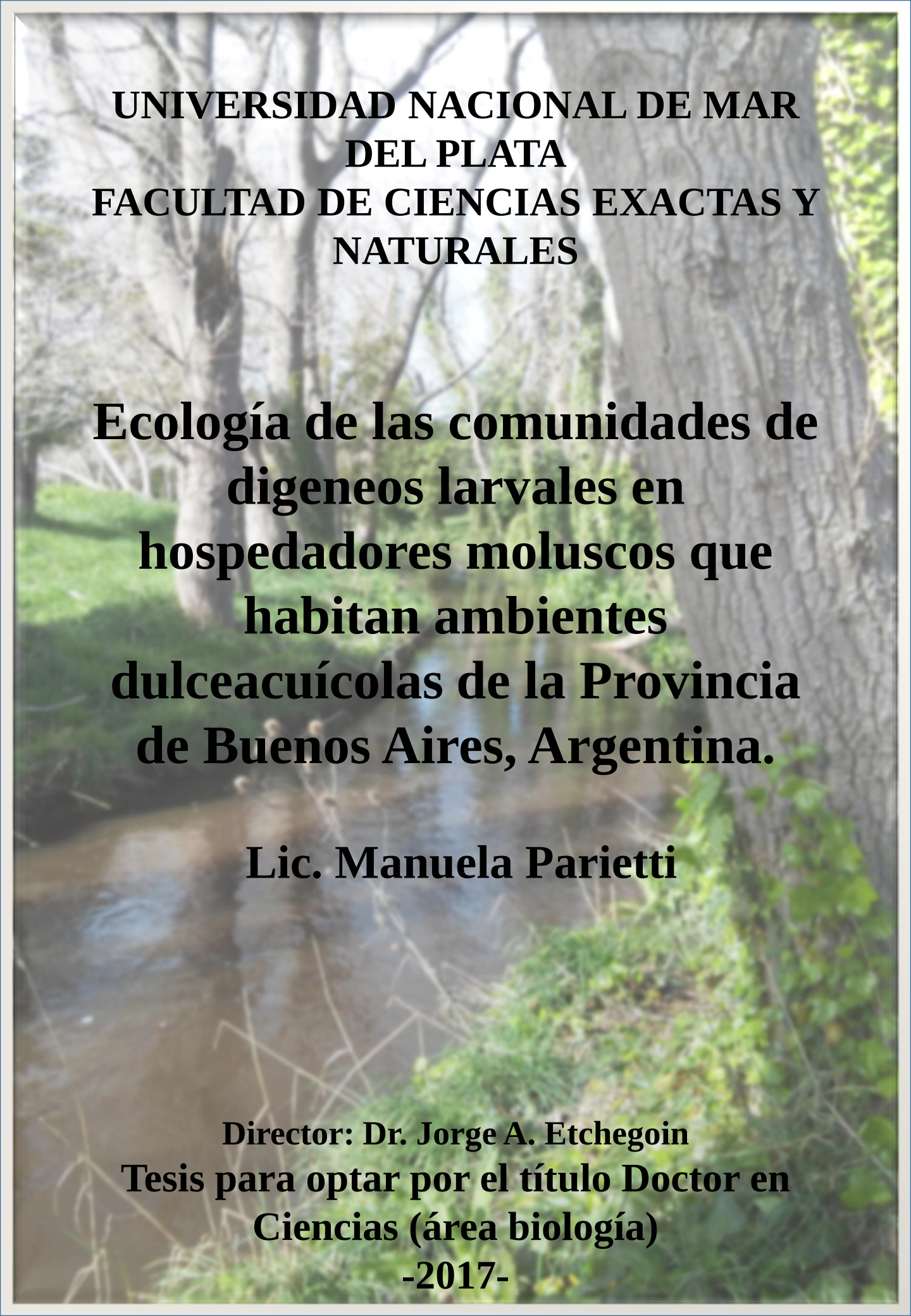




**UNIVERSIDAD NACIONAL DE MAR
DEL PLATA
FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y
NATURALES**

**Ecología de las comunidades de
digeneos larvales en
hospedadores moluscos que
habitan ambientes
dulceacuícolas de la Provincia
de Buenos Aires, Argentina.**

Lic. Manuela Parietti

**Director: Dr. Jorge A. Etchegoin
Tesis para optar por el título Doctor en
Ciencias (área biología)**

-2017-

Para Joaquín y Camilo.

Gracias por haber venido a abrigarme el corazón.

Los amo con mi vida.

Agradecimientos

Al Dr. Jorge Etchegoin, por darme la posibilidad de entrar en el maravilloso mundo de la parasitología. Agradezco su dirección, que siempre se dio con acompañamiento, enseñanza y estímulo, no solo en el ámbito de la tesis, sino también en el de mi carrera de investigación.

A mis compañeros de trabajo. Al Dr. Matías Merlo por su infinita paciencia en mis interminables y repetidas dudas en estadística (aún misteriosa para mí), junto con lecturas, correcciones y compañía, en el campo y el laboratorio. A la Dra. Agustina Méndez Casariego, por sus almuerzos tempranos, compañía en el laboratorio y divertidas salidas de campo. En equipo, el trabajo de investigación siempre es más ameno.

A la Universidad de Mar del Plata, por permitirme realizar una carrera de grado y de postgrado GRATUITA, PÚBLICA y de EXCELENCIA ACADÉMICA. A la Comisión de Investigaciones Científicas de la prov. de Buenos Aires (CIC) y al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET), por otorgarme las becas que me permitieron realizar el doctorado, y a todas las entidades que hicieron posible este trabajo.

