El dardo posee tres espinas de igual tamaño. Toda esta estructura

ocupa poco más del 60% de la cápsula. El filamento más fino se enrolla sobre la porción inferior restante. Los desmonemes, con formas casi esféricas, se hallaron en tentáculos. Presentaron el filamento enrollándose en una vuelta o vuelta y media dentro de la cápsula. Los atricos isorrizas fueron también hallados en tentáculos. Con forma de semilla, presentaron un filamento fino enrollado, más o menos densamente, en todo el interior de la cápsula. En dos ejemplares pudieron observarse que este tipo de nematocisto presentó un tamaño mucho mayor y una forma casi redondeada. Por último, los holotricos isorrizas fueron hallados en la columna cercanos al disco basal. Con la usual forma de paramecio (o suela de zapato), presentaron de tres a cuatro espiras gruesas de posición más o menos oblicua en la porción más distal y un filamento más fino enrollado en la mitad inferior de la cápsula. Las abundancias relativas fueron (en orden decreciente): desmonemes, estenoteles, atricos isorrizas y holotricos isorrizas (Figura 6, Capítulo IV). En los cuatro tipos, cuando las cápsulas están descargadas, las medidas se reducen.

En la Tabla 6 se listan las mediciones correspondientes de la especie.

Laguna Nahuel Rucá

***Hydra viridissima* Pallas, 1766**

Especie de pequeño a mediano tamaño, de coloración verde brillante, dada por la presencia de clorelas simbióticas. Fue encontrada en la muestra correspondiente al otoño del 2013. Columna cilíndrica sin pedúnculo presente. El número de tentáculos varía entre 6 y 8, siendo 7 el número más frecuente. Todos se observan más o menos transparentes y moniliformes, con un largo relativo de la mitad del largo de la columna o poco menos. El hipostoma se observó cónico y verdoso a transparente.

Los brotes se originaron en la zona de brotación, con un número de tentáculos igual o menor al de su progenitor.

No se observaron estructuras reproductivas sexuales.

Tabla 6. Medidas morfológicas de *Hydra vulgaris* hallada en laguna Los Padres en la primavera del 2014 y en el verano del 2015. a: ancho, l: largo, desv st: desviación estándar.

	Columna (mm)		Área (mm ²)	Vol. (mm ³)	Estenotele (µm)		Desmoneme (µm)		Atrico isorrizas (µm)		Holotrico isorrizas (µm)		
	a	l			a	l	a	l	a	l	a	l	
Prim 2014	promedio	0.26	2.29	1.97	0.15	9.13	10.18	4.38	6.20	3.95	7.49	4.24	9.84
	mediana	0.23	2.28	1.66	0.09	9	11	4.5	6	4	7.5	4	10
	desv st	0.09	0.89	1.15	0.13	0.91	0.88	0.38	0.39	0.36	0.46	0.45	0.56
	mínimo	0.15	0.91	0.44	0.02	7	9	3.5	5.5	3	6.5	3.5	8.5
	máximo	0.46	3.95	3.99	0.38	11.5	13.5	5.5	7	5	9	5.5	12
Ver 2015	promedio	0.21	1.97	1.39	0.09	8.51	10.84	4.33	6.26	3.80	7.35	4.06	9.70
	mediana	0.19	1.67	1.06	0.05	8.5	10.5	4.5	6.5	4	7.5	4	10
	desv st	0.07	0.83	1.04	0.11	0.75	0.79	0.44	0.38	0.39	0.49	0.34	0.54
	mínimo	0.15	0.76	0.36	0.01	7	9	3	5	3	6	3	8.5
	máximo	0.38	3.04	3.64	0.35	11.5	14	5.5	7	5	8.5	5	11.5
Totales	promedio	0.24	2.14	1.71	0.12	8.8	11.04	4.37	6.23	3.89	7.44	4.16	9.77
	mediana	0.23	2.05	1.27	0.07	9	11	4.5	6	4	7.5	4	10
	desv st	0.09	0.86	1.12	0.12	0.90	0.87	0.41	0.39	0.39	0.48	0.41	0.56
	mínimo	0.15	0.76	0.36	0.01	7	9	3	5	3	6	3	8.5
	máximo	0.46	3.95	3.99	0.38	11.5	14	5.5	7	5	9	5.5	12

Las clorelas presentaron formas esféricas con diámetros entre 2.5 a 6 µm. La media y la mediana fueron de 4.55 y 4.5 µm respectivamente y la desviación estándar, de 0.69.

Los cuatro tipos de nematocistos estuvieron presentes. Los estenoteles de forma piriforme, pudieron encontrarse en columna y tentáculos. El dardo posee tres espinas de igual tamaño y ocupa poco más del 50% de la cápsula. En la mitad inferior, se enrolla el filamento fino, perpendicular al eje principal de la cápsula. Los desmonemes, en tentáculos, son casi esféricos, con el filamento dando una vuelta completa. Los atricos isorrizas, hallados también en tentáculos presentaron la clásica con forma de semilla. El filamento se observa muy fino y enrollado en todo el interior de la cápsula. Por último los holotricos isorrizas, con formas alargadas (la forma paramecio o suela de zapato no es tan claramente distinguible), se encuentran en columna, siendo más abundantes en proximidades del disco pedal. Se observan tres o cuatro espiras gruesas de disposición oblicua. El filamento fino es difícil de distinguir. Se registran dos morfotipos, uno más alargado con forma de banana y un segundo más aguzado en la zona proximal. En estos ejemplares, los holotricos isorrizas fueron levemente mayores en tamaño a los estenoteles. Las abundancias relativas fueron (en orden decreciente):

desmonemes, estenoteles, atricos isorrizas y holotricos isorrizas (Figura 6, Capítulo IV). En los cuatro tipos, cuando las cápsulas están descargadas, las medidas se reducen.

En la Tabla 7 se listan las mediciones correspondientes de la especie.

Tabla 7. Medidas morfológicas de *Hydra viridissima* hallada en laguna Nahuel Rucá en otoño del 2013. a: ancho, l: largo, desv st: desviación estándar.

	Columna (mm)		Área (mm ²)	Vol. (mm ³)	Diámetro Clorelas (µm)	Estenotele (µm)		Desmoneme (µm)		Atrico isorrizas (µm)		Holotrico isorrizas (µm)		
	a	l				a	l	a	l	a	l	a	l	
Otoño 2013	promedio	0.12	1.67	0.54	0.02	4.60	4.92	6.45	2.68	3.92	2.37	4.43	3.27	9.11
	mediana	0.12	1.92	0.57	0.01	4.5	5	6.5	3	4	2.5	4.5	3	9
	desv st	0.05	0.95	0.18	0.01	0.69	0.48	0.50	0.43	0.45	0.41	0.43	0.44	0.69
	mínimo	0.07	0.60	0.23	0.01	2.5	4	5	2	3	2	3.5	3	7.5
	máximo	0.2	2.89	0.69	0.03	6	6	7.5	3.5	5	3.5	5	4	10

Hydra vulgaris Pallas, 1766

Esta especie fue hallada en todas las estaciones, durante los dos años de muestreo (desde el otoño del 2013 al verano del 2015). Estos individuos presentaron coloración marrón y un tamaño mediano, con una columna cilíndrica y sin pedúnculo presente. El número de tentáculos osciló entre 5 y 7, siendo 6 el número más frecuente. El largo relativo de los mismos fue de $\frac{3}{4}$ o más el largo de la columna y se observaron transparentes y moniliformes. El hipostoma se observó cónico y marrón, aunque a veces la coloración estuvo más o menos ausente, siendo casi transparente.

Los brotes se localizaron en la zona media de la columna, en pares opuestos, con tentáculos en número igual o menor a la de su progenitor. Se contabilizaron uno y tres brotes, siendo un brote por individuo, lo más usual. El patrón de crecimiento tentacular se registró discontinuo. Dos individuos presentaron testículos. Uno de ellos presentó tres testículos blanquecinos, mamiformes, dos de ellos con pezones y el tercero en un estadio de desarrollo más temprano. El tamaño osciló entre 0.380 a 0.532 µm de largo por 0.608 a 0.684 µm de ancho. El segundo individuo presentó cuatro testículos, de similares características al individuo anterior. El tamaño osciló entre 0.380 a 0.532 µm de largo por 0.228 a 0.304 µm de ancho. Todos se localizaron inmediatamente después de la corona tentacular.

Los cuatro tipos de nematocistos estuvieron presentes. Los estenoteles de forma piriforme, fueron los de mayor tamaño y se hallaron tanto en tentáculos como en columna. El dardo posee tres espinas de igual tamaño. Toda esta estructura ocupa poco más del 60% de la cápsula. El filamento más fino se enrolla sobre la porción inferior restante, en posición más o

menos perpendicular al eje principal de la cápsula. Los desmonemes, con formas casi esféricas, se hallaron en tentáculos. Presentaron el filamento enrollándose en una vuelta o una vuelta y media dentro de la cápsula. Los atricos isorrizas fueron también hallados en tentáculos. Con forma de semilla, presentaron un filamento fino enrollado, más o menos densamente, en todo el interior de la cápsula. Por último, los holotricos isorrizas fueron hallados en la columna cercanos al disco basal. Se discriminaron tres morfotipos diferentes: el primero con la usual forma de paramecio (o suela de zapato), el segundo con la porción distal redondeada y más ancha y la basal (donde se enrolla el filamento fino) más aguzada, y el tercero, corresponde a la forma opuesta al morfotipo dos (la zona más aguzada es la porción más distal de la cápsula). En todos los morfotipos se observaron de tres a cuatro espiras gruesas de posición más o menos oblicua y un filamento fino enrollado en la mitad inferior de la cápsula. A pesar de las diferencias en sus formas, las medidas se mantuvieron iguales para cada una.

Las abundancias relativas fueron (en orden decreciente): desmonemes, estenoteles, atricos isorrizas y holotricos isorrizas (Figura 6, Capítulo IV).

En la Tabla 8 se listan las mediciones correspondientes de la especie.

Tabla 8. Medidas morfológicas de *Hydra vulgaris* hallada en Nahuel Rucá desde el otoño 2013 al verano 2015. a: ancho, l: largo, desv st: desviación estándar.

		Columna (mm)		Área (mm ²)	Vol. (mm ³)	Estenotele (µm)		Desmoneme (µm)		Atrico isorriza (µm)		Holotrico isorriza (µm)	
		a	l			a	l	a	l	a	l	a	l
Oto 2013	promedio	0.25	2.29	1.76	0.12	7.95	10.38	4.01	5.82	3.2	6.82	4.29	10.26
	mediana	0.30	2.29	2.17	0.16	8	10.5	4	6	3.5	7	4.5	10.5
	desv st	0.09	0.25	0.62	0.07	2.28	2.92	0.80	1.23	0.73	1.62	0.68	1.5
	mínimo	0.15	1.84	1.00	0.03	4	5	2	2.5	1.5	2.5	2.5	6.5
	máximo	0.38	2.58	2.46	0.21	13	16	5.5	7.5	4.5	9.5	6	13
Inv 2013	promedio	0.14	0.69	0.30	0.01	10.33	12.51	4.16	6.42	3.73	7.71	4.17	9.88
	mediana	0.15	0.72	0.34	0.01	10	12.5	4	6.5	4	7.5	4	10
	desv st	0.023	0.08	0.08	0.004	1.64	1.84	0.39	0.54	0.36	0.52	0.43	0.48
	mínimo	0.11	0.60	0.21	0.005	7.5	9.5	3.5	5	3	6.5	3.5	9
	máximo	0.15	0.76	0.36	0.01	14.5	16.5	5	7.5	4.5	8.8	5	11.5
Prim 2013	promedio	0.19	3.67	2.19	0.14	9.59	12.20	4.64	6.72	3.68	7.70	4.42	10.77
	mediana	0.15	3.50	1.55	0.05	9.5	12	4.5	7	3.5	7.5	4.5	10.5
	desv st	0.10	1.71	1.93	0.17	1.75	1.97	0.58	0.63	0.45	0.65	0.47	0.95
	mínimo	0.08	1.52	0.38	0.01	6.5	9	3	5	3	6.5	3	8
	máximo	0.38	8.36	6.57	0.53	14.5	18	7	8.5	5	10	6	13.5
Ver 2014	promedio	0.10	1.76	0.58	0.02	8.98	11.45	4.18	6.28	3.29	6.96	4.02	10.06
	mediana	0.10	1.76	0.58	0.02	9	11.5	4	6.5	3.5	7	4	10
	desv st	0.03	0.74	0.38	0.01	1.08	1.15	0.51	0.48	0.30	0.45	0.57	0.66
	mínimo	0.08	1.23	0.31	0.01	7	9.5	3	5.5	3	6	3	9
	máximo	0.12	2.28	0.86	0.02	11	13.5	5	7.5	4	8	5	11.5
Oto 2014	promedio	0.30	3.19	2.98	0.23	9.16	11.99	4.41	6.51	3.56	7.25	4.58	10.87
	mediana	0.31	3.24	2.97	0.25	9	12	4.5	6.5	3.5	7	4.5	11
	desv st	0.05	0.76	0.84	0.08	1.60	1.74	0.48	0.51	0.44	0.64	0.48	0.76
	mínimo	0.18	2.31	1.89	0.08	6	9	3.5	5	2.5	6	3.5	9
	máximo	0.36	4.52	4.31	0.32	13.5	16	5.5	7.5	4.5	9.5	6	13
Inv 2014	promedio	0.44	3.67	5.07	0.58	10.24	12.52	4.24	6.29	3.71	7.64	4.18	10.01
	mediana	0.45	4.10	4.90	0.47	10	12.5	4	6.5	4	7.5	4	10
	desv st	0.08	1.57	2.38	0.36	1.58	1.86	0.44	0.55	0.42	0.50	0.43	0.58
	mínimo	0.30	0.56	0.80	0.09	7.5	9	3	5	3	6	3	8
	máximo	0.60	6.38	9.28	1.41	15	17.5	5.5	7.5	5	9	5.5	12
Prim 2014	promedio	0.26	2.33	2.15	0.19	9.61	11.75	4.19	6.17	3.49	7.42	4.05	9.81
	mediana	0.23	1.82	1.45	0.10	9.5	11.5	4	6	3.5	7.5	4	10
	desv st	0.14	1.20	1.81	0.23	1.42	1.51	0.40	0.52	0.40	0.51	0.49	0.59
	mínimo	0.08	0.88	0.29	0.01	6.5	8.5	3	5	3	3.9	3	8
	máximo	0.68	4.86	5.84	0.88	14	16.5	5.5	7.5	5	9	5.5	11.5
Ver 2015	promedio	0.27	2.87	2.33	0.18	9.35	11.49	4.40	6.35	3.73	7.68	4.12	9.87
	mediana	0.30	2.96	1.79	0.13	9	11.5	4.5	6.5	4	7.5	4	10
	desv st	0.11	1.41	1.56	0.22	1.19	1.23	0.42	0.48	0.45	0.57	0.39	0.62
	mínimo	0.08	0.91	0.29	0.01	7	9	3	5	2.5	5	3	7.5
	máximo	0.61	6.23	8.16	1.24	14	17	6	8	5	10	6	12

... continuación Tabla 8.

		Columna (mm)		Área (mm ²)	Vol. (mm ³)	Estenotele (µm)		Desmoneme (µm)		Atrico isorriza (µm)		Holotrico isorriza (µm)	
		a	l			a	l	a	l	a	l	a	l
Totales	promedio	0.26	2.92	2.46	0.21	9.42	11.74	4.35	6.35	3.61	7.49	4.21	10.13
	mediana	0.30	2.58	1.78	0.13	9	11.5	4.5	6.5	3.5	7.5	4	10
	desv st	0.13	1.50	1.94	0.25	1.60	1.79	0.53	0.66	0.49	0.79	0.50	0.88
	mínimo	0.08	0.56	0.21	0.01	4	5	2	2.5	1.5	2.5	2.5	6.5
	máximo	0.68	8.36	9.28	1.41	15	18	7	8.5	5	10	6	13.5

Hydra vulgaris pedunculata Deserti, Zamponi & Escalante, 2011

Fue hallada en las muestras correspondientes a la primavera del 2013 y 2014 y al verano del 2015. Los ejemplares fueron de mediano tamaño, de coloración marrón, con un conspicuo y translúcido pedúnculo, cercano al pie, que se mantuvo constante.

El número de tentáculos varía entre 6 y 7, siendo 6 el número más frecuente. Poseen un largo relativo de $\frac{3}{4}$ el largo de la columna o poco más y son transparentes y moniliformes. El hipostoma se observó cónico y marrón o más o menos transparente.

Los brotes se localizaron en la zona media de la columna. Se observaron individuos con uno a dos brotes, siendo un solo brote lo más frecuente. El número de tentáculos en los brotes es igual o en número menor al de su progenitor y el patrón de crecimiento se registró discontinuo. No se observaron estructuras reproductivas sexuales.

Los cuatro tipos de nematocistos estuvieron presentes. Los estenoteles, hallados en tentáculos y columna, son de forma piriforme y los de mayor tamaño. El dardo presenta 3 espinas de igual tamaño y ocupa poco más del 60% de la cápsula. En el espacio restante, se enrolla de manera más o menos perpendicular al eje principal de la cápsula, un filamento más fino. Los desmonemes, hallados en tentáculos, son más o menos de forma esférica y el filamento da una vuelta o vuelta y media en el interior de la cápsula. Los atricos isorrizas, también hallados en tentáculos, presentan la usual forma de semilla, y el filamento se enrolla ocupando todo su interior. Por último, los holotricos isorrizas, presentes en la columna y cercanos al disco basal, poseen forma de paramecio o suela de zapato, con tres a cuatro espiras gruesas de disposición oblicua. El filamento más fino se enrolla en la mitad inferior de la cápsula.

Las abundancias relativas fueron (en orden decreciente): desmonemes, estenoteles, atricos isorrizas y holotricos isorrizas.

En la Tabla 9 se listan las mediciones correspondientes de la especie.

Tabla 9. Medidas morfológicas de *Hydra vulgaris pedunculata* hallada en laguna Nahuel Rucá en la primavera del 2013 y 2014 y en el verano del 2015. a: ancho, l: largo, desv st: desviación estándar.

		Columna (mm)		Área (mm ²)	Vol. (mm ³)	Estenotele (µm)		Desmoneme (µm)		Atrico isorriza (µm)		Holotrico isorriza (µm)	
		a	L			a	l	a	l	a	l	a	l
Prim 2013	promedio	0.12	4.49	2.09	0.09	10.35	13	4.93	7.21	4.13	8.1	4.09	10.22
	mediana	0.08	4.86	1.16	0.02	10.25	13.25	5	7.5	4	8	4	10
	desv st	0.08	1.04	1.87	0.12	1.30	1.27	0.40	0.52	0.34	0.69	0.20	0.71
	mínimo	0.07	2.73	0.87	0.02	8	10	4	6	3.5	7	4	9
	máximo	0.22	6.08	4.25	0.23	13	15	6	8	5	9	4.5	11.5
Prim 2014	promedio	0.25	2.10	1.60	0.11	9.44	11.59	4.24	6.19	3.51	7.44	4.11	9.78
	mediana	0.23	1.82	1.45	0.07	9	11.5	4	6	3.5	7.5	4	10
	desv st	0.08	0.87	0.69	0.08	1.48	1.60	0.43	0.46	0.41	0.52	0.45	0.67
	mínimo	0.15	1.44	0.68	0.03	7	9	3	5	2.5	6	3	7.5
	máximo	0.38	3.95	2.90	0.27	13	15.5	5	7.5	5	9	5	12
Ver 2015	promedio	0.26	2.96	2.68	0.22	10.24	12.36	4.61	6.60	3.77	7.83	4.20	10.06
	mediana	0.30	3.42	2.90	0.22	10	12	4.5	6.5	4	8	4	10
	desv st	0.12	1.34	1.76	0.19	1.68	1.77	0.39	0.46	0.46	0.57	0.39	0.88
	mínimo	0.10	0.60	0.19	0.004	7.5	9.5	3.5	5.5	3	6.5	3.5	1.5
	máximo	0.46	4.10	5.44	0.62	14	16.5	5.5	7.5	5	9.5	5	12
Totales	promedio	0.23	3.23	2.16	0.15	9.85	12.02	4.45	6.44	3.67	7.65	4.15	9.92
	mediana	0.23	3.5	1.81	0.09	9.5	12	4.5	6.5	3.5	7.5	4	10
	desv st	0.11	1.47	1.46	0.15	1.61	1.72	0.47	0.55	0.47	0.61	0.42	0.79
	mínimo	0.07	0.6	0.19	0.004	7	9	3	5	2.5	6	3	4.5
	máximo	0.46	6.08	5.44	0.62	14	16.5	6	8	5	9.5	5	12

Análisis estadístico

La baja frecuencia de las especies en La Brava y Los Padres limitó el uso de los datos para algunos análisis, ya que aparecen como máximo en dos estaciones diferentes.

Adoptando este criterio, sólo se utilizaron los datos obtenidos en Nahuel Rucá, para las especies *H. vulgaris* (hallada en las 8 estaciones muestreadas) e *H. vulgaris pedunculata* (hallada en 3 estaciones).

1. Análisis bajo el factor “estación” para Nahuel Rucá:

Hydra vulgaris: las variables *largo columna* y *volumen* no siguen una distribución normal (valores-p = 0.00013 y $2.1e^{-12}$, respectivamente). La Tabla 10 muestra los resultados arrojados

por el test de Kruskal-Wallis para cada variable agrupada por estación. La Tabla 11 muestra los resultados obtenidos por el test de Mann-Whitney para cada par de estaciones.

Hydra vulgaris pedunculata: las variables *largo columna* y *volumen* no siguen una distribución normal (valores-p = 0.048 y 0.003, respectivamente). La Tabla 10 muestra los resultados arrojados por el test de Kruskal-Wallis para cada variable agrupada por estación. La Tabla 11 muestra los resultados obtenidos por el test de Mann-Whitney para cada par de estaciones.

Cabe destacar que para la variable *volumen* no se realizaron estos análisis ya que el test de Kruskal-Wallis demostró que no existen diferencias significativas entre grupos, para dicha variable.

Hydra viridissima: sólo fue hallada en una estación (otoño 2013), por lo tanto no pueden aplicarse los análisis correspondientes.

Tabla 10: Resultados del test de Kruskal-Wallis para las especies *Hydra vulgaris* e *Hydra vulgaris pedunculata* halladas en Nahuel Rucá. Los valores resaltados en negrita indican diferencias entre las estaciones climáticas.

Especie	variable explicada	Valores-p
<i>H. vulgaris</i>	<i>largo columna</i>	0.0001
	<i>volumen</i>	0.000008
<i>H. vulgaris pedunculata</i>	<i>largo columna</i>	0.009
	<i>volumen</i>	0.53

Tabla 11: Resultados del test de Mann-Whitney para cada par de estaciones, de la especie *Hydra vulgaris* hallada en Nahuel Rucá. Los valores resaltados en negrita indican diferencias significativas.

especie	pares de estaciones	<i>largo columna</i>	<i>volumen</i>	
<i>H. vulgaris</i>	Otoño 13	Invierno 13	0.016	0.017
		Primavera 13	0.036	0.306
		Verano 14	0.184	0.055
		Otoño 14	0.015	0.032
		Invierno 14	0.023	0.000
		Primavera 14	0.326	0.802
		Verano 15	0.634	0.660
	Invierno 13	Primavera 13	0.005	0.030
		Verano 14	0.200	0.800
		Otoño 14	0.019	0.020
		Invierno 14	0.038	0.005
		Primavera 14	0.005	0.000
	Primavera 13	Verano 15	0.004	0.008
		Verano 14	0.064	0.057
		Otoño 14	0.674	0.048
		Invierno 14	0.723	0.000
		Primavera 14	0.002	0.530
	Verano 14	Verano 15	0.073	0.131
		Otoño 14	0.044	0.044
		Invierno 14	0.093	0.026
		Primavera 14	0.642	0.164
Otoño 14	Verano 15	0.304	0.040	
	Invierno 14	0.421	0.016	
	Primavera 14	0.045	0.161	
Invierno 14	Verano 15	0.470	0.092	
	Primavera 14	Verano 15	0.017	0.001
<i>H. vulgaris pedunculata</i>	Primavera 13	Verano 15	0.079	0.000
		Verano 15	0.176	0.421
	Primavera 14	Verano 14	0.223	-

2. Análisis bajo el factor “laguna”:

Hydra vulgaris: La Tabla 12 muestra los resultados del Test de Kruskal-Wallis para las variables *largo columna* y *volumen* agrupadas por laguna. La Tabla 13 muestra los resultados del Test de Mann-Whitney para cada par de lagunas.

Hydra vulgaris pedunculata: La Tabla 12 muestra los resultados del Test de Kruskal-Wallis para las variables *largo columna* y *volumen* agrupadas por laguna.

Hydra viridissima: Esta especie solo apareció en dos estaciones (otoño 2013 en Los Padres y Nahuel Rucá). Esta baja frecuencia de aparición, la excluye de este análisis ya que los resultados pueden ser poco fiables y representativos.

Tabla 12: Resultados del test de Kruskal-Wallis para las especies *Hydra vulgaris* e *Hydra vulgaris pedunculata* agrupadas bajo el factor “laguna”. Los valores resaltados en negrita indican diferencias entre lagunas.

Especie	variable explicada	Valores-p
<i>H. vulgaris</i>	<i>largo columna</i>	0.0001
	<i>volumen</i>	0.031
<i>H. vulgaris pedunculata</i>	<i>largo columna</i>	0.515
	<i>volumen</i>	0.231

Tabla 13: Resultados del test de Mann-Whitney para cada par de lagunas, de la especie *H. vulgaris*. LB = La Brava, LP = Los Padres y NR = Nahuel Rucá. Los valores resaltados en negrita indican diferencias significativas.

especie	pares de lagunas		<i>largo columna</i>	<i>volumen</i>
<i>H. vulgaris</i>	LB	LP	1.15e⁻⁰⁵	0.144
		NR	0.0006	0.012
	LP	NR	0.043	0.318

3. Análisis bajo el factor “especie”:

La Tabla 14 muestra los resultados arrojados por el Test de Mann-Whitney para cada par de especies.

Tabla 14: Resultados del test de Mann-Whitney para cada par de especies. Los valores resaltados en negrita indican diferencias significativas.

pares de especies		<i>largo columna</i>	<i>volumen</i>
<i>H. vulgaris</i>	<i>H. vulgaris pedunculata</i>	0.38	0.51
	<i>H. viridissima</i>	0.033	0.0007
<i>H. vulgaris pedunculata</i>	<i>H. viridissima</i>	0.027	0.0025

Análisis de Componentes Principales (ACP): El ACP de cada laguna se calculó en base a la matriz de correlación generada entre los cinco parámetros limnológicos. La Tabla 15 muestra los resultados obtenidos para cada laguna.

Tabla 15: Resultados del Análisis de Componentes Principales para La Brava (LB), Los Padres (LP) y Nahuel Rucá (NR). Los componentes resaltados en negrita fueron los seleccionados en este análisis. C = componente.

	Laguna	C1	C2	C3	C4
Varianza	LB	2.43	1.85	0.55	0.14
	LP	3.10	1.39	0.43	0.06
	NR	2.34	1.61	0.55	0.41
Desviación estándar	LB	1.56	1.36	0.74	0.38
	LP	1.76	1.18	0.66	0.24
	NR	1.53	1.27	0.74	0.64
Proporción de la varianza (%)	LB	48	37	11	3
	LP	62	28	9	1
	NR	47	32	11	8

Los componentes fueron seleccionados en base a sus valores de varianza (mayores a uno) y al porcentaje de varianza que recogen con respecto a las variables originales.

Así, para La Brava se seleccionaron los componentes 1 y 2. Ambos recogen aproximadamente el 85% de la varianza de las variables originales. El componente 1 es combinación lineal de las variables *pH* y *T°* y el componente 2 es combinación lineal del *OD* y la *profundidad*.

Para Los Padres solo se seleccionó el componente 1. Recoge más de la mitad de la varianza de las variables originales (62%) y es combinación lineal de la *transparencia* y el *OD*.

Para Nahuel Rucá, fueron seleccionados los componentes 1 y 2. Ambos recogen aproximadamente el 79% de la varianza de las variables originales. El componente 1 es combinación lineal de las variables *OD* y *pH* y el componente 2, lo es de las variables *T°* y *transparencia*.

Modelos de Regresión: La Tabla 16 muestra los resultados del modelo aplicado a las variables *largo columna* y *volumen* para *H. vulgaris* e *H. vulgaris pedunculata* en relación a los componentes principales 1 y 2 seleccionados para Nahuel Rucá.

Tabla 16: Coeficientes β_0 , β_1 y β_2 del Modelo de Regresión Lineal Múltiple entre las variables *largo columna* y *volumen* de *H. vulgaris* e *H. vulgaris pedunculata* y los componentes seleccionados para Nahuel Rucá. C1 = componente 1. C2 = componente 2. Los valores en negrita indican diferencias significativas.

		estimado	Valor-p
<i>Largo columna Hydra vulgaris</i>	β_0	3.01	
	β_1 (C1)	0.29	0.003
	β_2 (C2)	-0.03	0.76
<i>Volumen Hydra vulgaris</i>	β_0	0.21	
	β_1 (C1)	0.004	0.78
	β_2 (C2)	-0.024	0.17
<i>Largo columna Hydra vulgaris pedunculata</i>	β_0	3.35	
	β_1 (C1)	0.70	0.001
	β_2 (C2)	-0.17	0.59
<i>Volumen Hydra vulgaris pedunculata</i>	β_0	0.15	
	β_1 (C1)	-0.03	0.39
	β_2 (C2)	0.07	0.14

Dado que para ambas especies los coeficientes β_2 generados para el componente 2 no fueron significativos, este componente se eliminó del modelo y se reajustó la ecuación de la recta mediante un Modelo de Regresión Lineal Simple, que finalmente quedó bajo la siguiente forma:

$$\textit{largo columna H. vulgaris} = 3.01 + 0.29 \text{ C1 } (R^2 = 0.08)$$

$$\textit{largo columna H. vulgaris pedunculata} = 3.35 + 0.71 \text{ C1 } (R^2 = 0.47)$$

Para el caso de la variable *volumen* ningún coeficiente fue estadísticamente significativo, por lo cual el modelo para dicha variable fue descartado.

La Tabla 17 muestra los intervalos de confianza calculados para dicho modelo.

Tabla 17: Intervalos de confianza para los modelos de regresión lineal de la variable *largo columna* de las especies *Hydra vulgaris* e *Hydra vulgaris pedunculata* y el componente 1. C1 = componente 1.

		2.5%	97.5%
<i>Largo columna Hydra vulgaris</i>	β_0	2.73	3.28
	β_1 (C1)	0.10	0.47
<i>Largo columna Hydra vulgaris pedunculata</i>	β_0	2.91	3.88
	β_1 (C1)	0.33	0.96

Los Gráficos 1 y 2 ilustran la diagnosis de los Modelos de Regresión para la variable *largo columna* de las especies *H. vulgaris* e *H. vulgaris pedunculata* en Nahuel Rucá. La Figura 2 muestra algunos especímenes de cada especie recolectados en cada cuerpo de agua.

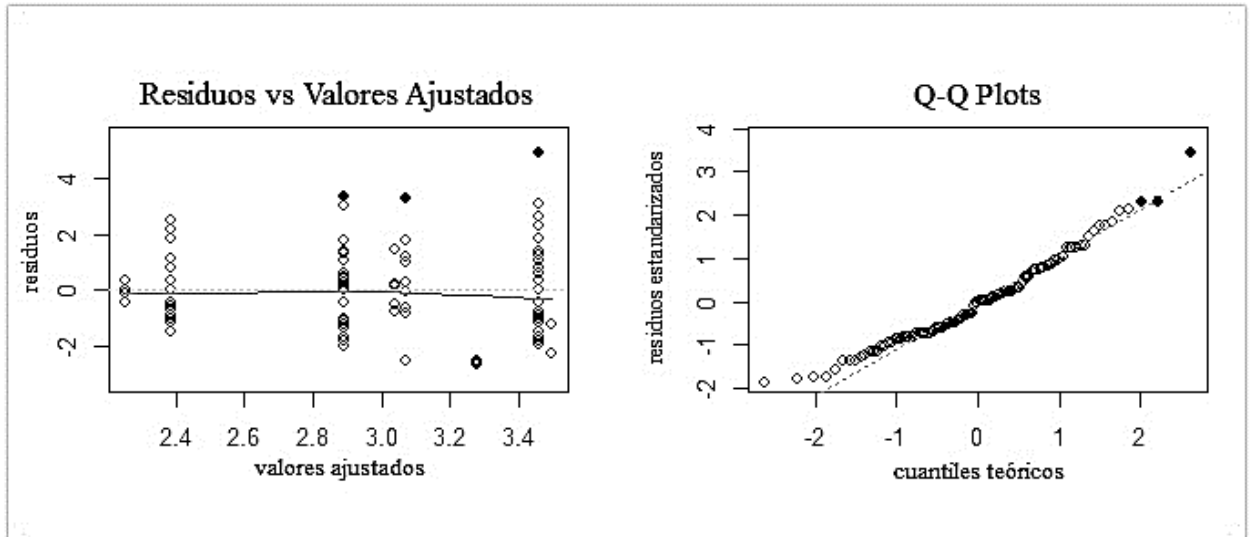


Gráfico 1: Diagnóstico del Modelo de Regresión Lineal Simple para la variable *largo columna* de *Hydra vulgaris* y el componente 1 de Nahuel Rucá. Diagrama de dispersión para los Residuos vs Valores ajustados y Q-Q Plots.

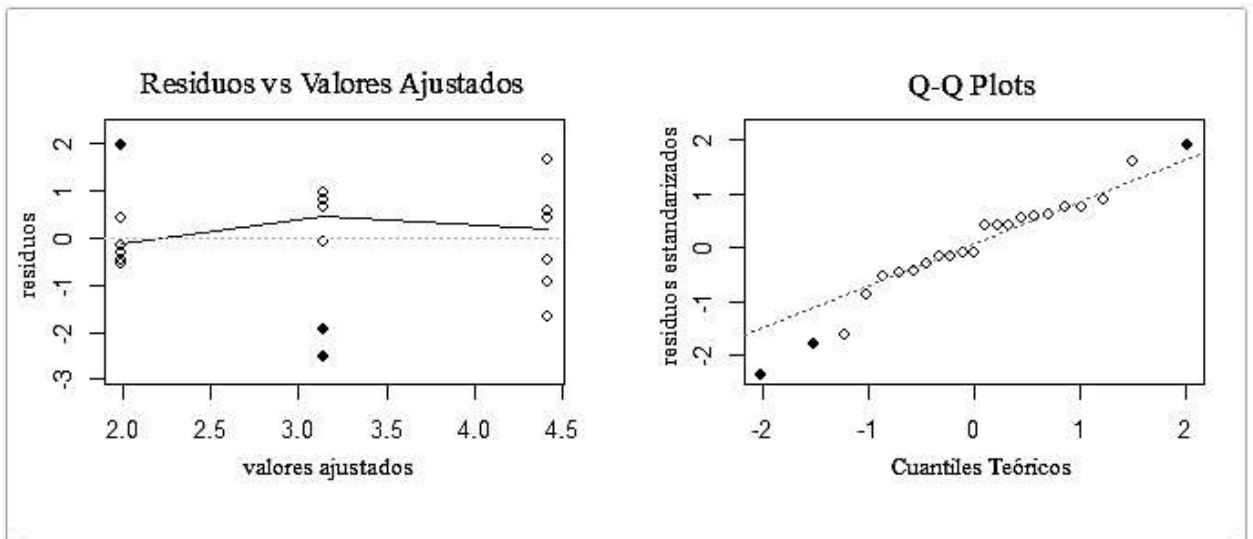


Gráfico 2: Diagnóstico del Modelo de Regresión Lineal Simple para la variable *largo columna* de *Hydra vulgaris pedunculata* y el componente 1 de Nahuel Rucá. Diagrama de dispersión para los Residuos vs Valores ajustados y Q-Q Plots.

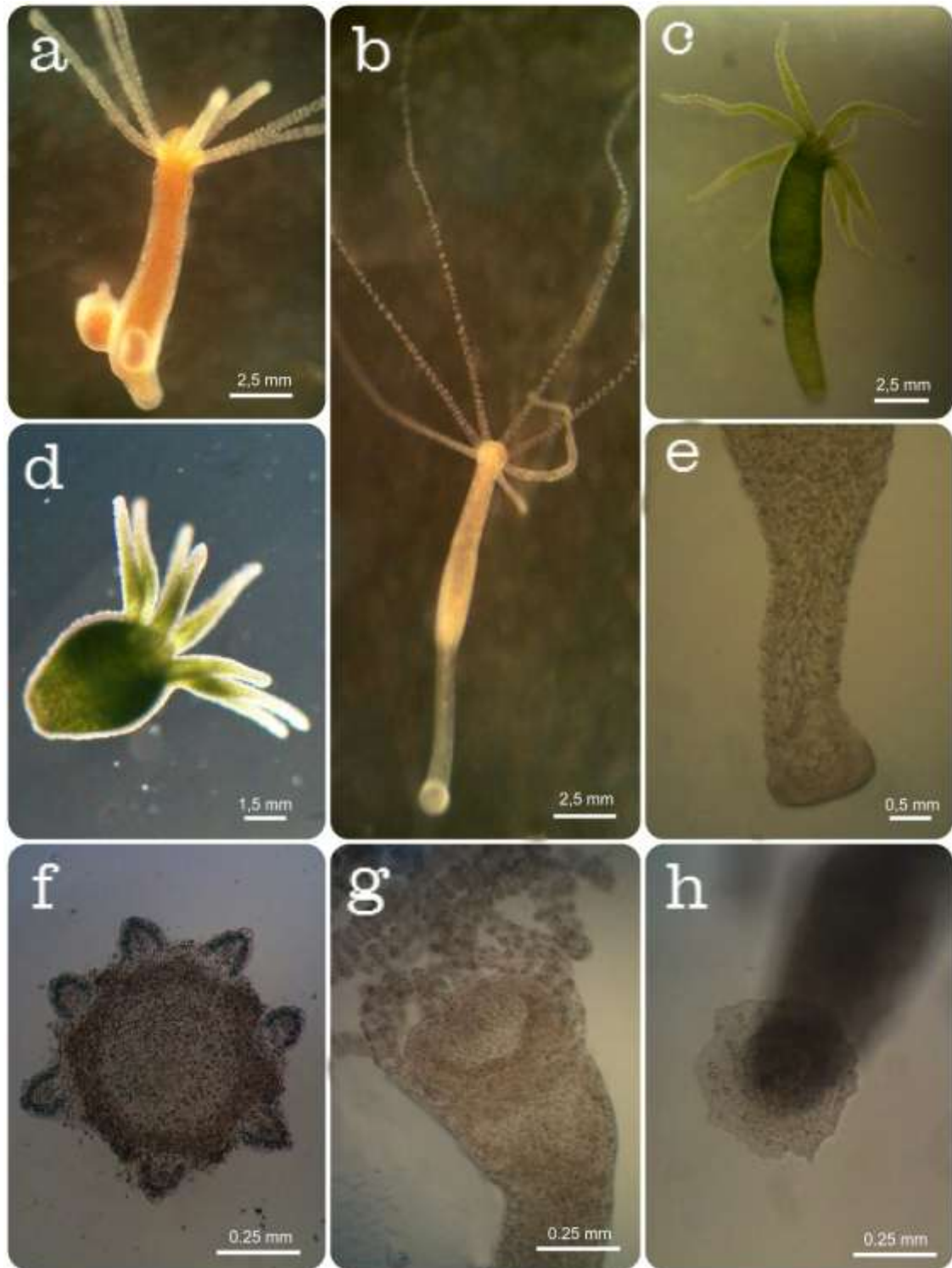


Figura 2: especímenes del género *Hydra*. (a) *Hydra vulgaris* con 2 brotes, (b) *Hydra vulgaris pedunculata*, (c) y (d) *Hydra viridissima*, (e) detalle del pedúnculo de *Hydra vulgaris pedunculata*, (f) *Hydra vulgaris*, vista oral, (g) detalle de hipostoma abierto en *Hydra vulgaris pedunculata* y (h) detalle del disco pedal en *Hydra vulgaris*.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos demuestran que el género *Hydra* es habitual en los ambientes dulceacuícolas bonaerenses. Sin embargo, la frecuencia de aparición de algunas especies ha resultado ser baja o nula en ciertas épocas del año para algunas de las lagunas en estudio.

La especie *H. vulgaris* parece ser la más frecuente ya que fue hallada en los tres cuerpos de agua estudiados y además, en una mayor cantidad de estaciones con una mayor cantidad de individuos. Para el caso particular de Nahuel Rucá, estuvo presente durante las 8 estaciones muestreadas mientras que en Los Padres y en La Brava, fue hallada en sólo dos estaciones.

La subespecie *H. vulgaris pedunculata* (reportada por Deserti, *et al.* desde el año 2011), ocupa el segundo lugar por su frecuencia de aparición. También fue hallada en los tres cuerpos de agua, aunque en este caso, la cantidad de individuos fue menor. Estuvo presente durante tres estaciones en Nahuel Rucá, dos en Los Padres y en La Brava, solo en el invierno 2013.

Por último, la especie *H. viridissima* fue muy poco frecuente, con cantidades de individuos bastante bajas. Estuvo ausente para laguna La Brava y solo en el otoño del 2013 fue hallada tanto en Los Padres como Nahuel Rucá. Este dato resulta algo curioso ya que esta especie es una de las más cosmopolitas junto con *H. vulgaris*, por lo que se esperaría un dominio mayor en los ambientes estudiados.

El invierno 2013 fue la estación con mayor aparición de *Hydra*, mientras que el invierno 2014 fue el de menor; tan solo *H. vulgaris* fue hallada en Nahuel Rucá.

Si bien estos resultados dejan en claro que el género es habitual en nuestros cuerpos de agua, es probable que algún factor externo provoque su desaparición en ciertas épocas del año y para ciertas especies en particular. Ya han sido citadas las capacidades resistentes de las embriotecas (Barnes, 2007). Estas embriotecas podrían permanecer latentes en los fondos de las lagunas y restablecer las poblaciones cuando las condiciones se vuelven favorables. Un caso particular y documentado que ilustra dicha situación, es la de los cuerpos de agua localizados en el Parque Nacional Nahuel Huapi (provincia de Río Negro). En dicha zona existen numerosas charcas con hidroperíodos de entre 7 y 9 meses. A pesar de permanecer sin agua durante gran cantidad de tiempo, se ha reportado la presencia del género *Hydra*, cuando el nivel de agua se restablece (Trochine *et al.*, 2008, 2009).

Otra posibilidad es que las especies migren hacia otras zonas de la laguna u otros sustratos. Ya se conocen los diferentes desplazamientos de los que estos organismos pueden hacer uso (Kepner & Thomas, 1928; Lomnicki & Slobodkin, 1966; Mackie, 1974; Brusca,

2007), por lo que es factible que se muevan en busca de mejores condiciones o mayor disponibilidad de alimento.

En cuanto a los análisis estadísticos, los resultados fueron variados. En principio, las variables morfológicas no presentaron una distribución normal.

Con el paquete de datos recolectados en Nahuel Rucá, podemos ver que los valores de las variables *largo columna* y *volumen* muestran diferencias significativas entre algunas estaciones climáticas (Tabla 11). Los individuos hallados en la estación invierno 2013 fueron los que más diferencias tuvieron; difieren con otras 6 estaciones con respecto al *largo columna*. Le siguen los del otoño 2013 y 2014 que difieren con 4 estaciones. Para el *volumen*, la estación invierno 2014 fue diferente con todas las restantes. Le siguen el invierno 2013 con diferencias en 6 estaciones y el otoño 2014 que difiere con 5 estaciones. Por último, para el *largo columna*, la estación verano 2014 solo obtuvo diferencias con una estación y para el *volumen* lo mismo ocurrió para la primavera 2014.

Así, finalmente, la variable *volumen* obtuvo un total de 16 pares de estaciones climáticas con diferencias significativas en dichos valores, mientras que el *largo columna*, un total de 13.

Para el caso de *H. vulgaris pedunculata* (Tabla 11), también de Nahuel Rucá, la primavera 2013 fue la que presentó diferencias con las estaciones restantes, pero sólo para la variable *largo columna*. El mismo análisis con la variable *volumen* no arrojó diferencias entre estaciones (Tabla 10).

Si nos guiamos por los resultados obtenidos para *H. vulgaris*, la variable *volumen* pareciera ser mucho más sensible a los cambios estacionales. Sin embargo esto no ocurre para *H. vulgaris pedunculata*. La diferencia puede radicar en el menor número de datos sometidos a análisis para esta última especie, es decir, no podemos saber lo que hubiera sucedido con esta variable de haber sido hallada en todas las estaciones durante los dos años de muestreo.

Los resultados del Análisis de Componentes Principales para cada laguna nos permitieron reducir el número de parámetros limnológicos (variables independientes) y elegir aquellos componentes que son combinación lineal de ellos. Podemos observar que los resultados arrojaron diferencias dependiendo del cuerpo de agua. Estas diferencias pueden sustentarse en las características físico-químicas y en la dinámica propia de cada laguna, que las hace diferentes entre sí. El parámetro con mayor presencia en los componentes fue el *oxígeno disuelto (OD)*. Fue parte en tres componentes del total de cinco seleccionados y se encuentra presente en un componente para cada laguna. Los restantes parámetros participan en dos componentes cada uno. Ninguno de ellos fue excluido por el análisis.

No resulta curioso que el *OD* sea el parámetro con mayor participación, ya que es uno de los principales limitantes para muchos organismos acuáticos. En La Brava se relacionó con la *profundidad*, en Los Padres con la *transparencia* y en Nahuel Rucá con el *pH*.

Analizando un poco cada caso, para La Brava, el componente 1, relaciona la *temperatura* con el *pH*. Si bien no existe una relación estrecha entre ambos parámetros, para el caso de estas lagunas, los valores de *pH* suelen ser un poco más ácidos en verano. Esto ocurre porque se aceleran los procesos de descomposición vegetal y se generan ácidos húmicos que acidifican un poco el agua. Si tenemos en cuenta que los muestreos en este caso se realizaron en zonas litorales de poca profundidad y donde la materia vegetal es abundante, este proceso podría explicar la relación de ambos parámetros bajo un mismo componente. Esta tendencia de valores de *pH* más ácidos en verano puede verse reflejada además en los valores de la Tabla 1.

Para el caso del segundo componente, que relaciona el *OD* y la *profundidad*, claramente se refiere a la disponibilidad de oxígeno en la columna de agua.

Para Los Padres, fue seleccionado un solo componente, que es combinación lineal de la *transparencia* y el *OD*. Sabemos que la *transparencia* afecta la incidencia de la luz en la columna de agua. Esta incidencia finalmente posibilitará el desarrollo de algas que, mediante fotosíntesis, producirán oxígeno. Si bien en este caso también estamos hablando de la disponibilidad de oxígeno, el componente aquí seleccionado lo representa de manera un poco más indirecta.

Finalmente en Nahuel Rucá, para el componente 1 (que es combinación lineal del *pH* y el *OD*), la relación resulta más difícil de explicar. Es probable que esta relación esté reflejando las características de la zona de muestreo, al igual que en La Brava. Si bien podemos hacer referencia a dicho componente como disponibilidad de oxígeno, esta afirmación no resulta del todo clara.

Para el segundo componente, que es combinación lineal de la *temperatura* y *transparencia*, sucede lo mismo que en el caso anterior; resulta difícil de explicar. Es probable que pueda tener relación más con la zona de muestreo que con algún proceso. No debemos olvidar que la recolección de sustratos se da en zonas poco profundas, con abundante materia vegetal y poca transparencia. Al no ser aguas abiertas, quizá registren temperaturas un poco mayores. Además, esta laguna sufre la entrada del ganado bovino que remueve los fondos fangosos y enturbian aún más el agua. Es posible que parte de toda esta situación, este reflejada en este componente.

Para el paquete de datos de Nahuel Rucá, la aparición de las especies *H. vulgaris* e *H. vulgaris pedunculata* en más de dos estaciones climáticas, permitió hacer un análisis más

profundo. Es así que los componentes seleccionados para esta laguna, se convirtieron entonces en las nuevas variables independientes o explicativas para ajustar, en cada caso, un Modelo de Regresión junto con las variables morfológicas *largo columna* y *volumen*.

El primer modelo aplicado fue un Modelo de Regresión Lineal Múltiple, donde participaron ambos componentes y las variables morfológicas de cada especie.

En primer lugar, la variable *volumen* no mostro relación con ninguno de los componentes seleccionados. Además, los resultados muestran que el componente 2 no tiene una relación significativa con ambas variables morfológicas. En base a esto, se excluyó el *volumen* de los análisis y para el *largo columna*, se reajustó un Modelo de Regresión Lineal Simple, solo con el componente 1.

Para ambas especies, la relación entre dicha variable y la disponibilidad de oxígeno fue positiva, es decir, una mayor disponibilidad de oxígeno en el ambiente provocaría un aumento en el tamaño de los pólipos.

Analizando las posibles ecuaciones de la recta de regresión generadas por el modelo para cada especie, la aquí presentada fue la que mostró un mejor ajuste. En dichas ecuaciones podemos ver que: para *H. vulgaris*, a cada incremento en una unidad en el *largo columna* le corresponde un aumento de 0.29, en magnitud, en la disponibilidad de oxígeno. Aproximadamente el 8% de esta variabilidad puede explicarse mediante la recta ajustada que la relaciona con la disponibilidad de oxígeno. Observando los gráficos de diagnóstico para este modelo, en el diagrama de dispersión de los residuos vs los valores ajustados, no se observa ningún patrón especial. La recta muestra una pequeña desviación, aceptable en este caso, por lo que los supuestos de homocedasticidad y linealidad se cumplirían de manera razonable. Lo mismo ocurre para la normalidad en los Q-Q Plots.

Para *H. vulgaris pedunculata* a cada incremento en una unidad en el *largo columna* le corresponde un aumento de 0.71, en magnitud, en la disponibilidad de oxígeno. Aproximadamente el 47% de esta variabilidad puede explicarse mediante la recta ajustada que la relaciona con la disponibilidad de oxígeno. Los gráficos de diagnóstico, en este caso, muestran una violación un poco mayor a los supuestos de homocedasticidad, linealidad y normalidad. Sin embargo, aún pueden considerarse aceptables.

El significado de β_0 (coeficiente de ordenada al origen) no tiene una interpretación práctica. Sin embargo, si tomamos un valor de 0 en la disponibilidad de oxígeno (algo que en realidad no ocurre), β_0 puede considerarse como el tamaño promedio para el *largo columna*. Así, este valor sería de 3.01 y 3.35 mm para *H. vulgaris* e *H. vulgaris pedunculata*, respectivamente. Podemos ver que dichos valores no difieren mucho con los promedios totales

calculados para cada especie (2.92 y 3.23 mm para *H. vulgaris* e *H. vulgaris pedunculata*, respectivamente, dados en las tablas 8 y 9).

Cuando las variables morfológicas son agrupadas bajo el factor “laguna”, podemos comparar si existen diferencias en el tamaño corporal de una misma especie que ha sido hallada en diferentes ambientes. Como lo muestra la Tabla 13, *H. vulgaris* presentó variaciones en el *largo columna* para las tres lagunas, es decir, el tamaño fue diferente para cada ambiente. La variable *volumen*, en cambio, sólo registró diferencias entre La Brava y Nahuel Rucá. Sin embargo, no sucedió lo mismo para la subespecie *H. vulgaris pedunculata*, hecho que resulta curioso, ya que la estrecha relación de parentesco que existe entre ambas, podría sugerir un comportamiento similar. Por otro lado, la diferenciación de *H. vulgaris pedunculata* como una sub especie, puede estar debiéndose, no sólo a la presencia de un pedúnculo, sino de alguna otra característica metabólica que provoque una estabilidad mayor en el tamaño de la especie ante características limnológicas cambiantes. Además, como el número de organismos hallados y medidos de esta sub especie fue mucho menor que los de *H. vulgaris*, puede estar ocurriendo también, que la cantidad de datos tomados no sean suficientes para que los test detecten dicha diferencia.

La baja frecuencia de aparición reportada para *H. viridissima*, la excluyó de este tipo de análisis por lo que no pudimos conocer si existen diferencias entre ambientes.

Si observamos las tablas 2 a 9, podemos ver que los valores más altos de las variables *largo columna* y *volumen* para las especies *H. vulgaris* e *H. vulgaris pedunculata*, se registran para Nahuel Rucá. Esto puede estar relacionado con la calidad del agua y la carga contaminante que estos ambientes reciben.

Romanelli *et al.*, (2013), realiza un estudio detallado de estos tres cuerpos de agua, combinando valores de ocupación de suelo, pendiente del terreno, dirección de la pendiente y suelos medios. Esto permite identificar el peligro de contaminación a la que está expuesto y la vulnerabilidad del ambiente. En dicho estudio, reportó que los sistemas inter-montañosos tienen los índices más altos. Para La Brava, estos índices aumentan por predominio de pendientes pronunciadas y terrenos urbanos cercanos, lo que aumenta la contaminación del cuerpo de agua por la llegada de residuos líquidos y sólidos. Además el uso agrícola del suelo coincide con las zonas más altas. Los Padres tiene un índice similar a La Brava, pero sin embargo la cobertura del suelo por bosques de hoja ancha y pastos naturales que rodean el espejo de agua, favorecen la retención de la escorrentía y parte de su carga contaminante.

Nahuel Rucá posee el índice más bajo, ya que su pendiente es pequeña y las tierras aledañas tienen una carga de contaminación moderada. Sin embargo cabe destacar que presenta

altos niveles NO_3^- provocado por la contribución directa de los excrementos del ganado, uno de las causas en el aumento de nutrientes del agua.

Como es conocido, las hidras son organismos muy sensibles a ciertos compuestos químicos (Trottier *et al.*, 1997) y es probable que dicha sensibilidad provoque un crecimiento menor (incluso la desaparición) en aquellos ambientes con mayor carga de contaminantes. Además, son organismos con preferencia por aguas tranquilas (Zamponi, 1991). Bajo esta premisa, podemos explicar la baja frecuencia de especies en La Brava, un ambiente afectado por vientos moderados a fuertes, que provocan un oleaje casi constante y un gran movimiento de los sustratos vegetales. Para el caso de Los Padres, las personas usualmente usan la zona costera de manera un poco caótica (Cardoni *et al.*, 2008). Entre las diversas actividades recreativas, muchas de ellas implican el uso de embarcaciones, que también son causales de movimientos en el agua.

Ambos factores (carga contaminante y movimiento del agua) podrían ser responsables tanto de los tamaños corporales más pequeños, como de la baja frecuencia de aparición de las especies en La Brava y Los Padres (esto último, al menos, para los sustratos aquí recolectados).

Como excepción a estas observaciones, tenemos el caso de *H. viridissima*, cuyos tamaños corporales fueron mayores para Los Padres. Esto puede atribuirse a la mayor transparencia que esta laguna tiene, comparada con Nahuel Rucá (Tabla 1), hecho que favorecería el mantenimiento de sus clorelas simbióticas. Es sabido, que a intensidades muy bajas de luz, estas hidras sufren un “blanqueamiento” al igual que los corales, que en la mayoría de los casos, pueden provocar la muerte del organismo, ya que entran en recesión (disminución de masa corporal y tejidos) y se niegan a alimentarse (Parady, 1983).

Por último, los análisis bajo el factor “especie” muestran dos resultados para analizar. En principio, al comparar la especie *H. vulgaris* con *H. vulgaris pedunculata*, no se hallaron diferencias significativas para ninguna variable morfológica. Este dato refuerza la estrecha relación que existe entre ambas (especie-subespecie), diferenciándose sólo por una característica morfológica flexible desde el punto de vista taxonómico (pedúnculo).

Cuando comparamos estas hidras marrones, con la verde *H. viridissima*, sucede lo contrario; tanto el *largo columna* como el *volumen*, presentan diferencias significativas para cada par de especies.

Este resultado reforzaría entonces la pertenencia de estas especies a grupos clasificatorios diferentes.

Por último, la elección del *volumen* como medida morfológica alternativa al momento de describir un espécimen, surge de la alta variabilidad encontrada en el *largo columna* en

respuesta a los movimientos de contracción y elongación de los pólipos. La comparación entre ambas variables nos permitiría entonces decidir cuál de ellas resultaría más representativa. Sin embargo los resultados obtenidos no fueron ni más claros ni más robustos que los obtenidos con el *largo columna*. A pesar que esta variable elimina parcialmente en la ecuación del cilindro el factor de elongación, el ancho de los pólipos no aumenta ni disminuye en magnitudes proporcionales al largo de la columna, hecho que podría ser responsable en parte, de un comportamiento similar entre ambas variables morfológicas. Por lo tanto, no existe una clara ventaja en la utilización de esta variable, que implica además, un trabajo extra en su cálculo.

Los resultados aquí obtenidos muestran que el género *Hydra* frecuenta nuestras aguas dulces. También nos da el puntapié inicial para futuros trabajos ecológicos que nos permitan conocer aún más la biología de las especies y las variaciones intraespecíficas.

CAPÍTULO III: ANÁLISIS MOLECULARES

INTRODUCCIÓN

A pesar de que las especies del género *Hydra* se utilizan como organismos experimentales desde hace casi 270 años (Trembley, 1744), la capacidad para investigar sobre su biología se ha incrementado considerablemente desde que se dispone la secuencia completa de su genoma (Chapman *et al.*, 2010). Este importante avance marcó el comienzo de una nueva era en el uso de *Hydra* como modelo de desarrollo (Steele, 2012) y su descubrimiento permitió el incremento de numerosos conjuntos de datos de transcriptomas en otras especies del género y demás cnidarios (Schwentner & Bosch, 2015).

A pesar de su larga historia, algunas claves de su evolución, tales como sus orígenes evolutivos y la diversificación de las diferentes especies, aun no se conocen del todo bien. La resolución de estos orígenes se ha visto obstaculizada por la ausencia de restos fósiles (Schwentner & Bosch, 2015). Por lo tanto, la falta de una sólida taxonomía a nivel de especies dificulta las investigaciones específicas en la expresión génica (Thomsen & Bosch, 2006; Khalturin *et al.*, 2008) y el conocimiento exacto de cómo difieren entre especies, su desarrollo, morfología, fisiología y ecología (Campbell, 1983; Hemmrich *et al.*, 2007; Koizumi, 2007).

La taxonomía del género *Hydra* se caracteriza por el alto número de sinónimos y otros tantos nombres aplicados erróneamente (Schwentner & Bosch, 2015). Algunos trabajos (Hemmrich *et al.*, 2007; Kawaida *et al.*, 2010; Martínez *et al.*, 2010; Schwentner & Bosch, 2015) dan luz verde y confirman sobre la base de sus análisis filogenéticos, la existencia de los cuatro grandes clados (grupos clasificatorios). Estos grupos, que morfológicamente se distinguen sobre la base de sus nematocistos así como también sobre la morfología de sus embriotecas (Schulze, 1971; Campbell, 1987), han sido corroborados por dichos autores y desentrañado además, la divergencia de los mismos. No está claro si todos los cnidarios de agua dulce tienen un mismo origen, sin embargo, para el género *Hydra*, los estudios demuestran que las especies siempre forman un grupo monofilético (Bridge *et al.*, 1995; Collins, 2000, 2002; Collins *et al.*, 2006). Así, se estima que divergen de un ancestro común que habría hecho su camino en el agua dulce, en aproximadamente los últimos 50-60 millones de años (Figura 1) (Martínez *et al.*, 2010) ocurriendo finalmente la especiación.

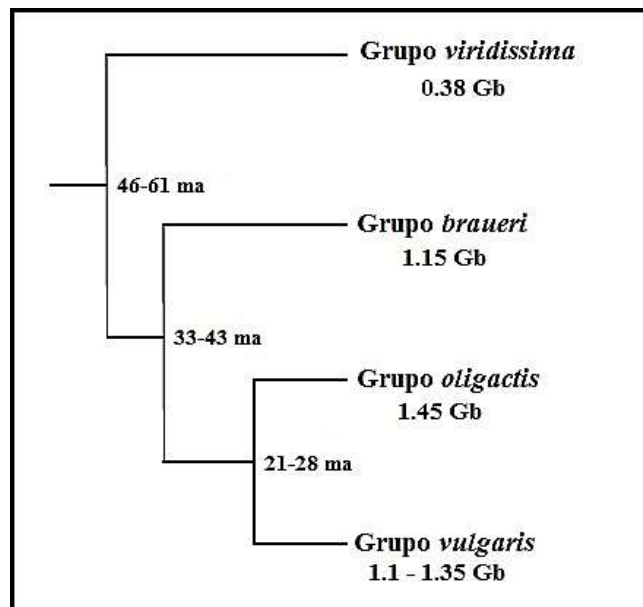


Figura 1: Tiempos de divergencia entre los diferentes clados, estimados en millones de años (ma) (Steele, 2012). Debajo de los nombres de cada grupo se encuentra el tamaño de los genomas en pares de gigabases (Gb) medidos para las especies dentro de cada grupo (Zacarías *et al.*, 2004; Hemmrich *et al.*, 2007).

Jankowski *et al.* (2008) sugiere que los grupos *viridissima* y *vulgaris* estaban presentes antes de la separación de los continentes. Sugieren también que los grupos *oligactis* y *braueri* están restringidos al continente norteamericano y que probablemente surgieron después de la separación de las masas de tierra norte y sur.

La plasticidad morfológica ha sido la responsable de muchos de los problemas en su taxonomía. Más de 80 especies han sido descritas (Jankowski *et al.*, 2008), muchas de ellas posteriormente sinonimizadas y el estatus de otras, continúa siendo controversial (Campbell, 1987). Grayson (1971) considera cerca de 27 especies, pero a medida que se esclarecen aspectos de la variabilidad en *Hydra*, ese número decrece (Martínez *et al.*, 2010). Jankowski *et al.* (2008) sugiere un número menor a 15 para las especies realmente válidas, mientras que el Registro Mundial de Especies Marinas (WoRMS), aún presenta un total de 40 especies distintas (Schuchert, 2014). La incertidumbre en el número de especies depende casi exclusivamente de la cantidad de variación que se acepta dentro de las especies del grupo *vulgaris* (Martínez *et al.*, 2010).

A pesar de ser reportadas en todos los continentes excepto en la Antártida (Jankowski *et al.*, 2008), su taxonomía está centrada en especímenes de Eurasia y Norteamérica (Cheng & Wang, 2008; Holstein, 1995). Es así que, por ejemplo, para Sudamérica, los datos aún son escasos como para poder desentrañar su taxonomía y la relación con sus congéneres de otras regiones geográficas. De esta manera el origen de los cnidarios de agua dulce y su diversidad

en todos los continentes plantean aún problemas interesantes. Para resolverlos, los estudios filogenéticos moleculares resultan indispensables (Kawaida *et al.*, 2010).

Deserti *et al.* (2011) revelan la presencia de la subespecie *Hydra vulgaris pedunculata* para aguas de la laguna Los Padres (Buenos Aires, Argentina). Estos ejemplares difieren de su especie inmediata (*H. vulgaris*) en la presencia de un conspicuo pedúnculo cercano al pie, que no se modifica ante los movimientos de contracción y estiramiento, ni durante los cambios de forma que suceden en la alimentación. Sin embargo los restantes caracteres morfológicos no presentan variación, incluyendo aquellos que dan estatus de especie (Pallas, 1766).

Los muestreos para esta tesis han revelado la presencia de dicha subespecie en los tres cuerpos de agua estudiados (La Brava, Los Padres y Nahuel Rucá), ampliando el rango geográfico de la misma. Con el objetivo de corroborar el estatus taxonómico de la misma, además de los hallazgos de *H. vulgaris*, algunos ejemplares fueron sometidos a análisis. De esta manera pudimos conocer si la validación como subespecie es correcta o se trata en realidad de una nueva especie.

MATERIALES Y MÉTODOS

Envío de material

Para los análisis filogenéticos fueron enviados al laboratorio del Dr. Daniel E. Martínez (Pomona College, CA, EE.UU) un total de 21 ejemplares de *Hydra* extraídas en Nahuel Rucá, correspondientes a dos estaciones climáticas distintas: invierno y primavera 2013. Para el material fijado, los ejemplares se envasaron en eppendorfs con alcohol absoluto y para el material *in vivo* fueron colocados en tubos de ensayo de plástico, con tapa a rosca y envasados con solución cultural M. Se colocó un ejemplar por tubo.

Los especímenes que pudieron recuperarse y ser finalmente analizados presentaron las siguientes características morfológicas:

Nahuel Rucá - Invierno 2013:

Dos ejemplares enviados en alcohol absoluto pudieron ser analizados. La descripción morfológica de los mismos se brinda a continuación:

* ARG61a: ejemplar muy transparente (no puede determinarse su coloración original). Largo de columna de 0.76 mm. Con 7 tentáculos, moniliformes, transparentes y con un largo relativo de $\frac{3}{4}$ el largo de la columna. Con un pedúnculo cercano al pie.

* ARG61b: ídem ejemplar anterior. En este caso, el largo de columna fue de 0.60 mm.

Nahuel Ruca - Primavera 2013:

Cuatro ejemplares enviados vivos en Solución Cultural pudieron ser analizados.

* ARG61c: ejemplar muy transparente (no puede determinarse su coloración original). Largo de columna de 2.58 mm. Con 6 tentáculos, moniliformes, transparentes y con un largo relativo mayor a $\frac{3}{4}$ el largo de la columna. Sin pedúnculo.

* ARG61d: ejemplar blanquecino, casi transparente. Largo de columna de 5.32 mm. Con 6 tentáculos, moniliformes, transparentes y con un largo relativo de $\frac{3}{4}$ el largo de la columna. Sin pedúnculo.

*ARG61e: ejemplar amarronado. Largo de columna de 6.08 mm. Con 7 tentáculos, moniliformes, transparentes y con un largo relativo mayor a $\frac{3}{4}$ el largo de la columna. Con un pedúnculo poco pronunciado cercano al pie.

*ARG61f: ejemplar amarronado. Largo de columna de 4.86 mm. Con 6 tentáculos, moniliformes, transparentes y con un largo relativo de $\frac{3}{4}$ el largo de la columna. Sin pedúnculo.

Una vez recibido el material, los ejemplares fueron cultivados vivos en el laboratorio durante algunas semanas previas al procesamiento.

Las concentraciones de la solución cultural utilizada para los cultivos se resumen en la Tabla 1, seguido del procedimiento de preparación.

Tabla 1: Composición y concentraciones de la solución cultural para el cultivo de *Hydra*

	Concentración Final	Stocks
NaHCO₃	0.5 mM	0.5 M
CaCl₂	1 mM	1 M
MgCl₂	0.1 mM	0.1 M
MgSO₄	0.08 mM	0.08 M
KNO₃	0.03 mM	0.03 M

- **NaHCO₃** Peso Formula (PF) = 84.01 10.5 g/250 ml

- **CaCl₂ · 2H₂O** PF = 147.026 36.75 g/250 ml

- **MgCl₂ · 6H₂O** PF = 203.30 5.09 g/250 ml

- **MgSO₄ · 7H₂O** PF = 246.48 4.93 g/250 ml

- **KNO₃** PF = 101.11 0.76 g/250 ml

Finalmente se añaden 20 ml (25 ml) de solución stock a un recipiente con 20 l (25 l) de agua desionizada.

Solución Pen-Strep (1000x Stock): para la preparación se utilizan 2.5 g de penicilina (sigma PAN-K, 1580u/mg) y 2.5 g de sulfato de estreptomicina (Sigma S-06501, 63u/mg) en 50 ml de H₂O y se filtra con una jeringa.

La alimentación de los ejemplares se realiza con larvas *nauplii* de *Artemia* sp. Para su cultivo se agregan 5 ml de huevos en 1 litro de solución cultural de *Hydra* conteniendo 20 ml de sal y 1 ml de solución pen-strep (esta última es opcional). Se hace burbujear a 18°-20° C durante aproximadamente 48 hs.

Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación

El ADN fue extraído de 8 a 15 animales vivos por espécimen (clones derivados de una sola hidra). Para su extracción se utilizó el kit Qiagen DNeasy tissue, siguiendo el protocolo para tejidos animales en una sola elución final con 100 µl del buffer AE. Todos los animales se mantuvieron en ayunas durante 72 horas antes de la extracción para evitar la contaminación del material con cualquier alimento residual que pudiera estar presente en sus cavidades gástricas.

Para el caso de aquellos especímenes fijados en alcohol, las extracciones de ADN se realizaron sobre un solo individuo utilizando el kit antes mencionado. En algunos casos, el ADN solo se extrajo de 1 a 2 ejemplares vivos. Para estos casos se utilizó el siguiente protocolo: se incubó a 60° C durante una hora con buffer de lisis (50 mM KCl, 2.5 mM MgCl₂, 10 mM, Tris-HCl pH 8.3, 0.45% TWEEN 20, 0.01% gelatina, 1 mg/ml proteinasa K) y a 94° C durante 15 minutos para desactivar la proteinasa K.

El espaciador transcrito interno 1 (ITS1), 5.8S rADN y una región del espaciador transcrito interno 2 (ITS2) del ADN ribosomal, fueron amplificados utilizando cebadores diseñados para hibridar con el 18S (5'-CACCGCCCGTCGCTACTACCGATTGAATGG-3') y 28S (5'-CCGCTTCACTCGCCGTTACTAG GGGAAATCC-3') de los genes ribosomales. Un fragmento de aproximadamente 589-pb del gen mitocondrial ribosomal ARN (16S rADN) fue amplificado usando los siguientes cebadores: forward, 5'-TCGACTGTTTACCAAAAACATAGC-3'; reverse, 5'-ACGGAATGAACTCAAATCATGTAAG-3'. Un fragmento de 655-pb de la subunidad 1 del gen citocromo c- oxidasa (CO1) fue amplificado con los siguientes cebadores: forward, 5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGGAAC-3' (CO1.Dawson.F.LCOjf); reverse, 5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAATCA-3' (CO1.Folmer.R.HC02198).

Todas las reacciones de PCR fueron realizadas en un volumen final de 50 µl usando el PCR mix Promega Master (10x PCR buffer, 10 mM dNTP, 50 mM Mg₂Cl) con 0.5 µM de los cebadores y 0.02 unidades/µl de Taq ADN Polimerasa. Las amplificaciones para ITS1-5.8S rADN-ITS2 y 16S rADN incluyen una etapa inicial de desnaturalización a 94° C durante 2 minutos, seguido de 53 ciclos de desnaturalización por 30 segundos a 94° C, 1 minuto a 55° C (47° C para el 16S rADN) y una extensión de 1 minuto 30 segundos a 72° C (1 minuto para 16S rADN). Un paso de extensión final fue llevado a cabo durante 10 minutos a 72° C. Las amplificaciones para CO1 incluyen un ciclo inicial de desnaturalización a 94° C durante 5 minutos, seguido de 2 minutos a 45 ° C, una extensión de 2 minutos a 72° C, un ciclo de desnaturalización a 94° C durante 3 minutos, 2 minutos a 46° C, una extensión de 2 minutos a

72° C, seguido de 33 ciclos de desnaturalización de 45 segundos a 94° C, 45 segundos siguientes a 47° C, y finalmente una extensión de 1 minuto 30 segundos a 72° C. Un paso de extensión final fue llevado a cabo durante 5 minutos a 72° C.

Los productos de PCR que generaron una banda bien definida sobre gel de agarosa al 1% fueron secuenciados directamente en ambas direcciones sin purificación, utilizando los cebadores de PCR como cebadores de secuenciación. Sin embargo, estos productos de PCR fueron ligados dentro del vector pGEM T® (Promega, Madison WI) y utilizados para transformar 50 µl del componente *Escherichia coli* (DH5α). Las células transformadas fueron sembradas en LB/Ampicillin/Xgal y se dejaron crecer toda la noche a 37° C. Unas pocas colonias blancas seleccionadas se cultivaron durante toda una noche en 3 ml del medio líquido LB. Los plásmidos procedentes de dichos cultivos se purificaron usando el kit QIAprep Spin Miniprep (Quiagen). El largo de los fragmentos clonados se verificó mediante restricción con *Eco* R1 y electroforesis en agarosa al 1%. Solamente un clon por cepa de hidra fue secuenciado en ambas direcciones usando cebadores T7 y Sp6 (Promega). Genes de copia múltiple, como la región ITS del ADN ribosomal suele presentar altos niveles de variación intra-individual (Márquez *et al.*, 2003). Estas variaciones han sido eliminadas en este estudio y solo se ha decidido secuenciar un solo clon por producto de PCR para cada cepa de hidra. Sin embargo, en aquellos productos de PCR que fueron secuenciados directamente, no se observaron evidencias de variación intra-individual. Se cree que este nivel de variación intra-individual de los ITS en *Hydra* no tendría la suficiente magnitud como afectar los resultados que aquí se presentan.

Las secuencias fueron ensambladas y editadas utilizando el programa Sequencher 4.6 (Gene Codes Corporation). Las secuencias editadas de ITS1-5.8S-ITS2 fueron alineadas usando ClustlX (Thompson *et al.*, 1994, 1997) con los siguientes parámetros de alineación múltiple: penalización por apertura de GAP: 10.00, penalización por extensión de GAP: 0.20 y el mismo peso para las transversiones y transiciones. Estas alineaciones se mejoraron manualmente con el programa Se-Al (Rambaut, 2002).

Los análisis de Máxima Parsimonia y Neighbor Joining se realizaron con el programa PAUP* (versión 4.0b10) (Swofford, 2002). Para el caso de los análisis de Máxima Verosimilitud se realizaron utilizando GARLI y el modelo fue seleccionado mediante el uso de j Model Test (Zwickl, 2006; Posada, 2008) y los parámetros estimados se utilizaron para los cálculos de longitudes de las ramas.

RESULTADOS

El material enviado pasó a formar parte de una base de datos del equipo de investigación del Dr. Daniel E. Martínez. En este caso, se sumaron nuestras cepas y algunas provenientes de otras regiones geográficas, se secuenciaron y se armaron filogramas, centrando el foco en el grupo *vulgaris*.

Se analizó un total de 74 cepas de *Hydra*. Dentro de las muestras estuvieron representados cuatro continentes (Europa, América, Asia y África), con un total de 21 países, además de una cepa de laboratorio. La Tabla 2 resume dichas cepas por cada país y la Figura 2 muestra el filograma correspondiente a las 74 cepas analizadas.

Tabla 2: Cantidad de cepas analizadas por país.

País	Cantidad de Cepas
Alemania	1
Argentina	15
Canadá	1
Chile	3
Colombia	4
Costa Rica	4
Dinamarca	3
Estados Unidos	15
Francia	2
Guatemala	1
Hungría	1
Islandia	2
Japón	6
Corea del Sur	5
Noruega	1
Panamá	2
Perú	2
Sudáfrica	2
Suecia	1
Suiza	1
Tailandia	1
Cepa de laboratorio	1

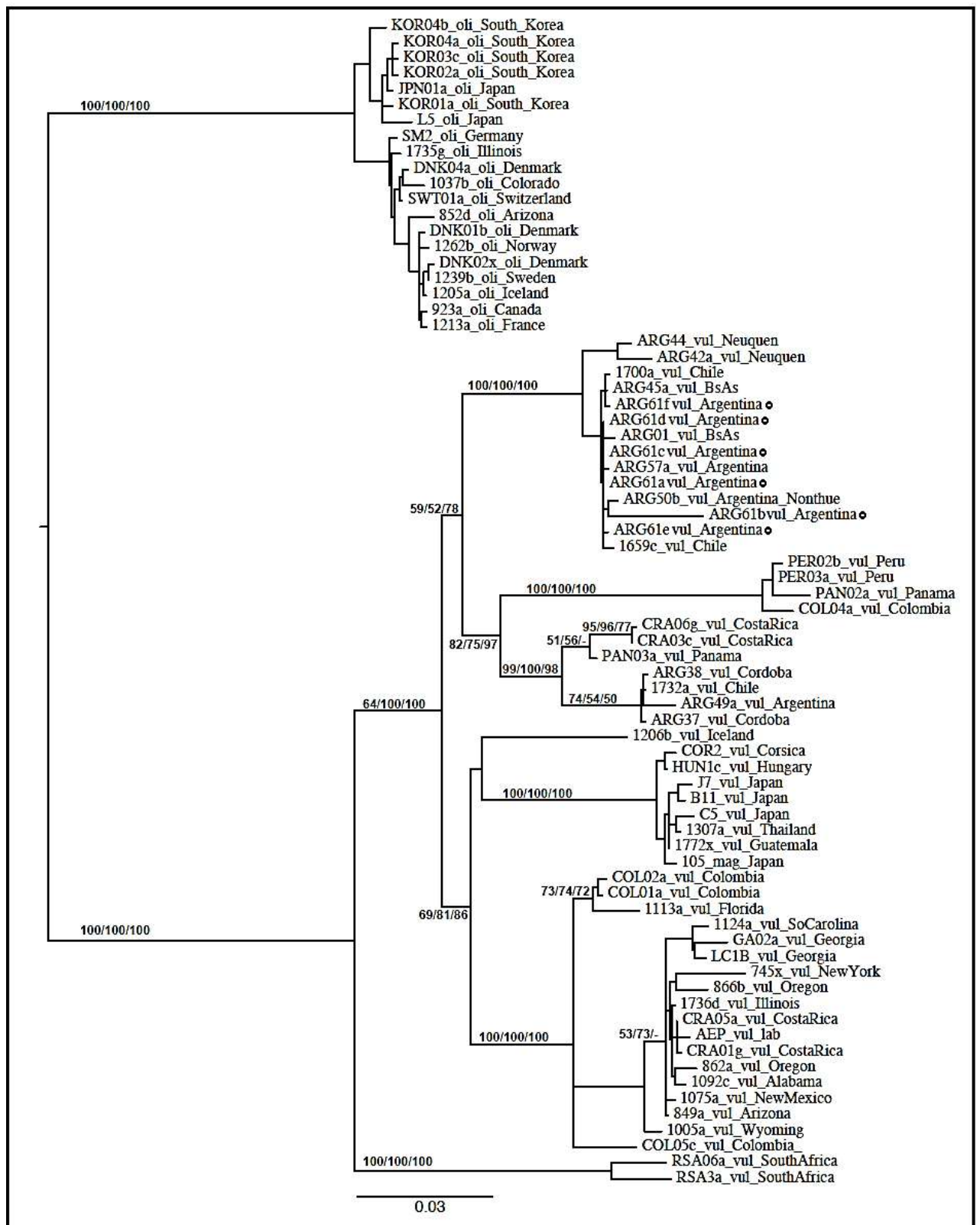


Figura 2: Filograma desenraizado de Máxima Verosimilitud de las 74 cepas de *Hydra* en base a la región ITS1-5.8S-ITS2 del rADN, el gen mitocondrial 16s de rADN y el gen mitocondrial CO1. Los números en los nodos corresponden a valores de Máxima Verosimilitud (ML), Máxima Parsimonia (MP) y Neighbor Joining (NJ). oli: oligactis, vul: vulgaris y mag: magnipapillata. Los puntos negros corresponden a especímenes recolectados para la presente tesis.

De la totalidad de las cepas analizadas, 53 correspondieron a la especie *H. vulgaris*, 20 a la especie *H. oligactis* y una de ellas, a *H. magnipapillata*. *H. vulgaris* fue identificada para 14 países, incluidos los cuatro continentes, mientras que *H. oligactis* fue identificada en 11 países pertenecientes a Europa, Asia y solo la parte norte del continente americano (en los estados de Illinois, Colorado y Arizona). *H. magnipapillata* solo fue hallada para Japón.

Del material enviado para esta tesis, los seis especímenes que lograron recuperarse y analizarse fueron identificados como *H. vulgaris*, incluyendo aquellos tres ejemplares que morfológicamente se reconocieron como *H. vulgaris pedunculata* (Deserti, Zamponi & Escalante, 2011). Por lo tanto, dicha característica anatómica (presencia de pedúnculo) no se manifestó al nivel del presente análisis.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos muestran varios puntos que pueden ser analizados por separado.

En principio, puede observarse en el árbol de la Figura 2, que el grupo de las *oligactis* forman un clado bien definido. Estas especies, solo reportadas para Europa, Asia y Norteamérica muestran una clara diferenciación con el grupo hermano de las *vulgaris*, que se agrupan por debajo y cuya aparición resulta posterior.

La teoría de divergencia de los grupos ya ha sido corroborada por Martínez *et al.*, (2010), además de corroborar que *oligactis* (junto con *braueri*) son grupos restringidos a Europa, Asia y Norteamérica (al igual que parte de lo aquí observado). Esta restricción estaría relacionada con el surgimiento del grupo antes de la separación de los continentes y una imposibilidad posterior para vencer barreras térmicas de zonas ecuatoriales, por ausencia de proteínas específicas (Bosch *et al.*, 1988; Gellner *et al.*, 1992; Brennecke *et al.*, 1998; Jankowski *et al.*, 2008).

La teoría de divergencia también muestra que el grupo *vulgaris* es el último en aparecer (Figura 1) (Martínez *et al.*, 2010), además de ser el más complejo y diverso de todos (Schwentner & Bosch, 2015). Este grupo resulta ser muy variable y muchas veces, en base a las descripciones morfológicas, resulta muy difícil distinguir las especies de la original *H. vulgaris*, que es la que tiene prioridad taxonómica. Esta enorme variabilidad está claramente representada en el árbol de la Figura 2 donde pueden observarse diversos clados que corresponden a diferentes áreas geográficas: Europa, Asia, Sudáfrica, América del Norte y América del Sur. Aquí se presentan dos especies, la cosmopolita *H. vulgaris* e *H. magnipapillata*; esta última solo fue identificada para Japón, mientras que *H. vulgaris*, estuvo presente en 14 países.

En relación al material específico de esta tesis, podemos ver que todos los especímenes analizados fueron identificados como *H. vulgaris*. No fue detectada ninguna variación específica que pudiera corresponderse con la variación morfológica presente en la subespecie *H. vulgaris pedunculata* (Deserti, Zamponi & Escalante, 2011). Esta variación, que es la presencia de un conspicuo y translúcido pedúnculo cercano al disco pedal, podría entonces responder a una manifestación únicamente fenotípica ante alguna situación, por el momento, desconocida.

En Martínez *et al.* (2010) y Schwentner & Bosch (2015) trabajaron con cepas provenientes de Chile y Argentina (secuencias disponibles en GenBank) que presentaron claras

diferencias en cuanto a sus marcadores mitocondriales y nucleares, a pesar de ocurrir simpátricamente. Incluso, Schwentner & Bosch (2015) proponen que quizá esta diferencia pueda estar señalando que en Argentina, una de ellas sea *H. vulgaris pedunculata* y que en tal caso (previos análisis pertinentes), dicha subespecie debería subir de nivel y ser declarada como una nueva especie.

Con los resultados aquí obtenidos, se descarta por completo esta posibilidad. Ambos trabajos antes mencionados utilizan las cepas que, para el caso de Argentina, provienen de las provincias de Neuquén, Buenos Aires y Córdoba. Para el caso de Chile, provienen de Punta Arenas, región Aisén y área metropolitana de Santiago de Chile. En ambos casos, la extensión del territorio es más que considerable y los especímenes analizados solo representan la zona media (central) y sur de ambos países. Nuestras muestras, si bien no aportan conocimiento sobre una nueva región geográfica, si lo hacen desde el punto de las variaciones morfológicas intraespecíficas. Estas variaciones pueden haber sido (incluso seguir siéndolo) una de las causantes de la mala interpretación en el nombramiento de nuevas especies.

Algunas otras variaciones o subespecies han sido reportadas en la bibliografía, como lo son *H. vulgaris* var. *aurantiaca* (Ehrenberg, 1838) e *H. attenuata thomseni* para Uruguay (Cordero, 1941a). En la base de datos WoRMS, para el primer caso, la subespecie descrita para Alemania y cuya característica distintiva es la de poseer embriones adhesivos, ha sido sinonimizada como *H. vulgaris* (Schuchert, 2010). Para el segundo caso en cambio, la subespecie ha sido promovida al rango de especie, quedando finalmente como *H. thomseni* (Cordero, 1941a). La diferencia con su taxón inmediato es el menor tamaño de sus nematocistos, la uniformidad del diámetro de la columna y las espinas de la ooteca.

Con respecto a los diferentes clados aquí observados para el grupo *vulgaris*, el primero de ellos agrupa las especies de las regiones sur de Argentina y Chile: Arroyo Ventana, Arroyo San Claudio en Pringles, las aquí recolectadas para Nahuel Rucá, Neuquén y Nonthue para nuestro país. Para Chile, los especímenes provienen de Punta Arenas y región Aysén. Incluso puede observarse, que las especies argentinas patagónicas se diferencian de las restantes en la parte superior.

El siguiente clado agrupa: por un lado los ejemplares provenientes de Perú, Panamá y Colombia y por otro lado ejemplares de regiones centrales de Argentina y Chile (Córdoba y la región metropolitana de Santiago de Chile, respectivamente), junto con especímenes de Costa Rica y Panamá.

Martínez *et al.* (2010) muestran que las especies patagónicas resultan basales, sugiriendo incluso que las especies de Costa Rica podrían haberse originado por dispersión de

las sudamericanas, algo que en nuestros resultados todavía se sostiene. Los tiempos de divergencia estimados por dichos autores concuerdan con el surgimiento del Istmo de Panamá. Si esto es así, se esperaría que especies más al norte de Sudamérica mantengan una relación aún más estrecha con las especies costarricenses, reflejando tiempos de divergencia más cercanos a la formación del Istmo de Panamá.

El agregado en este análisis de nuevos especímenes panameños, refuerza la teoría antes mencionada, ya que, como podemos ver, una de las nuevas cepas incluidas comparte clado con Argentina, Chile y Costa Rica, mientras que la otra lo hace con su clado hermano, junto con cepas de Perú y Colombia.

Como podemos ver nuestros especímenes mantienen una relación bien estrecha con aquellas que también provienen de la provincia de Buenos Aires (arroyo Ventana y arroyo San Claudio), estando separadas, solo por diferencias menores, de aquellas cepas patagónicas, pero ya ocupando clados diferentes con respecto a las de Córdoba.

Por último, las especies sudafricanas se agrupan como un clado bien diferenciado en la parte inferior del árbol. Las muestras de Guatemala aparecen incluidas con las provenientes de Europa y Asia, mientras que algunas cepas de Colombia y Costa Rica aparecen agrupadas junto con las norteamericanas.

Los resultados sugieren la posibilidad de una doble dispersión direccional, desde el norte y el sur, hacia las zonas centrales más cálidas. Esto provocaría que especies con orígenes en regiones geográficas opuestas ocurran simpátricamente, hecho que se visualiza en los diferentes clados que ocupan algunas cepas de Colombia, Costa Rica y Panamá. La excepción a este escenario lo define Guatemala, cuyos especímenes se encuentran agrupados con los provenientes de parte de Europa y Asia (incluyendo en dicho clado a *H. magnipapillata* de Japón).

Como puede observarse, el grupo *vulgaris* presenta una variabilidad de clados muy alta. Esta diversidad parece estar relacionada a su procedencia geográfica y la variabilidad de ambientes que esto suscita. Resulta difícil muchas veces dar prioridad a ciertas diferencias anatómicas, hecho que a lo largo de la historia del género ha provocado el nombramiento de nuevas especies basada en aspectos algo triviales de los organismos. Ante la plasticidad presente en este género, resulta casi imperioso en todos los casos, el análisis a niveles más profundos (secuenciación y comparación de cepas). En primer lugar esto evitaría incurrir en errores taxonómicos que puedan ser arrastrados en estudios posteriores y en segundo lugar, aporta información sobre los orígenes del género y su posterior especiación.

CAPÍTULO IV: BIOMETRÍA Y ESTADÍSTICA DE LOS CNIDOCISTOS

INTRODUCCIÓN

Los cnidocistos son la condición *sine qua non* del phylum *Cnidaria*; todos los cnidarios y solo ellos los producen (Fautin, 2009). Son cápsulas secretadas intracelularmente y comprenden tres tipos básicos: los nematocistos presentes en todos los miembros del phylum, y los espirocistos y pticocistos restringidos a la clase *Anthozoa* (Mariscal, 1974, 1984; Fautin & Mariscal, 1991). En la sistemática de los cnidarios se ha considerado a los distintos tipos de cnidocistos como un carácter taxonómico importante y se ha definido al cnidoma o cnidae, como el inventario de todos los cnidocistos presentes en una especie (Weill, 1934a).

Básicamente, un nematocisto consiste en una cápsula de doble pared con un filamento hueco fuertemente enrollado e invaginado en su interior, que se evierte de manera explosiva ante un determinado estímulo. Dependiendo del tipo, las cápsulas sin descargar pueden ser esféricas o más o menos elongadas. El filamento descargado varía en longitud, diámetro y estructura. Comúnmente posee un arreglo de espinas, las cuales pueden ser de diferente tipo dentro del mismo filamento, cuyo tamaño y disposición son importantes en la identificación del nematocisto. Algunos nematocistos poseen un filamento con una región basal engrosada denominada dardo (“shaft”), que puede poseer espinas considerablemente diferentes en tamaño y configuración al resto de la estructura (Mariscal, 1974).

En la clase Hydrozoa, para la recepción del estímulo, cada nematocisto está dotado de una estructura llamada aparato cnidocil que está formada por un largo flagelo modificado, rodeado por un conjunto de estereocilias de longitud y tamaños variables. Durante la descarga, el filamento es evertido a través de un opérculo (Westfall, 1966a, b, 1970; Wood, 1988).

Para el caso particular del género *Hydra* existen cuatro tipos de nematocistos (Figura 1). Los primeros nombres fueron dados por Schulze (1917) pero la terminología moderna y más usada para este género, se le atribuye a Weill (1934a, b). Los términos equivalentes para cada tipo son: stenotele (Weill) = penetrante (Schulze), desmoneme = volvente, atrico isorriza = pequeño glutinante y holotrico isorriza = glutinante mayor.

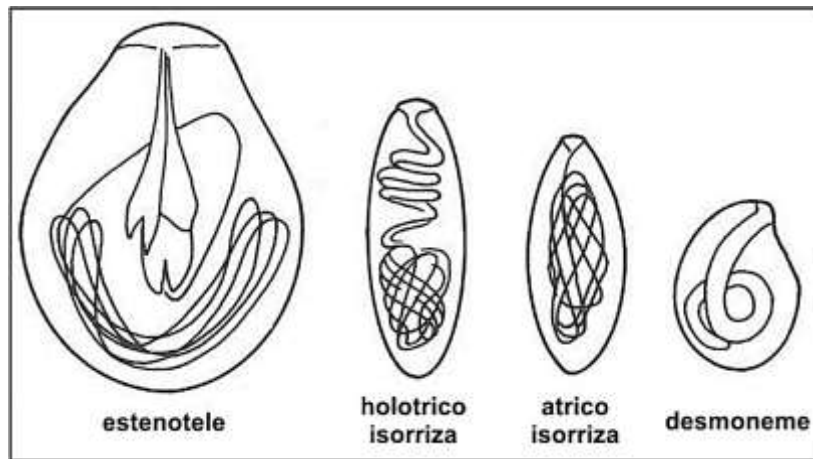


Figura 1: Cuatro tipos de nematocistos en *Hydra* (modificado de Campbell, 1983).

Los estenoteles y desmonemes están implicados en la alimentación. Los estenoteles atraviesan las presas a modo de arpón (incluso a aquellas con fuertes exoesqueletos), inyectándole cierta cantidad de veneno. Por otro lado, los desmonemes que no contienen veneno, evierten su filamento que se adhiere fuertemente a la superficie de la presa (Burnett, 1973).

En una respuesta normal de alimentación, la descarga de ambos nematocistos se produce ante una combinación de estímulos químicos y mecánicos (Burnett, 1973; Ewer, 1947).

Los atricos isorrizo están implicados en los movimientos para “caminar” de los pólipos, utilizando los tentáculos y el disco pedal. Este tipo de nematocisto, es el encargado de adherir los tentáculos al sustrato en cada “paso” (Ewer, 1947; Toppe, 1910).

Por último, los holotricos isorrizo se descargan ante la presencia de organismos que normalmente no son ingeridos por las hidras (ni provocan un estímulo alimenticio), como por ejemplo *Paramecium*. Esto indicaría que la función de los holotricos isorrizo podría ser una de las primeras reacciones de defensa en la naturaleza (Burnett, 1973).

Los cnidocistos se encuentran en el ectodermo y para el caso de *Hydra*, el 95% de ellos están concentrados en los tentáculos, creciendo en número desde la base hacia las puntas (Bode & Flick, 1976). Están organizados en paquetes dentro de las células epiteliales ectodérmicas, con el cnidocil sobresaliendo hacia la superficie circundante (Slautterback, 1967). De diez a veinte cnidocistos están montados en una única célula epitelial, formando lo que se conoce como “baterías” (Gelei, 1927; Kanaev, 1969). Cada batería se encuentra formada al menos por un estenotele rodeado de varios desmonemes y atricos isorrizo (Ewer, 1947; Burnett *et al.*, 1960).

Los cnidocistos han adquirido distinto grado de relevancia. En Hydrozoa han sido examinados en detalle y muchos estudios enfatizan su utilidad en la taxonomía (Itô & Inoue, 1962; Östman, 1979a, 1979b, 1982, 1983, 1987, 1988; Bouillon, 1985; Watson, 1985;

Cornelius & Östman, 1987). Sin embargo son pocos los estudios que indagan en la naturaleza estadística de los mismos.

A pesar de esto, algunos estudios estadísticos del cnidoma se han llevado a cabo en otros grupos de cnidarios (Allcock *et al.*, 1998; Watts *et al.*, 2000; Acuña *et al.*, 2003, 2004, 2007; Ardelean & Fautin, 2004; Acuña & Garese, 2009).

Para ciertas especies de la clase *Anthozoa*, Garese (2013) realiza un exhaustivo estudio estadístico con una cantidad significativa de datos, aplicando Modelos Lineales Generalizados (MLG) que se independizan de los supuestos de normalidad, sin perder información y potencia, como en los test no paramétricos.

Deserti & Zamponi (2012) y Deserti *et al.* (2010) inician una aproximación biométrica y estadística en el estudio del cnidoma de tres especies de *Hydra* y reportan morfotipos distintos de un mismo cnidocisto, para una misma especie de ambientes distintos.