A mi colega y amiga, que me acompañó durante toda la carrera, Lic. Natalia Oyarburo, y a mis amigas, Gisele Cabral, Erika Vasconcellos y Natalia Cabral, que desde que están en mi vida es mucho más divertida.

A mi mamá. Sin ella esto hubiera sido imposible. Desde el momento en que me apoyo para trasladarme 1100 km a cumplir mi sueño de ser bióloga, cuando quise dejar,

cuando extraño y me quería volver, cuando lo empecé a lograr y, ahora, cuando culmina.
Mamá esta tesis es para vos.

A mis hermanos, Tom y Leo, son mi vida. Y a “Los Galíndez”, la mejor familia del planeta.

Y principalmente a Joaco, por amarme tanto que salió del polvo de los libros y la formación de los ferroviarios para agarrar un colador y pasar horas juntando caracoles, leyéndome todo lo que escribí y apoyándome en todos los proyectos que quise encarar. Y a Cami que hace dos años me llena de vida todos los días. Los amo incondicionalmente.

	<i>Índice</i>
Resumen	7
Abstract.....	8
Introducción General	9
Generalidades	10
Caracterización de las áreas de estudio	15
Metodología de muestreo utilizada para los tres moluscos estudiados	17
Capítulo 1: <i>Biomphalaria peregrina</i>	20
Introducción.....	21
PARTE I	23
Estadios larvales de digeneos presentes en <i>Biomphalaria peregrina</i> : descripción y comentarios	23
Introducción.....	23
Materiales y Métodos	23
Resultados y Discusión.....	24
PARTE II	48
Dinámica temporal de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a <i>Biomphalaria peregrina</i> en la laguna temporaria de Mar de Cobo	48
Introducción.....	48
Materiales y Métodos	49
Resultados.....	55
Composición y dinámica de los ensambles de digeneos larvales durante el año 2014	57
Composición y dinámica de los ensambles de digeneos larvales a escala estacional durante los cuatro años de muestreo	59
Factores abióticos y bióticos como posibles estructuradores de los ensambles de digeneos larvales a escala estacional durante los cuatro años de estudio ...	69
Discusión	72
Capítulo 2: <i>Physa acuta</i>	85
PARTE I	86
Dinámica temporal de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a <i>Physa acuta</i> en la laguna Los Padres	86
Introducción.....	86
Materiales y Métodos	87
Resultados.....	92
<i>Physa acuta</i>	92
Digeneos larvales	96

<i>Chaetogaster limnaei</i>	98
Discusión	99
<i>Physa acuta</i>	99
Digeneos larvales	101
<i>Chaetogaster limnaei</i>	103
Discusión general	105
Capítulo 3: <i>Heleobia parchappii</i>	109
Introducción	110
PARTE I	112
Estadios larvales de digeneos presentes en <i>Heleobia parchappii</i> : descripción y comentarios	112
Introducción	112
Materiales y Métodos	112
Resultados y Discusión	113
PARTE II	122
Dinámica temporal y variación espacial de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a <i>Heleobia parchappii</i> a lo largo de un gradiente costero en los arroyos La Tapera, El Alfar, Lobería y La Carolina	122
Introducción	122
Materiales y métodos	125
Resultados	135
Variabilidad espacial de los ensambles de digeneos larvales	135
Análisis multivariado de la dinámica estacional de los ensambles de digeneos larvales dentro de cada arroyo analizado	140
Similitud en la composición de los ensambles de digeneos larvales y la distancia geográfica	143
Factores abióticos y bióticos como posibles estructuradores de los ensambles de digeneos larvales a escala estacional en cada uno de los cuatro arroyos estudiados y en el gradiente costero analizado.	145
Discusión	159
Variabilidad espacial de los ensambles de digeneos larvales en ambientes lóticos del sudeste bonaerense	159
Similitud en la composición de los ensambles de digeneos larvales y la distancia geográfica en los ambientes lóticos del sudeste bonaerense	162
Factores abióticos y bióticos como posibles estructuradores de los ensambles de digeneos larvales en el gradiente costero analizado	165
Discusión general	171
Conclusiones	172

Bibliografia.....	177
-------------------	-----

Resumen

Los sistemas de agua dulce están entre los primeros en mostrar síntomas del cambio climático, y los parásitos son sensibles a estos cambios. El análisis de diferentes especies de moluscos y sus ensambles parasitarios en ambientes distintos generaría mayor conocimiento para explicar el efecto antrópico y de cambio climático. Los objetivos propuestos para esta tesis fueron “incrementar los conocimientos sobre los factores que estructuran los ensambles de digeneos larvales en hospedadores moluscos que habitan ambientes dulceacuícolas del sudeste de la provincia de Buenos Aires, en particular los moluscos *Biomphalaria peregrina* y *Physa acuta*, en dos ambientes lénticos, y *Heleobia parchappii*, en cuatro ambientes lóticos”. Las tareas de muestreo se realizaron estacionalmente en la laguna temporaria de Mar de Cobo (2013-2016), en la laguna de Los Padres (2012-2014) y en cuatro arroyos costeros (2014). En los tres ambientes se detectó heterogeneidad en la prevalencia y riqueza específica de los ensambles parasitarios de cada hospedador, influenciada por la dinámica de los hospedadores y las características ambientales. Particularmente, en la laguna de Mar de Cobo, *B. peregrina* y su ensamble parasitario, se encontraron compensando y adaptados a las sequías. En la laguna de Los Padres, el oligoqueto *Chaetogaster limnaei* parecería afectar negativamente la abundancia y prevalencia parasitaria, desalentando el enquistamiento de metacercarias en *P. acuta*. Por su parte en los ambientes lóticos del sudeste bonaerense, la similitud de ensambles de digeneos disminuyó cuando aumentó la distancia entre las comunidades de *H. parchappii*, influenciada principalmente por el efecto antrópico sobre los arroyos. De acuerdo a estas observaciones, el análisis de los sistemas moluscos-digeneos deben realizarse de manera independiente, en función del ambiente y considerando un accionar interdependiente de diferentes factores que puedan estar estructurando estos sistemas, realizando estudios de caso y evitando generalizaciones.

Abstract

Freshwater systems are among the first to show symptoms of climate change, and parasites are sensitive to these changes. The analysis of different species of molluscs and their parasitic assemblages in different environments would generate greater knowledge to explain the anthropic and climate change effects. The objectives proposed for this thesis were "to increase the knowledge on the factors that structure the ensembles of larval digeneos in molluscan hosts that inhabit freshwater environments of the southeast of the province of Buenos Aires, in particular the molluscs *Biomphalaria peregrina* and *Physa acuta*, in two lentic environments, and *Heleobia parchappii*, in four lotic environments". Sampling tasks were carried out seasonally in the temporary lagoon of Mar de Cobo (2013-2016), in the Los Padres lagoon (2012-2014) and in four coastal streams (2014). In all three environments heterogeneity was detected in the prevalence and specific richness of the parasite assemblages of each host, influenced by host dynamics and environmental characteristics. Particularly, in the Mar de Cobo lagoon, *B. peregrina* and their larval assemblage, were found compensating and adapted to the droughts. In the Los Padres lagoon, *Chaetogaster limnaei* would seem to negatively affect parasite abundance and prevalence, discouraging metacercariae encystment in *P. acuta*. On the other hand, in the lotic environments of southeastern bonaerense, the similarity of assemblages of digeneos decreased when the distance between the communities of *H. parchappii* increased, mainly influenced by the anthropic effect on the streams. According to these observations, the analysis of the molluscan-digeneous systems must be performed independently, depending on the environment and considering an interdependent action of different factors that may be structuring these systems, carrying out case studies and avoiding generalizations.

Introducción General

Generalidades

El phylum Mollusca es extraordinariamente variado. Se estima que existen entre 80.000-100.000 especies descritas, siendo, después de los artrópodos, el segundo phylum con mayor riqueza de especies. Las clases de moluscos más grandes - Gasterópodos y Bivalvos- han colonizado repetida y exitosamente las aguas continentales. Los gasterópodos de agua dulce se encuentran en todos los continentes, excepto de la Antártida, y en casi todos los hábitats acuáticos, incluyendo tanto ríos, lagos, arroyos, pantanos, acuíferos subterráneos y manantiales, como estanques temporales, zanjas de drenaje y otras aguas efímeras y estacionales. La mayoría viven sumergidos y, muchos, están especializados a hábitats particulares: piedras, rocas, madera y otras superficies sólidas, vegetación acuática y sedimentos blandos. Algunos son anfibios y otros son capaces de tolerar períodos de tiempo fuera del agua (por ejemplo, los miembros de la familia Ampullariidae). También se registraron algunos capaces de entrar en periodos de estivación durante etapas de sequías (Strong *et al.*, 2008).

Los integrantes del phylum Mollusca actúan, en su mayoría, como primeros hospedadores intermediarios de estadios larvales de digeneos (Platyhelminthes: Trematoda). Los digeneos presentan ciclos de vida complejos o heteroxenos. El ciclo de vida típico posee dos hospedadores intermediarios (generalmente invertebrados) y un hospedador definitivo (vertebrado) (Fig. 1) (Esch *et al.*, 2002; Sukhdeo & Sukhdeo, 2004). Los huevos son eliminados al medio ambiente a través de las heces del hospedador definitivo vertebrado y contienen una larva (miracidio) que penetra activamente, o por ingesta del huevo, en el primer hospedador intermediario (molusco). Dentro del primer hospedador el miracidio se transforma en un esporocisto, estos reproducen asexualmente dando origen a otra generación de esporocistos, redias o cercarias, dependiendo de la especie de digeneo. Del molusco emergen larvas libre nadadoras (cercarias) que,

generalmente, se enquistan en el segundo hospedador intermediario (invertebrado o vertebrado) dando origen a una metacercaria. Para que el ciclo de vida del digeneo pueda completarse, generalmente, el segundo hospedador intermediario debe ser ingerido por el hospedador definitivo (Esch *et al.*, 2002; Sukhdeo & Sukhdeo, 2004; Huspeni *et al.*, 2005).

Sin embargo, la abreviación del ciclo de vida eliminando la mayoría de las veces al segundo hospedador intermediario y en algunas especies el hospedador definitivo, es un carácter que ha surgido independientemente más de 20 veces en el grupo (Poulin & Cribb, 2002). Esta disminución de hospedadores en el ciclo de vida podría considerarse como una adaptación del parásito, sobre todos en zonas de condiciones ambientales adversas, que le permitiría expandirse en estos ambientes (Oliva & Huaquin, 2000). Posiblemente, la gran variabilidad entre los ciclos de vida de digeneos sea la clave del éxito de este grupo (Olson *et al.*, 2003).