En este capítulo se pretende indagar en la naturaleza biométrica y estadística del cnidoma de *Hydra*, ampliando los conocimientos previos y sumando una cantidad de datos mucho mayor.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo de cnidocistos, descripción y tipificación

Se midieron, para cada pólipo, el *ancho* y *largo* de 30 cápsulas intactas (con el filamento en el interior, sin disparar, a fin de evitar la distorsión de la cápsula por efecto de la evaginación) de cada tipo de nematocisto. La elección fue al azar y con dichas mediciones se construyó la matriz de datos para los análisis estadísticos. Las mediciones se realizaron mediante *squash* utilizando un microscopio óptico Zeiss Axiolab con una magnificación de 1000X (objetivo de inmersión). En total se midieron 17.378 cápsulas (promedio ~ 30 cápsulas x 4 tipos x 162 individuos x 3 especies). En algunos casos en los que fue imposible medir 30 cápsulas, dada la baja abundancia de algunos tipos, se midieron la totalidad de los cnidocistos encontrados.

Para cada especie se detallaron los parámetros estadísticos descriptivos de cada tipo de cnidocisto, tales como el *largo* y *ancho* promedio y el mínimo y máximo de ambas medidas (Tablas 2, 5, 6, 8 y 9 del Capítulo II Biodiversidad). Cada tipo de cnidocisto fue fotografiado con cámara digital y las formas de las cápsulas y disposición del filamento (descargados y sin descargar) fue analizados en detalle. Estas descripciones fueron comparadas con los datos bibliográficos para las diferentes especies.

Abundancia relativa

Para la estimación de la abundancia relativa, en los *squash* realizados para cada pólipo, se enfocaron cuatro campos ópticos diferentes del preparado tomados al azar, contándose en cada campo, los distintos tipos de cnidocistos que fueron perfectamente individualizables.

Con los datos obtenidos se calcularon las abundancias relativas promedio para cada especie.

Análisis estadísticos

Todas las exploraciones estadísticas fueron realizadas con el software R (www.r-project.com) de descarga gratuita en la red.

Para realizar los diversos análisis solamente se utilizó la variable *largo* por cada cnidocisto de cada tipo (variable dependiente o explicada). Esta variable fue agrupada bajo tres factores distintos:

1. **Factor “Individuos”**: los valores de la variable *largo* fueron comparados entre individuos de la misma especie, para detectar una posible variación intraespecífica.
2. **Factor “Estación”**: los valores de la variable *largo* fueron comparados entre estaciones, de la misma laguna y especie, para detectar posibles variaciones entre las diferentes estaciones climáticas.
3. **Factor “Laguna”**: los valores de la variable *largo* de una misma especie, fueron agrupados por lagunas, para detectar posibles variaciones intraespecíficas por ambiente.
4. **Factor “Especie”**: los valores de la variable *largo* fueron agrupados en su totalidad por especies con el propósito de detectar variaciones inter específicas.

Para estos análisis se utilizaron los siguientes paquetes de datos:

- *H. vulgaris* e *H. vulgaris pedunculata* (*) de La Brava
- *H. vulgaris* e *H. vulgaris pedunculata* de Los Padres
- *H. vulgaris* e *H. vulgaris pedunculata* de Nahuel Rucá
- *H. viridissima* (*)

(*) La especie *H. viridissima* fue excluida de los análisis bajo el factor estación y laguna, dado el bajo número de individuos en cada agrupación y la consiguiente posibilidad de que los resultados arrojados no sean fiables. Sin embargo se la incluye para las comparaciones de las tallas entre individuos y entre especies.

Bajo el mismo criterio se excluye a *H. vulgaris pedunculata* proveniente de La Brava bajo el factor estación (ya que aparece solo en el invierno 2013).

Con los datos obtenidos se testeó la normalidad de las tallas de las cápsulas mediante un test de Shapiro-Wilks ($\alpha = 0.05$) sobre los residuos de un Modelo Lineal con distribución normal.

Las comparaciones de las tallas agrupadas bajo los cuatro factores antes mencionados se realizaron mediante un ANOVA, en aquellos casos donde la normalidad fue aceptada.

Para los casos de rechazo, se aplicaron Modelos Lineales Generalizados (MLG) con distribución gamma para los errores. La forma de dicho modelo fue:

$$g(\text{longitud}) = \beta_0 + \beta_1 \text{ factor} + \epsilon$$

Además, para los MLG se aplicaron test de t para comparar los coeficientes del modelo (β_1).

El ajuste de dichos modelos fue evaluado gráficamente mediante Q-Q Plots de los residuos *vs* los cuantiles teóricos del modelo y diagramas de dispersión del desvío de los residuos *vs* los valores ajustados del modelo.

Coefficiente de Correlación de Spearman (ρ): fueron realizados para comparar el tipo de relación existente entre la talla de cada tipo de cnidocistos y el tamaño de la columna del pólip.

RESULTADOS

Muestreo de cnidocistos, descripción y tipificación

En las figuras 2, 3 y 4 se representa el cnidoma de las especies *H. viridissima*, *H. vulgaris* e *H. vulgaris pedunculata*.

En las Tablas 2 a 9 del Capítulo II (Biodiversidad) se describen estadísticamente las tallas de cada cnidocisto de cada especie para cada laguna. La figura 5 muestra los diferentes morfotipos de holotricos isorrizas hallados en cada especie.

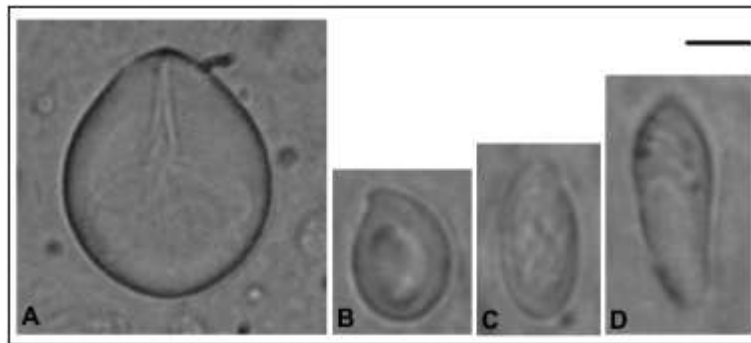


Figura 2: Cnidoma completo de *Hydra viridissima*. A: estenotele, B: desmoneme, C: atrico isoriza y D: holotrico isoriza. Barra: 3 μm .

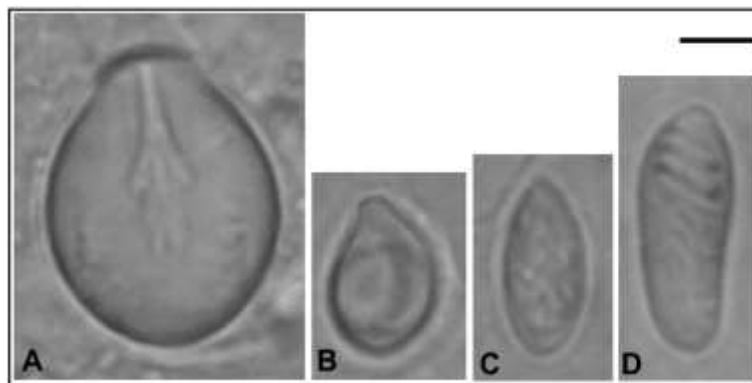


Figura 3: Cnidoma completo de *Hydra vulgaris pedunculata*. A: estenotele, B: desmoneme, C: atrico isoriza y D: holotrico isoriza. Barra: 2.7 μm .

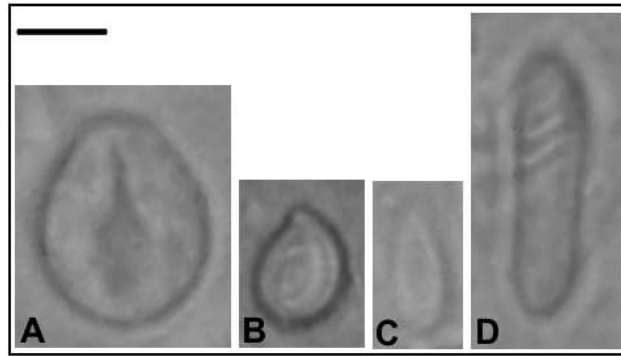


Figura 4: Cnidoma completo de *Hydra vulgaris*. A: estenotele, B: desmoneme, C: atrico isorriza y D: holotrico isorriza. Barra: 2.85 μm .

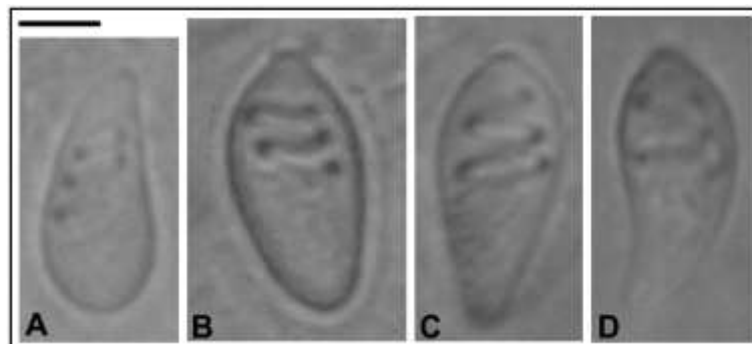


Figura 5: diferentes morfotipos de holotricos isorriza. A: *Hydra viridissima*, B: *Hydra vulgaris pedunculata*, C y D: *Hydra vulgaris*. Barra: 2.45 μm .

Abundancias relativas

En las tres especies el tipo más abundante fue el desmoneme, seguido de los estenoteles, atricos isorriza y por último, holotricos isorrizas. La figura 6 muestra gráficamente los resultados obtenidos para cada especie.

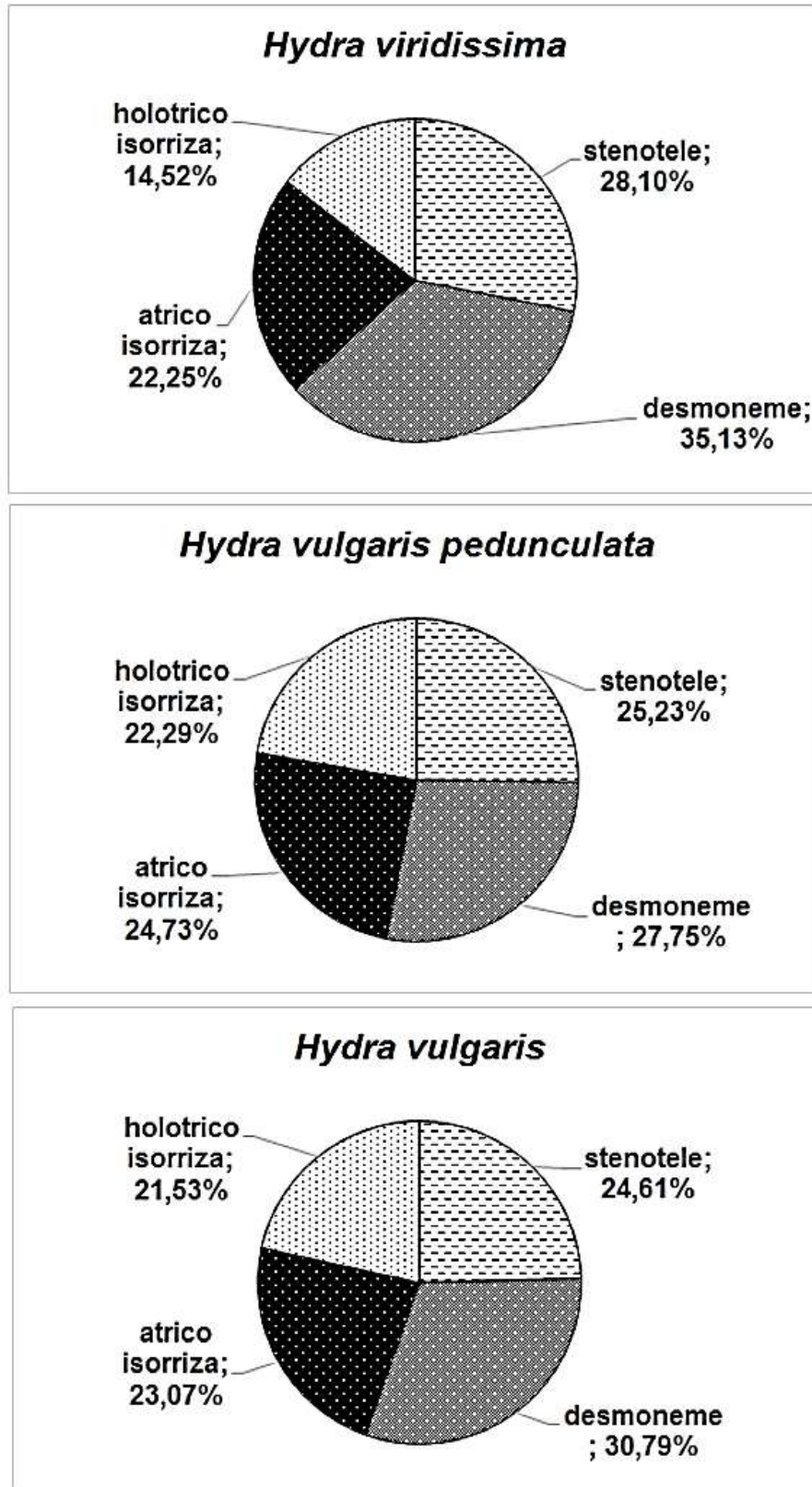


Figura 6: Abundancias relativas de los cuatro tipos de cnidocistos para las tres especies estudiadas.

Análisis estadísticos

Normalidad: para la variable *largo* de los cuatro tipos de cnidocistos en cada especie, la normalidad ($\alpha = 0.05$) fue rechazada (valores p): *H. viridissima*: atrico isorriza = 6.83×10^{-10} , desmoneme = 4.8×10^{-9} , holotrico isorriza = 0.0002, stenotele = 1.7×10^{-7} ; *H. vulgaris pedunculata*: atrico isorriza = 2.2×10^{-16} , desmoneme = 2.3×10^{-16} , holotrico isorriza = 2.1×10^{-14} , stenotele = 5.5×10^{-13} ; *H. vulgaris*: atrico isorriza = 2×10^{-8} , desmoneme = 2×10^{-16} , holotrico isorriza = 3.4×10^{-16} , stenotele = 2.2×10^{-10}).

El análisis de la normalidad ($\alpha = 0.05$) de los residuos de un Modelo Lineal con distribución normal, arrojó diferentes resultados. Por un lado, para *H. viridissima* la normalidad fue rechazada en todos los casos (valores p) (atrico isorriza = 0.0004, desmoneme = 1.2×10^{-6} , holotrico isorriza = 0.0002, stenotele = 0.001). Para *H. vulgaris pedunculata*, sin embargo, el largo del desmoneme mostró una distribución normal (valor p = 0.06) mientras que para los tres restantes, fue rechazada (atrico isorriza = 0.004, holotrico isorriza = 2.2×10^{-16} , stenotele = 0.006). Por último, para *H. vulgaris*, también en todos los casos la normalidad fue rechazada, siendo los valores p los siguientes: atrico isorriza = 2×10^{-10} , desmoneme = 2.3×10^{-16} , holotrico isorriza = 1.4×10^{-6} , stenotele 2.4×10^{-15} .

1. Análisis bajo el factor “individuo”

Se evaluó si existían diferencias significativas entre individuos mediante un test de t para los coeficientes de cada modelo.

Para la especie *H. viridissima*, un 25% de los individuos presentaron diferencias en las tallas de sus atricos y holotricos isorrizas y desmonemes y el 100% de los individuos presentaron diferencias en las tallas de sus estenoteles.

Para la subespecie *H. vulgaris pedunculata*, un 47,6% de los individuos presentaron diferencias en las tallas de sus estenoteles, un 71,4% para los atricos isorrizas, un 81% para los desmonemes y un 95,2% para los holotricos isorrizas.

Por último, para *H. vulgaris*, un 11,8% de los individuos presentaron diferencias en las tallas de sus desmonemes, un 35,5% para los estenoteles, un 75,5% para los holotricos isorriza y un 76,3% para los atricos isorrizas.

2. Análisis bajo el factor “estación”

Los individuos de *H. vulgaris* recolectados en La Brava fueron hallados en el invierno 2013 y otoño 2014. Comparando ambas estaciones, los desmonemes fueron los únicos que presentaron diferencias arrojando un valor $p < 0.01$. Para el caso de la misma especie recolectada en Los Padres, los atricos y holotricos isorriza y estenoteles presentaron diferencias entre las estaciones primavera 2014 y verano 2015, con valores $p < 0.01$, < 0.05 y < 0.001 , respectivamente. La subespecie *H. vulgaris pedunculata*, hallada también en Los Padres, fue recolectada en la primavera 2014 y veranos 2014 y 2015. Los atricos y holotricos isorrizas presentaron diferencias entre las estaciones primavera 2014-verano 2014 ($p < 0.01$ y < 0.001 , respectivamente) y los desmonemes presentaron diferencias en todas las estaciones (con valores $p < 0.001$). Para las especies halladas en Nahuel Rucá, *H. vulgaris pedunculata* fue hallada en tres estaciones, primavera 2013 y 2014 y verano 2014. Los atricos isorriza y desmonemes, presentaron diferencias en todas las estaciones (valores $p < 0.001$ en todos los casos) y los stenoteles, solo entre el par primavera 2013-primavera 2014 ($p < 0.001$). Por último, también en Nahuel Rucá, la especie *H. vulgaris* fue recolectada en las 8 estaciones muestreadas. La Tabla 1 resume aquellas estaciones que presentaron diferencias en las tallas de sus cnidocistos.

Tabla 1: Diferencias en las tallas de los cuatro tipos de cnidocistos para *Hydra vulgaris* de Nahuel Rucá. La estación invierno 14 no aparece porque es la que se utilizó para realizar las comparaciones.

estaciones	atrico isorriza	desmoneme	holotrico isorriza	stenotele
Invierno 2013	-	-	-	-
Otoño 2013	***	**	**	***
Otoño 2014	***	-	***	-
Primavera 2013	-	-	***	-
Primavera 2014	***	-	*	-
Verano 2014	***	-	***	-
Verano 2015	-	-	-	**

Niveles de significación: “***” 0.001, “**” 0.01 y “*” 0.05

3. Análisis bajo el factor “laguna”

Para *H. vulgaris pedunculata* todos los tipos de cnidocistos mostraron diferencias significativas entre las tres lagunas. Los valores p del test de t para los coeficientes (β_1) de los modelos en todos los casos fueron < 0.001 , a excepción del desmoneme que solo registró variación entre La Brava y Los Padres (valor $p = 0.29$).

Para *H. vulgaris*, todos los cnidocistos mostraron diferencias entre las tres lagunas. En todos los casos, los valores p arrojados por el test de t para los coeficientes (β_1) de los diferentes modelos fueron < 0.001 .

Las figuras 7 y 8 muestran, para las especies *H. vulgaris* e *H. vulgaris pedunculata* respectivamente, el ajuste de cada modelos para cada tipo de cnidocisto, mediante las gráficas de Q-Q Plots de los residuos vs los cuantiles teóricos del modelo y diagramas de dispersión del desvío de los residuos vs los valores ajustados del modelo.

4. Análisis bajo el factor “especie”

En la Tabla 2 se listan los valores p del test de t para los coeficientes (β_1) de cada modelo para la comparación de cada par de especies.

Tabla 2: Variaciones entre especies. Valores p del test de t para los coeficientes (β_1) de los MLG para cada tipo de cnidocisto. La especie *Hydra vulgaris pedunculata* no se muestra ya que es la que se toma para realizar las comparaciones.

especies	atrico isorriza	desmoneme	Holotrico isorriza	stenotele
<i>Hydra viridissima</i>	***	***	***	***
<i>Hydra vulgaris</i>	-	-	***	-

Niveles de significación: “***” 0.001, “**” 0.01, “*” 0.05

La Figura 9 muestra el ajuste de los modelos, para cada tipo de cnidocisto, mediante las gráficas de Q-Q Plots de los residuos vs los cuantiles teóricos del modelo y diagramas de dispersión del desvío de los residuos vs los valores ajustados del modelo.

Los intervalos de confianza para cada modelo son: *H. vulgaris pedunculata* vs *H. viridissima*: atrico isorriza [0.08-0.09], desmoneme [0.08 – 0.01], holotrico isorriza [0.003 – 0.008] y estenotele [0.06 – 0.07]. Para *H. vulgaris pedunculata* vs *H. vulgaris*: holotrico isorriza [(-0.003) – 0.002].

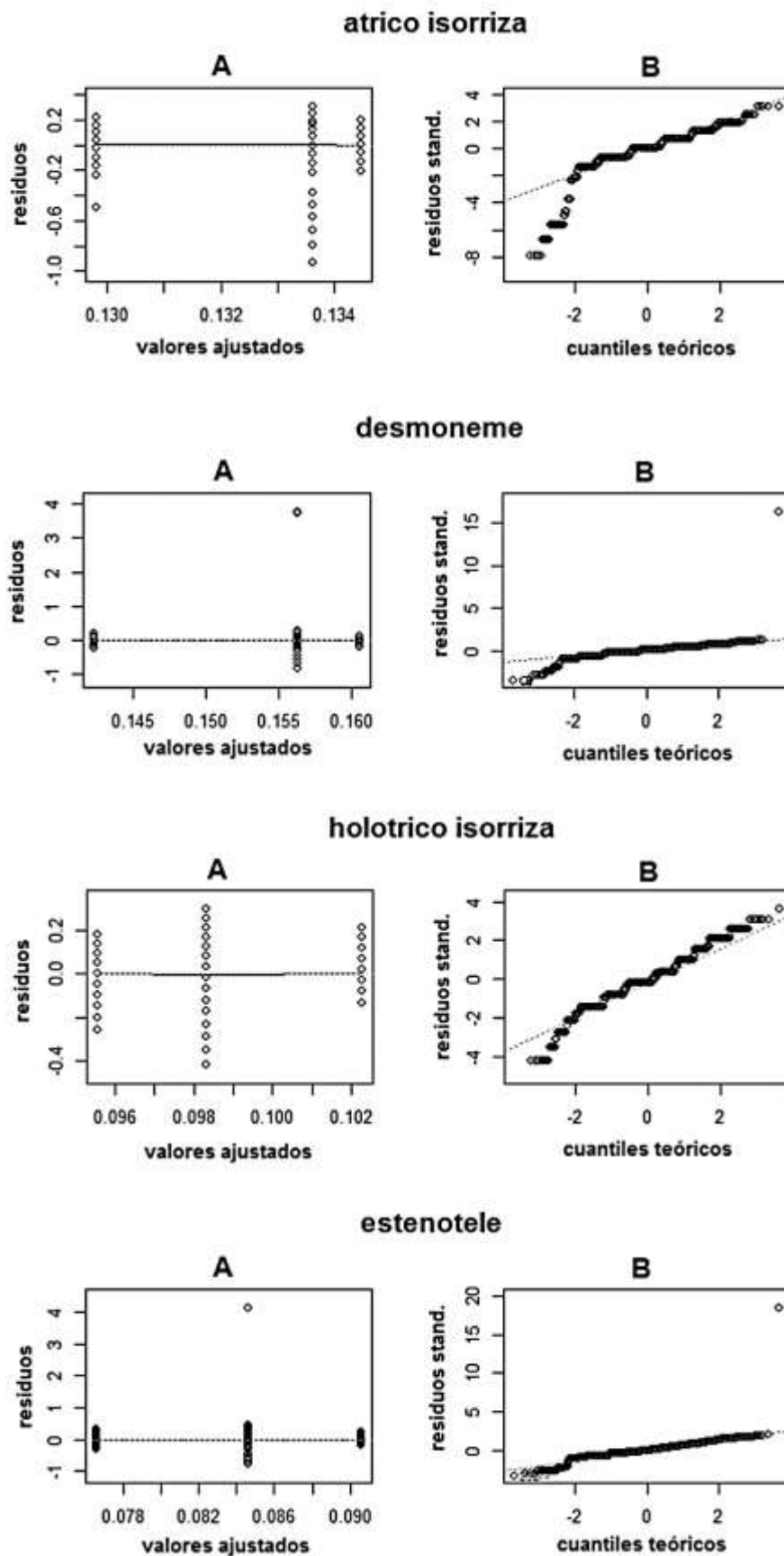


Figura 7: Gráficas de ajuste del MLG para *Hydra vulgaris*. A: diagrama de dispersión, B: Q-Q Plots.

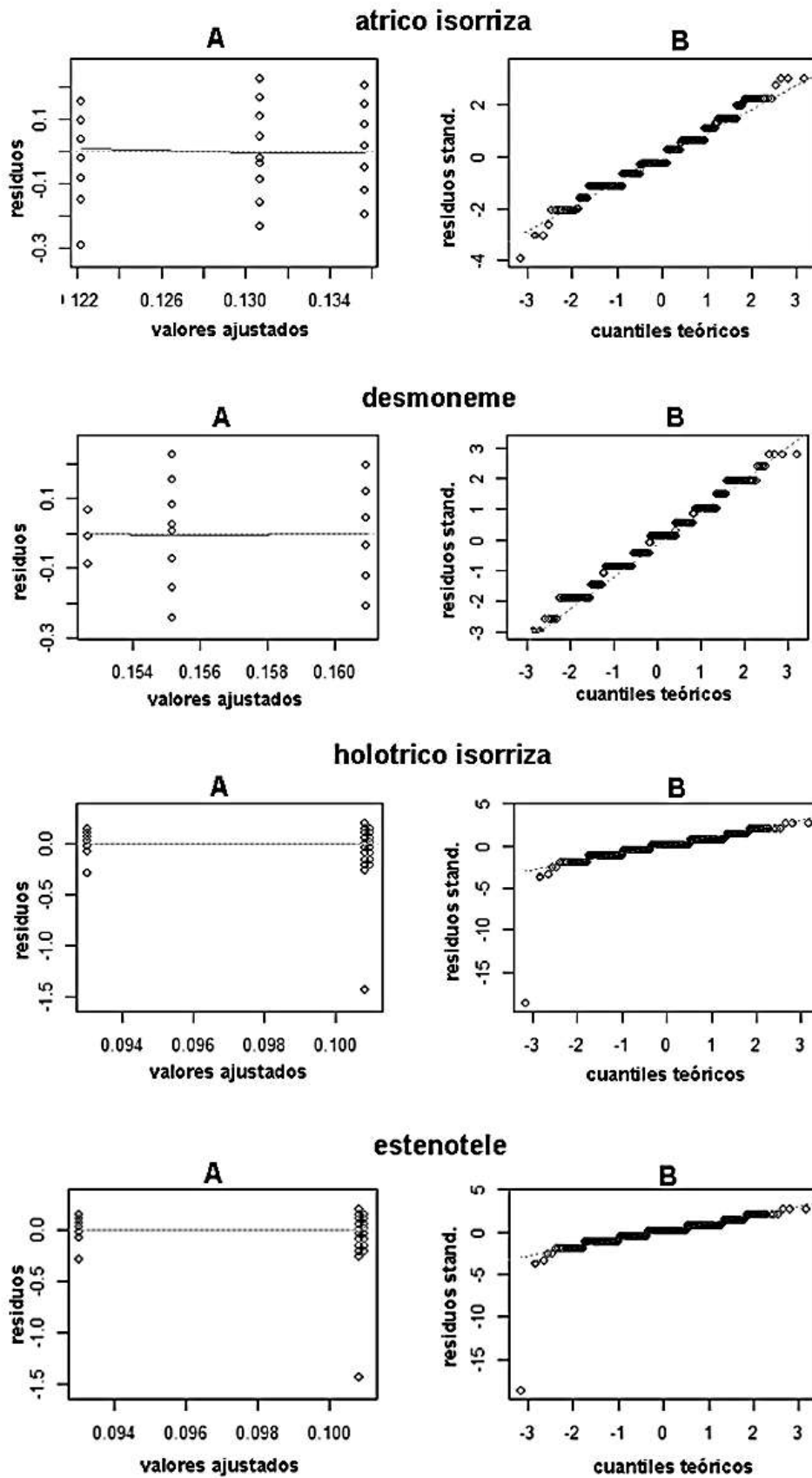


Figura 8: Gráficas de ajuste del MLG para *Hydra vulgaris pedunculata*. A: diagrama de dispersión, B: Q-Q Plots.

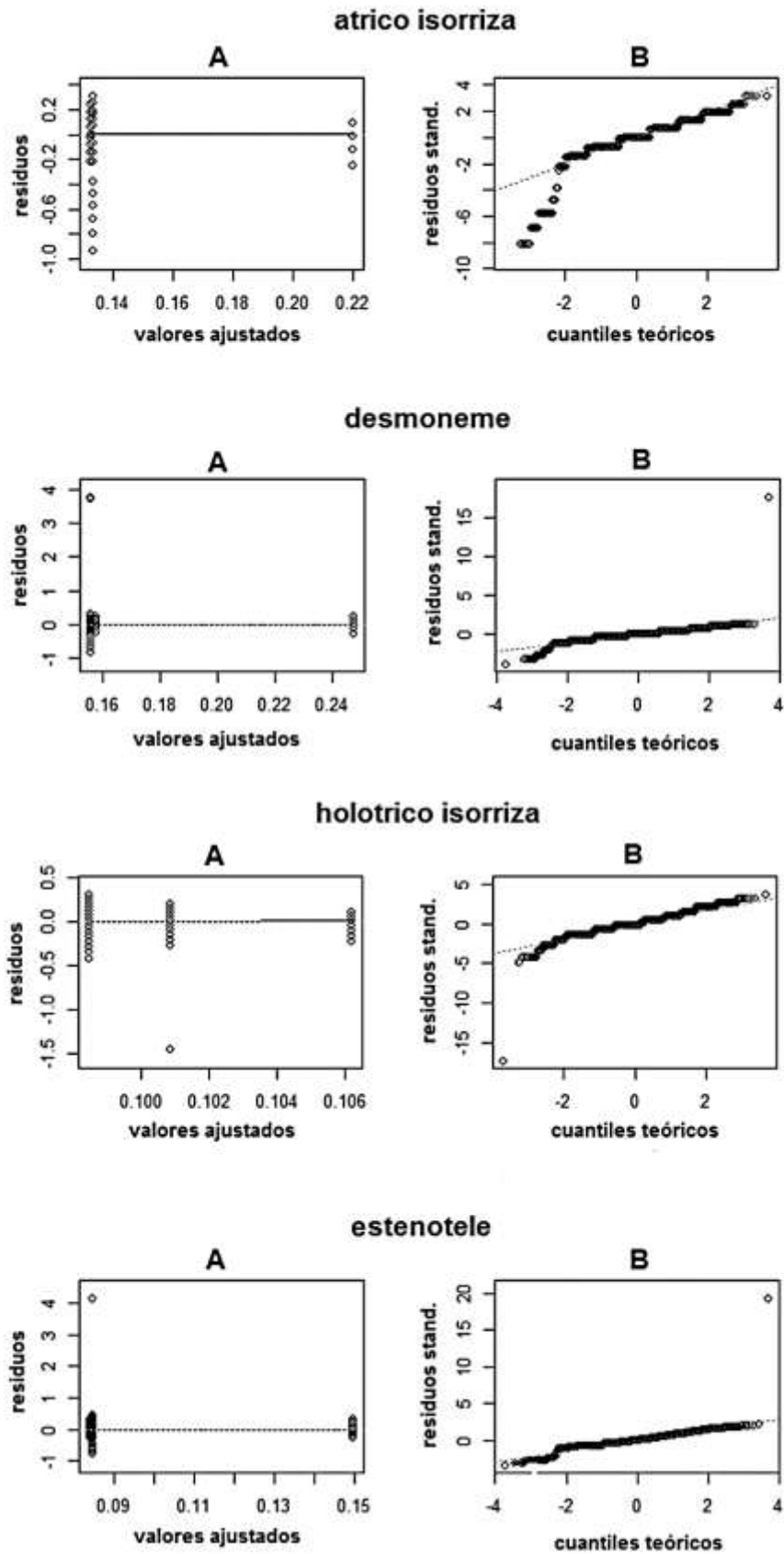


Figura 9: Gráficas de ajuste del MLG utilizado para comparar entre especies. A: diagrama de dispersión, B: Q-Q Plots.

Coefficiente de Correlación de Spearman (rho): La Tabla 3 muestra los valores p arrojados por el test y el coeficiente rho para el caso donde las correlaciones fueron positivas.

Tabla 3: valores p y rho del test de correlación de Spearman entre la talla de los cnidocistos y la variable *largo* columna para las especies *Hydra viridissima* (vir), *Hydra vulgaris pedunculata* (ped) e *Hydra vulgaris* (vul).

Cnidocisto		especies		
		<i>H. viridissima</i>	<i>H. vulgaris pedunculata</i>	<i>H. vulgaris</i>
atrico isorriza	valor-p	0.02	0.06*	0.01
	rho	0.23		-0.04
desmoneme	valor-p	0.38*	< 0.005	< 0.005
	rho		-0.13	-0.09
holotrico isorriza	valor-p	0.59*	< 0.005	0.19*
	rho		-0.14	
estenotele	valor-p	< 0.005	0.04	0.41
	rho	-0.34	-0.01	

Los valores con (*) indican una correlación rechazada

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

El valor taxonómico de las mediciones del cnidoma ha sido ya muy discutido y hoy se asume que para poder trabajar con sus tallas en cuestiones de esta índole, se requiere como primer medida, conocer la distribución estadística de los datos.

Las figuras 2, 3 y 4 constituyen los cnidomas de las especies *H. viridissima*, *H. vulgaris pedunculata* e *H. vulgaris*, respectivamente. Como puede verse, para cada especie además, se han registrado al menos dos morfotipos diferentes para el holotrico isorriza (Figura 5). Sin embargo, cabe destacar, que a pesar de variar en su forma (alejándose de la clásica forma de paramecio o suela de zapato), las medidas promedio de las mismas, no varían. Sobre todo, si tenemos en cuenta la medida *largo*, que es la habitualmente utilizada para los análisis estadísticos.

Deserti *et al.* (2010) reportan dos morfotipos distintos para *H. vulgaris* proveniente de Los Padres y Nahuel Rucá. En Nahuel Rucá describen el morfotipo I, de forma clásica y el II con forma de semilla. Este último morfotipo es semejante al registrado para *H. vulgaris pedunculata* de Los Padres e *H. vulgaris* de Nahuel Rucá (figura 5B y C, respectivamente).

Otros autores describen también más de un holotrico isorriza (Cordero, 1941a,b; Dioni, 1968; Hemmrich *et al.*, 2007; Wang *et al.*, 2009). En estos estudios se describen las formas y las tallas y se los incluye dentro del cnidoma de la especie. En el caso de las reportadas por Dioni (1968) para la hidra verde *H. plagiodesmica*, las formas son claramente diferentes a las aquí detalladas para *H. viridissima*.

Si bien no existe una teoría que explique la aparición de diferentes morfotipos, es probable que estas diferencias respondan a alteraciones durante la cnidogenesis, como respuesta a cambios fisiológicos. Esto podría explicarse si consideramos que las cápsulas, una vez formadas, no presentan cierto grado de plasticidad que pudiera responder a presiones dentro de los tejidos o incluso durante su migración.

Es así que por ejemplo, para la misma especie recolectada en Nahuel Ruca por Deserti *et al.* (2010), solo aparecen dos morfotipos, mientras que en este estudio, se suma un tercero adicional.

Teniendo en cuenta que la estructura de los holotricos isorrizas resulta en muchos casos de importancia para el estatus taxonómico de una especie (por ejemplo, la diferenciación entre *H. oligactis* de *H. pseudoligactis*), resulta imperioso prestar especial atención y cuidado en la tipificación de sus diferentes formas. A pesar de que muchas veces las tallas promedio se

mantienen constantes más allá de su morfología, la perfecta distinción entre unos y otros se hace necesaria.

En cuanto a las abundancias relativas, en todas las especies se observó lo mismo. Aunque los porcentajes arrojaron valores diferentes, la abundancia fue, en orden decreciente, desmonemes, estenoteles, atricos y holotricos isorrizas. Estas abundancias concuerdan con lo registrado por Deserti & Zamponi (2011) y Deserti *et al.* (2010) para *H. vulgaris* de Los Padres y Nahuel Rucá y Deserti *et al.* (2011) para *H. vulgaris pedunculata* de Los Padres.

Otros autores reportan abundancias diferentes; por ejemplo Zumstein (1973) y Bode & Flick (1976) para la norteamericana *H. attenuata* (= *H. vulgaris*) ubican a los atricos isorrizas en segundo lugar y los estenoteles en el tercero. Aunque estas diferencias pueden ser reales, basadas en respuestas fisiológicas a ambientes diferentes, también podrían responder, en parte, a la metodología utilizada para el conteo. Mientras que lo aquí usado es una abundancia relativa basada en conteos visuales, los autores antes mencionados realizan disoluciones en SDS (duodecil sulfato sódico), separando físicamente una cápsula de otra y contando la totalidad de los cnidocistos presentes en un pólipo. Esta técnica maximizaría la visualización de los atricos isorrizas que resulta ser el tipo más difícil de individualizar, ya que la estructura de su cápsula rápidamente se funde con el medio circundante.

El análisis sobre la distribución de los datos arrojó varios resultados. Por un lado, si bien la norma parece ser la ausencia de normalidad, algunos casos pueden constituir excepciones.

Muchos trabajos han demostrado que la normalidad de los datos puede variar. Los test estadísticos utilizados frecuentemente asumían una distribución normal de las longitudes de las cápsulas, concepto que en la actualidad ha sido refutado por varios autores (Acuña *et al.*, 2003, 2004, 2007; Acuña & Garese, 2009; Garese, 2013), al menos para varias especies de anémonas de mar.

El avance en los estudios a nivel de la distribución de los datos, se volcó en principio, en el uso de pruebas no paramétricas, para el caso de normalidad rechazada. Estos test, en ciertas situaciones, desperdician información y resultan menos potentes, características que se minimizan mucho más en los Modelos Lineales Generalizados desarrollados por Nelder & Wedderburn (1972).

En particular, los MLG con errores gamma se suelen ajustar muy bien a datos provenientes de estudios biológicos y son más apropiados para analizar datos asimétricos con coeficiente de variación constante, de modo que no es necesario recurrir a transformaciones que fuerzan a trabajar dentro de escalas poco naturales. Además, en estos casos, la igualdad de varianzas ya no es un requisito y el vínculo entre la variable dependiente y la combinación lineal

de variables independientes (en el caso clásico es la identidad), puede tomar diferentes formas (Hastie & Tibshirani, 1990). En otros cnidarios, el uso de estos MLG resultó muy apropiado para comparaciones cuantitativas (Allcock *et al.*, 1998; Watts *et al.*, 2000; Ardelean & Fautin, 2004; Acuña *et al.*, 2004; Garese, 2013).

Ya sea mediante test paramétricos, cuando la normalidad fue aceptada o mediante MLG, cuando fue rechazada, las tallas de los cnidocistos varían entre individuos de la misma especie (en las tres especies estudiadas).

De la totalidad de los casos analizados, los holotricos isorrizas fueron los que más variación presentaron, con un valor de 76,8%. Le siguen los atricos isorrizas, con 74,4%, los estenoteles en tercer lugar, con un 38,7% y por último, los desmonemes, con un 21,2% de variación en todos los casos.

Si observamos detenidamente, este orden en el porcentaje de variación es exactamente opuesto al orden de las abundancias relativas, indicando que a pesar de ser los holotricos isorrizas el tipo menos abundante, parece ser el más variable. Esta es otra característica que refuerza la importancia que requiere su análisis.

Cuando analizamos la diferencia de tallas en individuos de la misma especie, recolectada en la misma laguna, vemos que se registran variaciones entre algunas estaciones climáticas. En *H. vulgaris*, nuevamente los holotricos isorrizas fueron los que más variaciones presentaron entre estaciones, sin embargo en *H. vulgaris pedunculata*, el primer lugar fue para los desmonemes.

Al analizar estos resultados en su totalidad, los holotricos ocupan el segundo lugar en cuanto a la variación con un porcentaje de 54% por debajo de los atricos isorrizas con el 61%.

El análisis por especie a nivel de lagunas mostró que las tallas de todos los cnidocistos registraron variaciones, con excepción del desmoneme de *H. vulgaris pedunculata* que solo presentó diferencias entre La Brava y Los Padres. Este resultado puede estar representando cambios a nivel fisiológico relacionados a las diferentes variables limnológicas que caracterizan cada laguna; podríamos decir entonces, que el cnidoma de una especie tiene cierta flexibilidad en lo que refiere a ambientes. Esta situación guarda similitud con lo registrado por Acuña & Zamponi (1997) en anemonas de mar pertenecientes a diferentes zonas intermareales. Los autores observaron que algunos de sus nematocistos presentan variaciones significativas en sus tallas de acuerdo a la zona que habitan. Los autores describieron a estas especies de diferentes zonas como “razas ecológicas”, ya que estas diferencias no son suficientes para declarar especies distintas.

Las diferencias aquí registradas, tampoco son suficientes para declarar especies distintas de acuerdo al ambiente muestreado. Sin embargo conocer estas diferencias pone de manifiesto que algunas características de los organismos pueden tener cierta plasticidad si se las examina en mayor profundidad.

La última de las comparaciones, y quizá la más relevante y de mayor aplicación, es la que nos permite discernir entre especies distintas. Aunque ya sabemos que una característica por sí sola no nos determina una especie u otra, resulta importante conocer si el cnidoma (en este caso, las distintas tallas) tiene el suficiente peso estadístico para ser usado como valor taxonómico. Dado que el cnidoma es requisito fundamental a la hora de describir una especie, esos datos pueden convertirse en un importante argumento taxonómico y no ser simplemente una descripción numérica.

En nuestro análisis, las tres especies fueron diferentes desde el punto de vista de sus cnidocistos (Tabla 2). Cuando comparamos *H. viridissima* con las especies restantes, vemos que todos sus cnidocistos registran variaciones. Sin embargo, cuando comparamos *H. vulgaris* con *H. vulgaris pedunculata*, solo difieren a nivel de sus holotricos isorrizas.

Estos resultados refuerzan el hecho de que *H. viridissima* pertenece a un grupo clasificatorio diferente, mientras que *H. vulgaris* e *H. vulgaris pedunculata* no. Cuando analizamos grupos diferentes vemos que las variaciones se intensifican, mientras que en aquellas del mismo grupo se reducen. Para *H. vulgaris* e *H. vulgaris pedunculata*, no solo estamos contemplando el mismo grupo, sino que estamos analizando especie y sub especie, por lo que una variación mucho menor en sus cnidocistos adquiere más lógica aún. No resulta curioso que nuevamente los holotricos isorrizas sean la excepción en este último caso. Los resultados muestran que la subespecie retiene, para la mayoría de sus cnidocistos, la identidad biométrica de aquella especie que le dio origen.

Deserti & Zamponi (2011) realizan un estudio similar, utilizando una menor cantidad de datos y métodos estadísticos diferentes. Sin embargo los resultados finales fueron los mismos: especies de grupos distintos mostraron diferencias en sus cnidocistos, mientras que aquellas pertenecientes al mismo grupo, no lo hicieron. Es probable que en el análisis aquí presentado, el aumento en la cantidad de mediciones nos haya permitido detectar la diferencia de los holotricos isorrizas para *H. vulgaris* e *H. vulgaris pedunculata*.

Parece claro que cnidomas de especies diferentes tienen identidades bien definidas que pueden ser usadas para distinguir, al menos, entre grupos. La medición de cnidocistos, aunque muchas veces poco seductora por la dificultad que representan las tallas pequeñas y la complejidad estructural en la clase Hydrozoa (David *et al.*, 2008), parece tener su recompensa;

nos arroja un resultado estadístico de peso para ser usado de manera taxonómica. Sin embargo, el conocimiento de los cnidocistos a nivel de la distribución de los datos y de las variaciones intraespecíficas resulta de vital importancia. Dicho conocimiento nos evitará creer que ciertas “razas ecológicas” son especies distintas.

Con respecto a la relación de las tallas con el *largo* columna, no parece haber una regla aparente. En *H. viridissima* los atricos isorrizas fueron los únicos que mostraron una correlación positiva, lo que significa que a medida que el tamaño del individuo se incrementa, también lo hacen la talla de sus atricos isorrizas. Para la misma especie, sin embargo ocurre lo contrario con sus estenoteles, cuando el tamaño del individuo aumenta, las tallas disminuyen. Para *H. vulgaris pedunculata*, las correlaciones, también negativas se registraron para los desmonemes y atricos y holotricos isorrizas. En *H. vulgaris*, atricos isorrizas y desmonemes mostraron también correlaciones negativas.

No resulta esperable quizá, que individuos de mayor tamaño posean cnidocistos más pequeños. De hecho, si analizamos a simple vista los cnidomas aquí presentados (Tablas 2 a 9 del Capítulo II: Biodiversidad), podemos ver que *H. viridissima*, la especie de menor tamaño, posee el cnidoma con las tallas más pequeñas. Esta observación también ha sido descrita por Campbell (1983) y Campbell *et al.* (2016).

Deserti & Zamponi (2011) obtienen resultados similares. En *H. vulgaris* observan una correlación positiva en los desmonemes, pero negativa para los holotricos isorrizas, mientras que en *H. vulgaris pedunculata*, todas las correlaciones fueron rechazadas. En dicho trabajo los autores atribuyen estos resultados a posibles factores metabólicos inherentes a cada individuo.

Si esto fuera así, se hace necesario entonces la realización de experimentos donde los pólipos sean sometidos gradualmente, a diferentes situaciones de estrés metabólico, y donde se evalúe el posible cambio que sufran las tallas de sus cnidocistos.

Como podemos ver, existe gran cantidad de información contenida dentro del cnidoma de una especie. A medida que se avance con mayor profundidad en la exploración de sus características estadísticas, podemos elegir metodologías más adecuadas para su análisis que arrojen resultados más robustos. Muchas veces, la cantidad de datos utilizados en un estudio no es lo que da robustez a los resultados, sino la aplicación de una correcta metodología basada en las características intrínsecas de las mediciones. A medida que avancemos en este conocimiento, más confiable será el uso del cnidoma en cuestiones taxonómicas.

CAPÍTULO V: ECOLOGÍA TRÓFICA

INTRODUCCIÓN

La capacidad competitiva de los animales y el efecto de dicha competencia en la demografía y diversidad de las especies, han recibido considerable atención teórica y empírica en muchos estudios ecológicos (Slobodkin, 1962; Tilman, 1987; Chesson, 2000; Adler *et al.*, 2007). Contrariamente a una generalización derivada de muchos de dichos estudios, un tamaño corporal mayor no siempre es la clave para la superioridad competitiva entre los animales (Kaliszewicz, 2013).

Las hidras son carnívoras y se las considera como organismos depredadores muy eficientes (Slobodkin & Bossert, 2001). Esto se relaciona además, con el rechazo aparente de ingerir alimentos no vivos, hecho que imposibilita su alimentación mediante una dieta formulada en cultivos de laboratorio (Claybrook, 1961).