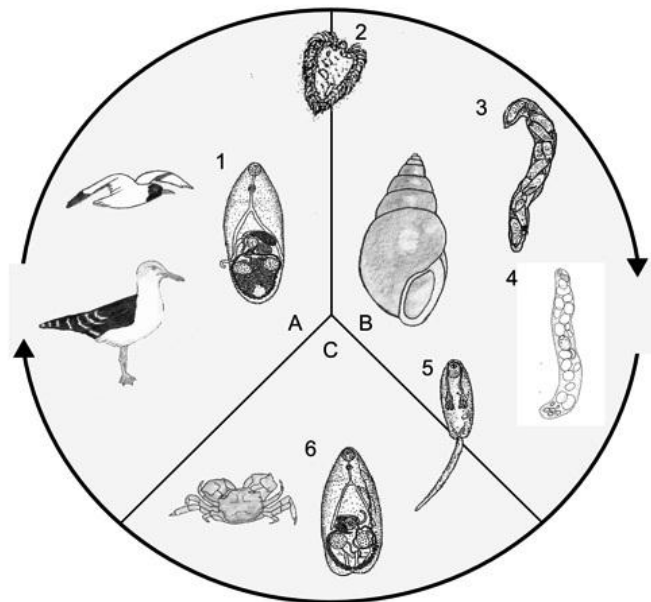


Fig. 1. Ciclo biológico típico de un digeneo. (A) Hospedador definitivo); (B) primer hospedador intermediario y (C) segundo hospedador intermediario. 1) Digeneo adulto en el hospedador definitivo (vertebrado); 2) larva miracidio; 3) esporocisto y 4) redia en el

primer hospedador intermediario (molusco); 5) cercaria, estadio de vida libre; 6) metacercaria en el segundo hospedador intermediario (invertebrado o vertebrado).

Muchos estudios han examinado la heterogeneidad de las infecciones por parásitos digeneos en las poblaciones de gasterópodos hospedadores intermediarios (Kuris, 1990; Sousa, 1990; Williams & Esch, 1991; Kuris & Lafferty, 1994). La abundancia y diversidad de hospedadores moluscos suele estar relacionada con las características del ambiente (Esch & Fernández, 1993; Jokela & Lively, 1995; Zelmer *et al.*, 1999). A su vez, las alteraciones del hábitat pueden afectar directa o indirectamente la prevalencia del parásito a través de generar cambios en la probabilidad de transmisión entre hospedadores (Lafferty & Kuris, 1999). Además, debido al vínculo que existe entre las alteraciones antrópicas de los ambientes y la abundancia de especies, muchos investigadores se han centrado recientemente en estudiar estas alteraciones y cómo influyen en las relaciones parásito-hospedador (Daszak *et al.*, 2000; 2001).

Los digeneos son un grupo promisorio para ser utilizado en los estudios de comunidades bióticas y como bioindicadores de fluctuaciones ambientales (Lafferty, 1997; Huspeni & Lafferty, 2004; Huspeni *et al.*, 2005). Estos pueden ser utilizados como grupos indicadores para estudios de biodiversidad, cambio climático, impacto antrópico, entre otros; ya que sus estadios larvales de vida libre (cercarias) son susceptibles a los cambios ambientales. A su vez, los digeneos utilizan las tramas tróficas para su desarrollo y dispersión, por lo que sus estadios larvales en hospedadores intermediarios son indicadores positivos de comunidades de hospedadores definitivos (Lafferty, 1997; Huspeni *et al.*, 2005; Marcogliese, 2005; Lafferty *et al.*, 2006).

En los últimos años, un número cada vez mayor de artículos se han centrado en los parásitos y en la búsqueda de indicadores de los impactos humanos sobre el medio

ambiente. Las infecciones parasitarias pueden aumentar o disminuir bajo la influencia de la actividad humana (Lafferty, 1997), lo que, a su vez, puede afectar la salud de la comunidad de vida silvestre en el hábitat afectado. Por lo tanto, la comprensión de cómo los parásitos responden a la presión antrópica puede proporcionar información importante sobre la estabilidad del ecosistema (Morley, 2007).

Los sistemas de agua dulce están entre los primeros en mostrar síntomas del cambio climático, reflejados principalmente en los patrones alterados de las distribuciones de peces (Minns & Moore 1995) y, consecuentemente, en la fauna parasitaria asociada. A su vez, los parásitos de los organismos acuáticos son sensibles al cambio de temperatura, no sólo en términos de efectos directos sobre su ciclo de vida y transmisión, sino también, indirectamente, a través de la biología del hospedador. Además, los cambios en temperatura y precipitaciones también afectan a los parásitos y sus hospedadores a través de otros mecanismos. Entre estos pueden citarse: alteraciones en los niveles de agua, eutrofización, estratificación, acidificación, corrientes, radiación ultravioleta (UV) y otros factores abióticos (Marcogliese, 2001).

La información existente sobre los distintos aspectos biológicos que involucran el establecimiento de las relaciones molusco-digeneo en ambientes dulceacuícolas del sudeste de la provincia de Buenos Aires, es escasa. Sin embargo, estas interacciones resultan importantes para analizar la relación de los digeneos con los demás integrantes de un ecosistema, las condiciones ambientales que las modelan y las variaciones que estas sufren. Se decidió seguir tres líneas de trabajo en esta tesis. Por una parte, se trabajó con dos pulmonados pertenecientes a la familia Planorbidae, *Biomphalaria peregrina* y *Physa acuta*. El primero, habita un ambiente prístino, lindero a la laguna costera de Mar Chiquita, caracterizado por periodos regulares de sequías e inundaciones. El segundo, habita en la laguna de Los Padres y es un molusco exótico, introducido por el hombre,

registrado en esta laguna por primera vez en este trabajo. El tercer molusco estudiado, *Heleobia parchappii*, pertenece a la familia Cochliopidae y es característico de la provincia de Buenos Aires. Hasta el momento, la heterogeneidad temporal y espacial de su ensamble de digeneos larvales, no había sido estudiado en cuerpos de agua lóticos del sudeste bonaerense.

Los moluscos pulmonados dominan los estanques temporales que son "perturbados" persistentemente, debido en parte a sus breves tiempos de generación y alta fecundidad (Lodge *et al.*, 1987). Bajo actividad antrópica, la diversidad de moluscos se encontró reducida en distintos grados. Sin embargo, en algunos casos, esta actividad puede generar el aumento de especies individuales (Russell-Hunter, 1978). Por su parte, *H. parchappii*, presenta una amplia distribución en el norte y centro de la República Argentina, conjuntamente con una amplia fauna parasitaria registrada en trabajos previos (p.ej.: Merlo, 2013). Estas características convierten a estos moluscos, y sus ensambles de digeneos larvales, en bioindicadores promisorios de cambios ambientales y efecto antrópico.

Por estos motivos, la presente tesis doctoral tuvo como objetivo general:

- Incrementar los conocimientos sobre los factores que estructuran los ensambles de digeneos larvales en hospedadores moluscos que habitan ambientes dulceacuícolas del sudeste de la provincia de Buenos Aires, en particular los moluscos *Biomphalaria peregrina* y *Physa acuta*, en dos ambientes lénticos, y *Heleobia parchappii*, en cuatro ambientes lóticos.

Las hipótesis planteadas durante el desarrollo de la tesis doctoral fueron: 1) Los factores ambientales bióticos y abióticos y los patrones de distribución temporal y espacial de los hospedadores definitivos en un área determinada, contribuyen a estructurar los ensambles de digeneos larvales en moluscos hospedadores intermediarios; 2) La

abundancia y la diversidad de estadios larvales de digeneos presentes en hospedadores moluscos son indicadores directos de la abundancia y de la diversidad de los hospedadores definitivos de sus ciclos de vida; 3) la estructura de los ensambles de digeneos larvales en una misma especie de hospedador molusco está influenciada por gradientes geográficos longitudinales y latitudinales y 4) las variaciones ambientales y el efecto antrópico sobre el ambiente regulan y estructuran estos ensambles de digeneos larvales en hospedadores moluscos.

Caracterización de las áreas de estudio

En la Provincia de Buenos Aires, República Argentina, existe un número importante de cuerpos de aguas someras, permanentes o temporarias y de variada extensión denominados “lagunas”, conjuntamente con una importante cantidad de arroyos que recorren toda la costa bonaerense. Estos cuerpos de agua presentan estadios evolutivos muy distintos y su distribución, morfología y tipología, se relaciona con el clima, el relieve y la geología. Las lagunas pampeanas cubren unos 100.000 km² del territorio de la llamada Pampa Húmeda. Estos humedales proporcionan importantes servicios ambientales como el ciclado de nutrientes, la regulación del clima a nivel local y regional, la regulación de flujos hidrológicos y oportunidades educativas y recreativas, entre otros (Ma, 2005).

Las lagunas pampeanas presentes en el sudeste de la provincia de Buenos Aires son muy pocas profundas y, debido a que la región no posee un régimen de precipitaciones estable, normalmente existen ciclos de sequía-inundación interanuales que se reflejan en el funcionamiento de humedales y lagunas. En este aspecto, su hidrología es altamente dependiente de las precipitaciones “*in situ*”. En casos de extrema sequía o de intensas precipitaciones se producen cambios temporales drásticos en la estructura y el

funcionamiento de la laguna, afectando la macrófita acuática y la fauna que la habita (Quirós, 2005). Durante las sequías extremas se producen eventos de máxima disminución de la concentración de oxígeno disuelto por encima de la interfase agua-sedimento, generalmente acompañada de una estratificación térmica transitoria. Durante el periodo húmedo se produce el efecto inverso, de dilución de los compartimientos abióticos y bióticos y de aumento de la concentración de oxígeno disuelto en la interfase agua-sedimento (Quirós *et al.*, 2002).

Los sitios de muestreos seleccionados para el desarrollo de la tesis doctoral varían sustancialmente unos de otros en sus características hidrológicas. Por un lado, se realizaron muestreos puntuales de *B. peregrina* en la laguna temporaria de Mar de Cobo y en las lagunas permanentes de Nahuel Rucá, Reserva Puerto de Mar del Plata y La Brava, para realizar la caracterización de las especies de digeneos que parasitan a este molusco. Además, se realizaron muestreos de *B. peregrina* durante cuatro años en la laguna temporaria de Mar de Cobo. Esta laguna se caracterizó por presentar un régimen de sequías periódicas y diferenciales a lo largo de todo el estudio. Por otro lado, se colectaron moluscos de la especie exótica *P. acuta* en la laguna de Los Padres, un cuerpo de agua característico del sudeste de la provincia de Buenos Aires, en la cual se realizó un estudio durante tres años consecutivos. Por último, se realizó un estudio anual en cuatro cuerpos de agua lénticos, a lo largo de la costa del sudeste de la provincia de Buenos Aires, en los cuales se colectaron ejemplares de *H. parchappii*. Los arroyos seleccionados fueron: La Tapera, El Alfar, Lobería y La Carolina. El detalle de todos los sitios de muestreos estudiados se puede observar en la Fig. 2.