Según Kaliszewicz (2013) las hidras son depredadores que se "sientan y esperan". La efectividad de una estrategia de este tipo, se basa tanto en la capacidad del depredador para capturar sus presas como en la probabilidad de que las presas se encuentren a su alcance. Massaro *et al.* (2013) considera las hidras como predadores superiores de la cadena alimentaria. En sus estudios observó que la selectividad por la comida no se relacionaba con el tamaño de la presa, pero sí con otras características de la misma, como el grosor del caparazón y la eficiencia de natación.

Algunos de los ítems presa reportados para el género *Hydra* son diversos microcrustáceos (como cladóceros y copépodos), larvas de insectos y anélidos, larvas de peces y rotíferos (Elliot *et al.*, 1997; Pennack, 1953; Rivera de la Parra *et al.*, 2016; Swartz, *et al.*, 1983; Walsh, *et al.*, 2006). Incluso Cordero (1941b), detecta daños causados por las hidras en larvas de diversos peces (*Prochilodus argenteus*, *Trachycorystes striatulus* y *Arapaima gigas*) en estanques artificiales en Brasil.

Sin embargo, otros invertebrados como los géneros de cladóceros *Simocephalus*, *Scapholebris*, y *Chydoris* y al menos algunos ostrácodos, son inmunes a las actividades de las hidras (Schwartz *et al.*, 1983). Los grandes animales con exoesqueletos duros y la suficiente fuerza natatoria pueden incluso, escapar después de ser atrapados por sus tentáculos (Hershey & Dodson, 1987).

Una de las claves para su superioridad es la presencia de cnidocistos. Como se explicó detalladamente en el capítulo anterior, una de las funciones de los cnidocistos es el de captura

de presas (Ruppert & Barnes, 1996). De los cuatro tipos presentes, principalmente los estenoteles y desmonemes están implicados en la alimentación (Hayness, 1973; Kanaev, 1969); estenoteles por penetración, a modo de arpones y los desmonemes por adherencia (Burnett, 1973). Los estenoteles resultan efectivos para aquellos organismos de cuerpos blandos, mientras que los desmonemes lo son para aquellos con exoesqueletos duros, muchas veces resistentes a la penetración de los estenoteles.

Alrededor del 97% de todos los cnidocistos se encuentran en los tentáculos, donde se disponen formando baterías (Gelei, 1927; Kanaev, 1969). Dichas baterías están formadas por un estenotele central, rodeado de 1 o 2 atricos isorrizas y entre 10 a 15 desmonemes (Figura 1) (Bode & Flick, 1976; Kass-Simon & Scapaticci, 2002).

Los cuatro tipos de cnidocistos pueden hallarse en tentáculos, mientras que en la columna solo pueden hallarse estenoteles y holotricos isorrizas (Bode y Flick, 1976).

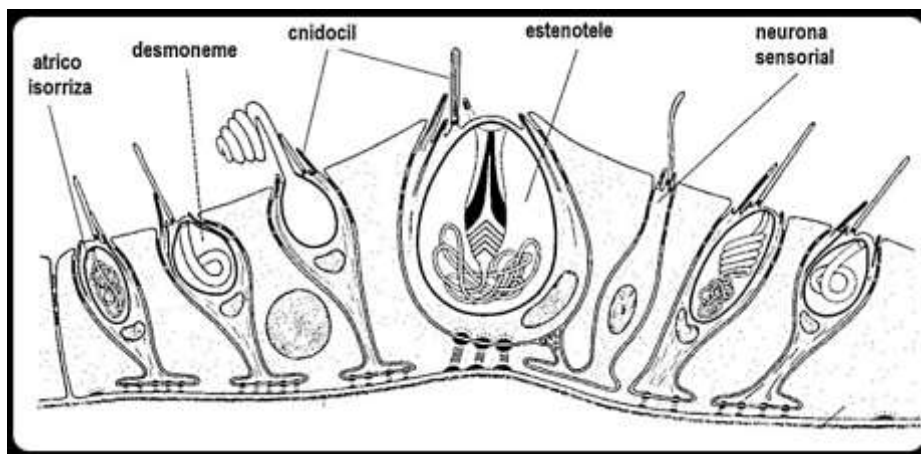


Figura 1: Esquema de una batería de nematocistos, indicando alguno de sus componentes (modificado de Beckmann (2013)).

Las diferentes especies del género *Hydra* han sido reportadas en gran cantidad de sustratos como camas de diferentes macrófitas (Hershey & Dodson, 1987), en el plancton (Batha, 1974), en fondos rocosos (Cuker & Mosley, 1981) y sobre hojas muertas y restos de tallos (Slobodkin & Bossert, 2001). Si la espera por la comida dura más de 12 hs, las hidras cambian su posición sobre el sustrato (Lenhoff & Lenhoff, 1986; Ritte, 1969) con diferentes movimientos como la flotación, siendo transferidas por las corrientes de agua o flotando hacia la superficie por medio de una burbuja de gas secretada en el disco del pedal (Kepner & Miller, 1928; Kepner & Thomas, 1928; Lomnicki & Slobodkin, 1966; Mackie, 1974). Estos movimientos les permiten explorar otros ambientes y acceder a nuevas presas. Griffin (1965)

sugiere que las hidras son probablemente mucho más importantes en el plancton de lo que se cree.

Las lagunas utilizadas en esta tesis como zonas de muestreo, son hábitats eutróficos (Ringuelet, 1962). No solo presentan diversidad de sustratos naturales y artificiales sino que además, poseen una gran variedad de especies zoo y fitoplanctónicas. Por lo tanto, el género *Hydra* de estos ambientes coexiste con gran variedad de invertebrados, como moluscos, briozoos, gusanos, crustáceos, insectos, y otros, incluyendo diferentes estados metamórficos. Esto plantea un gran abanico de posibilidades de presas para su dieta.

MATERIALES Y MÉTODOS

Cálculo de parámetros tróficos y volumen de ítems presa

Con cada espécimen de hidra se realizó un *squash* que fué analizado bajo el microscopio. Los ítems presa se identificaron al menor nivel taxonómico como fuera posible.

Siguiendo la metodología descrita en Acuña & Zamponi (1995) y modificada por Quesada *et. al.* (2014), se calcularon los siguientes parámetros tróficos:

(1) **Porcentaje de celenterones vacíos (V)**; $V = E_v \cdot 100 / N$

(2) **Índice de Frecuencia de presa (f)**; $f = n / N$

(3) **Porcentaje de presa (P)**; $P = n * \cdot 0.100 / N_p$

donde: E_v = número de celenterones vacíos; N = número total de celenterones examinados; n = número de celenterones conteniendo una determinada presa; N_p = número total de presas y $n *$ = número total de individuos de una determinada presa.

El porcentaje de presa (P) nos permite distinguir a las mismas como una fuente de alimento mayor ($P > 50\%$), menor ($10\% < P < 50\%$) u ocasional ($P < 10\%$).

Como se explicó en el Capítulo II, se utilizó la fórmula del volumen de un cilindro para calcular el volumen de las hidras (Kaliszewicz, 2011):

(4) **Volumen del cilindro (Vol)** = $\pi \cdot (w / 2)^2 \cdot l$

donde: w = ancho de columna (diámetro) y l = longitud de la columna.

Para el volumen de los cladóceros y copépodos se utilizaron los valores medios citados en Ringuelet *et. al.* (1980) y Escalante (1982).

Para calcular el volumen de los *Hyphomycetes* y otras formas no identificadas (NI1 a NI7), las estructuras se dividieron en sectores diferentes, manteniendo dichos sectores cierta similitud con diversas formas geométricas. El volumen final consistió en la suma de los volúmenes de cada figura, utilizando, en cada caso, una combinación de las siguientes ecuaciones:

(5) **Volumen esferoide alargado** = $4 / 3 \cdot \pi \cdot (a)^2 \cdot b$

(6) **Volumen de cono truncado** = $1 / 3 \cdot \pi \cdot h \cdot (R^2 + r^2 + (R \cdot r))$

(7) Ecuación (4) del volumen del cilindro.

(8) **Volumen del cono** = $1/3 \cdot \pi \cdot R^2 \cdot h$

(9) **Volumen de la esfera** = $4/3 \cdot \pi \cdot R^3$

donde: a y b = radio menor y mayor del esferoide, respectivamente (ecuación 5); h, R y r = altura, radio mayor y menor del cono truncado, respectivamente (ecuación 6), R y h = radio y altura del cono, respectivamente (ecuación 8), donde R = radio de la esfera (ecuación 9).

Los ítems algales fueron identificados utilizando bibliografía específica (CEMAGREF, 2000; Guarrera *et. al.*, 1968), para clorofitas y diatomeas, respectivamente. El biovolumen de las mismas fue calculado utilizando la metodología propuesta por Hillebrand *et. al.* (1999).

Para determinar la contribución de las diferentes categorías de alimentos a la dieta de las hidras, se aplicó el índice de importancia relativa (IRI), utilizando la ecuación de Pinkás *et. al.* (1971):

(11) **IRI** = %f (P + %V)

donde: %f = porcentaje del índice de frecuencia de presas; P = porcentaje de presas y %V = porcentaje volumétrico.

Cálculo de nematocistos en tentáculos de hidra

Algunos especímenes fueron utilizados para calcular la cantidad de nematocistos presentes en los tentáculos. Para esto se seleccionaron solo aquellas hidras que presentaron invertebrados o restos de ellos en su celenterones, teniendo en cuenta en cada caso, el número y el largo de los tentáculos por hidra. En estos pólipos, sus tentáculos fueron fotografiados en estado “*estirado*”, facilitando así la visualización de los “paquetes de baterías” presentes en cada uno (característica que da a los tentáculos la apariencia de moniliformes).

El conteo de estos “paquetes” se realizó de manera manual por observación directa.

Mediante la función Multi-Point, de las opciones Contaje de Partículas del programa ImageJ, se identificaron los estenoteles de cada paquete de baterías (la selección de este cnidocisto se basó en su mayor tamaño y por lo tanto, su mejor identificación). Estos estenoteles fueron corroborados como correctos, comparando el largo y ancho medidos en cada pólipo, con los resultados de dichas medidas arrojados por el programa para cada punto seleccionado. En caso de que un punto tuviera alguna de estas dos medidas fuera de los rangos estipulados en

cada espécimen, el punto se eliminó del conteo final. En algunos casos, las fotografías debieron ser sectorizadas y aumentadas para efectivizar el conteo y reducir los errores de superposición de partículas (Figura 2).

Una vez identificados los estenoteles, por cada uno de ellos se estimó la presencia de los desmonemes y atricos isorrizas, según datos bibliográficos citados en Beckmann (2013), Bode & Flick (1976), Hobmayer *et al.*, (1990) y Kass-Simon & Scapatucci (2002). Para todos los cálculos, se utiliza el número máximo de cnidocistos en cada batería (1 estenotele, 2 atricos isorrizas y 15 desmonemes). Estos valores finalmente fueron referidos a cada pólipo, obteniéndose así la cantidad de nematocistos presentes en los tentáculos de cada hidra.

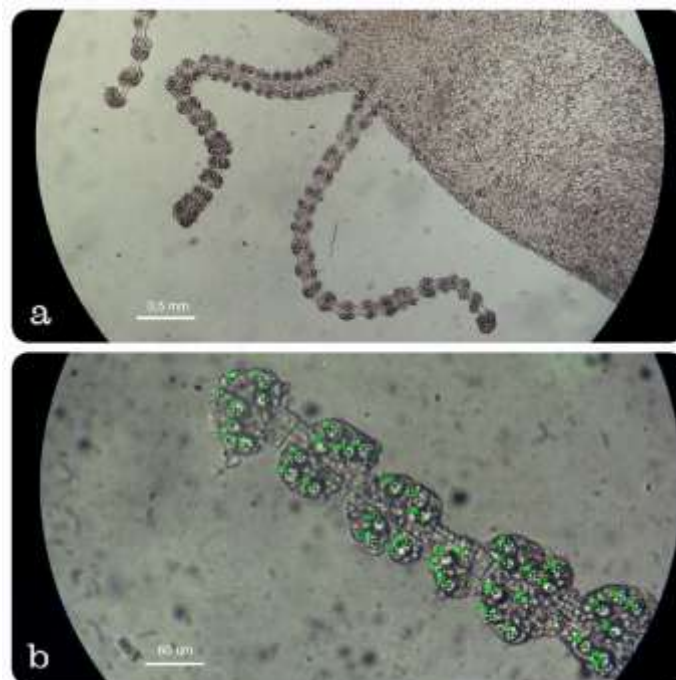


Figura 2: ejemplo de fotografías empleadas para: (a) conteo directo de paquetes de baterías y (b) conteo de estenoteles mediante la herramienta Multi Point del software ImageJ. Cada punto verde indica un estenotele.

RESULTADOS

Cálculo de parámetros tróficos y volumen de ítems presa

Se analizaron un total de 162 celenterones (6 para *H. viridissima*, 31 para *H. vulgaris pedunculata* y 125 para *H. vulgaris*). Se halló un total de 33 ítems presa diferentes. A continuación se enumeran los resultados por laguna y especie.

La Brava:

Hydra vulgaris

Solo un ejemplar presentó contenido en el celenterón, por lo que no fueron calculados los parámetros tróficos. Se encontraron tres ítems presa: *Cocconeis placentula* (2 individuos), *Cyclotella meneghineana* (3 individuos) y un ítem invertebrado del género *Alonella*. Este último ocupó el 5.89% del volumen de la hidra que lo ingirió.

Los Padres:

Hydra viridissima

Solo un ejemplar presentó contenido en el verano 2014, por lo que tampoco fueron calculados los parámetros tróficos. En el interior de este ejemplar se hallaron los siguientes ítems: *C. placentula* (3 individuos), un ítem del copépodo *Acanthocyclops robustus* y una estructura esférica que no logró identificarse (NI1) (Figura 3) Esta última estructura presentó un volumen de $904.75 \mu\text{m}^3$.

A. robustus sobrepaso el volumen de la hidra que lo ingirió en un 167.45%, mientras que en conjunto, los restantes solo ocuparon un 0.025% (incluyendo la estructura no identificada).

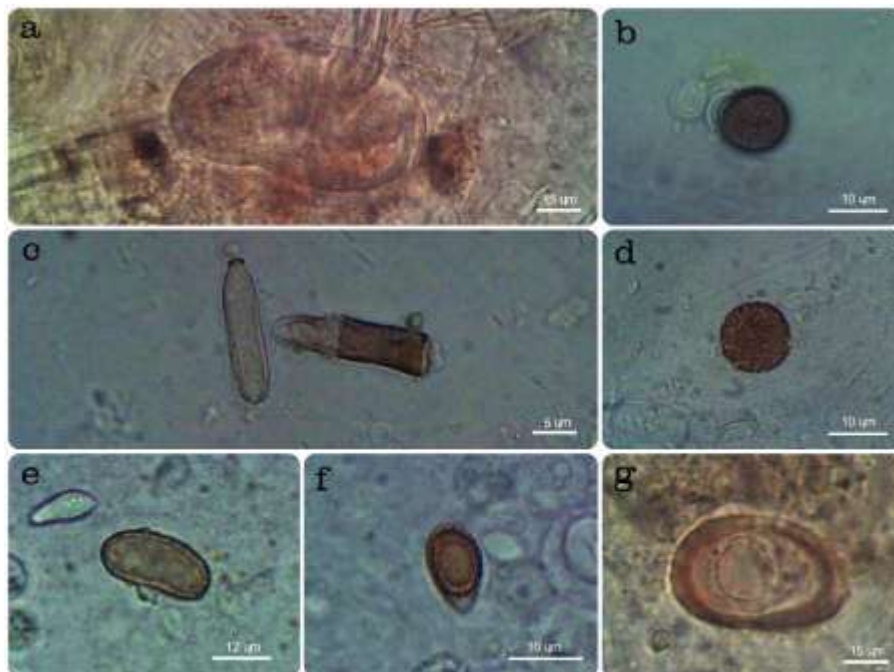


Figura 3: Estructuras no identificadas dentro de las cavidades gástricas de *Hydra*. (a), (d) y (g) formas NI4, NI3 y NI2 respectivamente, halladas en el interior de *Hydra vulgaris pedunculata* recolectada en Los Padres (b) forma NI1 hallada en *Hydra viridissima* recolectada en Los Padres, (c) forma NI5 hallada en *Hydra vulgaris pedunculata* recolectada en Nahuel Rucá y (e) y (f) formas NI6 y NI7 respectivamente, halladas en *Hydra vulgaris* recolectada en Nahuel Rucá.

Hydra vulgaris pedunculata

Se analizó un total de 8 celenterones. En tres estaciones los ejemplares presentaron contenidos (verano y primavera 2014 y verano 2015). Se hallaron 15 ítems diferentes, siendo dos de ellos, representantes de micro invertebrados (el copépodo *A. robustos* y *Alonella* sp.), 9 ítems algales y una estructura fúngica de la Clase *Hyphomycetes*. Tres estructuras no pudieron ser identificadas (NI2, NI3 y NI4), aunque parecieran corresponder a huevos o estadios de resistencia (Figura 3). Sus volúmenes fueron de 382.96, 4222.46 y 1607.13 μm^3 respectivamente.

Las estaciones verano 2014 y 2015 presentaron índices de vacuidad (V) iguales a cero. Sólo en la primavera 2014, este valor fue del 25%.

A pesar de una menor frecuencia que las algas, los invertebrados presentaron un IRI mayor (1.19 para las algas y 6.32 para los invertebrados) (Figura 4). El alga *Navicula zanoni*, tuvo la mayor frecuencia (0.37) y junto con *Epithemia sorex* y *Anabaena* sp. constituyeron fuentes minoritarias de alimento (el resto representaron fuentes ocasionales en la dieta, incluyendo los invertebrados y las tres estructuras no determinadas) (Tabla 1).

Tabla 1: Ítems presa hallados en *Hydra vulgaris pedunculata* en Los Padres. f = índice de frecuencia de presa y P = porcentaje de presa. Los valores en negrita indican fuentes de alimentos minoritarios (los valores restantes son ocasionales).

Presa	f	P
<i>Anabena</i> sp.	0.12	14.28
<i>Cosmarium formosulum</i>	0.25	3.90
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	0.12	3.90
<i>Cocconeis placentula</i>	0.25	2.60
<i>Ephitemia sorex</i>	0.25	33.77
<i>Navicula zanoni</i>	0.37	19.48
<i>Nitzschia</i> sp.	0.12	1.30
<i>Synedra ulna</i>	0.12	7.79
<i>Cyclotella meneghineana</i>	0.12	2.60
Class <i>Hyphomycetes</i>	0.12	1.30
<i>Alonella</i> sp.	0.25	1.30
<i>Acanthocyclops robustus</i>	0.12	3.90
N2	0.12	1.30
N3	0.12	1.30
N4	0.12	1.30

A. robustus fue hallado en la primavera 2014 y verano 2015. A pesar de ser una fuente ocasional de alimento, su contribución volumétrica es muy grande, supera en mucho el volumen de las hidras que los ingirieron (153.07% y 168.46% respectivamente). El representante de la Clase *Hyphomycete*, sólo fue hallado en el verano 2014, con frecuencia y aporte volumétrico muy bajos (0.12 y 0.005 respectivamente).

Hydra vulgaris

Para esta especie se analizó un total de 18 celenterones. En dos estaciones (primavera 2014 y verano 2015), los ejemplares presentaron contenido, con índices de vacuidad (V) de 80% y 37.5% respectivamente.

Nueve diferentes ítems presa fueron identificados. Siete de ellos fueron algas y dos, invertebrados (cladóceros de los géneros *Alonella* y *Daphnia*). En total, las algas dominaron los valores de frecuencia y porcentaje de presa (0.5 y 90.32%, respectivamente). Sin embargo, el mayor aporte volumétrico estuvo dado por los invertebrados, lo que provocó que el IRI de esta categoría alimenticia sea mayor (6.02 para invertebrados y 1.12 para las algas) (Figura 5). El género *Alonella* (un solo individuo), hallado en la primavera del 2014, ocupó el 5.91% del volumen de la hidra que lo ingirió. El género *Daphnia* (2 individuos en una misma hidra del verano 2015), ocuparon el 174.03%.

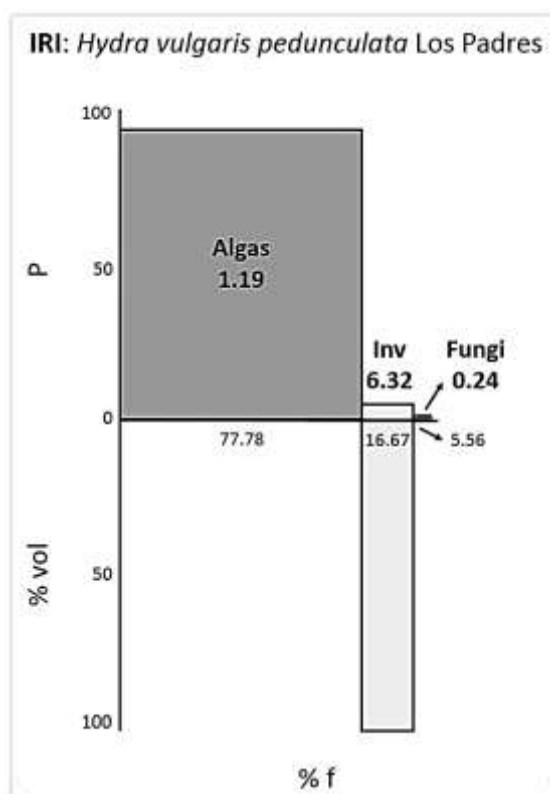


Figura 4: IRI para *Hydra vulgaris pedunculata* recolectada en Los Padres. P = porcentaje de presa, % vol = porcentaje volumétrico y % f = porcentaje del índice de frecuencia de presas.

El ítem algal con mayor frecuencia fue *E. sorex*, seguido de *C. placentula* (0.17 y 0.11, respectivamente). *E. sorex*, se consagró como una fuente mayoritaria de alimento, mientras que los restantes, ocasionales (incluidos los invertebrados) (Tabla 2).

Tabla 2: Ítems presa hallados en *Hydra vulgaris* en Los Padres. f = índice de frecuencia de presa, P = porcentaje de presa y NI = No identificada. Los valores en negrita indican fuentes de alimentos mayoritarios.

Presas	f	P
<i>Cosmarium formosulum</i>	0.05	9.68
<i>Cocconeis placentula</i>	0.11	6.45
<i>Epithemia sorex</i>	0.17	54.84
<i>Nitzschia filiformis</i>	0.05	9.68
<i>Synedra ulna</i>	0.05	3.22
<i>Cyclotella meneghiniana</i>	0.05	6.45
<i>Alonella</i> sp.	0.05	3.22
<i>Daphnia</i> sp.	0.05	6.45
Alga NI	0.05	3.22

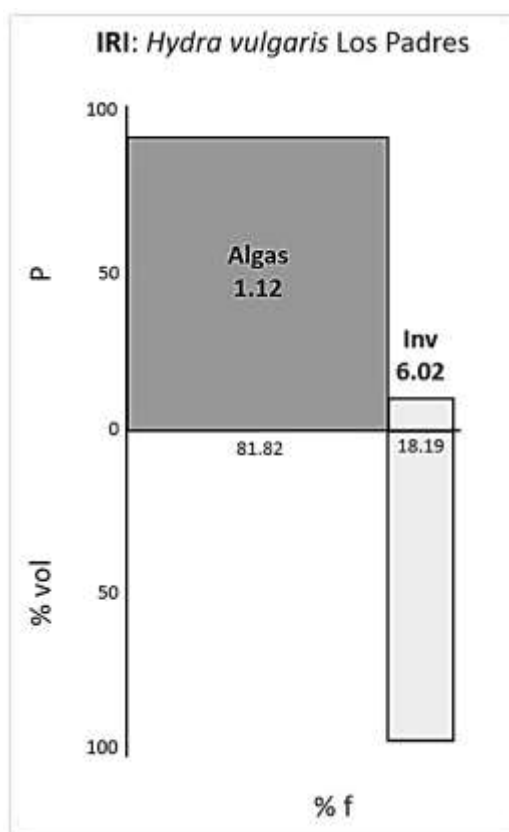


Figura 5: IRI para *Hydra vulgaris* recolectada en Los Padres. P = porcentaje de presa, % vol = porcentaje volumétrico y % f = porcentaje del índice de frecuencia de presas.

Nahuel Rucá:

Hydra viridissima

Se analizó un total de cinco celenterones, correspondientes a las estaciones otoño e invierno 2013. De los cuatro ejemplares analizados en el otoño 2013, en dos de ellos se halló contenido, mientras que el único ejemplar recolectado en el invierno del mismo año, no registró ningún ítem presa en su celenterón.

Tres diferentes ítems fueron identificados: el alga *N. zanoni* y dos micro invertebrados, el copépodo *A. robustus* (2 ítems) y un cladóceros del género *Alonella*.

Los tres ítems obtuvieron un valor de 0.25 en sus frecuencias, sin embargo *A. robustus* obtuvo un 50% en el valor de porcentaje de presa (P), mientras que los restantes, 25% cada uno. Con estos valores, todos los ítems se consagraron como una fuente minoritaria de alimento. Como es de esperarse, los mayores aportes volumétricos fueron realizados por los invertebrados (90.85% para *A. robustus*, 9.13% para *Alonella* sp. y 0.011% para *N. zanoni*).

Hydra vulgaris pedunculata

Se analizó un total de 23 celenterones. Individuos recogidos en solo dos estaciones (primavera 2014 y verano 2015), presentaron contenidos en sus cavidades gástricas. El índice de vacuidad (V) fue mayor durante el verano (50%), mientras que en la primavera su valor fue de 14.28%. El taxón con mayor número de representantes fue el de las algas, con 12 ítems diferentes, siendo *C. placentula* y *N. zanoni* las de mayor frecuencia (0.17 y 0.13 respectivamente) y con porcentajes de presa (P) altos, que los colocan como fuente mayoritaria y minoritaria de alimento respectivamente (Tabla 3). Dentro de los invertebrados, el único taxón hallado (en el verano 2015) fue la subfamilia *Chironominae* (estadios larvales), obteniendo el mayor valor de IRI (17), mientras que para las algas, este índice tuvo un valor de 16 (Figura 6).

Tabla 3: Ítems presa hallados en *Hydra vulgaris pedunculata* en Nahuel Rucá. f = índice de frecuencia de presa, P = porcentaje de presa y NI = No identificada. Los valores en negrita indican fuentes de alimentos mayoritarios y minoritarios (los valores restantes son ocasionales).

Presa	f	P
<i>Oedogonium</i> sp.	0.04	1.01
<i>Cocconeis placentula</i>	0.17	51.51
<i>Epithemia sorex</i>	0.07	4.04
<i>Navicula zanoni</i>	0.13	19.20
<i>Navicula</i> sp.	0.04	1.01
<i>Roicosphenia abbreviata</i>	0.04	1.01
<i>Synedra acus</i>	0.04	6.06
<i>Synedra ulna</i>	0.04	6.06
<i>Cyclotella meneghineana</i>	0.04	2.02
Clase <i>Hyphomycetes</i>	0.04	2.02
Subfam. <i>Quironominae</i>	0.04	1.01
Alga 2 NI	0.04	1.01
Alga 3 NI	0.04	1.01
Alga 4 NI	0.04	1.01
NI 5	0.04	1.01

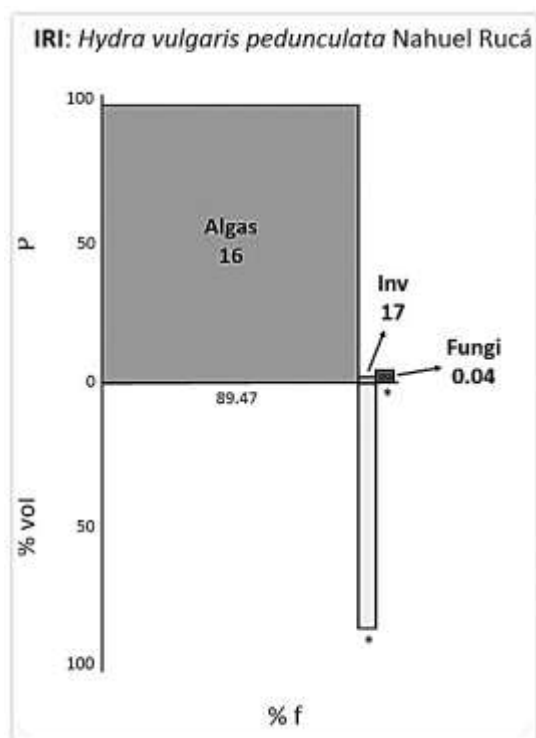


Figura 6: IRI para *Hydra vulgaris pedunculata* recolectada en Nahuel Rucá. P = porcentaje de presa, % vol = porcentaje volumétrico y % f = porcentaje del índice de frecuencia de presas.

Fueron hallados además, representantes de la clase *Hyphomycetes* durante el verano 2015. Estos ítems ocuparon muy poco volumen (0.0006% del volumen total de la hidra) además de presentar un IRI inferior (0.04). Durante esta estación climática, también fueron halladas unas estructuras alargadas (NI5) (Figura 1) que no lograron identificarse, con volúmenes muy pequeños (449.59 y 831.05 μm^3).

Hydra vulgaris

En 106 celenterones examinados, se identificaron 23 organismos diferentes. En seis estaciones se hallaron contenidos. El taxón más representado fue el de las algas, con 16 ítems diferentes; los micro invertebrados ocuparon el segundo lugar con cuatro ítems distintos y sólo en el verano de 2015, aparecieron representantes de la clase *Hyphomycete*, en dos estaciones. Dos estructuras no identificadas (NI6 y NI7) se hallaron en la primavera del 2013 (Figura 1). Ambas estructuras registraron un volumen de 1655.72 y 2278,85 μm^3 respectivamente.

El principal ítem encontrado fue *C. placentula*, seguida de *N. zanoni* y *C. meneghiniana*. Para el caso de los invertebrados, los especímenes del género *Alonella* fueron la presa más abundante, seguido de las larvas de la subfamilia *Chironominae*.

El IRI revela que las algas dominan como fuente de alimento, aunque volumétricamente su aporte es insignificante con respecto al de los invertebrados (Figura 7).

En el primer año, el porcentaje de celenterones vacíos (V) fue mayor que en el segundo año en todas las estaciones climáticas. Se observó el 100% de celenterones vacíos solamente para el invierno 2013 y el verano 2014 en concordancia con el menor número de especímenes recolectados (Tabla 4).

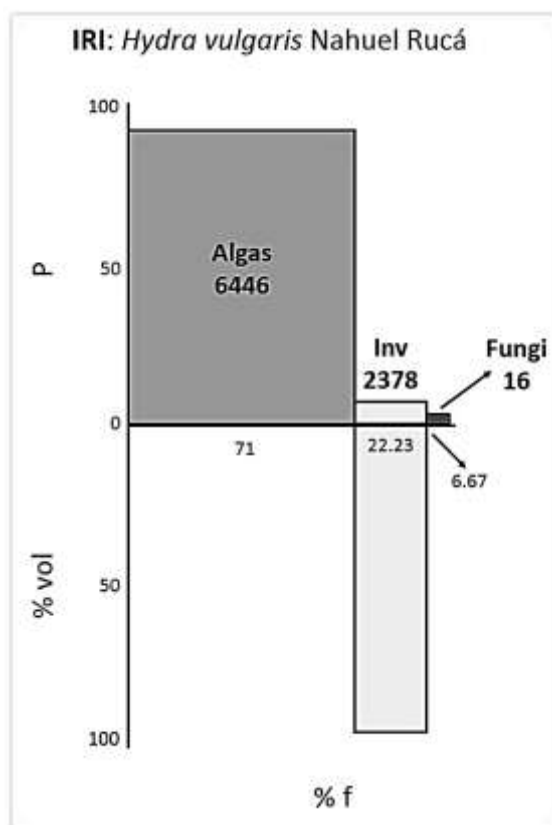


Figura 7: IRI para *Hydra vulgaris* recolectada en Nahuel Rucá. P = porcentaje de presa, % vol = porcentaje volumétrico y % f = porcentaje del índice de frecuencia de presas.

Tabla 4: Parámetros tróficos. N = Número de cavidades gástricas examinadas y V = porcentaje de cavidades gástricas vacías de *Hydra vulgaris*, para cada estación climática de Nahuel Rucá.

		Con ítems	N	V (%)
Otoño	2013	4	7	42.86
	2014	3	6	50
Invierno	2013	0	3	100
	2014	3	11	72.73
Primavera	2013	4	19	78.95
	2014	11	25	56
Verano	2014	0	2	100
	2015	16	33	51.52

Solo cinco ítems algales (*C.placentula*, *N. zanoni*, *C. meneguineana*, *S. ulna* y *E. sorex*) fueron fuentes minoritarias de alimento. El resto de los organismos fueron todos ocasionales (incluyendo los invertebrados) (Tabla 5).

Tabla 5: Ítems presa hallados en *Hydra vulgaris* en Nahuel Rucá. n* = número total de individuos de cierta presa; f = índice de frecuencia de presa y P = porcentaje de presa. Los valores en negrita indican fuentes de alimentos minoritarios (los valores restantes son ocasionales).

Presa	n*	f	P	Presa	n*	n	P
<i>Cosmarium formosulum</i>	2	0.02	2.38	<i>N. tryblionella</i>	3	0.01	3.57
<i>Scenedesmus falcatus</i>	8	0.03	9.52	<i>Rhoicosphenia abbreviata</i>	4	0.02	4.76
<i>S. quadricauda</i>	2	0.02	2.38	<i>Synedra acus</i>	3	0.03	3.57
<i>Oedogonium</i> sp.	3	0.03	3.57	<i>S. ulna</i>	17	0.05	20.22
Order Zygnematales	5	0.01	5.95	<i>Cyclotella meneghineana</i>	22	0.12	26.19
<i>Cocconeis placentula</i>	33	0.15	39.28	Class Hyphomycetes	4	0.02	4.76
<i>Ephitemia sorex</i>	15	0.06	17.86	<i>Alonella</i> sp.	5	0.04	5.95
<i>Gomphonema constrictum</i>	4	0.02	4.76	<i>Daphnia</i> sp.	1	0.01	1.19
<i>Navicula zanoni</i>	30	0.09	35.71	<i>Acanthocyclops robustus</i>	3	0.02	3.57
<i>Navicula</i> sp.	7	0.01	8.33	Subfam. Chironominae	3	0.03	3.57
<i>Nitzschia filiformis</i>	1	0.01	1.19				

Para cada estación del año se calculó el índice de frecuencia de presas (f). En el primer año, encontramos el 38,09% del total de los ítems presa. *C. meneghineana* y *S. ulna* tienen el índice de frecuencia más alto para el otoño del 2013. Para la misma estación, el copépodo *A. robustus* ocupó el segundo lugar junto con el resto de algas (Tabla 6).

En el segundo año, encontramos el 95.24% de los ítems presa totales, además de estar representados los cuatro taxones de invertebrados. *C. meneghineana* tiene la frecuencia más alta en el otoño del 2014 y *C. placentula* domina en la primavera del 2014 y en el verano del 2015.

Dentro del grupo de los invertebrados, el género *Alonella* tiene su mayor valor de frecuencia en el otoño del 2014. Este ítem se encuentra en dos estaciones y las larvas de quironómidos, en tres. Sólo en el invierno del 2014 encontramos el copépodo *A. robustus* y en verano del 2015, el cladócero *Daphnia* sp.

Tabla 6: Ítems hallados en *Hydra vulgaris* para cada estación de Nahuel Rucá. f = índice de frecuencia de presa y P = porcentaje de presa. Los valores en negrita indican fuentes de alimento minoritarias (los restantes son ocasionales). Oto = otoño; pri = primavera, inv = invierno, ver = verano.

	Presa	f	P		Presa	f	P
Oto 13	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	0.14	8.33	Pri 14	<i>Scenedesmus falcatus</i>	0.04	9.23
	<i>Cocconeis placentula</i>	0.14	16.67		<i>Cocconeis placentula</i>	0.28	30.77
	<i>Ephitemia sorex</i>	0.14	8.33		<i>Ephitemia sorex</i>	0.08	13.85
	<i>Synedra ulna</i>	0.28	33.33		Order Zygnetatales	0.04	7.69
	<i>Acanthocyclops robustus</i>	0.14	16.67		<i>Gomphonema constrictum</i>	0.08	6.15
Pri 13	<i>Cosmarium formosulum</i>	0.10	33.33		<i>Navicula zanoni</i>	0.16	18.46
	<i>Ephitemia sorex</i>	0.05	16.66		<i>Nitzschia filiformis</i>	0.04	1.54
	<i>Alonella</i> sp.	0.05	16.66		<i>Rhoicosphenia abbreviata</i>	0.04	4.61
	NI6	0.05	16.66		<i>Cyclotella meneghineana</i>	0.12	6.15
	NI7	0.05	16.66		Subfam. Chironominae	0.04	1.54
Oto 14	<i>Scenedesmus quadricauda</i>	0.33	40	Ver 15	<i>Scenedesmus falcatus</i>	0.06	2.67
	<i>Ephitemia sorex</i>	0.16	20		<i>Oedogonium</i> sp.	0.09	4
	<i>Cyclotella meneghineana</i>	0.16	10		<i>Cocconeis placentula</i>	0.24	16
	<i>Synedra acus</i>	0.16	10		<i>Ephitemia sorex</i>	0.03	4
	<i>Alonella</i> sp.	0.16	10		<i>Navicula zanoni</i>	0.09	16
Inv 14	<i>Cocconeis placentula</i>	0.09	25		<i>Navicula</i> sp.	0.03	9.33
	<i>Rhoicosphenia abbreviata</i>	0.09	25		<i>Nitzschia tryblionella</i>	0.03	4
	<i>Acanthocyclops robustus</i>	0.09	25		<i>Synedra acus</i>	0.06	9.33
	Subfam. Chironominae	0.09	25		<i>Synedra ulna</i>	0.06	8
					<i>Cyclotella meneghineana</i>	0.18	16
					Class <i>Hyphomycetes</i>	0.09	5.33
					<i>Alonella</i> sp.	0.06	2.67
					<i>Daphnia</i> sp.	0.03	1.33
					Subfam. Chironominae	0.03	1.33

En la Tabla 7 se muestran los porcentajes volumétricos ocupados por los invertebrados hallados en las diferentes especies de hidras recolectadas en los tres cuerpos de agua.

Las figuras 8, 9, 10 y 11 muestran algunos restos algales y de invertebrados hallados en las cavidades gástricas de los especímenes analizados.

Tabla 7: Aporte volumétrico de los invertebrados presa a cada espécimen de las especies *Hydra vulgaris*, *Hydra vulgaris pedunculata* e *Hydra viridissima* recolectadas en La Brava, Los Padres y Nahuel Rucá. n* = número total de individuos de cierta presa; vol = volumen.

Espécimen	Especie	ítem presa	n*	%
1	<i>Hydra viridissima</i>	<i>Acanthocyclops robustus</i>	1	167.45
2		<i>Acanthocyclops robustus</i>	2	308.97
3		<i>Alonella</i> sp.	1	228.51
1	<i>Hydra vulgaris pedunculata</i>	<i>Acanthocyclops robustus</i>	1	153.07
2		<i>Alonella</i> sp.	1	61.27
3		<i>Acanthocyclops robustus</i>	2	168.46
4		Subfamilia <i>Chironominae</i>	1	5.51
1	<i>Hydra vulgaris</i>	<i>Alonella</i> sp.	1	5.87
2		<i>Alonella</i> sp.	1	5.91
3		<i>Daphnia</i> sp.	2	174.03
4		<i>Acanthocyclops robustus</i>	2	542.52
5		<i>Alonella</i> sp.	1	267.44
6		<i>Alonella</i> sp.	2	13.46
7		Subfamilia <i>Chironominae</i>	1	49.75
8		<i>Acanthocyclops robustus</i>	1	42.45
9		subfamilia <i>Chironominae</i>	1	6.53
10		género <i>Alonella</i>	1	9.10
11		subfamilia <i>Chironominae</i>	1	90.72
12		género <i>Alonella</i>	1	1.79
13		género <i>Daphnia</i>	1	27.19

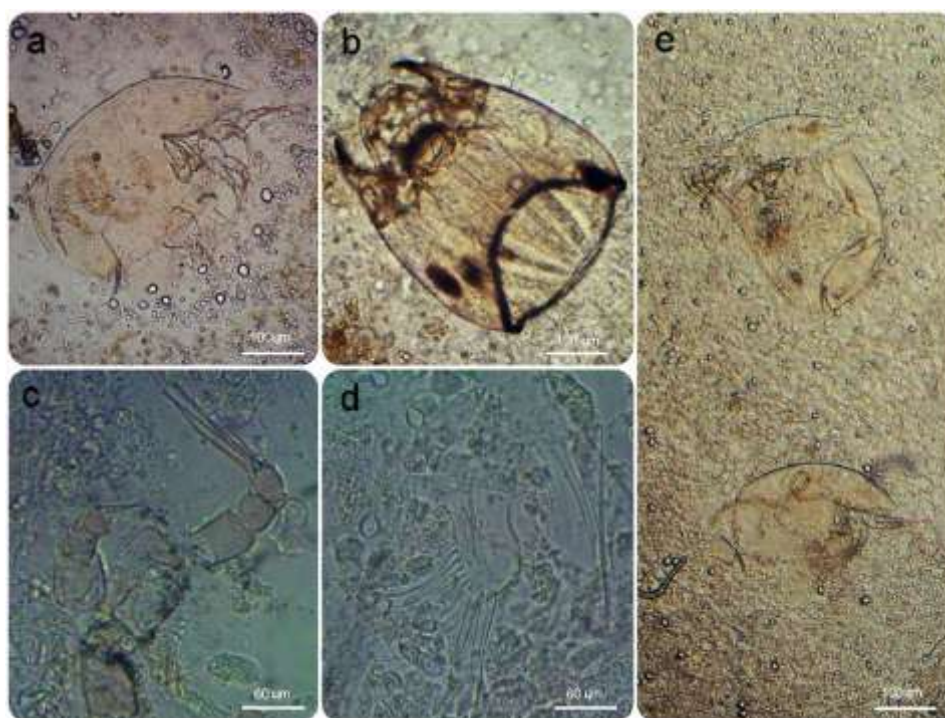


Figura 8: restos de invertebrados hallados en los celenterones de *Hydra* (a), (c), (d) y (e) restos de *Alonella* sp., (b) restos de un quironómido.

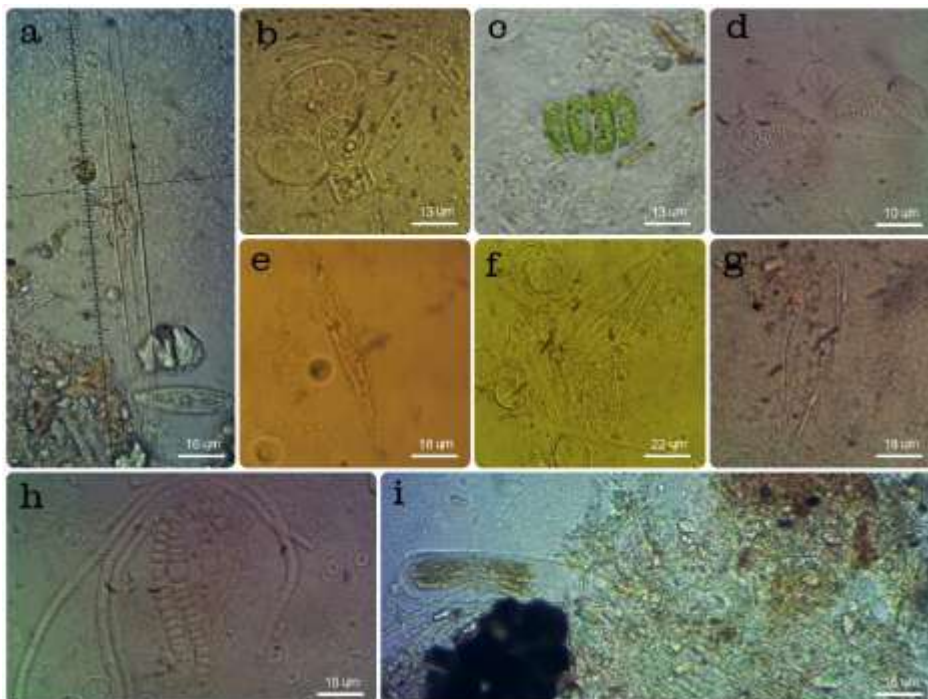


Figura 9: restos algales hallados en los celenterones de Hydra. (a) *Synedra ulna*, (b) *Cocconeis placentula*, *Cyclotella meneghiniana* y *Navicula zanonii*, (c) *Scenedesmus quadricauda*, (d) *Ephitemia sorex*, (e) *N. zanonii*, (f) *Gomphonema constrictum*, *C. meneghiniana* y *N. zanonii*, (g) *G. constrictum*, (h) *Anabaena* sp., (i) *Oedogonium* sp.

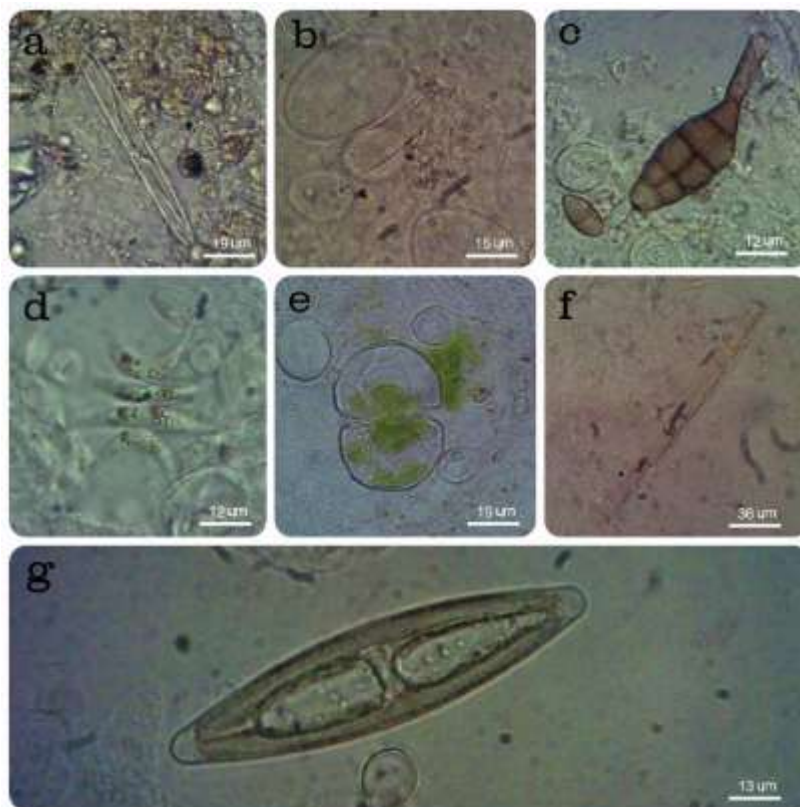


Figura 10: más restos algales hallados en los celenterones de Hydra. (a) *Synedra acus*, (b) *Roicosphenia abbreviata* y *Cocconeis placentula*, (c) resto de *Hyphomycetes*, (d) *Scenedesmus falcatus*, (e) *Cosmarium formosulum*, (f) orden *Zygnematales*, (g) *Navicula* sp.