Fig. 2. Ubicación de sitios de muestreos trabajados, indicando específicamente cuales fueron las especies de moluscos que se colectaron de cada sitio.

Metodología de muestreo utilizada para los tres moluscos estudiados

En la zona de muestreo de la laguna/arroyo se estableció una transecta de 120 metros, paralela a la línea de costa de la laguna/arroyo, y cada 30 metros se procedió a coleccionar los moluscos. Los ejemplares fueron localizados entre la vegetación sumergida, sobre y dentro del sustrato y colectados con la ayuda de tamices (0,5 mm de abertura de malla) y pinzas. El muestreo, conducido por la misma persona para evitar sesgos en el mismo, se desarrolló por tiempo de esfuerzo de muestreo (número de caracoles capturados por hora). De esta manera se calculó la densidad de cada molusco en la laguna/arroyo. Este método para cuantificar la densidad fue adoptado debido a la turbidez de la laguna/arroyo que imposibilita ver el sustrato para coleccionar los moluscos (Prepeltchi, 2009). Posteriormente, los especímenes se colocaron en recipientes de cinco litros de

capacidad con agua filtrada del lugar de colecta, con aireador y se transportaron vivos al laboratorio. Además, en cada viaje de muestreo se midieron distintas variables abióticas que serán detalladas en cada capítulo.

El estudio de la diversidad y abundancia de la comunidad de aves se llevó a cabo mediante un muestreo estacional. Se estableció una transecta, de aproximadamente 120 m paralela a la línea de costa. Todas las aves fueron registradas a nivel de especie y hasta una distancia de 50 m dentro de la laguna, la identificación de las mismas fue realizada con la ayuda de binoculares (10X) y la guía confeccionada por Narosky & Yzurieta (2010). Los censos se iniciaron a las 9:00 am y se prolongaron por una hora aproximadamente.

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

Las cercarias halladas se estudiaron «in vivo». Para su identificación, las mismas se colocaron entre porta y cubreobjetos con una gota de agua y se dibujaron mediante el empleo de cámara clara. Las medidas de las cercarias se tomaron sobre individuos muertos al calor, flameándolos entre porta y cubreobjetos, con abundante agua y sin aplastar; representando la media aritmética calculada sobre 10 individuos y los valores máximos y mínimos, expresados en milímetros, se colocaron entre paréntesis.

Las metacercarias, por su parte, fueron colectadas y colocadas en cápsulas de Petri conteniendo solución fisiológica y restos de la musculatura del hospedador. Algunas metacercarias se liberaron de sus quistes espontáneamente mientras que otras se liberaron con la ayuda de agujas de disección. Las medidas de las metacercarias se tomaron también sobre 10 individuos representando la media aritmética calculada y los valores máximos y mínimos, expresados en milímetros, se colocaron entre paréntesis.



Capítulo 1: *Biomphalaria peregrina*

Introducción

En la Argentina se han descripto 7 especies de gasterópodos pertenecientes al género *Biomphalaria*, las cuales han sido estudiadas principalmente en Noreste de la Argentina, pero también en el norte de la Provincia de Buenos Aires y en la ciudad de San Carlos de Bariloche (Provincia de Río Negro). Se han realizado diversos análisis relacionados con su parasitofauna y ecología parasitaria, entre otros aspectos (Morris, 1978; Ostrowski de Núñez *et al.*, 1990, 1991; Borda & Felisa Rea, 1997, 2010; Grassi *et al.*, 2001; Núñez *et al.*, 2010; Fernández *et al.*, 2013a, 2013b; Martorelli *et al.*, 2013; Davies *et al.*, 2015). Además, algunas especies del género *Biomphalaria* presentan interés sanitario dado que actúan como hospedadores intermediarios de distintas parasitosis importantes para el hombre, principalmente la esquistosomiasis generada por *Schistosoma mansoni* (Borda y Rea, 1997; 2010; Grassi *et al.*, 2001; Thiengo *et al.*, 2001; Fernández & Thiengo, 2006; Humpries *et al.*, 2011; entre otros). *Biomphalaria peregrina*, *B. tenagophila* y *B. straminea* se han mencionado como vectores de *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907) en Brasil, cerca de la frontera con Argentina y Uruguay (Teles *et al.*, 2002; Callisto *et al.*, 2005) y como vectores potenciales de *S. mansoni* en Argentina y Uruguay (Paraense & Correa, 1989; Borda & Rea, 2010; Spatz *et al.*, 2012).

Biomphalaria peregrina se distribuye ampliamente en todo el territorio de la República Argentina, pudiéndose hallar en cuerpos de agua continentales en veintiuna de sus veintitrés provincias (a excepción de Catamarca y La Pampa) (Rumi *et al.*, 2008; Núñez *et al.*, 2010). La parasitofauna de *B. peregrina* fue estudiada ampliamente por Ostrowski de Núñez (1972, 1974, 1977, 1981, 1992), Morris (1976), Ostrowski de Núñez *et al.* (1997), Flores & Brugni (2005) y Flores *et al.* (2010), así como también características ecológicas de su parasitofauna (Flores *et al.*, 2010). Sin embargo, hasta la

fecha, no se han realizado estudios en poblaciones de *B. peregrina* en ambientes dulceacuícolas del Sudeste de la provincia de Buenos Aires.