Figura 11: *Hydra* y diferentes invertebrados presa. (a) y (b) restos de *A. robustus*, (c) y (g) *Alonella* sp., (d) dos ejemplares de *Daphnia* sp., (e) pólipo ingiriendo un quironómido y (f) quironómido casi completo.

Cálculo de cnidocistos en tentáculos de hidra

La Figura 13 muestra en detalle los tentáculos de *Hydra vulgaris* fotografiados al Microscopio Electrónico de Barrido (MEB).

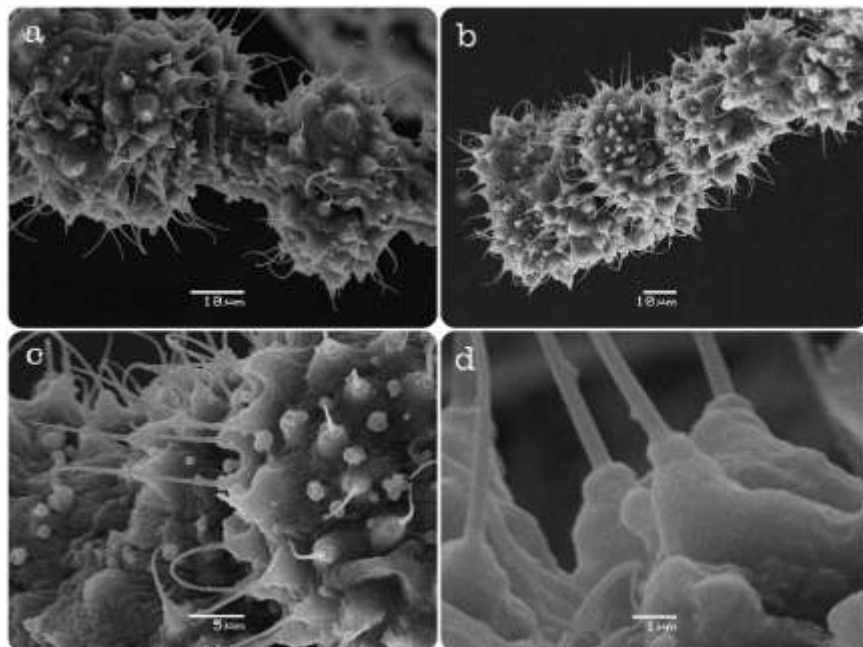


Figura 13: tentáculos de *Hydra vulgaris* observados al MEB. (a) en estado estirado. Se observan dos paquetes de baterías contiguas, (b) en estado relajado. Se observan los paquetes de baterías encimados unos sobre otros, (c) superficie tentacular con los cnidocil apuntando hacia el exterior y (d) detalle de cnidocil.

La Tabla 8 muestra los resultados del conteo de cnidocistos en los tentáculos de cada pólipo analizado.

De los valores totales calculados se desprenden las siguientes proporciones: el 83% son desmonemes, el 11% son atricos isorrizas y el 6% son estenoteles.

Tabla 8: Cantidades totales y cantidades promedio de cada tipo de cnidocisto en las especies *Hydra vulgaris*, *Hydra vulgaris pedunculata* e *Hydra viridissima*. Indiv: individuo.

Indiv	Especie	Nº Tentáculos	Estenoteles	Desmonemes	Atricos isorriza	Nematocistos totales
1		7	2606	39090	5212	46908
2		7	1151	17272	2303	20727
3		5	548	8225	1097	9870
4		5	654	9812	1308	11775
5		6	1951	29264	3902	35116
6	<i>Hydra</i>	6	1841	27619	3682	33142
7	<i>Vulgaris</i>	7	1154	17474	2329	20969
8		7	1226	18384	2451	22060
9		5	1202	18037	2405	21645
10		6	1443	21645	2886	25974
11		6	1835	27532	3670	33038
12		5	439	6580	877	7896
Cantidad promedio			1339	20078	2677	24093
1	<i>Hydra</i>	6	1708	25627	3417	30753
2	<i>vulgaris</i>	6	1183	17749	2366	21298
3	<i>pedunculata</i>	6	1708	25627	3417	30753
Cantidad promedio			1533	23001	3067	27601
1		6	2459	36883	4918	44259
2	<i>Hydra</i>	7	667	10000	1333	12000
3	<i>Viridissima</i>	7	714	10707	1428	12848
Cantidad promedio			1280	19196	2560	23036
Cantidad Promedio Total			1361	20418	2722	24502

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

A pesar de tener una amplia distribución geográfica (Jankowski *et al.*, 2008), el género *Hydra* ha recibido poca atención en estudios de ecología. La mayoría de los trabajos indagan en aspectos de la bioquímica, biología celular, genética y regeneración (Rivera de la Parra *et al.*, 2016).

Pocos estudios se concentran en la ecología trófica y en la mayoría de ellos, se muestran resultados experimentales de la alimentación de las hidras sobre diversos invertebrados como cladóceros, ostrácodos, copépodos y larvas de insectos. Estos estudios han demostrado la supremacía de estos organismos como depredadores y las posibles repercusiones de su predación en la estructuración de las comunidades zooplanctónicas. Otros resultados demuestran la selectividad de presas y la eficacia de los nematocistos como herramientas de captura (Bode & Flick, 1976; Kaliszewicz, 2013; Massaro *et al.*, 2013; Rivera de la Parra *et al.* 2016; Schwartz *et al.*, 1983).

Todos esos estudios se han realizado en laboratorios y bajo condiciones controladas. En los hábitats naturales, casi nunca se cumplen estas condiciones. Los diferentes parámetros a menudo se combinan de manera diferente en la naturaleza, o cambian a lo largo del día, lo que afecta el comportamiento alimenticio de los organismos.

Los resultados aquí expresados muestran la dieta real del género *Hydra* inmediatamente después de ser recogida de su hábitat natural. De hecho, el descubrimiento de organismos del fitoplancton en las cavidades gástricas revelan la entrada pasiva de algunos componentes presentes en las aguas circundantes, incluso dominando los valores de la mayoría de los parámetros tróficos.

Para estos ítems, principalmente diatomeas, clorofitas y hongos, es incierto el futuro en el interior de los celenterones. Es casi desconocido si la digestión de estos organismos es posible y, si esto sucede, cual podría ser su contribución nutricional.

Claybrook (1961) estudió el potencial relativo de algunos suplementos naturales para promover el crecimiento en hidras. Para esto utilizó como parámetro de crecimiento la capacidad y velocidad de brotación de los ejemplares. Este ensayo se realizó mediante un micro-inyector con el cual se forzó la alimentación de las hidras. Los suplementos suministrados consistieron en homogenatos de bovinos y de ratón, tanto de hígado, como de riñón y corazón, además de extractos de embriones de pollo, *Escherichia coli*, *Chlorella ellipsoidea* y de levadura seca. Los homogenatos animales y la levadura seca producen actividades de crecimiento máximas, *E. coli* un 60% de actividad y un 40% para *C. ellipsoidea*.

En el hidrozoo marino *Tubularia crocea*, el estudio detallado de la composición de presas capturadas, también revela la presencia de diversas especies de diatomeas y algas. Durante el invierno, estas diatomeas son el único recurso alimenticio que finalmente le permite a los pólipos, sobrevivir dichos períodos desfavorables (Genzano, 2005).

Además, otros pólipos de cnidarios como algunas especies de anémonas de mar poseen enzimas que pueden digerir las paredes celulares y algunos productos de almacenamiento de ciertas microalgas (Shick, 1991).

Estos resultados indican la posible utilización de organismos ocasionales fuera del reino animal como componentes nutricionales menores en la dieta de un pólipo hidra.

Los cnidarios son conocidos por alimentarse de la siguiente manera: (1) una presa toca los tentáculos y es capturado por los cnidocistos; (2) luego de la captura, los tentáculos se contraen hacia la boca y la boca se abre; y (3) la comida en contacto con la boca se introduce en la cavidad del cuerpo donde finalmente se digiere (Lenhoff, 1968). Este mecanismo se inicia cuando el glutatión, sustancia presente en muchos invertebrados, activa el reflejo de la alimentación (Lenhoff, 1961).

Como puede suponerse, otros ítems pueden ser incorporados al celenterón simplemente cuando la boca se encuentra abierta, mediante la entrada de una cierta cantidad de agua (la cual incluye gran variedad de organismos del zoo y fitoplancton). Algunos de estos organismos además, se encuentran unidos a los exoesqueletos de los invertebrados e ingresan al interior de las hidras, cuando el invertebrado en cuestión, se convierte en su presa (Figura 11 (e)). La aparición de estructuras particulares, como los *Hyphomycetes* y algunas otras formas no identificadas (N1 a N7), es otro indicativo de la entrada pasiva de ítems al celenterón de los pólipos.

La contribución volumétrica de los invertebrados como fuente de alimento se representa en las figuras 4 a 7. A pesar de los valores más bajos de abundancia, éstos ocupan grandes volúmenes, incluso sobrepasando el volumen total del pólipo que lo ingirió, demostrando la plasticidad tisular de estos organismos y la eficacia de los cnidocistos en la estrategia de captura sobre presas de gran tamaño (Tabla 7).

El conteo de cnidocistos en los tentáculos, por otro lado, revela la cantidad de “herramientas” que tiene disponibles una hidra a la hora de capturar una presa.

Los resultados aquí presentados, guardan gran similitud con los obtenidos por Bode & Flick (1976) para la especie *H. attenuata* (= *H. vulgaris*). Este autor reporta las siguientes proporciones sobre el total de cnidocistos contabilizados en los tentáculos: 82% de desmonemes, 11% de atricos isorrizas, 5% de estenoteles y 2% de holotricos isorrizas (los

resultados aquí obtenidos fueron de 83%, 11% y 6% para cada tipo respectivamente). Sin embargo, en el estudio realizado por ambos autores, se cuentan los holotricos isorrizas. En nuestros cálculos este tipo de nematocisto no ha sido contabilizado, ya que no existe en la bibliografía, un número particular referido a una batería. Aparentemente, su presencia no está asociada a esta estructura, lo que supone una presencia irregular en los tentáculos de hidra. La metodología aplicada por Bode & Flick (1976), permite que este tipo sea contado y es por eso que, a pesar de poseer una proporción pequeña, están incluidos en los valores totales para un pólipo.

Beckmann (2013) describe en una batería, la presencia de uno o dos estenoteles centrales, un anillo de desmonemes y algunos isorrizas, sin especificar en estos últimos, a que tipos se refiere y sin dar un número para cada tipo de cnidocisto.

Por otro lado, en los *squash* aquí realizados para la medición de cnidocistos (Capítulo IV), son pocos los holotricos isorriza que pueden observarse en los tentáculos, mezclados entre los restantes tipos. En contraste, si resultan fácilmente identificables en la columna. Esta observación parece acordar con la de otros estudios (Hobmayer *et al.*, 1990; Kass-Simon & Scapaticci, 2002) donde este tipo no es particularmente tenido en cuenta (probablemente por la ausencia de función en mecanismos alimenticios).

El hecho de que casi la totalidad de los cnidocistos (97%) se encuentren localizados en los tentáculos (Bode y Flick, 1976), explica en parte la eficacia de estos organismos como predadores. No resulta sorprendente entonces que, cuando otras características están dadas, resulte casi imposible que una presa pueda escapar de ser ingerido una vez que toma contacto con el tentáculo de una hidra.

Además, considerando que los cnidocistos perdidos se reponen mediante cnidogénesis en un lapso de tiempo muy corto (Campbell, 1988), el pólipo queda completamente armado poco tiempo después de haber perdido parte de su dotación en la captura de una presa.

CAPÍTULO VI: REPRODUCCIÓN Y DISTRIBUCIÓN ESPACIAL

INTRODUCCIÓN

Reproducción

Los cnidarios, y los hidrozooos en particular, se caracterizan por una sucesión más o menos regular de fases sexuales y asexuales en su historia de vida. Este ciclo de vida heterogénico ha sido bien estudiado en los pólipos de hidra (Bell & Wolfe, 1984).

En este género, el modo más usual de reproducción es asexual por brotación, donde la descendencia es genéticamente idéntica a la de su parental (Kanaev, 1952; Sersig & Lesh-Laurie, 1981). Sin embargo el género también exhibe varias estrategias reproductivas sexuales; algunas especies son hermafroditas secuenciales o simultaneas y otras son gonocóricas (Kanaev, 1952).

El cambio de estrategia reproductiva puede ser causado por cambios de temperatura, pH, disponibilidad de alimento, intensidad lumínica y fotoperíodo, entre otras. No siempre un cambio de condición tiene injerencia sobre estos aspectos; muchas veces las combinaciones de ciertos factores son los que finalmente inducen la aparición de gónadas (Fukuhori *et al.*, 2005; Habetha *et al.*, 2003; Loomis, 1964; Nussbaum, 1909; Rutherford *et al.*, 1965). Estos cambios pueden afectar: (1) el número y tamaño de la descendencia, (2) la producción de huevos, (3) la duración del período de reproducción, (4) la predominancia de un tipo reproductivo y (5) la proporción de los sexos (Clark & Clark, 1987; Korpelainen, 1990; Sasvári & Nishiumi, 2005).

Para el caso de las especies aquí estudiadas, es una generalidad que *H. viridissima* e *H. vulgaris* pueden ser tanto hermafroditas como gonocóricas (Pallas, 1766; Stagni, 1966). Incluso, *H. viridissima* difiere del resto de las especies con respecto a la interferencia de estadios sexuales y asexuales, ya que la aparición de las gónadas no interrumpe el desarrollo de los brotes incipientes (Burnett & Diehl, 1964). Curiosamente además, grandes individuos desarrollan ovarios y testículos, mientras que los individuos pequeños, solo desarrollan testículos (Whitney, 1907). Las hembras han sido reportadas como el sexo marginal y facultativo de la especie (Stagni, 1966).

Deserti & Zamponi (2011) reportan que *H. vulgaris* hallada en laguna Los Padres es gonocórica, a partir del hallazgo de ovarios y testículos en individuos separados. Para la especie *H. vulgaris pedunculata* (Deserti *et al.* 2011) del mismo cuerpo de agua, no reportan estructuras sexuales.

Este capítulo indaga en algunas cuestiones reproductivas a partir de los hallazgos de individuos asexuales y sexualmente maduros.

Distribución espacial y selección del sustrato

Poco se conoce a ciencia cierta sobre la distribución espacial de las hidras en los ambientes acuáticos. Parte de este desconocimiento surge de la falta de experimentos orientados a desentrañar dicho problema y de la dificultad que supone la observación directa de los animales en su estado natural.

En los ambientes aquí estudiados uno de los problemas que imposibilita dicha observación es la transparencia del agua. El acondicionamiento de especímenes en acuarios con agua propia del ambiente hace imposible relevar dichos datos, a menos que se fraccionen los sustratos y se observen bajo lupa. Obviamente este procedimiento provoca una gran reducción del campo de estudio y conlleva muchas veces a la separación de los ejemplares que no pueden analizarse en todo su conjunto.

La mayoría de las hidras en la naturaleza surgen como brotes de otras hidras (Lomnicki & Slobodkin, 1966) y además, prefieren habitar zonas de aguas tranquilas (Campbell, 1983). Esta estrategia reproductiva, junto a estos hábitats estacionados, genera gran cantidad de individuos que se desprenden y quedan adheridos al sustrato, muy cercanos al parental. Esto provoca grandes densidades poblacionales; por ejemplo en el bentos del Río Volga (Rusia) han sido hallados de 8.000 a 10.000 individuos por metro cuadrado (Zamponi, 1991). Cuando una hidra se mueve lejos de las agregaciones, quizá escape de la inanición que supone la aglomeración de sus congéneres y esto le permita además, aumentar su probabilidad de supervivencia y reproducción (Lomnicki & Slobodkin, 1966).

Griffing (1965) observó que las agregaciones de *H. oligactis* e *H. pseudoligactis* cambiaban su densidad, tamaño y ubicación dentro del lago Pickerel (Michigan), muy rápidamente. Teniendo en cuenta que este ambiente carece de corrientes internas o vertidos de aguas, dichos cambios poblacionales ocurrían demasiado rápido como para ser adjudicados a procesos reproductivos o a movimientos por “saltos”. Lomnicki & Slobodkin (1966) demuestran que estos grandes movimientos pueden realizarse mediante la producción de una burbuja de gas en su disco basal que les permite subir en la columna de agua y colgarse de la película superficial, sobre todo en aguas tranquilas o si se hallan adheridas a vegetación sumergida. Al acceder a zonas más superficiales, quedan expuestas al movimiento del agua provocada por el viento y por tanto, pueden ser transportadas a zonas más lejanas.

Como puede verse, las distribuciones parecen no ser fijas (a pesar del sedentarismo de los pólipos) y dependen, en parte, del comportamiento de las hidras.

Por otro lado, las hidras suelen adherirse a gran diversidad de sustratos, que incluyen diferentes especies vegetales de las carpetas flotantes y sumergidas y otras tantas superficies naturales o artificiales a los cuales puedan adherirse (rocas, tallos y hojas muertas, plásticos, etc).

Además de la reproducción en este capítulo se informan algunas observaciones con respecto a los cultivos en los acuarios de laboratorio y en relación a la selección de los sustratos vegetales recolectados en cada laguna.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ejemplares con brotes presentes fueron contabilizados, sus brotes medidos y tipificados y con dichos datos se calcularon los siguientes parámetros:

- **Budding Ratio** * (proporción brotación) = *tamaño brote/tamaño parental*

* Los tamaños se calculan como la superficie lateral del cilindro. La metodología se sigue según Kaliszewicz (2011).

- **Porcentaje de Brotación (%)** = $(N^{\circ} \text{ hidras brotadas} * 100) / N^{\circ} \text{ hidras totales}$

- **Porcentaje de machos totales (%)** = $(N^{\circ} \text{ hidras machos} * 100) / N^{\circ} \text{ hidras totales}$

- **Porcentaje de hembras totales (%)** = $(N^{\circ} \text{ hidras hembras} * 100) / N^{\circ} \text{ hidras totales}$

- **Porcentaje de machos (%)** = $(N^{\circ} \text{ hidras machos} * 100) / N^{\circ} \text{ hidras maduras sexualmente}$

- **Porcentaje de hembras (%)** = $(N^{\circ} \text{ hidras hembras} * 100) / N^{\circ} \text{ hidras maduras sexualmente}$

- **Test de Correlación de Spearman (r_s)**: para evaluar la relación entre el tamaño de los individuos con respecto a la cantidad de brotes, de testículos y de ovarios.

- **Test de Mann-Whitney**: para comparar los porcentajes de brotación y los pares de *budding ratio* entre especies.

RESULTADOS

Reproducción

En la Tabla 1 se listan los valores de *budding ratio* y los porcentajes de brotación para la totalidad de las especies agrupadas por lagunas, además de los porcentajes de machos y hembras para la especie *H. vulgaris*. Se analizaron un total de 143 ejemplares de *H. vulgaris*, 31 de *H. vulgaris pedunculata* y 10 de *H. viridissima*.

Tabla 1: *Budding ratio* y porcentajes de brotación, de machos y de hembras para las especies *H. vulgaris*, *H. vulgaris pedunculata* e *H. viridissima* para las lagunas La Brava, Los Padres y Nahuel Rucá.

Laguna	Especie	<i>Budding Ratio</i>	% brotación	% machos	% hembras
La Brava	<i>H. vulgaris</i>	0.008	16.7	8.5	8.3
Los Padres	<i>H. vulgaris</i>	0.306	17.1	0	0
	<i>H. vulgaris pedunculata</i>	0.118	37.5		
Nahuel Rucá	<i>H. vulgaris</i>	0.107	15.9	1.76	0
	<i>H. vulgaris pedunculata</i>	0.108	13		
	<i>H. viridissima</i>	0.011	20		

Cuando analizamos los valores totales de *budding ratio* agrupados por especie, vemos que las marrones tienen valores casi idénticos, 0,115 y 0,113 respectivamente. *H. viridissima* se aleja con un valor de 0,01. Esta variable se distribuye de manera normal ($p = 0.0026$). El análisis de ANOVA arrojó un valor $p = 0.725$ por lo que se acepta la hipótesis nula de no existencia de diferencias significativas de la variable *budding ratio* entre especies.

Los valores totales de % de brotación para las tres especies en cada laguna se muestran en la Figura 1. Los valores totales para la especie *H. viridissima* concuerdan con los citados en la Tabla 1 ya que solo en Nahuel Rucá la especie apareció brotada.

Los porcentajes de machos y hembras obtenidos sobre el total de individuos recolectados para la especie *H. vulgaris* son de 2,1 y 0,7, respectivamente (Figura 1).

La Figura 2 muestra las estructuras sexuales (ovarios y testículos) hallados para *H. vulgaris* en La Brava y Nahuel Rucá.

En relación a la totalidad de individuos maduros sexualmente, un 75 % corresponde al sexo masculino y un 25 % al femenino. La aparición de estas estructuras se produjo durante el

invierno 2013 para La Brava y durante el invierno 2014 para Nahuel Rucá y en individuos separados, por lo que la especie sería gonocórica.

Para las especies *H. vulgaris pedunculata* e *H. viridissima* no se reportaron estructuras sexuales.

Los valores de correlación arrojados por el test de Spearman se listan en la Tabla 2.

Especie	r_s		
	Tamaño individuo vs cantidad de brotes	Tamaño individuo vs cantidad de testes	Tamaño individuo vs cantidad de ovarios
<i>H. vulgaris</i>	0.17	0.19	0.13
<i>H. vulgaris pedunculata</i>	0.28	-	-
<i>H. viridissima</i>	0.23	-	-

Tabla 2: Coeficientes de correlación de Spearman (r_s) para el tamaño de los individuos *H. vulgaris*, *H. vulgaris pedunculata* e *H. viridissima* en relación a la cantidad de brotes, de machos y de hembras.

Distribución espacial

Con respecto a la distribución espacial, no se ha detectado ningún patrón particular. Sólo ha podido observarse que los ejemplares se agrupan en relación a la caída de los jóvenes brotes y es por ello que pueden encontrarse varios individuos juntos en un área de sustrato muy reducida. En los acuarios de cultivo suelen hallarse pólipos en toda la columna de agua (flotando o suspendidas de la película superficial) y adheridas a los sustratos vegetales recolectados, paredes y piso de vidrio. Para el caso de *H. viridis*, suelen hallarse en zonas cercanas a la superficie y a las paredes del acuario. Tanto para las especies verdes como marrones, estas se ubican opuestas a la zona de corriente generada por los aireadores. Incluso, si la fuente de aire se cambia de lugar, en algunas horas, los pólipos se trasladan a zonas opuestas (esto sucede tantas veces como se cambie de lugar el aireador).

Selección de sustratos

En cuanto a la selección de sustrato, se observó una preferencia por la especie *Ceratophyllum demersum*, una macrófita sumergida. Le siguen *Ricciocarpus natans*, *Hydrocotyle ranunculoides* y *Ludwigia uruguayensis* de la carpeta flotante; *Potamogeton striatum*, de la carpeta sumergida y por último en el agua circundante de la palustre *Schoenoplectus californicus*.

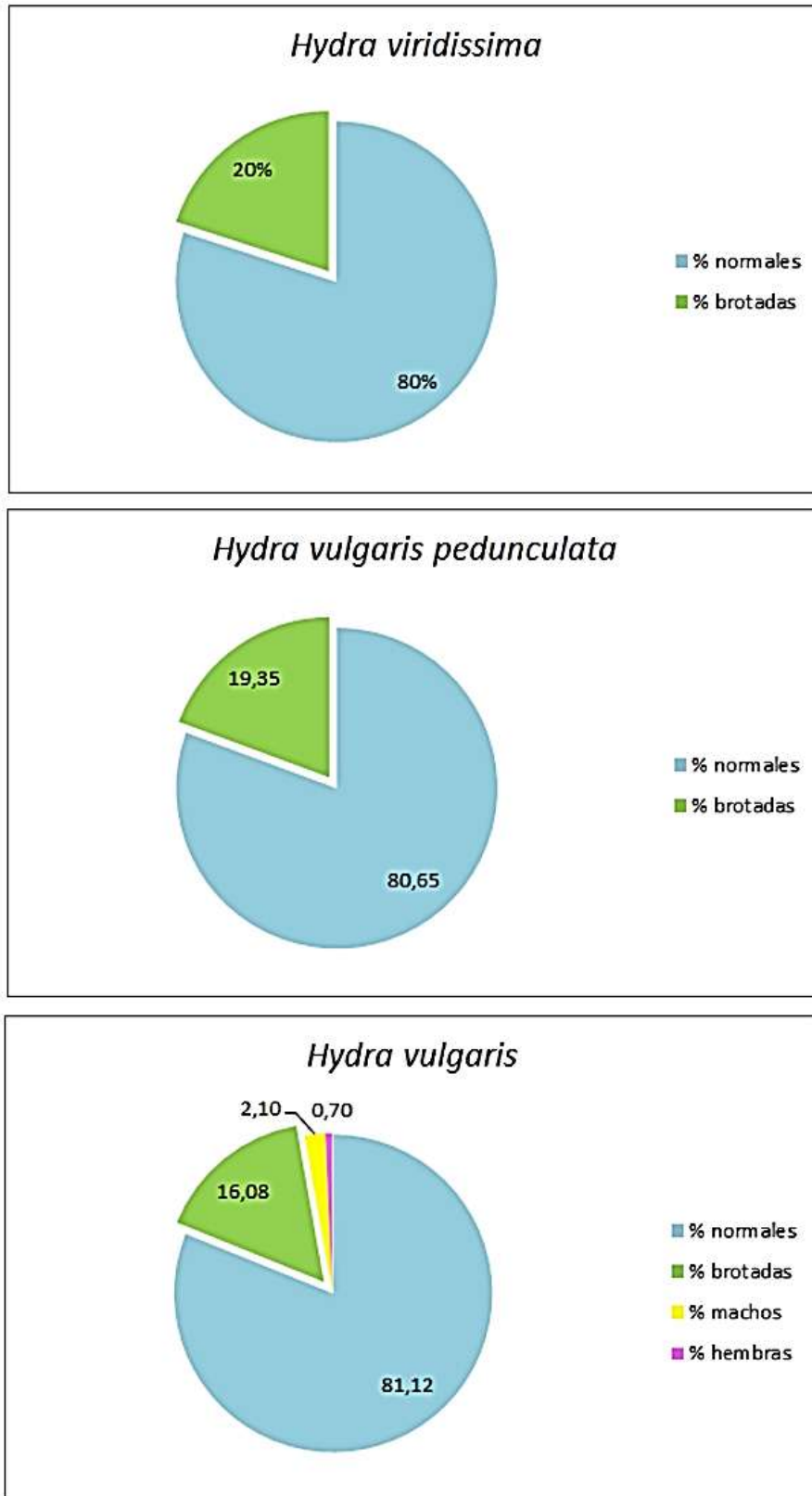


Figura 1: Gráficos de torta para los porcentajes de individuos normales, brotados y de machos y hembras para cada especie analizada.



Figura 2: Estructuras sexuales de *Hydra vulgaris*. (a) pólipo con desarrollo temprano del ovario y por debajo de este un pequeño brote, (b) mismo pólipo de la imagen anterior, sin brote y con el ovario totalmente desarrollado, (c) detalle del ovario, (d) testículos debajo de la corona tentacular y (e) testículos. Las figuras (a), (b), (c) y (d) pertenecen a pólipos recolectados en La Brava y (e) en Nahuel Rucá.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Como puede observarse, los resultados de porcentaje de brotación por especie por laguna son bajos, menores al 40% (Tabla 1). Esto indica que más de la mitad de los especímenes recolectados no presentaron brotes. Al analizar estos valores en su totalidad (agrupados por especie), sucede lo mismo, no superan el 20% (Figura 1).

El análisis de ANOVA para los valores de *budding ratio* por especies no nos permite afirmar que aquellas de mayor tamaño (como *H. vulgaris* e *H. vulgaris pedunculata*) generan brotes más grandes, en comparación con las especies morfológicamente más pequeñas, como *H. viridissima* (Kaliszewicz & Lipinska, 2013).

En relación a los sexos de la especie *H. vulgaris*, sólo en La Brava y Nahuel Rucá los pólipos desarrollaron estructuras reproductivas y sólo en La Brava se hallaron hembras. Los valores de porcentaje de sexos por laguna y totales fueron inferiores a los valores de porcentaje de brotación. Estos datos indican que para *H. vulgaris* la reproducción asexual es la principal estrategia reproductiva empleada.

Kaliszewicz & Lipinska (2013) comprueban que para la especie *H. vulgaris*, tanto el incremento como el descenso de temperatura inducen la aparición de estructuras sexuales (de 21°C a 25°C y de 21°C a 9°C). Esto concuerda con nuestro hallazgo, ya que los individuos sexualmente maduros fueron recolectados en épocas invernales, para ambas lagunas. Sin embargo, reportan que el incremento de temperatura induce la aparición de machos, mientras que el descenso, la aparición de hembras. En este punto, difiere de nuestro reporte, ya que tanto hembras como machos fueron recolectados en el mismo muestreo bajo las mismas condiciones ambientales.

Es importante destacar, que los mismos autores comprueban que dicho fenómeno no ocurre para la especie *H. viridissima*, que solo responde al incremento de temperatura.

En cuanto a la proporción de sexos en individuos sexualmente maduros, las hembras obtuvieron un menor porcentaje en comparación a los machos, indicando que el sexo femenino sería el menos frecuente. Este resultado concuerda con estudios previos que indican que las hembras necesitan periodos más largos de condiciones inductivas del desarrollo gonadal y que además son las más sensibles a la mortalidad (Kaliszewicz, 2011; Stagni, 1966; Whitney, 1907). Esta mortalidad sesgada por el sexo también ha sido reportada en otros invertebrados y vertebrados (Moore, 1987; Müller *et al.*, 2005; Zuk & McKean, 1996).

La ausencia de estructuras sexuales en las especies restantes podría usarse como dato a favor de una estrategia reproductiva asexual principal, al igual que en *H. vulgaris*. Esta

condición estratégica ya ha sido reportada en otros estudios previos (Kaliszewicz, 2011; Kaliszewics & Lipinska, 2013; Kanaev, 1952), sin embargo resulta importante continuar con los estudios de esta índole para poder confirmar dicha teoría.

Los coeficientes de correlación de Spearman entre el tamaño de los individuos versus la cantidad de brotes, de machos y de hembras, fueron todos positivos. Es decir, pólipos más grandes presentan mayor cantidad de estructuras reproductivas (en el 100% de los casos). A pesar de esto, los valores fueron bajos, por debajo de 0.50, por lo cual la correlación no sería lo suficientemente fuerte. Valores menores a 0.50 también se reportan para la especie *H. viridissima* entre el tamaño del individuo y la cantidad de brotes ($r_s = 0.34$) y entre el tamaño del individuo y la cantidad de testículos ($r_s = 0.32$) (Kaliszewicz, 2011).

Analizando los beneficios de las estrategias reproductivas, parece claro que la asexualidad supone ventajas inmediatas por sobre la sexualidad, en todas las especies del género *Hydra*. Está claro que la brotación aumenta el número de individuos con gran rapidez permitiéndole a la especie aumentar su dominancia dentro de los ambientes.

También es conocido que, al igual que los cambios de temperatura (Brien & Reniers-Decoen, 1950; Burnett & Diehl, 1964; Itô, 1954), otras condiciones desfavorables (temperaturas extremas o inanición, por ejemplo), o combinaciones de ellas, favorecen la aparición de gónadas (Fukuhori, *et al.*, 2005; Habetha *et al.*, 2003; Loomis, 1964; Nussbaum, 1909; Rutherford *et al.*, 1965), aun cuando el desarrollo de estas estructuras supone siempre un mayor gasto energético (Kaliszewicz, 2011).

Sin embargo, y aunque es la menos frecuente, la reproducción sexual aún se conserva y se manifiesta cuando los cambios del ambiente suponen la búsqueda de individuos mejores adaptados a los vaivenes de la naturaleza. Este concepto es bien explicado por Van Valen (1973) en su “Ley de Extinción”. Aquí plantea la hipótesis evolucionista de la Reina Roja, donde explica la necesaria y continua mejora de una especie, solo para mantener el *status quo* con su entorno, que co-evoluciona con ella. Así explica, no solo la ventaja de mantener una reproducción sexual, sino también la constante “carrera armamentista” entre especies (predadores y presas, por ejemplo) y las relaciones simbióticas y parasitarias. El nombre de la hipótesis hace referencia al cuento de Lewis Carrol, “Alicia a través del espejo” donde la protagonista y la Reina Roja corren juntas, pero sus alrededores no cambian.

Las preferencias de sustratos pueden estar relacionadas con la rigidez de las diferentes estructuras vegetales. Para el caso particular de las dos especies sumergidas, *C. demersum* y *P. striatum*, es clara la preferencia de los pólipos sobre la primer especie citada. Las características

vegetales de ambas difieren mucho. Mientras *C. demersum* presenta estructuras más firmes y ramificadas (llamada vulgarmente “cola de zorro”), *P. striatum* (“pasto de agua”) es delgada y blanda, característica que la convierte en un sustrato poco rígido.

Para las especies flotantes, deben considerarse ciertos factores. En primer lugar, el movimiento de este sustrato como resultado de la acción del viento. Segundo, la fauna asociada a dicha vegetación, como el holo y hemipleuston principalmente, formados por gran diversidad de organismos como anélidos, moluscos, crustáceos, dípteros, etc (Ronderos *et al.*, 1966, 1968). Estos organismos no solo pueden competir por el alimento, sino predar sobre los pólipos de hidra.

En el caso de la palustre *S. californicus*, cabe aclarar que los pólipos de hidra pueden hallarse en su agua circundante. Se hace dicha aclaración, ya que a pesar de que la recolección de juncos suele ser una buena fuente para la colecta de hidras, éstas nunca se encuentran adheridas a sus tallos. El grosor de la comunidad perifítica, pareciera impedir la adherencia de los pólipos mediante su disco basal. Sin embargo, es probable que la riqueza fito y zooplanctónica de dicha comunidad (Esquius *et al.*, 2010; Esquius & Escalante, 2012) conviertan a sus alrededores en fuente de abundante alimento (Zamponi & Deserti, 2009).

Cabe destacar que la extracción y presencia de todos los sustratos vegetales aquí mencionados, se encuentra sujeta a ciertos factores ambientales y características del cuerpo de agua. Muchas veces, aunque las especies vegetales se encuentren presentes, la profundidad de la laguna nos impide llegar a ellas (como suele ser el caso para *C. demersum* y *P. striatum*). Otras, como las flotantes, suelen estar ausentes o encontrarse aguas adentro por la acción del viento, lo que también dificulta su recolección. El sustrato más accesible para su extracción son los juncos (*S. californicus*), que se encuentran bordeando las zonas costeras de las tres lagunas; por lo antes mencionado, es la comunidad que menos pólipos de hidra presenta.

CAPÍTULO VII: ASOCIACIONES

INTRODUCCIÓN

Dentro de cada ecosistema, los organismos y poblaciones mantienen un complejo conjunto de relaciones con los demás individuos de su propia especie o con otras. Estas interacciones que pueden resultar favorables o no, determinan entre otras cosas, el área de distribución de los organismos además de desempeñar un papel fundamental en su evolución. Es así, que muchas de estas relaciones o asociaciones condicionan el comportamiento animal generando, en algunos casos, una interdependencia altamente específica.

Para el caso particular del género *Hydra*, la asociación por excelencia es la endosimbiosis con algas del género *Chlorella* y especies del grupo *viridis*. De hecho, esta asociación, es la que determina el grupo como tal (al que se refiere vulgarmente como el grupo de las “hidras verdes”).

Esta asociación inter específica se define como una interacción activa (Huss *et al.*, 1993/94). Ha sido ampliamente estudiada por décadas, ya que no solo provee una visión de las herramientas básicas que los organismos necesitan para establecer interacciones simbióticas, sino que además arroja información relevante para comprender los resultados evolutivos de estos procesos de selección (Muscatine & Lenhoff, 1963, 1965a, b; Pool, 1979; Thorington & Margulis, 1981; O'Brien, 1982). Muscatine *et al.* (1975) sugieren que su éxito reside en el “muy específico reconocimiento que se produce entre el alga y la hidra”, siendo típicamente, una asociación mutualista (Kovačević *et al.*, 2010).

Hasta el momento, solo el género *Chlorella*, de origen simbiótico o de vida libre, ha sido reportado como simbiote de las hidras verdes (Park *et al.*, 1967; Muscatine *et al.*, 1975; Jolley & Smith, 1980; Rahat & Reich, 1984, 1985). Estas pueden ingresar a los pólipos a partir de la ingesta de zooplancton herbívoro (Rahat, 1985).

Las algas están localizadas en las células del endodermo; usualmente, una célula endodermal contiene de 20 a 40 algas y cada alga se encuentra encerrada en una membrana vacuolar individual (Habetha *et al.*, 2003).

Los simbioses fotosintéticos encuentran en las hidras protección contra la luz excesiva y hacen uso de los metabolitos producidos por su hospedador (dióxido de carbono, fosfatos, nitratos y sulfatos). Por su parte le proveen al pólipo nutrientes en forma de maltosa (principalmente) o glucosa – 6 – fosfato, permitiéndoles sobrevivir grandes periodos de inanición (Lenhoff & Muscatine, 1963; Muscatine, 1965; Roffman & Lenhoff, 1969; Cook &

Kelty, 1982; Huss *et al.*, 1993/94). Se asume que la maltosa se transloca al hospedador por las algas *in vivo* y sirve como suplemento nutricional para el anfitrión durante períodos de inanición (Pardy, 1974). Cuando la iluminación es la adecuada, pueden vivir durante meses sin alimentarse, mucho más que sus homólogos aposimbóticos o especies no simbióticas (Thorington & Margulis, 1981).

La proliferación del simbionte y del hospedador está estrechamente correlacionada (McAuley, 1981, 1985). Asexualmente, los brotes de hidra heredan clórelas transferidas por su parental (Pool & Muscatine, 1980). Durante la reproducción sexual, las clórelas se translocan al ovocito, dando lugar a una nueva población simbiote en el embrión, lo que garantiza su transmisión de generación en generación (Campbell, 1990). Curiosamente, la presencia de las algas simbióticas tiene un gran impacto en la reproducción sexual del pólipo, ya que favorece la oogénesis pero no la espermatogénesis (Habetha *et al.*, 2003; Habetha and Bosch, 2005). Por su parte, la proliferación de las clórelas y su patrón de distribución, se ven afectadas por la luz continua, la oscuridad y la alimentación del hospedador (Pardy, 1974).

Otras interacciones que suelen ser comunes en hidra, son las epizoicas. Las observaciones sobre ciliados asociados a las hidras son tan antiguas como el descubrimiento del mismo pólipo (Trembley, 1744; Rösel von Rosenhof, 1755; Ehrenberg, 1838; Stein, 1854, 1859). Las dos más conocidas son la que mantienen con *Kerona pediculus* y *Trichodina pediculus* (Ehrenberg, 1838). Ambos protozoos, parecen no dañar los pólipos incluso cuando están presentes en grandes cantidades (Cavallini, 1930; Coleman, 1966). Cabe destacar que en dicha interacción no se descargan los nematocistos. Los ciliados obtienen comida mediante el filtrado de las partículas del agua (bacteria, flagelados, diatomeas). *K. pediculus* también puede recoger material de la superficie del pólipo (bacterias, detrito, nematocistos descargados).

Un caso distinto es el de la ameba *Hydramoeba hydroxena*, que ocupa la superficie tentacular de los pólipos, pero a diferencia de los ciliados, produce un detrimento en la salud de su hospedador, ya que suele alimentarse de sus tejidos y en ocasiones causa epidemias mortales (Stiven, 1964, 1971; Page & Robson, 1983; Page, 1991).

Esta interacción ha generado opiniones encontradas; Entz (1912) y Wermel (1925) acuerdan en que *Hydramoeba* es un comensal y no un parásito. Sin embargo, Reynolds & Looper (1928) y Maxwell (1969) presentan evidencias a favor de que dicha ameba es un parásito patogénico en *Pelmatohydra oligactis* e *Hydra graysoni* respectivamente.

Itô (1949, 1950) por su parte, describe una relación parasítica similar para *H. magnipapillata* e *H. japonica*, encontrando cuatro diferentes formas corporales para las amebas

bajo diferentes condiciones. Este último autor las considera como parásitos facultativos, al igual que Stiven (1964), ya que pueden mantenerse libres del hospedador.

Otra relación reportada es la parasitosis por microsporidios. A diferencia de lo que provocan en otros organismos, no es fatal para los pólipos ni interfiere con su normal reproducción asexual. Si bien no provocan un estado de depresión, las hidras se muestran más pequeñas y más pálidas cuando están infectadas por especies del género *Plistophora* (Spangenberg & Claybrook, 1961).

En lo que respecta a las relaciones foréticas, existe un solo reporte que describe la adherencia de un pólipo hidra al dorso de una ninfa del odonato *Calopterix* sp. Este inusual hallazgo, fue descrito por Shull *et al.*, (2012) y aunque la naturaleza y permanencia de la relación es aún incierta, es posible que el pólipo se beneficie al reducir la competencia intra específica por el alimento, además de reducir el gasto de energía asociado al traslado (Doddall & Parker, 1998).

Este capítulo explora ciertas características de dos asociaciones bien observadas en los ejemplares muestreados: la simbiosis en *H. viridissima* y la parasitosis por amebas en *H. vulgaris* e *H. vulgaris pedunculata*.

MATERIALES Y MÉTODOS

Simbiosis Chlorella/Hydra

Los especímenes de *H. viridissima* recolectadas durante otoño del 2013 en las lagunas Los Padres y Nahuel Rucá fueron fotografiadas en estado relajado y se calcularon los siguientes parámetros:

1. *Superficie del pólipo (SP)*: en la fotografías de cada pólipo, se eliminaron los brotes, protuberancias y corona tentacular, utilizando el procesador de imágenes ImageJ (de descarga gratuita en la web). Con los datos arrojados de diámetro y altura, se calculó el área lateral con la ecuación del cilindro (Kaliszewicz, 2011).

2. *Número estimado de clórelas por hidra (nC)*: por pólipo, se midió el diámetro de 30 clórelas y se calculó la superficie promedio de una clórela (SC) utilizando la ecuación de la circunferencia. La superficie del pólipo (SP) se dividió por la superficie de la clórela (SC) y se obtuvo el número total de clórelas (nC) por pólipo ($nC = SP/SC$). Este cálculo supone un 100% de clórelas en los tejidos de hidra, es decir, una superficie del pólipo 100% fotosintética.

3. *Aporte calórico*: para estimar el porcentaje calórico que las clórelas le aportan a un pólipo de hidra durante un día, se utilizaron los siguientes datos bibliográficos:

- 6,32 μ g de proteína por pólipo (valor correspondiente a un individuo cuyo largo de columna promedio es 3 mm (Lenhoff, 1965). Se calculó la proporción de proteína presente en relación a los tamaños de columna (método aplicado por Pardy & White (1977).

- 7,7 μ l de O_2 /mg de proteína por hora (valor estimado para una hidra verde, sin alimentar (sin contenido en el celenterón) y en presencia de luz) (Pardy & Withe, 1977).

- 4,7 Kcal por l O_2 consumido (gasto calórico por hidra) (Kleiber, 1965).

- 1,3 femtomoles de maltosa/clórela por hora (Douglas, 1987).

- 3,8 Kcal por gramo de maltosa (aporte calórico por clórelas).

Ejemplo de cálculo:

Gasto calórico diario por pólipo

$\mu\text{g proteína} \times \text{pólipo} = (0,91 \text{ mm} \times 6,32 \mu\text{g proteína})/3 \text{ mm} = 1,91 \mu\text{g proteína} (0,0019 \text{ mg proteína})$

$\mu\text{l O}_2 \text{ consumidos} \times \text{pólipo} = (0,0019 \text{ mg proteína} \times 7,7 \mu\text{l O}_2 \times \text{h})/1 \text{ mg proteína} (3,54 \times 10^{-7} \text{ litros de O}_2 \times \text{día})$

$\text{Kcal necesarias} \times \text{O}_2 \text{ consumido} = (3,54 \times 10^{-7} \text{ l O}_2 \times \text{día} \times 4,7 \text{ Kcal})/1 \text{ l O}_2 = 1,66 \text{ Kcal} \times 1 \text{ O}_2 (0,0015 \text{ cal por litro de O}_2)$

Aporte calórico diario por clórelas por pólipo

$\text{fmol maltosa total} \times \text{hora} = (19505 \text{ clorelas} \times 1,3 \text{ fmol} \times \text{hora})/1 \text{ clorela} = 25356,5 \text{ fmol maltosa por hidra} \times \text{hora} (2,08 \times 10^{-7} \text{ maltosa} \times \text{hidra} \times \text{día})$

$\text{Kcal por gr maltosa} = (2,08 \times 10^{-7} \text{ maltosa} \times \text{hidra} \times \text{día} \times 3,8 \text{ Kcal})/1 \text{ gr maltosa} (0,00079 \text{ cal} \times \text{hidra} \times \text{día})$

$\text{Aporte calórico de las clórelas} \times \text{hidra} \times \text{día} = (0,00079 \times 100)/0,0017 = \mathbf{47,54\%}$

Parasitosis ameba/Hydra

El descubrimiento de una asociación del tipo de “amebiasis” en hidra surge de la observación, en los *squash*, de estructuras casi esféricas ajenas al pólipo y la asociación de las mismas con ciertas laceraciones anatómicas, que en la mayoría de los casos, produjo la muerte de los ejemplares.

Una muestra de hidras infectadas fue envasada en alcohol 70% y una segunda muestra envasada en solución fisiológica. Este material fue enviado al laboratorio del Dr. Jacob Lorenzo Morales (especialista en amebas del Instituto Universitario de Enfermedades Tropicales y salud Pública de Canarias, Universidad de La Laguna, España). A continuación se listan los materiales utilizados y la metodología aplicada para la detección de amebas.

1. Soluciones, reactivos y buffers

1.1. Kit de PCR AmpONE™ (GeneAll).

1.2. Buffer TAE 50X: Tris-HCl 2 M pH 7,2, EDTA 50 mM pH 8, ácido acético glacial 57.1 ml y H₂O hasta 1 L.

2. Medio de Cultivo

2.1. ANN (Agar No Nutritivo)

- Bacto™ Agar (20 g).

- Agua destilada (1000 ml).

- Autoclavar a 121°C, 25 minutos y vertir 15 ml en placas de Petri para que se solidifique.

3. Extracción de ADN genómico

- Para la identificación molecular de los aislados obtenidos se usó el kit de purificación y extracción de ADN Maxwell® 16 según el manual N° TM284 (Promega). Se introdujeron de 1 a 2 ml del cultivo directamente en los cartuchos del kit, uno para cada muestra, y se colocaron en el dispositivo de extracción. El ADN quedó recogido en las columnas de elución y posteriormente fue cuantificado usando el espectrofotómetro DS-11 DeNovix®. Una vez cuantificadas, las muestras se almacenaron a -20°C.

4. Identificación mediante PCR

- Con el objetivo de clasificar a nivel molecular las amebas encontradas en las diferentes muestras, se realizó la Reacción en Cadena de la Polimerasa o PCR. Estas reacciones de amplificación se realizaron en el termociclador Artik ThermalCycler (Thermo Scientific): para un volumen final de 50 µl se utilizaron 5 pmol de cada cebador, entre 40 y 100 ng de DNA de AVL y 0.25 unidades de Taq polimerasa. Se usaron los siguientes cebadores universales para amebas:

- Amebas de Vida Libre (Tsvetkova *et al.*, 2004)

- Forward: 5´ - CGCGGTAATTCAGCTCCAATAGC - 3´

- Reverse: 3´ - CAGGTTAAGGTCTCGTTCGTTAAC - 5´

- Programa: 2 minutos a 95°C; 40 ciclos de 30 segundos a 95°C, 30 segundos a 50°C y 30 segundos a 72°C; y un ciclo final de 7 minutos a 72°C.

- *Acanthamoeba* spp. (Schroeder *et al.*, 2001)
- Forward: 5´- GGCCCAGATCGTTTACCGTGAA - 3´
- Reverse: 3´- TCTCACAAGCTGCTAGGGAGTCA - 5´
- Programa: 5 minutos a 95°C; 35 ciclos de 30 segundos a 95°C, 30 segundos a 50°C y 30 segundos a 72°C; y un ciclo final de 7 minutos a 72°C.

Los fragmentos de ADN amplificados por PCR fueron separados mediante electroforesis en geles de agarosa sumergidos en buffer TAE 1X, empleando cubetas submarinas de desarrollo horizontal bajo una diferencia de potencial de 5V/cm. Los porcentajes de agarosa oscilaron entre el 0.8 y 2%, dependiendo del tamaño de los fragmentos de ADN a separar. El patrón de peso molecular empleado fue el de 100 pb indicando los fragmentos desde 150 hasta 1500 pb (PCRBIO Ladder IV). Como controles se utilizaron cepas tipo del ATCC.

Las muestras se prepararon añadiendo 1 µl de buffer de carga para ADN por cada 2 µl de muestra de ADN. Para la visualización del ADN, se añadió al gel 0.02 µl de RealSafe (Biotein) por cada ml de gel y se observó a través de un transiluminador de luz UV a una longitud de onda de 260 nm. Las imágenes fueron procesadas mediante el Chemi-Doc con el software ImageLab.

6. Genotipado de los aislados

- La determinación del genotipo de los cultivos de amebas se basó en el análisis de la secuencia del fragmento 18s del ARNr, una región del gen de la subunidad pequeña del ARNr, como ha sido descrito previamente (Booton *et al.*, 2002; Corsaro & Venditti, 2010).

Las condiciones de la PCR para la secuenciación de ADN de las diferentes amebas aisladas siguieron el mismo patrón que aquellos utilizados para su amplificación. La secuenciación fue realizada en el Servicio de Secuenciación de la Universidad de La Laguna y las secuencias obtenidas fueron comparadas con las secuencias disponibles en el GenBank para establecer el género y especie de los nuevos aislados.

RESULTADOS

Simbiosis Chlorella/Hydra

En la Tabla 1 se listan los valores de área de las clorelas para medidas para *Hydra viridissima* recolectada en Los Padres y Nahuel Rucá.

La Tabla 2 muestra la cantidad de calorías consumidas por una hidra por día y el porcentaje aportado por su dotación de clorelas endosimbiontes. Es importante destacar, que los cálculos suponen una superficie ideal, es decir, 100% fotosintética.

El análisis de normalidad de la variable “área clorela” arrojó un $p = 0.42$, por lo que la misma se distribuye normalmente. Al realizar un test de contraste para evaluar esta variable entre lagunas, se obtuvo un $p = 0.93$ por lo que no existe diferencias significativas entre las medias de la variable *área clorela* entre Nahuel Rucá y Los Padres.

Tabla 1: valores de promedio, desviación estándar (desv st), mínimo (min) y máximo (max) para el área de las clorelas medidas en *Hydra viridissima* recolectada de Los Padres y Nahuel Rucá.

	Área clorela (μm^2)	
Nahuel Rucá	Promedio	32.63
	desv st	4.98
	Min	27.70
	Máx	39.27
Los Padres	Promedio	32.98
	desv st	5.78
	Min	26.67
	Máx	38.02
Total	Promedio	33.63
	desv st	4.87
	Min	26.67
	Máx	39.27

Tabla 2: Calorías diarias consumidas por hidra y porcentaje diario de calorías aportadas por sus clórelas simbiotes. Indiv = individuo, prom = promedio, desv st = desviación estándar, min = mínimo, max = máximo, cal = calorías.

		proteína x hidra (mg)	Consumo calórico (cal/hidra.día)	Clórelas x hidra	Aporte maltosa (g/hidra.día)	Aporte calórico (cal/hidra.día)	% de aporte
Nahuel Rucá	Prom	0.0035	0.0030	1698.6	1.81×10^{-7}	0.00069	25.72
	desv st	0.0019	0.0017	6997.5	7.47×10^{-8}	0.00028	12.38
	Mín	0.0012	0.0011	5934	6.34×10^{-8}	0.00024	17.41
	Máx	0.0061	0.0053	24903	2.66×10^{-7}	0.00101	47.54
Los Padres	Prom	0.0101	0.0090	29668	3.17×10^{-7}	0.00120	14.66
	desv st	0.0071	0.0062	20633.8	2.20×10^{-7}	0.00084	4.66
	Mín	0.0039	0.0034	16297	1.74×10^{-7}	0.00066	10.41
	Máx	0.0179	0.0156	53450	5.71×10^{-7}	0.00217	19.64
Total	Prom	0.0059	0.0052	21751.5	2.32×10^{-7}	0.00089	21.58
	desv st	0.0053	0.0046	13885.8	1.48×10^{-7}	0.00056	11.25
	Mín	0.0013	0.0011	5934	6.34×10^{-8}	0.00024	10.41
	Máx	0.0179	0.0156	53450	5.71×10^{-7}	0.00217	47.54

Parasitosis ameba/Hydra

El hallazgo de estructuras casi esféricas ajenas a los pólipos, observados en los *squash*, y la ocurrencia de estas estructuras con laceraciones anatómicas y el deceso de los ejemplares, permitió la detección de dos tipos distintos de amebas en el mismo hospedador: ***Hydramoeba* sp. y *Acanthamoeba* sp.**

Las especies que se hallaron afectadas fueron:

- *H. vulgaris* (en la primavera 2013 y verano 2015 para Nahuel Rucá, verano 2015 para Los Padres e invierno 2013 para La Brava).
- *H. vulgaris pedunculata* (para el invierno 2013 en La Brava y verano 2015 en Nahuel Rucá).

Para todos los casos, el deterioro fue progresivo. No se pudo determinar con exactitud cuales síntomas corresponden a cada infección, pero en la totalidad de los casos, el resultado final fue la muerte del pólipo. Desde el comienzo del proceso infeccioso los pólipos presentaron una disminución en su movilidad y ciertas anomalías morfológicas. En algunos casos pudieron observarse algunas estructuras adheridas a sus columnas y tentáculos (Figura 1a, b y c) y en

otros, ciertas aglomeraciones oscuras en el interior de sus tejidos (Figura 1d y e). Posteriormente los pólipos presentaron casi la totalidad de sus tentáculos cortados y para la mayoría de los casos, poco más de transcurridas 24 hs, el espécimen se había disgregado completamente sobre el fondo de la cápsula de Petri (Figura 1f).

La inspección de los *squash* reveló, en algunos pólipos, la presencia de quistes y pseudo quistes (esta última, la etapa moribunda), todos en un gran número (Figura 2). Fácilmente distinguibles de otras estructuras, los quistes presentaron un diámetro promedio de 7.63 μm , con un mínimo de 6.5 y un máximo de 9 μm . Para el caso de la fase moribunda o de pseudo quiste, el diámetro promedio fue de 8.1 μm , con un mínimo de 6.5 y un máximo de 10.5 μm . Esta última fase fue detectada en algunas hidras cuya salud, a simple vista, no mostraba un deterioro aparente.

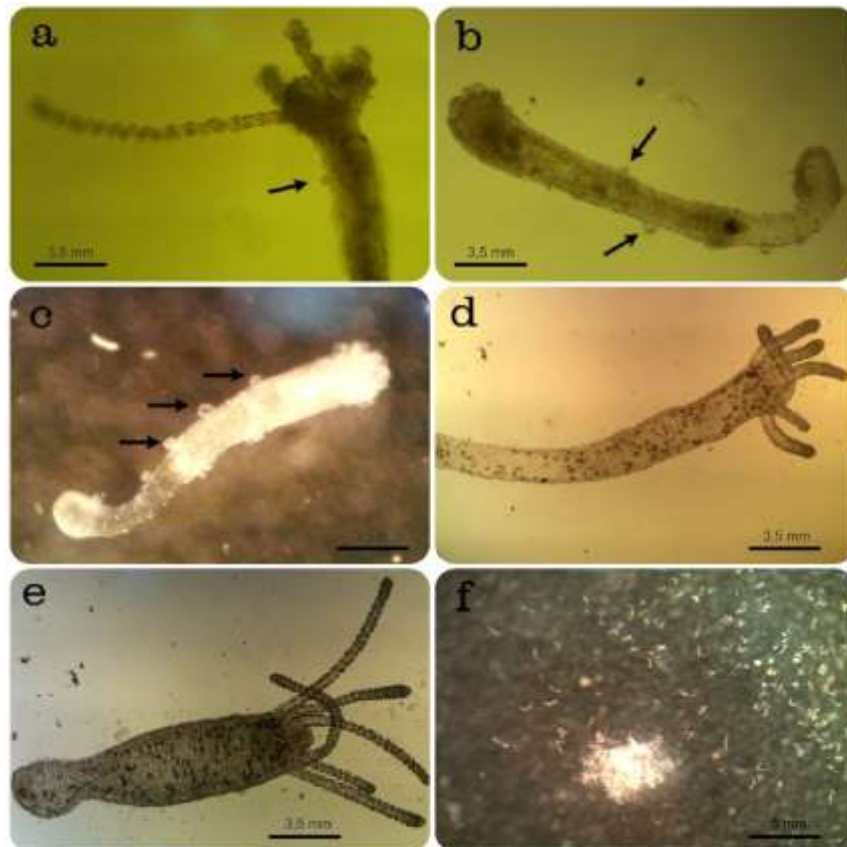


Figura 1: especímenes de *Hydra* con (a), (b) y (c) amebas adheridas a su cuerpo y tentáculos cortados. (d) y (e) con aglomeraciones oscuras dentro de sus tejidos. (f) pólipo totalmente disgregado sobre el fondo de la cápsula de Petri.

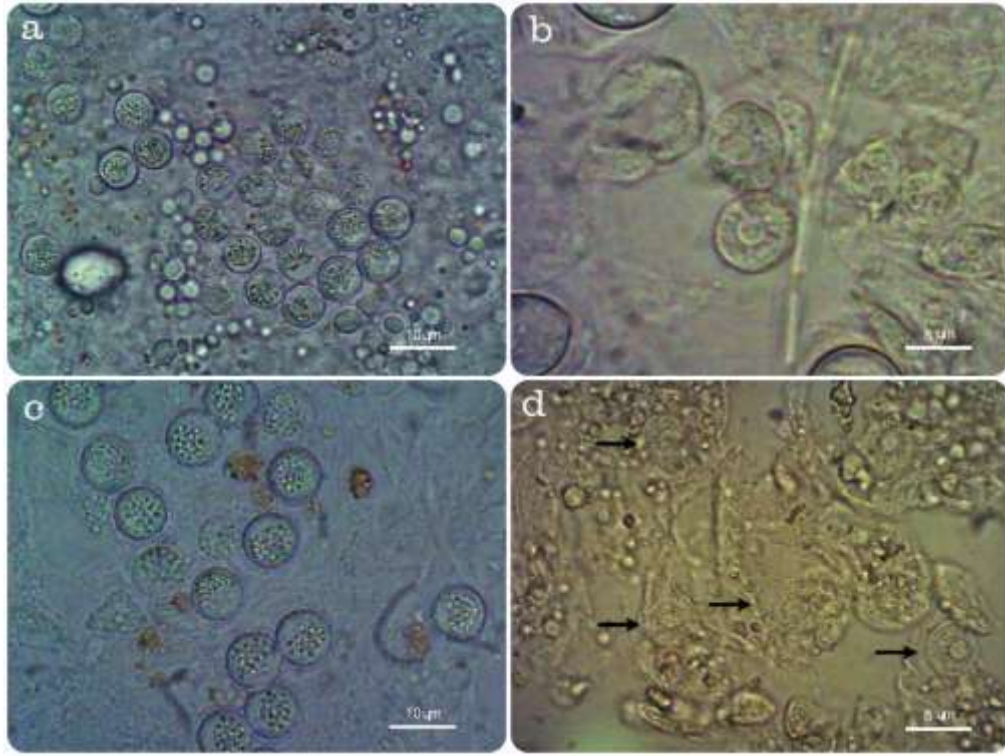


Figura 2: (a) y (c) quistes. (b) y (d) pseudo quistes o etapa moribunda.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Simbiosis Chlorella/Hydra

Gran cantidad de literatura trata sobre la relación metabólica entre las hidras de agua dulce y sus algas simbiontes, la mayoría con énfasis en los beneficios del hospedador (Muscatine & Lenhoff, 1965b; Muscatine, 1965; Pardy & White, 1977, entre otros). Hoy se conoce que alrededor del 85% del carbón fijado por las algas, se libera como maltosa (Muscatine, 1965) y que el movimiento de este fotosintato del alga hacia el pólipo le permite a este último, sobrevivir en situaciones de alimento limitado, siempre que las condiciones de iluminación sean las adecuadas (Thorington & Margulis, 1981).

El trabajo aquí presentado pretende brindar información sobre la cantidad de clorelas que pueden estar presentes en los pólipos de *Hydra viridissima* de los cuerpos de agua en estudio y el aporte calórico que supone la producción de maltosa por parte de estas clorelas.

Como puede verse en la Tabla 1, el área de una clorela (valor total) oscila entre 26.67 y 39.27 μm^2 . Estos valores registrados guardan similitud con los registrados por Jolley & Smith (1978) y MacAuley (1992), para la europea *Hydra viridis*.

Para el caso particular de las especies de hidras verdes citadas en Sudamérica, solo Cordero (1941a) provee el diámetro de las clorelas para *Chlorohydra viridissima* del Uruguay, con valores similares a los registrados en este trabajo.

Las medias de la variable *área clorela* entre lagunas no presentaron diferencias estadísticamente significativas, por lo que puede suponerse que los tamaños de las clorelas para los especímenes recolectados en una u otra laguna son similares.

Jolley & Smith (1978) reportan entre el 36 y 19% de maltosa liberada cuando las clorelas son aisladas frescas de *H. viridis*, situación que es altamente dependiente del pH del medio. Justamente, en la simbiosis con *Hydra*, se cree que el pólipo regula la excreción de maltosa variando el pH celular de sus células gastrodermales (Cernichiari *et al.*, 1969). Nuestros valores presentan límites más amplios (Tabla 2), aunque se debe tener en cuenta que los cálculos para obtener la cantidad de clorelas por pólipo, suponen una superficie 100% fotosintética, hecho que estaría sobre-estimando la producción de maltosa.

Por lo pronto, con los resultados obtenidos, podemos estimar que mediante sus clorelas simbióticas, los especímenes de *Hydra viridissima* recolectados en Los Padres y Nahuel Rucá, cuentan con aporte entre el 10.41 y 47.54 % de las calorías necesarias por día, para poder sobrevivir períodos de inanición.

El aumento en las frecuencias de enfermedades de un organismo puede estar vinculada con gran variedad de factores que influyen tanto en la producción como la propagación de agentes patógenos (Clemente *et al.*, 2014).

La mayoría de los biólogos están familiarizados con el concepto de amebas como patógenos potenciales (Lorenzo-Morales, 2010), siendo un tema recurrente la asombrosa variedad existente en las amebas de vida libre. Entre ellas, algunas especies son causantes de enfermedades letales en muchos animales, incluidos los humanos (Baquero *et al.*, 2014).

El hallazgo de una doble amebiasis en *Hydra* resulta el primer registro de una asociación de este tipo. Hasta el momento, solo existen datos sobre la infección de los pólipos por *Hydramoeba hydroxena*, que se localiza sobre los tentáculos, impide la alimentación de los especímenes infectados y además produce daños a nivel tisular (Entz, 1912; Wermel, 1925; Itô, 1949, 1950; Rice, 1960; Stiven, 1964; Maxwell, 1969).

Sin embargo, nuestro caso presenta claras diferencias con los reportes citados ya que aquí se suceden dos acontecimientos relacionados entre sí.

El primero de ellos es la infección de los pólipos por *Hydramoeba* sp., grupo de amebas considerada parasíticas por algunos autores (Reynolds & Looper, 1928; Itô, 1949, 1950; Maxwell, 1969) y comensales por otros (Entz, 1912; Wermel, 1925).

Esta infección provocaría un primer escenario; el pólipo hospedador comienza a sufrir deterioros en su morfología, un claro detrimento en su salud y severas fallas en sus sistemas de defensa (Augustin *et al.*, 2010).

Este escenario se convierte en el ideal para el siguiente acontecimiento; una segunda re-infección por parte de *Acanthamoeba* sp. Este grupo de amebas son parásitos oportunistas de vida libre (Lorenzo-Morales *et al.*, 2005) y pueden ser halladas en una amplia diversidad de hábitats (Omaña-Molina *et al.*, 2013).

En conjunto, ambos huéspedes terminan por provocar la muerte del pólipo hospedador, pasando por varias etapas previas de deterioro progresivo (Figura 1). Similares estados de deterioro fueron registrados por Threlkeld & Reynolds (1929) para *Hydramoeba hydroxena* en *Hydra pseudoligactis*.

El primer efecto directo de este parasitismo es la imposibilidad de alimentación como resultado de la destrucción de los tentáculos; posteriormente, otro de los letales efectos, resulta en la inhibición o destrucción de sus capacidades reproductivas (Stiven, 1964).

Sin embargo, se conoce que las amebas pueden provocar el deceso de su hospedador sólo bajo ciertas condiciones o una combinación de ellas. Su patogenicidad suele estar limitada no solo por el estado fisiológico del hospedador, sino también por las condiciones del medio; el primer estado puede cambiar por inanición (Reynolds & Looper, 1928) y el segundo, por el “ensuciamiento” de las aguas. Esta situación ha sido reportada por ejemplo, para *Hydramoeba*, detectándose umbrales de patogenicidad relacionadas a las concentraciones acuáticas del ión hidrógeno (Rice, 1960).

La temperatura también juega un rol importante en esta interacción. Stiven (1964) observó incrementos de infecciones por amebas en hidras, correlacionadas con aumentos de temperatura. Bryden (1952), también detecta un deceso masivo de hidras por *Hydramoeba* y concuerda en que la temperatura fue un protagonista esencial en la infección. Sin embargo esta correlación no resulta siempre directa entre ambas variables; otros factores pueden jugar papeles importantes a favor del hospedador o del huésped (Stiven, 1964); una de ellos, experimentalmente corroborado por el último autor, fue la tasa de brotación de los pólipos.

En nuestros ambientes estudiados, el “ensuciamiento de las aguas” puede guardar cierta relación con la eutroficidad natural de los mismos (Ringuelet, 1962) y con los niveles de contaminación o impacto antrópico (Romanelli *et al.*, 2013). Esto podría provocar la existencia de períodos favorables para el florecimiento de amebas que coexisten con *Hydra*. En combinación con el estado fisiológico de los pólipos, podrían sucederse entonces algunas infecciones que provocarían un deceso más o menos masivo de hidras, al menos a una escala local en los sustratos recolectados.

Los hallazgos aquí presentados fueron en su mayoría en estaciones de altas temperaturas (primavera 2014 y verano 2015 para Nahuel Rucá y Los Padres). Para el caso particular de La Brava, especímenes infectados se recolectaron en el invierno 2013. Esta estación constituye una excepción, ya que la temperatura registrada fue menor a la restantes (9° en comparación a 18° y 14.9° para el verano 2015 en Los Padres y Nahuel Rucá respectivamente y 19.5° para la primavera 2013 en Nahuel Rucá).

A pesar que las temperaturas registradas por Bryden (1952) y Stiven (1964) están por encima de los 25°, la diferencia en la eutroficidad de los ambientes podría poner en juego otros factores, que combinados con la temperatura, favorezcan infecciones por amebas. Por ejemplo, en nuestro caso, la mayor cantidad de ejemplares infectados y con magnitudes de deterioro más altos, fueron recolectados en Los Padres y La Brava, dos de los tres ambientes estudiados que presentan un mayor grado de impacto (Romanelli *et al.*, 2013).

La re-infección por *Acanthamoeba* podría entonces ser crucial en el desenlace final de los pólipos. Conociéndose que muchas veces las hidras pueden tolerar infecciones por *Hydramoeba* (Miller, 1936; Stiven, 1964), esta segunda intrusión podría finalmente ser la responsable del deceso de los mismos.

Segundas re-infecciones por *Acanthamoeba* oportunistas han sido reportadas, por ejemplo, para algunos erizos de mar (Scheibling & Hennigar, 1997; Clemente *et al.*, 2014) provocando decesos masivos en sus poblaciones. Sin embargo en estos casos, la re-infección se sucede luego de un primer episodio infeccioso de carácter bacteriano.

Para desentrañar los mecanismos de esta doble infección y las variables que en ella influyen, es necesario un muestreo dirigido y algunos experimentos de laboratorios particulares enfocados a este objetivo. Sin embargo este primer reporte ofrece el puntapié inicial para ampliar los estudios de esta índole.

INTRODUCCIÓN

Otro representante de las aguas continentales dentro del phylum Cnidaria es el género *Cordylophora* (Clase: Hydrozoa, Familia: Clavidae) (Smith *et al.*, 2002). Este género, de abolengo marino, puede hallarse tanto en aguas dulces como salobres (Folino, 2000) pudiendo tolerar amplios rangos de salinidad que van de 0 a 20 ppt (Roch, 1924; Fulton, 1962; Kinne, 1964; Roos, 1979; Arndt, 1984; Jormalainen *et al.*, 1994; Folino, 2000).

Fue descubierto en el mar Caspio y mar Negro, arribando a Norteamérica a finales del 1800 (Clarke, 1878). Su distribución global, se debe en parte a su habilidad para tolerar amplios rangos de salinidad y temperatura, lo que le permite ser transportado en aguas de lastres y como *biofouling* (Roos, 1979). Estas habilidades se han visto favorecidas por factores antropogénicos, como polución y eutrofización, que han alterado las cantidades de sales en el agua (Hubschman & Kishler, 1972).

Hutchinson (1967, 1993) propone dos paradigmas para explicar la presencia de *Cordylophora caspia* en aguas dulces. El primero sostiene que todas las ocurrencias en estas aguas están acompañadas de ciertas cantidades de sales cloruro. La segunda mantiene que en las poblaciones discontinuas han evolucionado sus propios mecanismos fisiológicos de supervivencia en aguas dulces.

Cordylophora caspia es considerada una especie invasiva (Roos, 1979; Folino, 2000; Folino-Rorem & Indelicato, 2005; Meek *et al.*, 2012) y su control es ampliamente estudiado ya que los pólipos forman densas colonias que causan graves daños por *biofouling* y por obstrucción de cañerías y filtros industriales (Lipsey & Chimmey, 1978; Moreteau & Khalanski, 1994; Folino-Rorem & Indelicato, 2005). Múltiples invasiones aumentan la diversidad genética de estas especies invasivas en los nuevos hábitats y así se incrementa el propio éxito de la invasión (Roman & Darling, 2007).

Cordylophora caspia puede generar profundos efectos en los nuevos ecosistemas que coloniza, provocando una reestructuración en las comunidades. Decrecen en diversidad y abundancia las poblaciones de briozoos y ciliados, mientras que aumentan en número los percebes, anfípodos y poliquetos (Von Holle & Ruiz, 1997; Ruiz *et al.*, 1999; Folino, 2000). Además, esta especie se encuentra a menudo asociada con los moluscos *Dreissena polymorpha* y *D. bugensis*, otro linaje de especies *biofoulers* e invasivas proveniente del mar Caspio (Jenner & Janssen-Mommen, 1993; Moreteau & Khalanski, 1994; Folino, 2000; Muskó *et al.*, 2008).

Controlar la propagación de esta especie es difícil, ya que las colonias tienen la capacidad de resistir condiciones desfavorables mediante la formación de unas estructuras denominadas menonts (Roos, 1979). Estas estructuras son pequeñas esferas de tejido que permanecen dentro del perisarco de los hidrocaulos o hidrorizas. Son ecológicamente resilientes y cuando las condiciones de estrés se revierten, la colonia vuelve a regenerarse por completo (Roos, 1979; Folino, 2000).

La diversidad en el crecimiento, reproducción, resistencia a malas condiciones ambientales y la capacidad de soportar amplios rangos de salinidad, aumentan considerablemente su capacidad invasiva (Wollschlaeger *et al.*, 2013).

Biología de Cordylophora caspia

Cordylophora caspia es un pólipo colonial y atecado (Folino, 2000). Las colonias son polimórficas con hidrantes especializados para la alimentación (gastrozoides) y otros especializados en la reproducción (gonozoides o gonóforos). Estos hidrantes se encuentran sobre hidrocaulos que parten de un estolón principal (rizoma o hidroriza), que mantiene conectados a la totalidad de los pólipos (Brusca, 2007). Epidermis, mesoglea y gastrodermis, así como la cavidad gastrovascular son continuas a lo largo de toda la colonia (Ruppert & Barnes, 1996). El estolón y la primera porción de los hidrocaulos se encuentran recubiertos por una cubierta inorgánica, el perisarco, secretada por la epidermis (Brusca, 2007). Este perisarco, recubre el tejido vivo, denominado cenosarco (Ruppert & Barnes, 1996), es de coloración más o menos marrón y según la especie, puede presentarse anillado (Folino, 2000). *C. caspia* es una especie clonal, pero también puede reproducirse sexualmente. En este sentido, es dioica y la fase medusa se encuentra reducida a simples gonóforos (simples brotes capaces de producir gametos). Una larva plánula de vida libre es liberada de los gonóforos femeninos (Pennak, 1989).

Su crecimiento óptimo se da a los 15 ppt de salinidad (Green, 1968; Pennak, 1989) y entre 10 y 20°C de temperatura (Kinne, 1964). Cuando habita ambientes dulceacuícolas, generalmente el crecimiento es más lento y se reducen ambos tipos reproductivos. Se ha corroborado además, la existencia de variaciones en el tamaño de los pólipos, en el número de tentáculos, y en las formas y tamaños celulares de la epidermis y gastrodermis (Kinne, 1956, 1957, 1964; Arndt, 1984). Estas diferencias celulares probablemente respondan a diversos ajustes fisiológicos por el estrés que produce la exposición a condiciones ambientales de

crecimiento sub-óptimas (Kinne, 1964). Se ha demostrado además, que *C. caspia* necesita de concentraciones altas de O₂ (Roch, 1924; Arndt; 1984).

Generalmente es hallada adherida a diversos sustratos sumergidos como rocas, valvas de moluscos, objetos plásticos y gran variedad de tallos y hojas de macrófitas (Roos, 1979, Dean & Bellis, 1975). *C. caspia* es un eficiente predador bentónico, principalmente de larvas de insectos (Smith *et al.*, 2002).

El perisarco de los individuos suele ser el sustrato de diversos ciliados. Los hidrocaulos e hidrorizas suelen estar recubiertos por gran variedad de peritricos sésiles, de los géneros *Carchesium*, *Epistylis*, *Opercularia*, *Pyxicola*, *Vaginicola*, *Vorticella* y *Zoothamnium*, además de algunos suctorios del género *Acineta*. También se ha reportado la presencia del rotífero *Collotheca ornata* y especies de *Stentor* y *Trichodina* (Roos, 1979).

Antecedentes taxonómicos en Argentina

El género tiene siete especies válidas; cinco de ellas se han encontrado en localidades específicas, mientras que las especies *C. caspia* y *C. lacustris* están ampliamente distribuidas (Wollschlager, 2011). *C. caspia* se ha reportado para gran número de ambientes más o menos salobres de Europa, así como también en Egipto, China, Brasil, Argentina, Cuba, Uruguay, Estados Unidos y Australia, incluyendo Tasmania (Cordero, 1941a; Vervoort, 1946; Morri, 1979; Zamponi, 1991).

El primer registro en Argentina fue publicado en 1923 por Gaggero en referencia a *C. lacustris*. La especie fue reportada para el Río Santiago, un tributario del estuario del Río de La Plata. Los individuos fueron hallados adheridos a tallos de una *Pontederiaceae* arrastrada por la corriente. La colonia blanquecina, casi incolora, presentó hidrantes fusiformes con tentáculos delgados y filiformes y perisarco anillado. Además, se observaron abundantes gonóforos, todos femeninos.

En 1954, Ringuelet y Olivier hallan a *C. caspia* en las lagunas Lobos y Chascomús, adheridas a *Potamogeton striatum*. Las colonias de la laguna Lobos, pertenecen a la forma *lacustris*, reconocida por Hummerlinck (1936) con densas matas ramificadas. Los hidrantes fueron de color blanco, con numerosos gonóforos. Las colonias halladas en Chascomús, pertenecen a la forma *albícola* Kirchenpauer y es el mismo tipo registrado por Gaggero (1923). Estas colonias se observaron de color blanco, pero los gonóforos fueron escasos.

Marchese & Ezcurra de Drago (1983) reportan la presencia de *Cordylophora* en cauces secundarios del Paraná medio. Sin embargo, no realizan una descripción detallada de los

especímenes. Solamente registran que las colonias no son dominantes en las estaciones de muestreo donde fueron recolectadas.

Ambas especies pueden distinguirse por características morfológicas que son fenotípicamente plásticas y por lo tanto, poco fiables para clasificar. Por esta razón, muchos taxónomos consideran que *C. caspia* y *C. lacustris* son conespecíficos. En adición, esta sinonimia está geográficamente justificada en la co-ocurrencia de ambas especies (Folino, 2000).

MATERIALES Y MÉTODOS

Los individuos de esta especie fueron hallados durante los muestreos estacionales realizados en la laguna Nahuel Rucá (ver metodología de extracción de sustratos en el Capítulo II).

Los sustratos vegetales donde las colonias se hallaban adheridas fueron separados y los pólipos analizados en detalle.

Análisis morfológicos

Se contabilizó la cantidad de pólipos por colonia y el tipo de ramificación de la misma. Para cada hidrante, bajo lupa con ocular micrométrico, se registró: forma, coloración, largo y ancho; número de tentáculos, largo relativo, forma y distribución sobre el hidrante; distancia entre hidrocaulos; diámetro, anillamiento y coloración del perisarco; número, ubicación y diámetro de los menonts.

Se determinaron además los diferentes tipos de nematocistos utilizando la misma metodología detallada en el Capítulo II.

Algunos individuos fueron tratados con el protocolo de deshidratación gradual en etanol (ver Capítulo II) y observados al microscopio electrónico de barrido (MEB).

Análisis estadísticos

Las exploraciones estadísticas fueron realizadas con el software R. Sobre los sets de datos recolectados se realizaron los siguientes análisis:

1. Test de Shapiro-Wilks: para analizar el tipo de distribución de la variable morfológica (explicada o dependiente), *largo hidrocaulo*.
2. Test de Kruskal-Wallis: la variable *largo hidrocaulo* fue agrupada bajo el factor “estación” para detectar la existencia de diferencias significativas entre grupos.
3. Test de Mann-Whitney: en caso de existir diferencias entre grupos, este test fue realizado para cada par de estaciones, lo que permitió detectar entre que grupos difieren los valores de la variable *largo hidrocaulo*.

Para indagar en la naturaleza de la variable *largo hidrocaulo*, se la analizó en conjunto con los diferentes parámetros limnológicos. Para esto se utilizaron los resultados del Análisis de

Componentes Principales realizados en el Capítulo II y posteriormente se aplicó un Modelo de Regresión para conocer la relación entre la variable *largo columna* con los componentes principales elegidos.

Los nematocistos de *C. caspia* se dejaron fuera de cualquier análisis estadístico, ya que el número (n) recolectado no lo consideramos lo suficientemente adecuado para una exploración similar a la realizada en *Hydra*. Tampoco existe una paridad adecuada entre los n medidos para cada tipo de nematocisto, por lo cual los resultados obtenidos podrán no ser lo suficientemente robustos.

Para análisis de este tipo deberían aplicarse técnicas específicas (tinciones) para optimizar la observación del cnidae, aumentar el número de mediciones y disminuir los errores de medición en el observador.

RESULTADOS

Análisis morfológicos

Los individuos fueron hallados en laguna Nahuel Rucá, en las muestras correspondientes al verano 2014, invierno 2014, primavera 2014 y verano 2015, adheridas a tallos de la macrófita sumergida, *Ceratophyllum demersum*. Los parámetros limnológicos de cada muestra se listan en la Tabla 1 del Capítulo II.

Los especímenes se reconocieron como *Cordylophora caspia* Pallas, 1771 en base a las características morfológicas detalladas a continuación:

Se hallaron un total de 77 gastrozoides, todos fusiformes y de coloración blanquecina a casi translúcidos. Algunos de ellos se encontraron separados, como fragmentos de una colonia rota, siendo estos hidrantes muy pequeños en tamaño y en un estado de salud algo deteriorado. En fragmentos de colonia más grandes, pudo detectarse que la misma presentó un crecimiento monopodial, con hidrantes principales o de primer orden. Los tentáculos se observaron distribuidos uniformemente sobre todo el hidrante, siendo finos, filiformes y casi transparentes (Figura 1).

Algunos de los valores estadísticos descriptivos se listan en la Tabla 1.

Los estolones son cilíndricos y están recubiertos por un perisarco color marrón, con diámetros que oscilaron entre 0.26 a 0.31 mm. En la base de los hidrocaulos pudo observarse que el perisarco presentó un claro anillamiento. La distancia entre hidrocaulos contiguos fue de 6 a 7 cm.

En ninguna colonia o fragmento de las mismas, se observaron gonóforos.

Pudieron reconocerse dos tipos distintos de nematocistos: los desmonemes con la clásica forma ovalada, son los más abundantes pero los de tamaño más pequeño. Su tamaño dificultó en algunos preparados, su reconocimiento y medición. El filamento, fino, da una vuelta y media aproximadamente, en el interior de la cápsula.

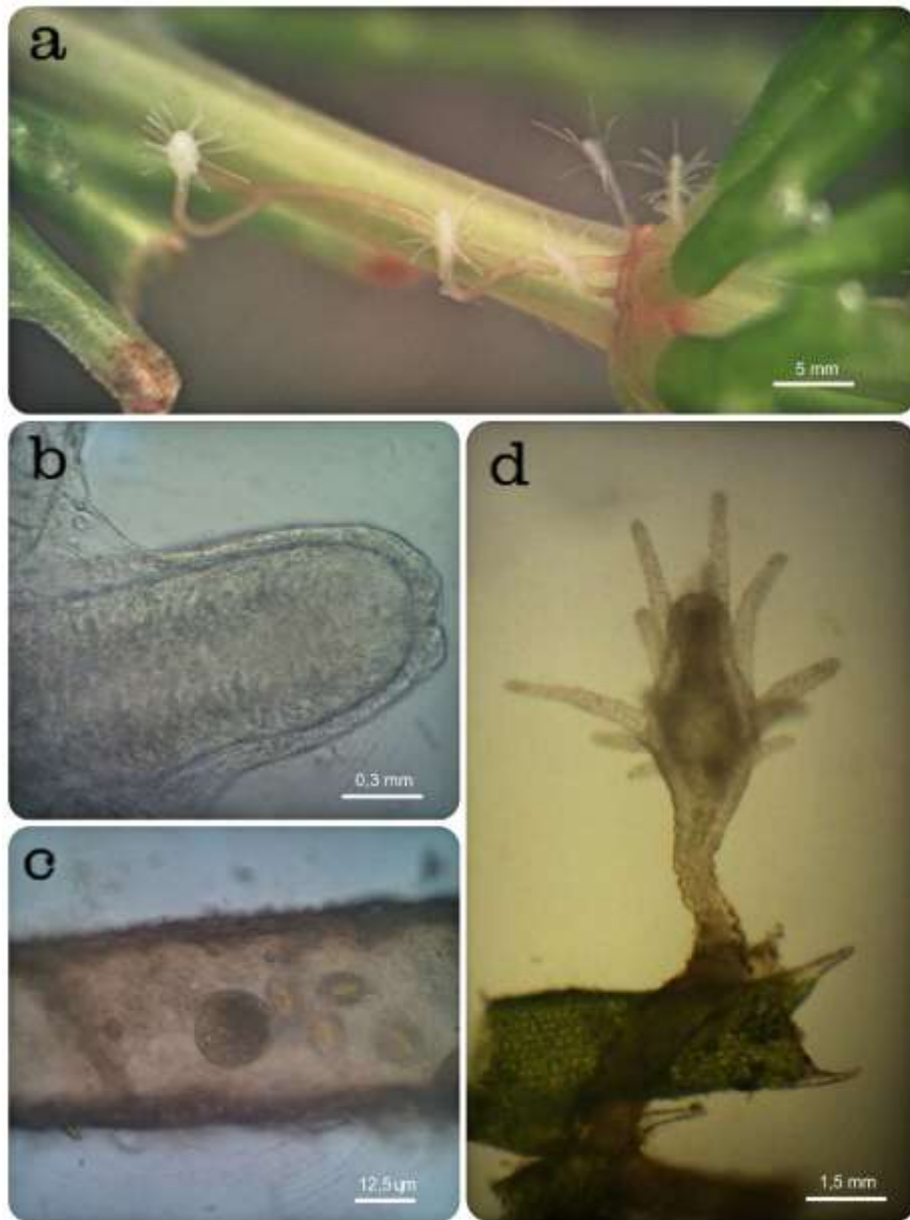


Figura 1: (a) hidrantes en sustrato, (b) detalle del hipostoma, (c) menont en perisarco vacío y (d) detalle de hidrante con la base del perisarco anillada y tentáculos de distribución uniforme.

Seguendo la guía publicada por Mariscal (1974), el segundo tipo de nematocisto fue identificado como heterotrico microbásico eurytele. Su forma es similar al desmoneme, pero más elongado y de mayor tamaño. Presenta un dardo corto. Cuando está descargado, puede observarse que dicho dardo presenta espinas de diferentes tamaños y que el filamento fino es largo y helicoidal (Figura 2).

Las mediciones de ambo tipos se listan en la Tabla 1.

Tabla 1: Valores estadísticos descriptivos para las mediciones del hidrocaulo y nematocistos de *Cordylophora caspia* de Nahuel Rucá. desv st = desviación estándar.

Estación		Hidrocaulo (mm)		Núm. de tentáculos	Eurytele (μm)		Desmoneme (μm)	
		ancho	largo		ancho	largo	ancho	largo
Verano 2014	media	0.74	2.27	-	3.87	8.56	2.90	4.93
	mediana	0.66	2.20	-	4	9	3	5
	desv st	0.25	0.87	-	0.34	0.74	0.28	0.26
	mínimo	0.34	1.21	4	3	7	2.5	4.5
	máximo	1.34	3.95	17	4.5	10	3.5	5.5
Invierno 2014	media	0.53	1.10	-	2.95	6.35	2.47	3.30
	mediana	0.61	1.18	-	3	6.5	2.5	3
	desv st	0.43	0.59	-	0.32	0.45	0.33	0.49
	mínimo	0.30	0.76	7	2.5	5.5	2	2.5
	máximo	0.91	1.6	9	3.5	7.5	3	4
Primavera 2014	media	2.62	5.43	-	2.92	6.50	2.35	3.41
	mediana	2.97	5.70	-	3	6.5	2.5	3.5
	desv st	0.84	0.20	-	0.33	0.44	0.34	0.44
	mínimo	0.8	1.5	4	2	5.5	1.5	2.5
	máximo	3.78	9.1	12	4	7.5	3	4
Verano 2015	media	3.09	5.62	-	2.86	6.40	2.43	3.37
	mediana	3.17	4.75	-	3	6.50	2.5	3.5
	desv st	0.29	0.75	-	0.36	0.44	0.32	0.47
	mínimo	1.5	2.5	6	2	5.5	2	2.5
	máximo	4.0	12.5	14	3.5	7	3	4

Para el caso particular de los individuos recolectados en el verano 2014, pudo detectarse un (1) menont en el interior de uno de los estolones vacíos. Esta estructura presentó una forma casi esférica, con un diámetro de 12.5 μm (Figura 1).

En aquellas zonas recubiertas por el perisarco (estolones y base de los hidrocaulos) pudieron observarse numerosos organismos adheridos, como diatomeas y ciliados.

Análisis estadístico

La variable *largo hidrocaulo* no sigue una distribución normal (valor-p = 0.0003). El test de Kruskal-Wallis arrojó un valor-p = $2.12e^{-08}$, lo que indica que existen diferencias significativas entre estaciones para dicha variable. La Tabla 2 muestra los resultados obtenidos por el test de Mann-Whitney para cada par de estaciones.

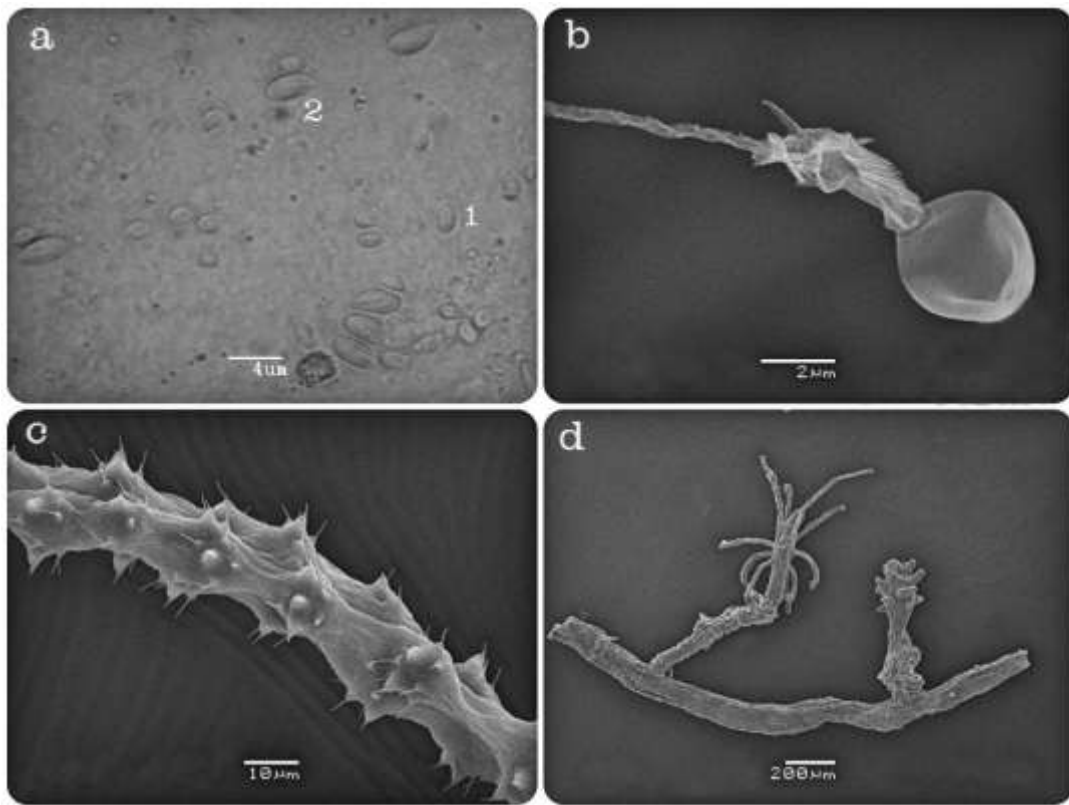


Figura 2: (a) cápsulas de nematocistos sin descargar: desmoneme (1) y heterotrico microbásico eurytele (2), (b) detalle al MEB de eurytele descargado, observándose las espinas en el dardo y el fino filamento helicoidal, (c) detalle al MEB de tentáculo, con los cnidocil apuntando hacia el exterior del mismo y (d) detalle de hidrantes con tentáculos extendidos (izquierda) y retraídos (derecha).

Tabla 2: test de Mann-Whitney para cada par de estaciones, de la especie *Cordylophora caspia* hallada en Nahuel Rucá. Los valores resaltados en **negrita** indican diferencias significativas entre los grupos.

Par de estaciones		<i>largo hidrante</i>
Verano 14	Invierno 14	0.109
	Primavera 14	0.000
	Verano 15	0.000
Invierno 14	Primavera 14	0.032
	Verano 15	0.020
Primavera 14	Verano 15	0.582

Los resultados del Modelo de Regresión Lineal Múltiple de la variable *largo hidrocaulo* con los componentes C1 y C2 (zona fótica) seleccionados en el Capítulo II mediante el Análisis de Componentes Principales (ACP), se muestran en la Tabla 3. La Figura 3 muestra los gráficos de diagnóstico para el modelo.

Tabla 3: Coeficientes y valores-p del Modelo de Regresión para la variable *largo hidrocaulo* de *Cordylophora caspia* y los componentes 1 y 2 seleccionados para Nahuel Rucá. C1 = componente 1, C2 = componente 2. Los valores en negrita indican diferencias significativas.

	estimado	Valor-p
β_0	4.5	
C1 (β_1)	-1.16	1×10^{-8}
C2 (β_2)	1.04	0.001

La ecuación de la recta adopta entonces la siguiente forma:

$$\text{largo hidrocaulo} = 4.5 - 1.16 C1 + 1.04 C2 \quad (R^2 = 0.36)$$

Los intervalos de confianza [2.5%-9.5%] para dicho modelo son: [3.96-5.02] para β_0 ; [-1.52- -0.80] para C1 y [0.44-1.65] para C2.

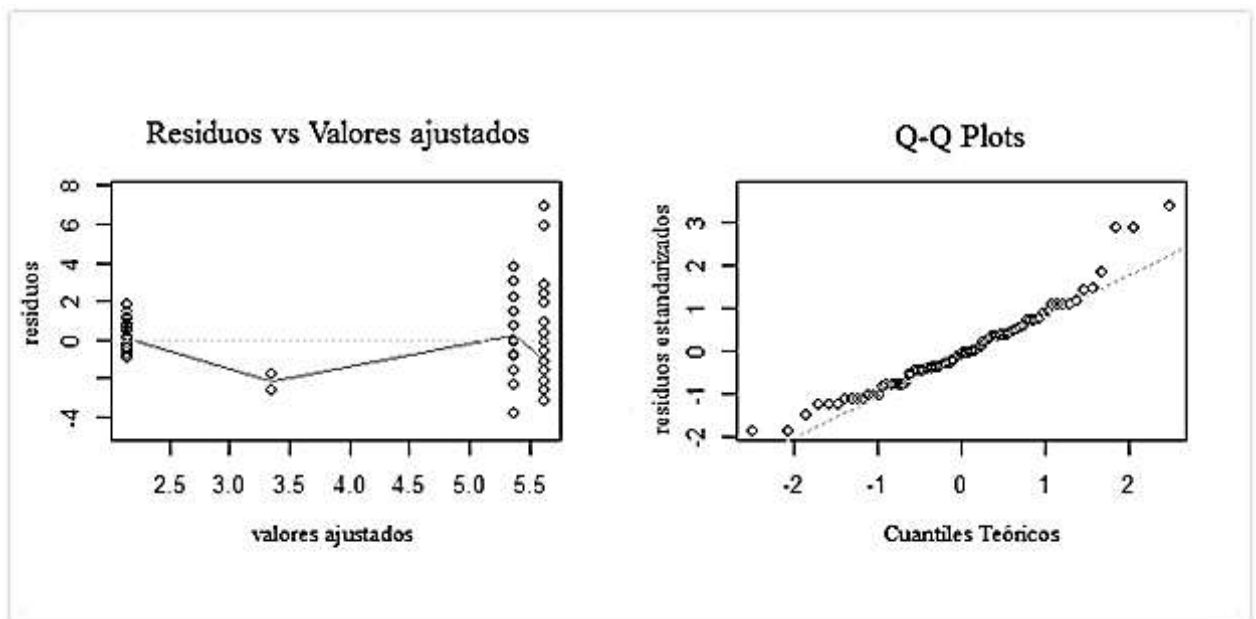


Figura 3: Gráficos diagnósticos del Modelo de Regresión Lineal Múltiple para la variable *largo hidrocaulo* de *Cordylophora caspia* y los componentes principales 1 y 2 seleccionados para Nahuel Rucá.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIONES

Este hallazgo constituye un importante aporte al conocimiento de la distribución global de los cnidarios dulceacuícolas, así como también al conocimiento de la fauna de la laguna Nahuel Rucá.