PARTE I

Estadios larvales de digeneos presentes en *Biomphalaria peregrina*: descripción y comentarios¹

Introducción

El objetivo del presente capítulo fue:

1. Identificar las formas larvales de los digeneos que parasitan al molusco *Biomphalaria peregrina* en las distintas lagunas del sudeste de la Provincia de Buenos Aires: laguna Mar de Cobo, laguna Nahuel Rucá, laguna La Brava y laguna Reserva Puerto Mar del Plata.

Materiales y Métodos

Los ejemplares de *Biomphalaria peregrina* (Fig. 3) fueron colectados en la laguna temporal de Mar de Cobo, ubicada al sur del cuerpo principal de la laguna Mar Chiquita (37°40'S – 57°20'O), en la laguna Nahuel Rucá (37°37'S – 57°25'O), en la laguna La Brava (37°52'S – 57°58'O) y en la laguna Reserva del Puerto de Mar del Plata (38°3'S – 57°32'O). Se examinaron un total de 8940 ejemplares de *B. peregrina* (6300 de la laguna Mar de Cobo, 1140 de la laguna La Brava, 360 de la laguna Reserva del Puerto de Mar del Plata y 1200 de la Laguna Nahuel Rucá). Las metodologías correspondientes al muestreo y al mantenimiento de los especímenes en el laboratorio, así como a la detección de los estadios larvales de los parásitos, se detallan en el capítulo “Introducción” (pág. 17).

¹ El presente capítulo fue publicado parcialmente en: Parietti M., Merlo M.J. & Etchegoin J.A. (2015). Estadios larvales de digeneos (Trematoda) que parasitan a *Biomphalaria peregrina*, D'Orbigny, 1835 (Mollusca, Planorbidae) en el Sudeste de la provincia de Buenos Aires (Argentina). Rev. Arg. Parasitol. 3(3):10-17.

La denominación de los tipos morfológicos se realizó utilizando un sistema de letras y números. Este sistema, aunque arbitrario, permite unificar y evitar confusiones en las nomenclaturas utilizadas en la descripción de cercarias (tanto en el presente trabajo como en trabajos ya publicados). Para las comparaciones con otras cercarias y metacercarias se utilizaron sólo descripciones de digeneos larvales que parasitan a moluscos de los géneros *Biomphalaria*.



—
Longitud total

Fig. 3. Ejemplar de *Biomphalaria peregrina* (D'Orbigny).

Resultados y Discusión

Durante los muestreos realizados se registraron 7 tipos morfológicos de cercarias (o especies) y 2 tipos morfológicos de metacercarias (o especies) en los ensambles de digeneos larvales de *B. peregrina* pertenecientes a 7 familias. Entre los tipos morfológicos hallados, se registraron 2 estadios larvales previamente citados para *Heleobia australis*, para *H. conexa* y para *H. parchappii* (Tabla 1).

Familia	Denominación original	TM	Laguna	Referencia
Notocotylidae	<i>Notocotylidae sp.1</i>	C1	MC,	Etchegoin & Martorelli (1998)
Echinostomatidae	<i>Echinocercaria gen. sp. 1B</i>	B2	MC	Presente trabajo
	<i>Metcaercaria Echinostomatidae gen. sp. 1BP</i>	B3	MC, NR, LB, P	Presente trabajo
	<i>Cercaria magnacauda gen. sp. 1B</i>	B7	MC	Presente trabajo
Ochetosomatidae	<i>Xiphidiocercaria gen. sp. 1B</i>	B4	MC	Presente trabajo
Strigeidae	<i>Metacercaria Strigeidae gen. sp. 1B</i>	B1	MC, LB, P, NR	Presente trabajo
Microphallidae	<i>Microphallus simillimus</i>	C20	MC	Etchegoin (1997)
Strigeidae o Diplostomidae	<i>Furcocercaria gen. sp. 1B</i>	B5	MC	Presente trabajo
Schistosomatidae	<i>Cercaria Schistosomatidae gen. sp. 1B</i>	B6	MC	Presente trabajo

Tabla 1. Posible ubicación sistemática de los tipos morfológicos de cercarias (TM) hallados en *B. peregrina*. Laguna Mar de Cobo (MC), laguna La Brava (LB), laguna Nahuel Rucá (NR), laguna Puerto Mar del Plata (P).

A continuación se describen los 5 tipos morfológicos de cercarias (especies de digeneos) y 2 metacercarias registrados por primera vez en *B. peregrina*.

Familia Ochetsomatidae

Xiphidiocercaria gen. sp. 1B

Fig. 4 y tabla 2.

Hospedador: *Biomphalaria peregrina*.

Procedencia: laguna Mar de Cobo, Prov. Buenos Aires, Argentina.

Prevalencia: 1,36%

Descripción de la cercaria: Cuerpo ovoide de 0,539 (0,475-0,826) de largo y 0,273 (0,209-0,409) de ancho, cubierto por espinas. Pelos sensitivos desde el límite anterior de la ventosa oral hasta la proximidad de la terminación posterior del cuerpo. Ventosa oral subterminal de 0,097 (0,083-0,138) de largo y 0,098 (0,085-0,123) de ancho. Estilete con aspecto de lanza sin engrosamientos transversales, de 0,024 (0,020-0,027) de largo y 0,0059 (0,005-0,006) de ancho. Prefaringe posterior a la ventosa oral de 0,020 (0,008-0,037) de largo y continuada por faringe de 0,038 (0,034-0,046) de largo y 0,037 (0,030-0,055) de ancho. Esófago de 0,0053 (0,005-0,0067) de largo seguido de ciegos intestinales de 0,310 (0,258-0,522) de largo. Seis pares de glándulas de penetración ubicadas entre la bifurcación cecal y el borde anterior de la ventosa ventral, con conductos que corren hacia el extremo anterior del cuerpo y desembocan a los costados del estilete. Células cistógenas ubicadas a lo largo del cuerpo. Ventosa ventral postecuatorial de 0,111 (0,102-0,134) de largo y 0,113 (0,091-0,130) de ancho. Vesícula excretora en forma de Y, revestida por células epiteliales. Las células flamígeras se disponen en seis pares, según la fórmula: $2((3+3+3)+(3+3+3))=36$. Cola de 0,449 (0,357-0,548) de largo y 0,061 (0,047-0,073) de ancho con aleta natatoria latera en su porción terminal de 0,261 (0,222-