Dado las características invasoras de la especie, también resulta de vital importancia dar a conocer la presencia de *Cordylophora caspia* para poder inferir si existe, como en otros casos, una reestructuración en dicho ecosistema o en la biología de alguna especie particular (Von Holle & Ruiz, 1997; Ruiz *et al.*, 1999; Folino, 2000).

Nuestro hallazgo guarda ciertas similitudes con la forma registrada por Gaggero (1923) para el río Santiago, en cuanto al tamaño de los hidrocaulos y el anillamiento presente en su base. Aunque dicho autor observa una mayor cantidad de tentáculos por hidrante, la forma de la colonia también es similar a la aquí citada. Esta forma, que se caracteriza por ser modopodial con hidrantes de primer orden, ha sido registrada como forma *albicola* Kirchenpauer y también fue reportada por Cordero (1941a) para Uruguay. Aunque la forma es la misma, Gaggero (1923) reporta una ramificación mayor, característica no tan marcada en el hallazgo de Cordero (1941a) y en lo aquí observado.

Por su parte la forma hallada en Lobos por Ringuelet & Olivier (1954), difiere en cuanto al crecimiento de la colonia, ya que los pólipos fueron de primer, segundo y hasta tercer orden (forma *lacustris* Hummelinck, 1936). Sin embargo los mismos autores también hallan a *C. caspia* en laguna Chascomús, teniendo esta colonia la misma forma registrada por Gaggero (1923), Cordero (1941a) y lo aquí citado.

Ningunos de los autores dan datos sobre las medidas de sus nematocistos. Sin embargo en las colonias del río Santiago, Lobos y Chascomús, los autores observaron gonóforos, estructura no observada por Cordero (1941a) ni aquí registrada.

No se conoce con exactitud el tiempo que *C. caspia* habita en Nahuel Rucá. Sin embargo es evidente que no es una especie dominante en la comunidad, de lo contrario hubiera sido hallada con mayor frecuencia y en mayor abundancia. Además, según la dinámica del ambiente donde fue hallada, tampoco se conoce si algún parámetro limnológico particular puede favorecer su crecimiento y distribución provocando en ciertas épocas, un aumento de las colonias y por consiguiente, una dominancia mayor sobre el ecosistema y la fauna con la que co-habita.

Por lo tanto resulta importante comenzar a monitorear esta especie para conocer por completo su biología, ciclo de vida e impacto ecosistémico.

Lo que no resulta curioso, es su presencia en este cuerpo de agua. La laguna Nahuel Rucá es un ambiente paleoecológicamente asociado a dos sitios diferentes: la laguna Hinojales y la laguna costera Mar Chiquita. El área entera estuvo afectada por las fluctuaciones del nivel del mar durante el Holoceno (Stutz *et al.*, 2010). La laguna costera Mar Chiquita tiene una orientación NE-SO y se halla conectada con el océano por un estrecho canal (Merloto & Bertola, 2009). Las regiones más cercanas al océano tienen condiciones polihalinas mientras que las regiones del extremo opuesto están enteramente compuestas por aguas dulces (Ringuelet, 1962). Hoy día, Nahuel Rucá es una depresión somera ocupada permanentemente por agua dulce (Stutz & Prieto, 2003), como resultado del desarrollo de un ambiente estuarial y una barrera medanosa hacia el este, durante el Pleistoceno (Stutz *et al.*, 2010).

Esta antigua conexión con el océano parece ser la clave de la introducción de esta especie en dicho ambiente dulceacuícola, dado su abolengo marino y la capacidad de tolerar amplios rangos de salinidad. Se vuelve factible entonces, que durante las fluctuaciones oceánicas la especie pueda haber llegado a regiones más lejanas, haber soportado las diferencias de salinidad mediante diferentes mecanismos fisiológicos y con el tiempo, adaptarse completamente a estas nuevas condiciones ambientales. Una vez completada la separación total de los ambientes, la especie podría haber quedado como parte de la fauna efectiva.

Nahuel Rucá se encuentra situada en una estancia privada, por lo que el acceso es restringido. Tampoco se lleva a cabo ninguna actividad recreativa que pudiera suponer el “traspaso” de la especie desde el océano hacia la laguna, por lo que este tipo de factores se reducen en probabilidad.

Sin embargo, la mayor parte de las aves halladas en la albufera Mar Chiquita (más de 25 especies), se encuentran también en los cuerpos de agua dulce. Además otras ocho especies frecuentan tanto ambientes marinos costeros como acuáticos continentales. En sumatoria a lo anterior, en las orillas fangosas de los arroyos y canales (el A° Dulce o Sotelo llega hasta Nahuel Rucá y desde allí es canalizado hasta la albufera), se alimentan caminando la mayoría de las especies encontradas en las playas fangosas de la albufera (más de 7 especies) (Ferrero, 2001). Si tenemos en cuenta la presencia de menonts resilientes en perisarcos vacíos, podría suceder que restos de perisarcos pudieran engancharse en las patas de las aves y ser trasladadas a otros lugares. En este punto, las aves podrían actuar como un vector para que *C. caspia* se mueva de zonas con condiciones más salinas a zonas dulceacuícolas e intermedias y viceversa.

En ambos casos, resultaría conveniente verificar la presencia de la especie en zonas oceánicas contiguas. Esto evidenciaría la llegada de *C. caspia* a la laguna desde el mar. Caso contrario, se deberían indagar otras vías de llegada, quizá, más extremas o inusuales. Hasta el

momento, ningún pólipo hidrozoo ha sido reportado en las zonas oceánicas o intermedias de la albufera Mar Chiquita.

En relación a su biología, como ya citamos anteriormente, no parece ser una especie dominante, ya que no ha sido hallada en grandes cantidades o “matas”, como si se ha reportado en otros sitios (Hubschman, 1972; Smith *et al.*, 2002; Meek, *et al.*, 2012, entre otros), incluyendo en Argentina (Gaggero, 1923; Ringuelet & Olivier, 1954). Es probable que algún parámetro limnológico esté limitando su crecimiento, ya que en muchas oportunidades, en el mismo sustrato, se han encontrado solo los estolones vacíos. Esto supone además la creación de menonts para que la colonia se restablezca posteriormente.

Los análisis de regresión indican que existe relación entre el largo del hidrocaulo y los componentes 1 y 2 para Nahuel Rucá. La relación es de tipo negativa con el componente 1, mientras que lo es positiva para el componente 2. Teniendo en cuenta que el componente 1 se relaciona con la disponibilidad de oxígeno, este resultado se contradice con lo citado por algunos autores. Roch (1924), Arndt (1984) y Smith *et al.*, (2002), acuerdan que *C. caspia* necesita valores más altos de *OD* para vivir en ambientes de agua dulce, por lo cual la relación negativa aquí observada, no concuerda con dichas observaciones. Sin embargo este modelo solo explica el 36% de la variabilidad en el largo del hidrocaulo por el componente 1 y 2, por lo que otros factores desconocidos podrían estar interactuando con la variable morfológica. Además debe tenerse en cuenta que los gráficos de diagnóstico muestran que el modelo quizá no tenga un ajuste adecuado, por lo cual deberían indagarse, con mayor cantidad de datos, otros modelos que expliquen de mejor manera las variaciones observadas.

A pesar de lo antes mencionado, el hecho de haberse detectado relación con ambos componentes, indica que al menos cuatro de los cinco parámetros estudiados, influyen en el tamaño de *C. caspia* hallada en Nahuel Rucá. Esto deja ver la variada relación de la especie con su ambiente y la gran cantidad de posibles combinaciones de factores limnológicos que pueden afectar su presencia en los sustratos vegetales.

Comparando las diferencias morfológicas que presentan las colonias, podemos observar que los hidrocaulos de mayor tamaño se registraron durante la primavera del 2014 y el verano del 2015. Le siguen en tamaño los hallados en el verano del 2014. En el invierno 2014 el largo registró valores mucho menores con respecto a las estaciones anteriores. En esta estación además, los tentáculos se reducen en número, presentando un máximo de 9, mientras que en las estaciones restantes, llegan a tener de 12 a 17 tentáculos. Parece ser que en la estación más fría, el crecimiento ha sido menor.

Por otro lado, el análisis estadístico reveló la existencia de diferencias significativas en el largo del hidrocaulo entre algunas estaciones climáticas (Tabla 2). Aunque parece no existir una relación aparente entre estas diferencias y los parámetros limnológicos, estas pueden deberse quizá a diferencias entre los valores de *OD* en cada estación. Los pares de estaciones que presentaron diferencias para el largo del hidrante, tuvieron diferencias en sus valores de *OD* en magnitudes mayores a 0.5. La excepción la constituiría el par primavera 2014-verano 2015, donde la diferencia fue de 0.9, entre los valores de *OD* de una y otra estación.

Según lo citado por Kinne (1964) y Arndt (1984) las condiciones de temperatura óptimas para el crecimiento de *C. caspia* se encuentran entre 10-20° y 21-33° respectivamente. Las temperaturas en las estaciones climáticas muestreadas van desde los 14.9° a 21.5°, por lo que dicho parámetro se encuentra dentro de este rango óptimo. Si bien podríamos descartar este parámetro como causante de las diferencias entre estaciones, debe tenerse en cuenta como se relaciona con los restantes parámetros limnológicos. En este punto, los resultados concuerdan con la nula correlación entre el largo del hidrante y C2, que surge como resultado de una combinación lineal entre la temperatura y la transparencia del agua.

Por lo expresado anteriormente, resulta importante comenzar un monitoreo dirigido y continuado de *C. caspia*. No debe perderse de vista que ha sido considerada una especie invasiva, siendo parte de todos los catálogos mundiales. Esta característica que para nada resulta un detalle menor, implica impactos profundos en las especies y ambientes donde habita. Resulta importante entonces, ahondar más en su biología para desentrañar no solo las características de su ciclo de vida, sino la participación activa con otros organismos de la comunidad.

CONSIDERACIONES FINALES

- Los resultados obtenidos demuestran que el género *Hydra* es habitual en los ambientes dulceacuícolas bonaerenses, siendo *Hydra vulgaris* la especie más frecuente.
- La subespecie *Hydra vulgaris pedunculata*, reportada por primera vez por Deserti, Zamponi & Escalante (2011) para laguna Los Padres, amplía su rango de distribución, siendo hallada también en La Brava y Nahuel Rucá.
- El resultado de los análisis moleculares muestra que todos los especímenes analizados fueron identificados como *Hydra vulgaris*. No fue detectada ninguna variación específica que pudiera corresponderse con la variación morfológica presente en la subespecie *Hydra vulgaris pedunculata*. Esta variación, que es la presencia de un conspicuo y translúcido pedúnculo cercano al disco pedal, podría entonces responder a una manifestación únicamente fenotípica.
- Se revaloriza la importancia del cnidoma en cuestiones taxonómicas. Su uso, en este caso, permitió distinguir entre especies de grupos diferentes. El tipo holotrico isorriza cobra especial relevancia al momento de realizar comparaciones entre diferentes sets de datos, a la vez que presentó diferentes morfotipos en las especies analizadas. Por otro lado, pareciera no existir una regla que relacione la talla de los cnidocistos con el tamaño de los individuos, aunque probablemente, la realización de experimentos específicos pueda dar mayor luz en este aspecto.
- El descubrimiento de organismos del fitoplancton en las cavidades gástricas de *Hydra* revelan la entrada pasiva de algunos componentes presentes en las aguas circundantes, incluso dominando los valores de la mayoría de los parámetros tróficos. El tamaño de los invertebrados ingeridos, demuestra la plasticidad tisular de las hidras y la eficacia de los cnidocistos en la estrategia de captura sobre presas de gran tamaño.
- En cuanto a la reproducción asexual, más de la mitad de los especímenes recolectados no presentaron brotes. A pesar de esto, para *Hydra vulgaris* la reproducción asexual es la principal estrategia reproductiva empleada y en aquellos ejemplares maduros sexualmente, el sexo femenino parecería ser el menos frecuente.
- Las preferencias de sustratos parecen estar relacionadas con la rigidez de las diferentes estructuras vegetales. *Ceratophyllum demersum* fue el sustrato con mayor riqueza de pólipos adheridos.

- Mediante sus clorelas simbióticas, los especímenes de *Hydra viridissima* recolectados en Los Padres y Nahuel Rucá, cuentan con un aporte entre el 10.41 y 47.54 % de las calorías necesarias por día, para poder sobrevivir períodos de inanición.
- Se observa el primer hallazgo de una doble amebiasis en *Hydra*, mediante una primer infección de los pólipos por *Hydramoeba* sp. y un segundo evento infectivo por parte de *Acanthamoeba* sp. El resultado final en todos los casos, fue la muerte del pólipo hospedador, pasando por varias etapas previas de deterioro progresivo.
- El hallazgo de *Cordylophora caspia* en aguas de Nahuel Rucá, constituye un importante aporte al conocimiento de la distribución global de los cnidarios dulceacuícolas, así como también al conocimiento de la fauna bonaerense. El hecho de ser considerada una especie invasora hace necesario el estudio de su biología, para conocer no solo las características de su ciclo de vida, sino la participación activa con otros organismos de la comunidad.

CAPÍTULO IX: BIBLIOGRAFÍA

- Acuña, F. H. & Garese, A. (2009). The cnidae of the acrospheres of the sea anemone *Corynactis carnea* Studer, 1878 (Cnidaria, Corallimorpharia, Corallimorphidae): composition, abundance and biometry. *Belgian Journal of Zoology*, 139(1), 50-57.
- Acuña, F. H. & Zamponi, M. O. (1997). The use of cnidocysts for ecological races identification from sea anemones populations (Anthozoa, Actiniidae). *Iheringia*, 82, 9-18.
- Acuña, F. H., Excoffon, A. C. & Ricci, L. (2007). Composition, biometry and statistical relationships between the cnidom and body size in the sea anemone *Oulactis muscosa* (Cnidaria: Actiniaria). *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 87, 415-419.
- Acuña, F. H., Excoffon, A. C., Zamponi, M. O. & Ricci, L. (2003). Importance of nematocysts in taxonomy of acontiarian sea anemones (Cnidaria, Actiniaria): A statistical comparative study. *Zoologischer Anzeiger*, 242, 75-81.
- Acuña, F. H., Ricci, L., Excoffon, A. C. & Zamponi, M. O. (2004). A novel statistical analysis of cnidocysts in acontiarian sea anemones (Cnidaria, Actiniaria) using generalized linear models with gamma errors. *Zoologischer Anzeiger*, 243, 47-52.
- Adler, P. B., Hille Ris Lambers, J. & Levine, J. M. (2007). A niche for neutrality. *Ecology Letters*, 10, 95–104.
- Allcock, A. L., Watts, P. C. & Thorpe, J. P. (1998). Divergence of nematocysts in two colour morphs of the intertidal beadlet anemone *Actinia equina*. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 78, 821-828.
- Amimoto, Y., Kodama, R. & Kobayakawa, Y. (2006). Foot formation in Hydra: a novel gene, anklet, is involved in basal disk formation. *Mechanisms of Development*, 123(5), 352–361.
- Ardelean, A. & Fautin, D. G. (2004). Variability in nematocysts from a single individual of the sea anemone *Actinodendron arboreum* (Cnidaria: Anthozoa: Actiniaria). *Hydrobiologia*, 530/531, 189-197.
- Arndt, E. A. (1984). The ecological niche of *Cordylophora caspia* (Pallas, 1771). *Limnologica*, 15(2), 469-477.
- Augustin, R., Franke, A., Khalturin, K., Kiko, R., Siebert, S., Hemmrich, G. & Bosch, T. C. (2006). Dickkopf related genes are components of the positional value gradient in Hydra. *Developmental Biology*, 296, 62–70.
- Augustin, R., Fraune, S. & Bosch, T. C. (2012). How Hydra senses and destroys microbes. *Seminars in Immunology*, 22, 54–58.
- Baquero, R. A., Reyes-Batlle, M., Nicola, G. G., Martí'n-Navarro, C. M., Lo'pez-Arencibia, A., Esteban, J. G., . . . Lorenzo-Morales, J. (2014). Presence of potentially pathogenic free-living amoebae strains from well water samples in Guinea-Bissau. *Pathogens and Global Health*, 108(4), 206-211.
- Batha, J. V. (1974). *The distribution and ecology of the genus Hydra in the Milwaukee area of Lake Michigan*. Wisconsin: University of Wisconsin.
- Beckmann, A. (2013). *Molecular Factors of Nematocyst Morphogenesis and Discharge in the Freshwater Polyp Hydra*. Tesis Doctoral, University of Heidelberg, Germany.
- Bell, G. & Wolfe, L. M. (1984). Sexual and asexual reproduction in a natural population of *Hydra pseudoligactis*. *Canadian Journal of Zoology*, 63, 851–856.
- Bode, H. R. (2003). Head regeneration in Hydra. *Dev. Dyn. Developmental Dynamics*, 226(2), 225-236. doi:10.1002/dvdy.10225
- Bode, H. R. & Flick, K. M. (1976). Distribution and dynamics of nematocyte populatons of *Hydra attenuata*. *Journal of Cell Sciences*, 21, 15-34.
- Boltovskoy, A. & Battistoni, P. (1981). La medusa *Craspedacusta sowerbyi* en el embalse Río Tercero, Córdoba, Argentina. *Physis. Seccion B*, 39(97), 78.

- Booton, G. C., Kelly, D. J., Chu, Y. W., Seal, D. V., Houang, E., Lam, D. S., . . . Fuerst, P. A. (2002). 18S ribosomal DNA typing and tracking of Acanthamoeba species isolates from corneal scrape specimens, contact lenses, lens cases, and home water supplies of Acanthamoeba keratitis patients in Hong Kong. *Journal of Clinical Microbiology*, *40*, 1621–1625.
- Bosch, T. C. (2007). Why polyps regenerate and we dont: towards a cellular and molecular framework for Hydra regeneration. *Development Biology*, *303*(2), 421–433.
- Bosch, T. C., & David, C. N. (1986). Male and female stem cells and sex reversal in Hydra polyps. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *83*, 9478–9482.
- Bosch, T. C., Krylow, S. M., Bode, H. R., & Steele, R. E. (1988). Thermotolerance and synthesis of heat shock proteins: these responses are present in Hydra attenuata but absent in Hydra oligactis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, *85*, 7927–7931.
- Bosch, T. G. (2012). Understanding complex host-microbe interactions in hydra. *Gut Microbes*, *3*(4), 1-7.
- Bossert, P., & Galliot, B. (2012). How to use Hydra as a model system to teach biology in a classroom? *International Journal of Developmental Biology*, *56*, 637-652.
- Bouillon, J. (1985). Essai de classification des hydropolypes hydroméduses (Hydrozoa-Cnidaria). *Indo-Malayan Zoology*, *1*, 29-243.
- Bouillon, J., & Boero, F. (2000). Synopsis of the families and genera of the Hydromedusae of the world, with a list of the worldwide species. *Thalassia Salentina*, *24*, 47-296.
- Bouillon, J., & Boero, F. (2000). The hydrozoa: a new classification in the light of old knowledge. *Thalassia Salentina*, *24*, 3-45.
- Bowden, H. C., Wilby, O. K., Botham, C. A., Adam, P. J., & Ross, F. W. (1995). Assessment of the toxic and potential teratogenic effects of four glycol ethers and two derivatives using the Hydra regeneration assay and rat whole embryo culture. *Toxicology in vitro*, *9*, 773-781.
- Brauer, A. (1981). Über die Entwicklung von Hydra. *Zeitschr.Ji für wissenschaftliche Zoologie*, *52*, 169-2 16.
- Brauer, A. (1981). Über die Entwicklung von Hydra. *Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie*, *52*, 169-216.
- Brennecke, T., Gellner, K., & Bosch, T. (1998). The lack of a stress response in Hydra oligactis is due to reduced hsp70 mRNA stability. *European Journal of Biochemistry*, *255*, 703–709.
- Bridge, D., Cunningham, C. W., DeSalle, D., & Buss, L. W. (1995). Class-level relationships in the Phylum Cnidaria: molecular and morphological evidence. *Molecular Biology and Evolution*, *12*, 679-689.
- Brien, P. (1953). La pérennité somatique. *Biological Review*, *28*, 308-349.
- Brien, P. (1965). L'embryogénese et la senescence de l'Hydre d'eau douce Hydra fusca (oligactis) Pallas. *Mémoires de l'Académie royale de Belgique Classe des Sciences*, *36*(1), 1-113.
- Brien, P., & Reniers-Decoen, M. (1949). La crissance, la blastogénese l'ovogénese chez Hydra fusca (Pallas). *Bulletin Biologique de la France et de la Belgique*, *83*, 293-386.
- Brien, P., & Reniers-Decoen, M. (1950). Étude d'Hydra viridis (Linnaeus) (La blastogénese, la spermatogénèse, l'ovogénese). *Annales de la Société royale zoologique de Belgique*, *81*, 33-110.
- Brien, P., & Reniers-Decoen, M. (1951). La gamétogénese et l'intersexualité, chez Hydra attenuata (Pallas). *Annales de la Société Royale Zoologique de Belgique*, *82*, 285-327.
- Browne, E. N. (1909). The production of new hydranths in hydra by the insertion of small grafts. *Journal of Experimental Zoology*, *7*, 1-37.
- Browne, E. N. (1909). The production of new hydranths in Hydra by the insertion of small grafts. *Journal of Experimental Zoology*, *7*(1), 1-23.
- Brusca, R. C., & Brusca, G. J. (2007). *Invertebrados* (Segunda edição ed.). Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan.

- Bryden, R. R. (1952). Ecology of *Pelmatohydra oligactis* in Kirkpatrick's Lake, Tennessee. *Ecological Monographs*, 22, 45–68.
- Burger, O. (1906). El género *Hydra* habitante de las aguas dulces de Chile. *Anales de la Universidad de Chile*, 119, 135-139. doi:10.5354/0717-8883.1906.24770
- Burnett, A. L. (1973). *Biology of Hydra*. New York: Academic Press.
- Burnett, A. L., & Diehl, N. A. (1964). The Nervous System of *Hydra*. I. Types, Distribution and Origin of Nerve Elements. *Journal of Experimental Zoology*, 157, 217-226.
- Campbell, R. D. (1965). Cell proliferation in *Hydra*: An autoradiographic approach. *Science*, 148, 1231–1232.
- Campbell, R. D. (1983). Identifying *Hydra* species. En H. M. Lenhoff, *Hydra Research Methods* (págs. 19-28). New York: Plenum Press.
- Campbell, R. D. (1987). A new species of *Hydra* (Cnidaria: Hydrozoa) from North America with comments on species clusters within genus. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 91, 253-263.
- Campbell, R. D. (1988). The nematocyte: an encapsulation of developmental processes. En D. A. Hessinger, & H. M. Lenhoff, *The biology of nematocysts* (págs. 115-121). San Diego: Academic Press.
- Campbell, R. D. (1989). Taxonomy of the European *Hydra* (Cnidaria: Hydrozoa): a re-examination of its history with emphasis on the species *H. vulgaris* Pallas, *H. attenuata* Pallas and *H. circumcincta* Schulze. *Zoological Journal of the Linnean Society*, 95, 219-144. doi: 10.1111/j.1096-3642.1998.tb01992.x
- Campbell, R. D. (1990). Transmission of symbiotic algae through sexual reproduction in *Hydra*: movement of algae into the oocyte. *Tissue & Cell*, 22, 137–147.
- Campbell, R. D., & Bode, H. R. (1983). Terminology for morphology and cell types. En H. Lenhoff, *Hydra: Research Methods* (págs. 5–14). New York: Plenum Press.
- Campbell, R. D., Iñiguez, A. R., Iñiguez, A. J., & Martínez, D. E. (2016). *Hydra* of Hawaii: phylogenetic relationships with continental species. *Hydrobiologia*, 713(1), 199–205.
- Campbell, R., Iñiguez, A., Iñiguez, A., & Martínez, D. (2013). *Hydra* of Hawaii: phylogenetic relationships with continental species. *Hydrobiologia*, 713, 199-205.
- Cardoni, D. A., Favero, M., & Isaach, J. P. (2008). Recreational activities affecting the habitat use by birds in Pampa's wetlands, Argentina: implications for waterbird conservation. *Biological Conservation*, 14, 797–806.
- Carlgren, O. (1940). *A contribution to the knowledge of the structure and distribution of the cnidae in the Anthozoa*. CWK Gleerup.
- Carvalho Wolle, L. (1978). *Hydra intermedia* sp. nov. and notes on *Chlorohydra viridissima* (Pallas) (Cnidaria). *Boletim de Zoologia*, 3, 143-152.
- Cavallini, F. (1930). Biologia e riproduzione della *Kerona polyporum*. *Archivio Zool Italiani*, 14, 1-13.
- CEMAGREF. (2000). *Guide Méthodologique pour la mise en oeuvre de l'indice biologique diatomées*. . Obtenido de http://www.eau-artois-picardie.fr/IMG/BaseDoc/aegis/2496/B_16478.pdf
- Cernichiari, E., Muscatine, L., & Smith, D. C. (1969). Maltose Excretion by the Symbiotic Algae of *Hydra viridis*. *Proceedings of the Royal Society B*, 173(1033), 557-576.
- Cernosvitov, L. (1935). Ueber zwei *Hydren* aus Paraguay. *Zoologischer Anzeiger*, 109(11-12), 307-311.
- Chapman, J. A., Kirkness, E. F., Simakov, O., Hampson, S. E., Mitros, T., & Weinmaier, T. e. (2010). The dynamic genome of *Hydra*. *Nature*, 464, 592–596.
- Chen, Z. Z., & Wang, A. T. (2008). A new species of the genus *Hydra* from China (Hydrozoa, Hydraridae). *Acta Zootaxonomica Sinica*, 33, 737-741.
- Chen, Z., & Wang, A. (2008). A new species of the genus *Hydra* from China (Hydrozoa, Hydraridae). *Acta Zootaxonomica Sinica*, 33, 737–741.

- Chera, S., Buzgariu, W., Chila, L., & Galliot, B. (2009). Autophagy in Hydra: A response to starvation and stress in early animal evolution. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1793: 1443.
- Chera, S., de Rosa, R., Miljkovic-Licina, M., Dobretz, K., Ghila, L., Kaloulis, K., & Galliot, B. (2006). • Silencing of the hydra serine protease inhibitor Kazal1 gene mimics the human SPINK1 pancreatic phenotype. *Journal of Cell Science*, 119(5), 846–857.
- Chesson, P. (2000). Mechanisms of maintenance of species diversity. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 31, 343–366.
- Cichino, A. C. (2006). Diversidad de Carábidos (Insecta, Coleoptera, Carabidae) de dos asocies de tala en la Laguna de los Padres, partido de General Pueyrredón, provincia de Buenos Aires. En E. Mérida, & J. Athor, *Talares Bonaerenses y su Conservación* (págs. 28-136). Buenos Aires: Fundación de Historia Natural Félix de Azara-Universidad Maimónides.
- Cikala, M., Wilm, B., Hobmayer, E., Bottger, A., & David., C. N. (1999). Identificación de caspases and apoptosis in the simple metazoan Hydra. *Current Biology*, 9, 959-962.
- Clark, D. A., & Clark, D. B. (1987). Temporal and environmental patterns of reproduction in *Zamia skinneri*, a tropical rain forest cycad. *Journal of Ecology*, 75, 135–149.
- Clarke, S. F. (1878). A new locality for *Cordylophora*. *American Naturalist*, 12, 232-234.
- Claybrook, D. L. (1961). The Nutrition of Hydra. En H. M. Lenhoff, & W. F. Loomis, *The Biology of Hydra and of some other coelenterates*. Miami: University of Miami Press.
- Clemente, S., Lorenzo-Morales, J., Mendoza, J. C., López, C., Sangil, C., Alves, F., . . . Hernández, J. C. (2014). Sea urchin *Diadema africanum* mass mortality in the subtropical eastern Atlantic: role of waterborne bacteria in a warming ocean. *Marine Ecology Progress Series*, 506, 1–14.
- Coleman, D. C. (1966). The Laboratory Population Ecology of *Kerona Pediculus* (O.F.M.) Epizoic on Hydra SPP. *Ecology*, 47(5), 705-711.
- Collins, A. G. (2000). Towards understanding the phylogenetic history of Hydrozoa: hypothesis testing with 18S gene sequence data. *Scientia Marina*, 64(1), 5-22.
- Collins, A. G. (2002). Phylogeny of Medusozoa and the evolution of cnidarian life cycle. *Journal of Evolutionary Biology*, 15(3), 418–432.
- Collins, A. G., Schuchert, P., Marques, A. C., Jankowski, T., Medina, M., & Schierwater, B. (2006). Medusozoan phylogeny and character evolution clarified by new large and small subunit rDNA data and an assessment of the utility of phylogenetic mixture models. *Systematic Biology*, 55, 97–115.
- Cook, C. B., & Kelty, M. O. (1982). Glycogen, protein, and lipid content of green, aposymbiotic and nonsymbiotic hydra during starvation. *Journal of Experimental Zoology*, 222, 1–9.
- Cordero, E. (1939). Observaciones sobre algunas especies sudamericanas del género Hydra. I. Hydra en el nordeste de Brasil. *Anais Academia Brasileira Ciencias*, 11, 335-340.
- Cordero, E. (1941a). Observaciones sobre algunas especies sudamericanas del género Hydra. II. Hydra y *Cordylophora* en el Uruguay. *Anais Academia Brasileira Ciencias*, 13(3), 173-183.
- Cordero, E. (1941b). Observaciones sobre algunas especies sudamericanas del género Hydra III. (1) Hydra en Venezuela. (2) La acción de Hydra iheringo sobre las larvas de ciertos peces del nordeste de Brasil. *Anais Academia Brasileira de Ciencias*, 13(3), 195-201.
- Cornelius, P. F., & Östman, C. (1987). Redescription of *Laomedea exigua* M. Sars, a hydroid new to Scandinavia, with comments on its nematocysts, life cycle and feeding movements. *Zoologica Scripta*, 16, 1-8.
- Cornelius, P. F., & Östman, C. (1987). Redescription of *Laomedea exigua* M. Sars, a hydroid new to Scandinavia, with comments on its nematocysts, life cycle and feeding movements. *Zoologica Scripta*, 16, 1-8.
- Corsaro, D., & Venditti, D. (2010). Phylogenetic evidence for a new genotype of *Acanthamoeba* (Amoebozoa Acanthamoebida). *Parasitology Research*, 7, 233–238.

- Cuker, B. E., & Mosley, S. C. (1981). Summer population fluctuations, feeding, and growth of Hydra in an arctic lake. *Limnology and Oceanography*, 26(4), 697-708.
- David, C. N., & Campbell, R. D. (1972). Cell cycle kinetics and development of Hydra attenuata. *Journal of Cell Science*, 11, 557-568.
- David, C. N., & Gierer, A. (1974). Cell cycle kinetics and development of Hydra attenuata. III. Nerve and nematocyte differentiation. *Journal of Cell Science*, 16, 359-375.
- David, C. N., & Murphy, S. (1977). Characterization of interstitial stem cells in hydra by cloning. *Developmental Biology*, 58, 372-383.
- David, C. N., Ozbek, S., Adamczyk, P., Meier, S., Pauly, B., Chapman, J., . . . Holstein, T. W. (2008). Evolution of complex structures: minicollagens shape the cnidarian nematocyst. *Trends in Genetics*, 24(9), 431-438.
- Dean, T. A., & Bellis, V. J. (1975). Seasonal and spatial distribution of the epifauna in the Palmico River estuary, North Carolina. *Journal of Elisha Mitchell Science Society*, 91, 1-12.
- Demetrio, P. M., Rossini, G. D., Bonetto, C. A., & Ronco, A. E. (2012). Effects of pesticide formulations and active ingredients on the coelenterate Hydra attenuata (Pallas, 1766). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 88, 15-19.
- Deserti, M. I., & Zamponi, M. O. (2011). Hydra vulgaris Pallas, 1766, (=Hydra attenuata) (Cnidaria; Hydrozoa) from the Los Padres Lagoon (Buenos Aires province, Argentina). *Revista Brasileira de Biociências*, 9(4), 82-487. doi:http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/1753
- Deserti, M. I., & Zamponi, M. O. (2012). Biometric and statistical investigations on the cnidoma of the genus Hydra (Cnidaria, Hydrozoa). *Iheringia, Série Zoologia*, 102(3), 298-302.
- Deserti, M. I., Zamponi, M. O., & Escalante, A. H. (2010). Dos tipos del nematocisto holotrico isorriza en Hydra vulgaris Pallas, 1766 (Cnidaria; Hydrozoa) de diferentes aguas continentales. *Revista Real Academia Galega de Ciencias*, 29, 67-76.
- Deserti, M. I., Zamponi, M. O., & Escalante, A. H. (2011). The genus Hydra from Argentina. I. Hydra vulgaris pedunculata subsp. nov. (Cnidaria, Hydrozoa). *Revista Real Academia Galega de Ciencias*, 30, 5-14.
- Deserti, M. I., Zamponi, M. O., & Escalante, A. H. (2012). The genus Hydra from Argentina. II. Hydra pseudoligactis Hyman, 1931 (Cnidaria; Hydrozoa), a new record. *Revista Real Academia Galega de Ciencias*, 31, 5-14.
- Dioni, W. (1968). Hydra (Clorohydra) plagiodesmica sp. nov. Una hidra verde del Río Salado. República Argentina (Cnidaria, Hydrozoa). *Physis*, 28(76), 203-210.
- Dioni, W. (1974). Noticia sobre un rari hidroide de agua dulce de la Argentina y Uruguay, Calpasoma dactyloptera. *Physis. Seccion B*, 33(86), 147-150.
- Dioni, W. (1977). Cnidaria. En S. H. Hulbert, *Biota Acuática de Sudamérica Austral* (págs. 62-63). San Diego, California: San Diego State University.
- Dosdall, M. L., & Parker, D. W. (1998). First report of a symphoretic association between Nanocladius branchicolus Saether (Diptera: Chironomidae) and argia moesta (Hagen) (Odonata: Coena grionidae). *American Midland Naturalist*, 139(1), 181-185.
- Douglas, A. E. (1987). The influence of host contamination on maltose release by symbiotic Chlorella. *Limnology and Oceanography*, 32(6), 1363-1365.
- Ehrenberg, C. G. (1838). Ueber das Massenverhältniss der jetzt lebenden Kiesel-Infusorien und über ein neues Infusorien-Conglomerat als Polirschiefer von Jastraba in Ungarn. *Abhandlungen der Königlichen Akademie der Wissenschaften zu Berlin, aus dem Jahre, 1836*, 109-135.
- Elliot, J. K., Elliot, J. M., & Leggett, W. C. (1997). Predation by Hydra on larval fish: Field and laboratory experiments with bluegill (Lepomis macrochirus). *Limnology and Oceanography*, 42(6), 1416-1423.
- Entz, G. (1912). Über eine neue Amöbe auf Süßwasser Polypen (Hydraoligactis Pall.). *Archiv für Protistenkunde*, 27, 19-47.

- Escalante, A. H. (1982). Contribución al conocimiento de las relaciones tróficas de peces de agua dulce del área platense. I. *Astyanax eigenmanniorum* (Osteichthyes; Tetragonopteridae). *Limnobiós*, 2(5), 311-322.
- Esquiús, K. S., & Escalante, A. H. (2012). Periphyton assemblages and their relationships with environmental variables in a eutrophic shallow lake from Pampa Plain, Argentina. *Pan-American Journal of Aquatic Sciences*, 7(2), 57-72.
- Esquiús, K. S., Escalante, A. H., & Solari, L. C. (2010). Summer periphyton community in two streams of the Pampa Plain, Argentina. *Gestión y Ambiente*, 13, 87-96.
- Ewer, R. (1948). A review of Hydridae and two new species of Hydra from Natal. *Proceedings of Zoological Society of London*, 118, 226-244.
- Ewer, R. F. (1947). On the functions and mode of action of nematocysts of hydra. *Proceedings of Zoological Society of London*, 117, 365-376.
- Fautin, D. G. (2009). Structural diversity, systematics, and evolution of cnidae. *Toxicon*, 54, 1054-1064.
- Fautin, D. G., & Mariscal, R. N. (1991). Cnidaria: anthozoa. *Microscopic anatomy of invertebrates*, 2, 267-358.
- Ferrero, L. (2001). Avifauna de Mar Chiquita. En O. Iribarne, *Reserva de Biosfera Mar Chiquita. Características físicas, Biológicas y Ecológicas* (págs. 227-250). Mar del Plata: Martin.
- Folino, N. C. (2000). The freshwater expansion and classification of the colonial hydroid Cordylophora (Phylum Cnidaria, Class Hydrozoa). En J. Pederson, *Marine Bioinvasions: Proceedings of the First National Conference* (págs. 139-144). Cambridge: Massachusetts Institute of Technology Sea Grant College Program.
- Folino-Rorem, N. C., & Indelicato, J. (2005). Controlling biofouling caused by the colonial hydroid Cordylophora caspia. *Water Research*, 39, 2731-2737.
- Forrest, H. (1959). Taxonomic studies on the hydras of North America VII. Description of Chlorohydra hadleyi, new species, with a key to the North American species of hydras. *American Midland Naturalist*, 62, 440-448.
- Forrest, H. (1963). Taxonomic studies on the hydras of North America. VIII. Description of two new species, with new records and key to the North American hydras. *Transactions of the American Microscopical Society*, 82, 6-17.
- Fukuhori, N., Kitano, M., & Kimura, H. (2005). Toxic effects of bisphenol A on sexual and asexual reproduction in Hydra oligactis. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 48, 495-500.
- Fulton, C. (1962). Environmental factors influencing the growth of Cordylophora. *Journal of Experimental Zoology*, 151, 61-78.
- Gaggero, P. (1923). Cordylophora lacustres Allaman en el Río de la Plata. *Annales de la Sociedad Científica Argentina*, 36, 264-268.
- Galliot, B. (2012). Hydra, a fruitful model system for 270 years. *International Journal of Developmental Biology*, 56, 411-423.
- Galliot, B., Miljkovic-Licina, M., de Rosa, R., & Chera, S. (2006). Hydra, a niche for cell and developmental plasticity. *Seminars in Cell & Developmental Biology*, 17(4), 492-502.
- Garese, A. (2013). *Estudio del cnidoma de anémonas de mar (Cnidaria: Actiniaria y Corallimorpharia): composición, abundancia y biometría*. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de Mar del Plata, Ciencias Marinas, Mar del Plata.
- Gelei, J. (1927). Das Ratsel der Nesselzellen. Sitzber. *Ges. Naturf. Freunde Berlin*, 12-16.
- Gellner, K., Praetzel, G., & Bosch, T. C. (1992). Cloning and expression of a heat-inducible hsp70 gene in two species of Hydra which differ in their stress response. *European Journal of Biochemistry*, 20, 683-691.
- Genzano, G. N. (2005). Trophic ecology of a benthic intertidal hydroid, Tubularia crocea, at Mar del Plata, Argentina. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 85: 307-312.

- Govindasamy, N., Murthy, S., & Ghanekar, Y. (2014). Slow-cycling stem cells in hydra contribute to head regeneration. *Biology Open*, 000, 1-9. doi:10.1242/bio.201410512
- Gravier-Bonnet, N. (1987). Nematocysts as taxonomic discriminators in thecate hydroids. En J. Bouillon, F. Boero, F. Ciciona, & P. Cornelius, *Modern Trends in the Systematics, Ecology, and Evolution of Hydroids and Hydromedusae* (págs. 43-55). Oxford: Clarendon Press.
- Grayson, R. F. (1971). The freshwaters hydras of Europe 1. A review of the European species. *Archiv für Hydrobiologie*, 68, 436-449.
- Green, J. (1968). *The Biology of Estuarine Animals*. Washington: Seattle & London.
- Greenwood, M. (1888). On Digestion in Hydra, with some Observations on the Structure of the Endoderm. *The Journal of Fisiology*, 9(5-6), 317-344. doi:10.1113/jphysiol.1888.sp000290
- Griffing, T. (1965). *Dynamics and energetics of populations of brown Hydra*. PhD Thesis, University of Michigan.
- Grosman, F., & 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.
- Guarrera, S. A., Cabrera, S. M., Lopez, F., & Tell, G. (1968). Fitoplancton de las aguas superficiales de la provincia de Buenos Aires. I. Área de la pampa deprimida. *Revista del Museo de La Plata Nueva Serie, Sección Botánica*, 10(49), 223-331.
- Guder, C., Pinho, S., Nacak, T. G., Schmidt, H. A., Hobmayer, B., Niehrs, C., & Holstein, T. W. (2006). An ancient Wnt-Dickkopf antagonism in Hydra. *Development*, 136(5), 901-911.
- Haacke, W. (1880). Zur Blastologie der Gattung Hydra. *Fenaische Zeitschrift für Naturwissenschaft*, 14, 33-152.
- Habetha, M., & Bosch, T. C. (2005). Symbiotic Hydra express a plant-like peroxidase gene during oogenesis. *Journal of Experimental Biology*, 208(11), 2157-2165.
- Habetha, M., Anton-Erxleben, F., Neumann, K., & Bosch, T. C. (2003). The Hydra viridis/Chlorella symbiosis. Growth and sexual differentiation in polyps without symbionts. *Zoology*, 106(2), 101-108.
- Habetha, M., F. Anton-Erxleben, K. N., & Bosch, T. C. (2003). The Hydra viridis/Chlorella symbiosis. (I) Growth and sexual differentiation in polyps without symbionts. *Zoology*, 106, 101-108.
- Hadley, C., & Forrest, H. (1949). Taxonomic studies on the hydras of North America 6. Description of Hydra hymanae, new species. *American Museum Novitates*, 1423.
- Hadži, H. (Arbeiten aus den Zoologischen Instituten der Universität Wien). *Über das nervensystem von hydra* (Vol. 17). 1909: 225-268.
- Hand, C. (1961). Present state of nematocyst research: types, structure and function. En H. M. Lenhoff, & W. F. Loomis, *The Biology of Hydra and of some other coelenterates* (págs. 187-202). Miami: Rose Printing Company.
- Hastie, T. J., & Tibshirani, R. J. (1990). *Generalized additive models*. Wahsington: Chapman & Hall.
- Hayness, J. F. (1973). Feeding and Digestion. En A. L. Burnett, *Biology of Hydra*. New York: Academic Press.
- Hemrich, G., Anokhin, B., Zacharias, H., & Bosch, T. C. (2007). Molecular phylogenetics in Hydra, a classical model in evolutionary developmental biology. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 44, 281-290.
- Herlands, R. L., & Bode, H. R. (1974). The influence of tissue polarity on nematocyte migration in Hydra attenuata. *Developmental Biology*, 40, 323-339.
- Hershey, A. E., & Dodson, S. I. (1987). Predator avoidance by Cricotopus: cyclomorphosis and the importance of being big and hairy. *Ecology*, 68(4), 913-920.
- Hershey, A., & Dodson, S. I. (1987). Predator avoidance by Cricotopus: cyclomorphosis and the importance of being big and hairy. *Ecology*, 68, 913-920.
- Hess, A. (1961). The Fine Structure of cells in Hydra. En H. M. Lenhoff, & W. F. Loomis, *The Biology of Hydra* (págs. 1-51). Florida: University of Miami Press,.

- Hillebrand, H., Durselen, C. D., Kirschtel, D., Pollinger, U., & Zohary, T. (1999). Biovolume calculation for pelagic and benthic microalgae. *Journal of Phycology*, 35, 403-424.
- Hobmayer, B., Rentzsch, F., Kuhn, K., Happel, C. M., Laue, C. C., Snyder, P., . . . Holstein, T. W. (2000). WNT signalling molecules act in axis formation in the diploblastic metazoan hydra. *Nature*, 407(6801), 186-189.
- Hobmayer, E., Holstein, T. W., & David, C. N. (1990). Tentacle morphogenesis in hydra. II. Formation of a complex between a sensory nerve cell and a battery cell. *Development*, 109, 897-904.
- Holstein, T. (1995). Cnidaria: Hydrozoa. En J. Z. Schwoerbel, *Süßwasserfauna von Mitteleuropa*. (pág. 110). New York: Gustav Fisher Verlag.
- Holstein, T., Campbell, R., & Tardant, P. (1990). Identity Crisis. *Nature*, 346(6279), 21-22.
- Hubschman, J. H., & Kishler, W. J. (1972). Craspedacusta sowerbyi Lankester 1880 and Cordylophora lacustris Allman 1871 in western Lake Erie. *The Ohio Journal of Science*, 72(6), 318-321.
- Hummelinck, P. W. (1936). Hydropoliepen. En *Flora en Fauna der Zuiderzee Supplement* (pág. 4164).
- Huss, V. A., Holweg, C., Seidel, B., Reich, V., Rahat, M., & Kessler, E. (1993/94). There Is an Ecological Basis For Host Symbiont Specificity In Chlorella Hydra Symbioses. *Endocytobiosis and Cell Research*, 10, 35-46.
- Hutchinson, G. E. (1967). *A treatise on limnology, II edn*. New York: Wiley.
- Hutchinson, G. E. (1993). *A treatise on Limnology. IV. The Zoobenthos*. New York: John Wiley & Sons.
- Hyman, L. (1928). Miscellaneous observations on Hydra, with special reference to reproduction. *Biological Bulletin*, 54, 65-109.
- Hyman, L. (1929). Taxonomic studies on the hydras of North America I. General remarks and descriptions of Hydra Americana, new species. *Transactions of the American Microscopical Society*, 48, 242-255.
- Hyman, L. H. (1930). Taxonomic studies on the hydras of North America II. The characters of Pelmatohydra oligactis (Pallas). *Transactions of the American Microscopical Society*, 49, 322-333.
- Hyman, L. H. (1931a). Taxonomic studies on the hydras of North America III. Rediscovery of Hydra carnea L. Agassiz (1850) with descriptions of its characters. *Transactions of the American Microscopical Society*, 50, 20-29.
- Hyman, L. H. (1931b). Taxonomic studies on the hydras of North America VI. Descriptions of three species with key to the known species. *Transactions of the American Microscopical Society*, 50, 302-315.
- Hyman, L. H. (1938). Taxonomic studies on the hydras of North America. Description of Hydra cauliculata, n.sp., with notes on other species, especially Hydra littoralis. *American Museum Novitates*, 1003, 1-9.
- Ito, T. (1949). On Hydramoeba hydroxena discovered in Japan. *Science Reports of the Tohoku University* 4, 18(2), 205-209.
- Ito, T. (1950). Further notes on Hydramoeba hydroxena (Entz) from Japan. *Memoirs of Ehime University, Section 2, Natural Science*, 1, 27-36.
- Itó, T. (1954). Studies on the reproduction of hydras. VI. Induction of the sexual reproduction in Pelmatohydra robusta Itô by lowering temperature. *Memoirs Ehime University Natural Sciences, Serie B*, 2, 51-60.
- Ito, T., & Inoue, K. (1962). Systematic studies on the nematocysts of Cnidaria. I. Nematocysts of Gymnoblaster and Calyptoblastea. *Memoirs of the Ehime University IIB*, 4, 445-460.
- Jankowski, T., Collins, A. G., & Campbell, R. (2008). Global diversity of inland water cnidarians. *Hydrobiologia*, 595, 35-40. doi:10.1007/S10750-007-9001-9
- Jhonson, E. M., Gabel, B. E., Christian, M. S., & Sica, E. (1986). The developmental toxicity of xylene and xylene isomers in the hydra assay. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 82, 323-328.
- Jickeli, C. (1882). Der Bau Hydroidpolyphen. I. Über den histologischen Bau von Eudendrium Ehrbg. Und Hydra L. *Morphologisches Jahrbuch*, 8, 373-416.

- Jolley, E., & Smith, D. (1980). The green hydra symbiosis. II. The biology of the re-establishment of the symbiosis. *Proceedings of the Royal Society B*, 207(1168), 311–333.
- Jolley, E., & Smith, D. C. (1978). The Green Hydra Symbiosis. I. Isolation, Culture and Characteristics of the Chlorella Symbiont of 'European' Hydra viridis. *The New Phytologist*, 81(3), 637-645.
- Jormalainen, V., Honkanen, T., Vuorisalo, T., & Laihonon, P. (1994). Growth and reproduction of an estuarine population of the colonial hydroid Cordylophora caspia (Pallas) in the northern Baltic sea. *Helgolander Meeresunters*, 48, 407-418.
- Kaliszewicz, A. (2009). The reproductive strategies of hydra. Two in one. *Evolutionary Zoology*, 24-27.
- Kaliszewicz, A. (2011). Interference of asexual and sexual reproduction in the green hydra. *Ecological Research*, 26, 147–152.
- Kaliszewicz, A. (s.f.). Is larger better in sit-and-wait predators? Competitive superiority in Hydra. *Hydrobiologia*, 714(1), 105-114.
- Kaliszewicz, A., & Lipińska, A. (2013). Environmental condition related reproductive strategies and sex ratio in hydras. *Acta Zoologica*, 94(2), 177–183. doi:10.1111/j.1463-6395.2011.00536.x
- Kanaev, I. I. (1952). *Hydra: essays on the biology of freshwater polyps*. (H. M. Lenhoff, Ed., E. T. Burrows, & H. M. Lenhoff, Trans.) Moscow: Soviet Academy of Science.
- Kanaev, I. I. (1969). *Hydra: essays on the biology of freshwater polyps*. Moscow: Soviet Academy of Sciences.
- Karntanut, W., & Pascoe, D. (2007). A comparison of metal accumulation by the cnidarian Hydra vulgaris directly from water or through contaminated prey and effects upon reproduction and regeneration. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*, 29, 869-880.
- Kass-Simon, G., & Scappaticci Jr., A. A. (2002). The behavioral and developmental physiology of nematocysts. *Canadian Journal of Zoology*, 80(10), 1772-1794.
- Kawaida, H., Shimizu, H., Fujisawa, T., Tachida, H., & Kobayakawa, Y. (2010). Molecular phylogenetic study in genus Hydra. *Gene*, 468, 30-40.
- Kepner, W. A., & Miller, L. (1928). A new histological region in Hydra oligactis Pallas. *Biological Bulletin*, 54, 524-528.
- Kepner, W. A., & Thomas, W. L. (1928). Histological features correlated with gas secretion in Hydra oligactis Pallas. *Biological Bulletin*, 54, 529-533.
- Kepner, W. M., & Thomas, W. L. (1928). Histological features correlated with gas secretion in Hydra oligactis Pallas. *Biological Bulletin*, 54, 529-533.
- Khalturin, K., Hemmrich, G., Fraune, S., Augustin, R., & Bosche, T. C. (2009). More than just orphans: are taxonomically-restricted genes important in evolution? *Trends in Genetics*, 25(9), 404–413.
- Kinne, O. (1956). Über den Einfluss des Salzgehaltes und der Temperatur auf Wachstum, Form und Vermehrung bei dem Hydroidpolypen Cordylophora caspia (Pallas), Athecata, Clavidae. *Zoologische Jahrbucher Abteilung fuer Allgemeine Zoologie und Physiologie der Tierre*, 66, 565–638.
- Kinne, O. (1957). Über den Einfluss von Temperatur und Salzgehalt auf die Kopfschenform des Brackwasserpolypen Cordylophora. *Verhandlungen der deutschen Zoologischen Gesellschaft*, 1956, 445-44.
- Kinne, O. (1964). The effects temperature and salinity on marine and brackish water animals. *Oceanography and Marine Biology*, 2, 281-339.
- Kleiber, M. (1965). Respiratory exchange and metabolic rate. En W. O. Fenn, & H. Rahn, *Respiration, Volume II*. (págs. 927-938). Washington, D. C.: American Physiological Society.
- Kobayakawa, Y., & Kodama, R. (2002). Foot formation in Hydra: Commitment of the basal disk cells in the lower peduncle. *Development, Growth & Differentiation*, 44(6), 517–526.

- Koizumi, O. (2007). Nerve Ring of the Hypostome in Hydra: Is It an Origin of the Central Nervous System of Bilaterian Animals? *Brain, Behaviour and Evolution*, *69*, 151–159.
- Koizumi, O., & Bode, H. R. (1986). Plasticity in the nervous system of adult hydra. I. The position-dependent expression of fmrfamide-like immunoreactivity. *Developmental Biology*, *116*, 407-421.
- Korpelainen, H. (1990). Sex ratios and conditions required for environmental sex determination in animals. *Biological Reviews*, *65*, 147-184.
- Kovacevic, G. (2012). Value of the Hydra model system for studying symbiosis. *International Journal of Developmental Biology*, *56*, 627-635.
- Kovacevic, G., Franjevic, D., Jelencic, B., & Kalafatic, M. (2010). Isolation and cultivation of endosymbiotic algae from green hydra and phylogenetic analysis of 18S rDNA sequences. *Folia Biologica*, *58*, 135–143.
- Kovacevic, G., Franjevic, D., Jelencic, B., & Kalafatic, M. (2012). Isolation and Cultivation of Endosymbiotic Algae from Green Hydra and Phylogenetic Analysis of 18S rDNA Sequences. *Folia biologica*, *58*(1-2), 135-143. doi:10.3409/fb58_1-2
- Krahe, M., Wenzel, I., Lin, K., Fisher, J., Goldmann, J., Kastner, M., & Futterer, C. (2012). Fluctuations and differential contraction during regeneration of Hydra vulgaris tissue toroids. *New Journal of Physics*, *15*, 18. doi:10.1088/1367-2630/15/3/035004
- Lang da Silveira, F., Gomez, C. S., & Silva, Z. D. (1997). New species of Hydra Linnaeus, 1758 (Cnidaria, Hydrozoa) from Southeastern Brazil. *Boletim do Museu Nacional*, *373*, 1-15.
- Lenhoff, H. M. (1961). Digestion of protein in Hydra as studied using radioautography and fractionation by differential solubilities. *Experimental Cell Research*, *23*, 335-353.
- Lenhoff, H. M. (1965). Cellular segregation and heterocytic dominance in hydra. *Science*, *148*, 1105- 1107.
- Lenhoff, H. M. (1968). Chemical perspectives on the feeding response, digestion and nutrition of selected coelenterates. En M. Florkin, & .. Scheer, *Chemical zoology* (pág. 158). New York: Academic Press.
- Lenhoff, H. M. (1983). *Hydra: Research Methods*. New York: Plenum Press.
- Lenhoff, H. M., & Lenhoff, S. G. (1989). Los pólipos de Trembley. *Investigación y Ciencia*, *141*, págs. 88-93.
- Lenhoff, H. M., & Muscatine., L. (1963). On the role of algae symbiotic with Hydra. *Science*, *142*, 956–958.
- Lenhoff, S. G., & Lenhoff, H. M. (1986). *Abraham Trembley. Mémoires, Pour Servir à L'histoire d'un Genre De Polypes d'eau Douce, à Bras en Forme de Cornes, Hydra and the Birth of Experimental Biology*. Pacific Grove.: The Boxwood Press.
- Levitis, D. A., & Goldstein, J. (2013). The consistent, non-destructive measurement of small proteiform aquatic animals, with application to the size and growth of hydra. *Marine and Freshwater Research*, *64*, 332–339.
- Linnaeus, C. (1746). *Fauna Svecica*.
- Linnaeus, C. (1758). *Sistema Naturae* (10th edition ed.).
- Linnaeus, C. (1767). *Sistema Naturae* (12th edition ed.).
- Lipsey, L. L., & Chimney, M. J. (1978). New distribution records of Cordylophora lacustris and Craspedacusta sowerbyi (coelenterata) in Southern Illinois. *Ohio Journal of Science*, *78*(5), 280-281.
- Littlefield, C. L., Finkemeier, C., & Bode, H. R. (1991). Spermatogenesis in Hydra oligactis. II. How temperature controls the reciprocity of sexual and asexual reproduction. *Developmental Biology*, *146*, 292-300.
- Lomnicki, A., & Slobodkin, A. B. (1966). Floating in Hydra Littoralis. *Ecology*, *47*, 881-889.
- Loomis, D. J. (1954). Environmental factors controlling growth in hydra. *Journal of Experimental Zoology*, *126*, 223-234.
- Loomis, W. F. (1955). Glutathione control of the specific feeding reactions of hydra. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *62*, 209-228.

- Loomis, W. F. (1964). Microenvironmental control of sexual differentiation in Hydra. *Journal of Experimental Zoology*, 156(3), 289–305.
- Lorenzo-Morales, J. (2010). Pathogenicity of amoebae. *Experimental Parasitology*, 126, 2-3.
- Lorenzo-Morales, J., Monteverde-Miranda, C. A., Jiménez, C., Tejedor, M. L., Valladares, B., & Ortega-Rivas, A. (2014). Evaluation of Acanthamoeba isolates from environmental sources in Tenerife, Canary Islands, Spain. *Annals of agricultural and environmental medicine*, 12, 233–236.
- Mackie, G. O. (1974). Analysis of locomotion in a siphonophore colony. *Proceedings of the Royal Society*, 159(975), 364-391.
- Marchese, M., & Drago, I. E. (1983). Zoobentos de los principales tributarios del río Paraná medio en el tramo Goya-Diamante. Su relación con el cauce principal y cauces secundarios. *Revista de la Asociación de Ciencias Naturales del Litoral*, 14(2), 95-109.
- Mariscal, R. N. (1974). Nematocysts. En L. Muscatine, & H. M. Lenhoff, *Coelenterate Biology: Reviews and New Perspectives* (págs. 129-178). New York: Academic Press.
- Mariscal, R. N. (1984). Cnidaria: Cnidae. En J. Bereiter-Hahn, A. G. Matoltsy, & K. S. Richards, *Biology of the Integument, vol. 1, Invertebrates* (págs. 57-68). Berlin: Heidelberg: Springer-Verlag.
- Márquez, L. M., Miller, D. J., MacKenzie, J. B., & Van Oppen, M. J. (2003). Pseudogenes contribute to the extreme diversity of nuclear ribosomal DNA in the hard coral Acropora. *Molecular Biology and Evolution*, 20, 1077–1086.
- Martin, V. J., Littlefield, C. L., Archer, W. E., & Bode, H. R. (1997). Embryo-genesis in hydra. *Biological Bulletin*, 192, 345-363.
- Martínez, D. E. (1998). Mortality patterns suggest lack of senescence in hydra. *Experimental Gerontology*, 33, 217-225.
- Martinez, D. E., & Bridge, D. (2012). Hydra, the everlasting embryo, confronts aging. *International Journal of Developmental Biology*, 56, 479-487.
- Martínez, D., Iñiguez, A., Percell, K., Willner, J., Signorovitch, J., & Campbell, R. (2010). Phylogeny and biogeography of Hydra (Cnidaria: Hydridae) using mitochondrial and nuclear DNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 57(1), 403–410. doi:10.1016/j.ympev.2010.06.016
- Martínez, G. (2000). *Geomorfología y geología del Cenozoico superior de las cuencas de drenaje de los arroyos Los Cueros y Seco, Sierras Septentrionales de la provincia de Buenos Aires*. Tesis Doctoral, Universidad Nacional del Sur.
- Massaro, F. C., Negreiros, N. F., & Rocha, O. (2013). A search for predators and food selectivity of two native species of Hydra (Cnidaria: Hydrozoa) from Brazil. *Biota Neotropica*, 3, 35-40.
- Maxwell, T. R. (1970). Hydramoeba hydroxena (Entz) discovered on Hydra graysoni sp. nov. *Nature*, 225, 1068.
- Mayura, K., Smith, E. E., Clement, B. A., & Philips, T. D. (1991). Evaluation of the developmental toxicity of chlorinated phenols utilizing Hydra attenuata and postimplantation rat embryos in culture. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 108, 253-266.
- McAuley, P. (1981). Ejection of algae in the green hydra symbiosis. *Journal of Experimental Zoology*, 127, 23–31.
- McAuley, P. J. (1985). Regulation of numbers of symbiotic Chlorella in digestive cells of green hydra. *Endocytosis and Cell Research*, 2, 179–190.
- McAuley, P. J. (1992). The effect of maltose release on growth and nitrogen metabolism of symbiotic Chlorella. *British Phycological Journal*, 27, 417-422.
- McAuley, P. J., Dorling, M., & Hodge, H. (1996). Effect of maltose release on uptake and assimilation of ammonium by symbiotic Chlorella (Chlorophyta). *Journal of Phycology*, 32, 839–846.

- McConell, C. M. (1932). Zellteilungen bei Hydra. Mitosen in den epithelio-muskulaeren Zellen des entoderms von Hydra. *Zeitschrift fur Mikroskopisch-Anatomische Forschung*, 28, 578-588.
- Meek, M. H., Wintzer, A. P., Wetzel, W. C., & May, B. (2012). Climate change likely to facilitate the invasion of the non-native hydroid, *Cordylophora caspia*, in the San Francisco estuary. *PLoS ONE*, 7(10), e46373. doi:10.1371/journal.pone.0046373
- Merechowsky, C. (1876). On the mode of development of the tentacles in the genus Hydra. *Annals And Magazine of Natural History*, 5(2), 251-257.
- Merlotto, A., & Bértola, G. (2009). Coastline evolution at Balneario Parque Mar Chiquita, Argentina. *Ciencias Marinas*, 35, 271-286.
- Miller, D. E. (1936). A limnological study of *Pelmatohydra* with special reference to their quantitative distribution. *Transactions of the American Microscopical Society*, 55, 123-193.
- Mitchell, F. M., & Holdway, D. A. (2000). The acute and chronic toxicity of the dispersants Corexit 9527 and 9500, water accommodated fraction (WAF) of crude oil, and dispersant enhanced WAF (DEWAF) to *Hydra viridissima* (green hydra). *Water Research*, 34, 343-348.
- Moore, S. (1987). Male-biased mortality in the butterfly *Euphydryas editha*: a novel cost of mate acquisition. *American Naturalist*, 130, 306-309.
- Moreteau, J. C., & Khalanski, M. (1994). Settlements and growth of *D. polymorpha* in the raw water circuits of the Cattenom Nuclear Power Plant (Moselle, France). *Proceedings of the Fourth International Zebra Mussel Conference*, (págs. 553-574). Wisconsin.
- Moreteau, J. C., & Khalanski, M. (1994). Settlements and growth of *D. polymorpha* in the raw water circuits of the Cattenom Nuclear Power Plant (Moselle, France). *Proceedings of the Fourth International Zebra Mussel Conference*, (págs. 553-574). Madison.
- Morri, C. (1979). Osservazioni su due idroidi lagunari italiani. *Bollettino di Zoologia*, 46, 160-171.
- Müller, W., Groothuis, T. G., Eising, C. M., & Dijkstra, C. (2005). An experimental study on the causes of sex-biased mortality in the black-headed gull—the possible role of testosterone. *Journal of Animal Ecology*, 74, 735–741.
- Muscatine, L. (1965). Symbiosis of hydra and algae. III. Extracellular products of the algae. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 16, 77–92.
- Muscatine, L., & Lenhoff, H. M. (1963). Symbiosis: on the role of algae symbiotic with Hydra. *Science*, 142, 956–958.
- Muscatine, L., & Lenhoff, H. M. (1965a). Symbiosis of hydra and algae. I. Effects of some environmental cations on growth of symbiotic and aposymbiotic hydra. *Biological Bulletin*, 128, 415–424.
- Muscatine, L., & Lenhoff, H. M. (1965b). Symbiosis of Hydra and algae. II Effects of limited food and starvation on growth of symbiotic and aposymbiotic Hydra. *Biological Bulletin*, 129, 316–328.
- Muscatine, L., Cook, C. B., Pardy, R. L., & Pool, R. (1975). Uptake, recognition and maintenance of symbiotic *Chlorella* by *Hydra viridis*. *Symposia of the Society for Experimental Biology*, 25, 175–203.
- Muskó, I. B., Bence, M., & Balogh, C. S. (2008). Occurrence of a new Ponto-Caspian invasive species, *Cordylophora caspia* (Pallas 1771) (Hydrozoa: Clavidae) in Lake Balaton (Hungary). *Acta Zoologica of the Academy Science of Hungry*, 54, 169–179.
- Nelder, J. A., & Wedderburn, R. W. (1972). Generalized linear models. Series A. *Journal of the Royal Statistical Society*, 135, 370-384.
- Nishimaya-Fujisawa, C., & Sugiyama, T. (1993). Genetic analysis of developmental mechanisms in hydra. XX. Cloning of interstitial stem cells restricted to the sperm differentiation pathway in *Hydra magnipapillata*. *Developmental Biology*, 157, 1-9.

- Nishimaya-Fujisawa, C., & Sugiyama, T. (1995). Genetic analysis of developmental mechanisms in Hydra. XXII. Two types of female germ stem cells are present in a male strain of Hydra magnipapillata. *Developmental Biology*, 172(1), 324-336.
- Nosrati, H., Nosrati, M., Karimi, R., & Makekian, K. (2013). Some Characteristics of the Phylum Cnidaria. *World Applied Programming*, 3(9), 391-395.
- Nussbaum, M. (1909). Über Geschlechtsbildung bei Polypen. *Archive Gesamte Physiologie*, 130, 521-629.
- O'Brien, T. L. (1982). Inhibition of vacuolar membrane fusion by intracellular symbiotic algae in Hydra viridis (Florida strain). *Journal of Experimental Zoology*, 223, 211-218.
- Olivier, S. R. (1961). *Estudios limnológicos en la laguna Vitel (Partido de Chascomús. Buenos Aires, Argentina)* (Serie AGRO ed.). La Plata: [s. n.].
- Omaña-Molina, M., González-Robles, A., Salazar-Villatoro, L. I., Lorenzo-Morales, J., Cristóbal-Ramos, A. R., Hernández-Ramírez, V. I., . . . Martínez-Palomo, A. (2013). Reevaluating the Role of Acanthamoeba Proteases in Tissue Invasion: Observation of Cytopathogenic Mechanisms on MDCK Cell Monolayers and Hamster Corneal Cells. *BioMed Research International*, 1-13.
- Östman, C. (1979a). Two types of nematocysts in Campanulariidae (Cnidaria, Hydrozoa) studied by light and scanning electron microscopy. *Zoologica Scripta*, 8, 5-12.
- Östman, C. (1979b). Nematocysts in the Phialidium medusae of Clytia hemisphaerica (Hydrozoa, Campanulariidae). *Zoon*, 7, 125-142.
- Östman, C. (1982). Nematocysts and taxonomy in Laomedea, Gonothyrea and Obelia (Hydrozoa, Campanulariidae). *Zoologica Scripta*, 11, 227-241.
- Östman, C. (1983). Taxonomy of Scandinavian hydroids (Cnidaria, Campanulariidae): A study based on nematocyst morphology and isoenzymes. *Acta Universitatis Uppsaliensis*, 672, 1-22.
- Östman, C. (1987). New techniques and old problems in hydrozoans systematic. En J. Bouillon, F. Boero, F. Cigogna, & P. F. Cornelius, *Modern trends in the Systematics, Ecology and Evolution of Hydroids and Hydromedusae* (págs. 67-82). Oxford: Clarendon Press.
- Östman, C. (1988). Nematocysts as taxonomic criteria within the family Campanulariidae, Hydrozoa. En D. Hessinger, & H. Lenhoff, *The Biology of Nematocysts* (págs. 501-517). San Diego: Academic Press Inc.
- Ostroumova, T. V., & Markova, L. N. (2002). The Effects of Dopamine Synthesis Inhibitors and Dopamine Antagonists on Regeneration in the Hydra Attenuata. *Neuroscience Behavior and Phisiology*, 32, 293-298.
- Pachura-Bouchet, S., Blaise, C., & Vasseur, P. (2006). Toxicity of nonylphenol on the cnidarian Hydra attenuata and environmental risk assessment. *Environmental Toxicology*, 21, 388-394.
- Page, F. C. (1991). Nackte Rhizopoda. En D. Matthes, *Protozoenfauna Bd 2* (págs. 1-172). Stuttgart: Gustav Fischer Verlag.
- Page, F. C., & Robson, E. A. (1983). Fine structure and taxonomie position of Hydramoeba hydroxena (Entz, 1912). *Protistologica*, 19, 41-50.
- Pallas, P. (1766). *Elenchus Zoophytorum*. Hagrae-Comitum: Petrum van.
- Pardy, R. L. (1974). Some factors affecting the growth and distribution of the algal endosymbionts of Hydra viridis. *Biological Bulletin*, 147, 105-118.
- Pardy, R. L. (1983). Phycozoans, phycozoology, phycozoologists? En L. J. Goff, *Algal Symbiosis* (págs. 5-17). New York: Cambridge Univesity Press.
- Pardy, R. L., & White, B. N. (1977). Metabolic relationships between green hydra and its symbiotic algae. *Biological Bulletin*, 153, 228-236.
- Park, H. D., Greenblatt, C. L., Mattern, C. F., & Merrill, C. R. (1967). Some relationships between Chlorohydra, its symbionts and some other Chlorophyllous forms. *Journal of Experimental Zoology*, 164, 141-161.

- Pascoe, D., Karntanut, W., & Müller, C. T. (2003). Do pharmaceuticals affect freshwater invertebrates? A study with the cnidarian *Hydra vulgaris*. *Chemosphere*, *51*(6), 521-528.
- Peebles, F. (1896). Experimental Studies on Hydra. *Archiv Für Entwicklungs Mechanik der Organismen*, *5*(4), 794-819.
- Peebles, F. (1898). The effect of temperature on the regeneration of Hydra. *Zoological Bulletin*, *2*(3), 125-128.
- Pennak, R. W. (1953). *Freshwater Invertebrates of the United States*. New York: The Ronald Press Company.
- Pennak, R. W. (1989). *Fresh-water Invertebrates of the United States: Protozoa to Mollusca* (3rd ed.). New York: John Wiley & Sons.
- Peterson, K. J., & Eernisse, D. J. (2001). Animal phylogeny and the ancestry of bilaterians: inferences from morphology and 18S rDNA gene sequences. *Evolution & Development*, *3*(3), 170-205.
- Pica Granados, Y., Ronco, A., & Baéz, M. C. (2004). Ensayo de toxicidad aguda con el cnidario *Hydra attenuata*. En G. Castillo, *Ensayos toxicológicos y métodos de evaluación de calidad de aguas. Estandarización, intercalibración, resultados y aplicaciones* (págs. 41-53). Canada: IDRC, IMTA.
- Pinkas, L., Oliphant, M. S., & Iverson, Z. I. (1971). Food and feeding habits of Albacore bluefin tuna and bonito y the California waters. *Department of Fish and Game, Fisheries Bulletin*, *150*, 1-105.
- Pollino, C. A., & Holdway, D. A. (1999). Potential of two hydra species as standard toxicity test animals. *Ecotoxicol Environ Saf* *43*: *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *43*, 309-316.
- Pool, R. R. (1979). The role of algal antigenic determinants in the recognition of potential algal symbionts by cells of *Chlorohydra*. *Journal of Cell Sciences*, *35*, 367-379.
- Pool, R. R., & Muscatine, L. (1980). Phagocytic recognition and the establishment of the *Hydra viridis*-*Chlorella* symbiosis. En W. Schwemmler, & H. E. Schenk, *Endocytobiology. Endosymbiosis and Cell Biology. Vol. I. A Synthesis of Recent Research* (págs. 223-238). New York: WdeG, Berlin.
- Posada, D. (2008). JModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*, *25*, 1253-1256.
- Pozzobon, M. V., & 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.
- Quesada, A. J., Acuña, F. H., & Cortés, J. (2014). Diet of the sea anemone *Anthopleura nigrescens*: composition and variation between daytime and nighttime high tides. *Zoological Studies*, *53*, 26.
- Quinn, B., Gagne, F., & Blaise, C. (2009). Evaluation of the acute, chronic and teratogenic effects of a mixture of eleven pharmaceuticals on the cnidarian, *Hydra attenuata*. *Science of The Total Environment*, *407*, 1072-1079.
- Quinn, B., Gagné, F., & Blaise, C. (2012). Hydra, a model system for environmental studies. *International Journal of Developmental Biology*, *56*, 613-625.
- Quinn, B., Gagne, F., & Blaise, C. (2008). An investigation into the acute and chronic toxicity of eleven pharmaceuticals (and their solvents) found in waste-water effluent on the cnidarian, *Hydra attenuata*. *Science of The Total Environment*, *389*, 306-314.
- Quirós, R., & Drago, E. (1999). The environmental state of the Argentinean lakes: An overview. *Lakes and Reservoirs: Research and Management*, *4*, 55-64.
- Rahat, M. (1985). Competition between chlorellae in chimeric infections of *Hydra viridis*: the evolution of a stable symbiosis. *Journal of Cell Science*, *77*, 87-92.
- Rahat, M., & Reich, V. (1984). Intracellular infection of aposymbiotic *Hydra viridis* by a foreign free-living *Chlorella* sp.: initiation of a stable symbiosis. *Journal of Cell Sciences*, *65*, 265-277.
- Rahat, M., & Reich, V. (1985). Correlations between characteristics of some free-living *chlorella* sp. and their ability to form stable symbioses with *Hydra viridis*. *Journal of Cell Science*, *74*, 257-266.

- Rajevic, N., Kovacevic, G., Kalafatic, M., Gould, S. B., & Martin, W. F. (2015). Algal endosymbionts in European Hydra strains reflect multiple origins of the zoochlorella symbiosis. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *93*, 55–62.
- Rambaut, A. (2002). Se–Al: Sequence Alignment Editor. Version 2.0a11.
- Rand, H. W. (1899). Regeneration and regulation in *Hydra viridis*. *Archiv Entwick*, *8*, 1-34.
- Reddy, P. C., Barve, A., & Ghaskadbi, S. (2011). A description and phylogenetic characterization of common Hydra from India. *Current Science*, *101*, 736–738.
- Reinhardt, B., Broun, M., Blitz, I. L., & Bode, H. R. (2004). HyBMP5-8b, a BMP5-8 orthologue, acts during axial patterning and tentacle formation in hydra. *Developmental Biology*, *267*, 43-59.
- Reynolds, B. D., & Looper, a. J. (1928). Infection experiments with *Hydramoeba hydroxena* nov. gen. *Journal of Parasitology*, *15*, 23-30.
- Rice, N. E. (1960). *Hydramoeba hydroxena* (Entz) , a parasite on the fresh water medusa, *Craspedacusta sowerbii* Lankester, and its pathogenicity for *Hydra cauliculata* Hyman. *Journal of Protozoology*, *7*, 151-156.
- Richard, E. (1990). *Craspedacusta sowerbyi*: La curiosa medusa de agua dulce. *Subacuática*, *2*(6): 28-29.
- Ringuelet, R. (1950). La medusa de agua dulce *Craspedacusta sowerbyi* Lank. en la Argentina. *Notas del Museo de La Plata*, *134*(15 Zool), 133-150.
- Ringuelet, R. A. (1962). *Ecología Acuática Continental*. Buenos Aires: Ediciones EUDEBA.
- Ringuelet, R. A. (1972). Ecología y biocenología del hábitat lagunar o lago de tercer orden de la región neotrópica templada (Pampasia Sudoriental de la Argentina). *Physis*, *31*(82), 55-76.
- Ringuelet, R. A., & Escalante, A. H. (1980). Alimentación del pejerrey (*Basilichthys bonariensis bonariensis*, *Atherinidae*) en laguna Chascomús (Buenos Aires, Argentina). Relaciones ecológicas de complementación y eficiencia trófica del plancton. *Limnobiós*, *1*(10), 447-460.
- Ringuelet, R. A., Salibián, A., Clavérie, E., & Ilhero, S. (1967). Limnología química de las lagunas pampásicas (provincia de Buenos Aires). *Physis*, *37*(74), 2012-221.
- Ringuelet, R., & Olivier., S. (1954). Anotaciones sobre *Cordylophora caspia* (Pallas) en la Argentina (Hydrozoa). *Notas del Museo de La Plata*, *147*(17 (Zool)), 67-70.
- Ritte, U. (1969). *Floating and sexuality in laboratory populations of Hydra littoralis*. University of Michigan.
- Rivera de la Parra, L., Sarma, S. S., & Nandini, S. (2016). Effects of predation by Hydra (Cnidaria) on cladocerans (Crustacea: Cladocera). *Journal of Limnology*, *75*(s1), 39-47.
- Roch, F. (1924). Experimentelle untersuchungen an *Cordylophora caspia* (Pallas) [=Lacustris Allman] über die abhängigkeit ihrer geographischen verbreitung und ihrer wuchsformen von den physikalischchemischen bedingungen des umgebenden mediums. *Zeitschrift fuer Morphologie und Oekologie der Tiere*, *2*, 350-426.
- Roffman, B., & Lenhoff, H. M. (1969). Formation of polysaccharides by hydra from substrates produced by their endosymbiotic algae. *Nature*, *221*, 381–382.
- Roman, J., & Darling, J. A. (2007). Paradox lost: genetic diversity and the success of aquatic invasions. *Trends in Ecology & Evolution*, *22*, 454–464.
- Romanelli, A., Esquius, K. S., Massone, H. E., & Escalante, A. H. (2013). GIS-based pollution hazard mapping and assessment framework of shallow lakes: southeastern Pampean lakes (Argentina) as a case study. *Environmental Monitoring and Assessment*, *185*, 943–6961.
- Romanelli, A., Londoño, O. M., Massone, H. E., Martinez, D. E., & Bocanegra, E. (2012). El agua subterránea en el funcionamiento hidrológico de los humedales del Sudeste Bonaerense, Provincia de Buenos Aires, Argentina. *Boletín Geológico y Minero*, *121*(4), 373-386.
- Ronderos, R. A., Bulla, L., & Grosso, L. (1968). Estudio comparativo del pleuston en cuatro lagunas de la provincia de Buenos Aires. *Revista del Museo de La Plata*, *10*, 225-259.

- Ronderos, R. A., Bulla, L., Schnack, J., & Ves Losada, J. (1966). Estudio del pleuston y bacón de las lagunas de Chascomús y Yalca . *Anales de la CIC N° 6*.
- Roos, P. J. (1979). Two-stage life cycle of a Cordylophora population in the Netherlands. *Hydrobiologia*, 62(3), 231-239.
- Rösel von Rosenhof, A. (1755). *Historia Polyporum - Historie der Polypen und anderer kleiner Wasserinsecten*. Nürnberg: Joann Joseph Fleischmann.
- Ruiz, G. M., Fofonoff, P., & Hines, A. H. (1999). Non-indigenous species as stressors in estuarine and marine communities: assessing invasion impacts and interactions. *Limnology and Oceanography*, 44(3 (part 2)), 950-972.
- Ruppert, E. E., & Barnes, R. D. (1996). *Zoología de los Invertebrados* (Sexta ed.). México: McGraw - Hill Interamericana.
- Rutherford, C. L., Hessinger, D. H., & Lenhoff, H. M. (1965). Induction of rhythmic differentiation of ovaries in *Clorohydra viridissima*. *American Zoologist*, 5, 456.
- Sahadevan, S., Antonopoulos, A., Haslam, S. M., Dell, A., Ramaswamy, S., & Babu, P. (2013). Unique, Polyfucosylated Glycan–Receptor Interactions Are Essential for Regeneration of *Hydra magnipapillata*. *ACS Chemical Biology*, 9(1), 147–155. doi: 10.1021/cb400486t
- Sasvári, L., & Nishiumi, I. (2005). Environmental conditions affect offspring sex-ratio variation and adult survival in tawny owls. *The Condor*, 107, 321–326.
- Schaible, R., Scheuerlein, A., Danko, M. J., Gampe, J., Martínez, D. E., & Vaupel, J. W. (2015). Constant mortality and fertility over age in *Hydra*. *PNAS Early Edition*, 1-6.
- Scheibling, R. E., & Hennigar, A. W. (1997). Recurrent outbreaks of disease in sea urchins *Strongylocentrotus droebachiensis* in Nova Scotia: evidence for a link with large-scale meteorologic and oceanographic events. *Inter-Research Marine Ecology Progress Series*, 152, 155-165.
- Schmidt, A. W. (1922). Excessive Sexual Development in *Hydra oligactis* with Spermary on Tentacle. *Transactions of the American Microscopical Society*, 41(4), 172-174.
- Schubart, O. (1938). Considerações sobre as investigações nas águas de Pernambuco. *Arquivos do Instituto de Pesquisas Agronómicas Pernambuco*, 1, 26-57.
- Schuchert, P. (2010). The European athecate hydroids and their medusae (Hydrozoa, Cnidaria): Capitata Part 2. *Revue Suisse de Zoologie*, 117, 337-555.
- Schuchert, P. (2014). *World Hydrozoa database*. Accessed through: *World Register of Marine Species*. Recuperado el 12 de Febrero de 2016, de <http://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=>
- Schulze, P. (1917). Neue Beiträge zu einer Monographic der Gattung *Hydra*. *Archiv für Biontologie*, 4, 29-119.
- Schulze, P. (1927). Zur Kenntnis und geographischen Verbreitung der Süßwasserpolypen. *Zoologischer Anzeiger*, 74, 129-140.
- Schwartz, S., Hann, B. J., & Hebert, P. D. (1983). The feeding ecology of *Hydra* and possible implications in the structuring of pond zooplankton communities. *Biological Bulletin*, 164, 136-142.
- Schwentner, M., & Bosch, T. C. (2015). Revisiting the age, evolutionary history and species level diversity of the genus *Hydra* (Cnidaria: Hydrozoa). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 91, 41-55.
- Semal-Van Gansen, P. (1954). Étude d'une espèce: *Hydra attenuata* Pallas. *Annales de la Societé Royale Zoologique de Belgique*, 85, 187-216.
- Sersig, B. L., & Lesh-Laurie, G. E. (1981). Bud separation in *Hydra oligactis*. *Biological Bulletin*, 160, 431--437.
- Shick, J. (1991). *A Functional Biology of Sea Anemones*. New York: Chapman & Hall.
- Shull, D. R., Chase, K., & Paulson, G. S. (2012). Phoretic relationship between *hydra* sp. (Anthomedusae; Hydridae) and a damselfly nymph (Odonata; Calopterygidae). *Entomological News*, 122(2), 154-156.

- Slautterback, D. B. (1967). The cnidoblast-musculoepithelial cell complex in the tentacles of hydra. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*, 79, 296-318.
- Slobodkin, L. B. (1962). *Growth and Regulation of Animal Populations*. New York: Holt, Rinehart and Winston, Inc.
- Slobodkin, L. B., & Bossert, P. E. (2001). Cnidaria. En H. T. James, & P. C. Alan, *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates* (Second ed.). San Diego: Academic Press.
- Slobodkin, L., & Bossert, P. (1991). The Freshwater Cnidaria or Coelenterates. En J. Thorp, & A. Covich, *Ecology and Classification of North American Freshwater Invertebrates* (págs. 135-136). San Diego: Academic Press.
- Smith, D. G., Werle, S. F., & Klekowski, E. (2002). The Rapid Colonization and Emerging Biology of *Cordylophora caspia* (Pallas, 1771) (Cnidaria: Clavidae) in the Connecticut River. *Journal of Freshwater Ecology*, 17(3), 423-430.
- Spangenberg, D. B., & Claybrook, D. L. (1961). Infection of Hydra by Microsporidia. *Journal of Protozoology*, 8(2), 151-152.
- Stagni, A. (1966). Some aspects of sexual polymorphism in *Chlorohydra viridissima*. *Journal of Experimental Zoology*, 163, 87-92.
- Steele, R. E. (2012). The Hydra genome: insights, puzzles and opportunities for Developmental Biologists. *International Journal of Developmental Biology*, 56, 535-542.
- Stein, F. v. (1854). *Die Infusionsthier auf ihre Entwicklungsgeschichte untersucht*. Leipzig: W. Engelmann.
- Stein, F. v. (1859). *Der Organismus der Infusionsthier*. Leipzig: W. Engelmann.
- Stiven, A. E. (1964). Experimental Studies on the Epidemiology of the Host Parasite System, Hydra and *Hydramoeba hydroxena* (Entz). II. The Components of a Simple Epidemic. *Ecological Monographs*, 34(2), 119-142.
- Stiven, A. E. (1971). The spread of *Hydramoeba* infections in mixed hydra species systems. *Oecologia*, 6, 118-132.
- Stutz, S., & Prieto, A. R. (2003). Modern pollen and vegetation relationships in Mar Chiquita coastal lagoon area, southeastern Pampa grasslands, Argentina. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 126(3-4), 183-195.
- Stutz, S., Borel, C. M., Fontana, S. L., Puerto, L. d., H. Inda, F. G.-R., & Tonello, M. S. (2010). Late Holocene climate and environment of the SE Pampa grasslands, Argentina, inferred from biological indicators in shallow, freshwater Lake Nahuel Rucá. *Journal of Paleolimnology*, 44(3), 761-775.
- Swofford, D. L. (2002). PAUP*. Phylogenetic Analysis using Parsimony (*and other methods). Version 4.0b10 (Alvitec). Sunderland, Massachusetts: Sinauer Associates.
- Takahashi, T., Hatta, M., Yum, S., Gee, L., Ohtani, M., Fujisawa, T., & Bode, H. R. (2005). Hym-301, a novel peptide, regulates the number of tentacles formed in hydra. *Development*, 132(9), 2225-2234.
- Tardent, P. (1988). *Hydra*. Zurich: Naturforschende Gesellschaft.
- Tardent, P., & Morgenthaler, U. (1996). Autoradiographic studies on the problem of cell migration in *Hydra attenuate* Pall. *Revue Suisse de Zoologie*, 73, 468-480.
- Technau, U., Miller, M. A., Bridge, D., & Steele, R. E. (2003). Arrested apoptosis of nurse cells during hydra oogenesis and embryogenesis. *Developmental Biology*, 260, 191-206.
- Tell, G., & Mazzoni, H. (1995). Perifiton: colonización, sucesión, productividad. En E. C. Lopretto, & G. Tell, *Ecosistemas de aguas continentales. Metodologías para su estudio* (Vol. 1, págs. 161-170). La Plata: Ediciones Sur.
- Thompson, J. D., Gibson, T. J., Plewniak, F., Jeanmougin, F., & Higgins, D. G. (1997). The CLUSTAL_X windows interface. Flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research*, 25, 4876-4882.

- Thompson, J. D., Higgins, D. G., & Gibson, T. J. (1994). CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research*, 22, 4673–4680.
- Thomsen, S., & Bosch, T. C. (2006). Foot differentiation and genomic plasticity in Hydra: lessons from the PPOD gene family. *Development Genes and Evolution*, 216, 57–68.
- Thorington, G., & Margulis, L. (1981). Hydra viridis: transfer of metabolites between Hydra and symbiotic algae. *Biological Bulletin*, 160, 175–188.
- Threlkeld, W. L., & Reynolds, B. D. (1929). The pathogenicity of Hydramoeba hydroxena in different hydrogen ion concentrations. *Archiv für Protistenkunde*, 68, 409–414.
- Tilman, D. (1987). The importance of the mechanisms of interspecific competition. *American Naturalist*, 129, 769–774.
- Toppe, O. (1910). Untersuchungen über Bau und Funktion der Nesselzellen der Cnidarier. Teil I. Der feinere Bau der Nesselzellen sowie systematische Beiträge zur Kenntnis des Genus Hydra. *Zoologische Jahrbücher Abteilung Anatomie und Ontogenie der Tiere*, 29, 191–280.
- Trembley, A. (1744). *Mémoires pour servir à l'histoire d'un genre de polypes d'eau douce, à bras en forme de cornes*. Leide: Chez Jean & Herman Verbeek.
- Trochine, C., Balseiro, E. G., & Modenutti, B. E. (2008). Zooplankton of Fishless Ponds of Northern Patagonia: Insights into Predation Effects of Mesostoma ehrenbergii. *International Review of Hydrobiology*, 93(3), 312–327.
- Trochine, C., Modenutti, B. E., & Balseiro, E. G. (2009). Chemical signals and habitat selection by three zooplankters in Andean Patagonian ponds. *Freshwater Biology*, 54, 480–494.
- Trottier, S., Blaise, C., Kusui, T., & Johnson, E. M. (1997). Acute toxicity assessment of aqueous samples using a microplate-based Hydra attenuata assay. *Trottier, s., blaise, c., kusui, t. And johnson, e. M.*, 12, 265–271.
- Van Valen, L. (1973). A New Evolutionary Law. *Evolutionary Theory*, 1, 1–30.
- Vervoort, W. (1946). Exotic hydroids in the collections of the Rijksmuseum van Natuurlijke Historie and the Zoological Museum at Amsterdam. *Zoologische Mededeelingen Rijksmuseum van Natuurlijke Historie te Leyden*, 26(12), 287–351.
- von Holle, B., & Ruiz, G. M. (1997). The effects of the introduced hydroid, Cordylophora caspia on the fouling community structure of the Chesapeake bay. *Abstracts from the 25th Annual Benthic Ecology Meetings*, (pág. 97). Maine.
- Walsh, E. J., Salazar, M., Remirez, J., Moldes, O., & Wallace, R. L. (2006). Predation by invertebrate predators on the colonial rotifer Sinantherina socialis. *Invertebrate Biology*, 125(4), 325–335.
- Wang, A., Deng, L., Lai, J., & Li, J. (2009). A new species of Green Hydra (Hydrozoa: Hydrida) from China. *Zoological Science*, 26, 664–668.
- Watson, J. E. (1985). The genus Eudendrium (Hydrozoa, Hydroida) from Australia. *Proceedings of the Royal Society of Victoria*, 97, 179–221.
- Watts, P. C., Allcock, A. L., Lynch, S. M., & Thorpe, J. P. (2000). An analysis of the nematocysts of the beadlet anemone Actinia equina and the green sea anemone Actinia prasina. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 80, 719–724.
- Weber, J. (1990). Poly (γ-glutamic Acid)s Are the Major Constituents of Nematocysts in Hydra (Hydrozoa, Cnidaria). *The Journal of Biological Chemistry*, 265(17), 9664–9669.
- Weill, R. (1934a). *Contribution à l'étude des cnidaires et de leurs nématocystes. I. Recherches sur les nématocystes (morphologie, physiologie, développement)*. Paris: Laboratoire d'Évolution des Êtres Organisés : Les Presses Universitaires de France.

- Weill, R. (1934b). *Contribution à l'étude des cnidaires et de leurs nématocystes. II. Valeur taxonomique du cnidome* (Travaux Station Zoologie de Wimereux, Bordeaux ed.). Paris: Laboratoire d'Évolution des Êtres Organisés : Les Presses Universitaires de France.
- Weismann, A. (1883). *The origin of the sexual cells in hydromedusae* (Foreign title: *Die Entstehung der Sexualzellen bei Hydromedusen*). Jena: Gustav Fischer.
- Wermel, E. (1925). Beiträge zur Citologie der Amoeba hydroxena Entz. *Arch Russ Protistol*, 4, 95-120.
- Westfall, J. A. (1966a). Fine structure and evolution of nematocysts. *Electron Microscopy, Proceedings of the 6th International Congress*, (pág. 235).
- Westfall, J. A. (1966b). The differentiation of nematocysts and associated structures in the Cnidaria. *Zeitschrift für Zellforschung und Mikroskopische Anatomie*, 75, 381-403.
- Whitney, D. D. (1907). The influence of external factors in causing the development of sexual organs in Hydra viridis. *Archiv für Entwicklungsmechanik der Organismen*, 24, 524–537.
- Wollschlager, J. (2011). *Nematocysts of the Invasive Species Cordylophora caspia*. Ohio: OhioLINK Electronic Theses and Dissertations Center. Obtenido de (https://etd.ohiolink.edu/!etd.send_file?accession=osu1299609133&disposition=inline)
- Wollschlager, J., Folino-Rorem, N., & Daly, M. (2013). Nematocysts of the Invasive Hydroid Cordylophora caspia (Cnidaria: Hydrozoa). *Biological Bulletin*, 224, 99–109.
- Wood, R. L. (1988). Survey of the ultrastructure of cnidocytes. En D. A. Hessinger, & H. M. Lenhoff, *The Biology of Nematocysts* (págs. 25-40). San Diego: Academic Press.
- Zacharias, H., Anokhin, B., Khalturin, K., & Bosch, T. C. (2004). Genome sizes and chromosomes in the basal metazoan Hydra. *Zoology*, 107, 219–227.
- Zamponi, M. O. (1991). Los cnidarios de la República Argentina. En Z. Castellanos, *Fauna de agua dulce de la Republica Argentina* (pág. 51). PROFADU-CONICET.
- Zamponi, M. O. (2008). Cnidaria. En H. H. Camacho, & M. I. Longobucco, *Fundación de Historia Natural* (págs. 178-220). Buenos Aires, Argentina: Vazques Mazzini Editores.
- Zamponi, M. O., & Deserti, M. I. (2009). Análisis comparativo entre las morfologías y ecologías de las formas pólipos (Cnidaria , Hydrozoa , Anthozoa) similares en hábitats disímiles. *Revista Real Academia Galega de Ciencias*, 28, 37-69.
- Zuk, M., & McKean, K. A. (1996). Sex differences in parasite infections: patterns and processes. *International Journal of Parasitology*, 26, 1009–1023.
- Zumstein, Z. (1973). Regulation der Nematocyten-Produktion bei Hydra aenuata Pall. *Wilhelm Roux' Archiv*, 173, 249-318.
- Zwickl, D. J. (2006). *Genetic Algorithm Approaches for the Phylogenetic Analysis of Large Biological Sequence Datasets under the Maximum Likelihood Criterion*. The University of Texas at Austin.