0,397) de largo. En el lugar de inserción con el cuerpo se observan bolsas caudales poco desarrolladas y sin espinas. Las cercarias se desarrollan dentro de esporocistos, de 0,766 (0,668-0,835) de largo y 0,242 (0,198-0,284) de ancho.

Comentarios: Esta cercaria pertenece al tipo denominado por Lühe (1909) “*cercaria ornatae*” por presentar una aleta natatoria. A su vez, Grabda-Kazubska (1971) reconoce cuatro tipos morfológicos de *Xiphidiocercaria* del grupo “*ornatae*”, considerando las porciones del cuerpo, ventosas, forma del estilete y de la vesícula excretora y grado de desarrollo de los ciegos intestinales, de los cuales esta cercaria se asemeja al tipo “*Opisthioglyphe*”.

Hasta el momento se han descripto 7 *Xiphidiocercaria* en diferentes especies del género *Biomphalaria*. Ostrowski de Nuñez (1972) ha descripto una *Xiphidiocercaria sp.* I para *B. peregrina* en charcos de la localidad de Zelaya (prov. Buenos Aires). A su vez, Morris (1976) describió una *Xiphidiocercaria sp. A* y una *Xiphidiocercaria sp. B*, ambas para *B. peregrina* en el arroyo Carnaval en Villa Elisa (prov. Buenos Aires). Por su parte Ostrowski *et al.* (1990) describieron dos xiphidiocercarias: *Xiphidiocercaria sp. I* para *B. straminea* y *B. orbigny* en el río Riachuelo y para *B. peregrina* en el río Santa Lucía y *Xiphidiocercaria sp. II* para *B. straminea* en el río Riachuelo. También, las mismas autoras en el año 1991 describieron una *Xiphidiocercaria V* (ef. *Cercaria lutzi*) para *B. occidentalis* en la laguna Paiva (prov. Corrientes). Por último Martorelli *et al.* (2013) describen una cercaria *Xiphidiocerca* para *B. tenagophila* en la represa de Salto Grande (prov. Entre Ríos). Los valores morfométricos de las cercarias mencionadas se observan en la tabla 2. La morfología de la cercaria *Xiphidiocercaria gen. sp. 1*, se asemeja a las cercarias descriptas por estos autores mencionadas previamente. Sin embargo, se diferencia de *Xiphidiocercaria sp. I* por el largo y ancho del estilete, por el número de las glándulas de penetración y por la disposición de las glándulas cistógenas; de

Xiphidiocercaria sp. A por el número de glándulas de penetración y la ausencia de aleta natatoria; de *Xiphidiocercaria sp. B*, *Xiphidiocercaria sp. I*, *Xiphidiocercaria sp. II*, *Xiphidiocercaria V* y *cercaria Xiphidiocerca* por el tamaño del cuerpo, de la ventosa oral y ventral, el número de glándulas de penetración y además estas cercarias presentan una cola de menor tamaño y sin aleta.

Tabla 2. Comparaciones de la *Xiphidiocercaria gen. sp. 1* con las cercarias descritas por ^AOstrowski de Núñez (1974), ^BMorris (1976), ^COstrowski de Núñez *et al.* (1990), ^DOstrowski de Núñez *et al.* (1991), ^EMartorelli *et al.* (2013). L (largo), An (ancho)

		<i>Xiphidiocercaria gen. sp. 1</i>	<i>Xiphidiocercaria sp. I^A</i>	<i>Xiphidiocercaria sp. A^B</i>	<i>Xiphidiocercaria sp. B^B</i>	<i>Xiphidiocercaria sp. I^C</i>	<i>Xiphidiocercaria sp. II^C</i>	<i>Xiphidiocercaria V^D</i>	<i>Cercaria Xiphidiocerca^E</i>
Cuerpo	L	0,475-0,826	0,5-0,72	0,55	0,178	0,18-0,19	0,252-0,395	0,144-0,226	0,170-0,21
	An	0,209-0,409	0,275-0,296	0,26	0,83	0,082-0,09	0,126-0,193	0,086-0,115	0,08-0,1
Ubicación pelos sensitivos		A lo largo del cuerpo	Hasta nivel medio vesícula excretora	A lo largo del cuerpo	-	Ausentes	Ausentes	-	-
Espinass		Presentes	Presentes	Presentes	-	Presentes	Presentes	Presentes	Presentes
Ventosa oral	L	0,083-0,138	0,106-0,127	0,09	-	0,04-0,048	0,053-0,069	0,04-0,054	0,04-0,046
	An	0,085-0,123	0,95-0,106	0,095	-	0,042-0,048	0,052-0,069	0,032-0,047	0,045-0,046
Estilete	L	0,020-0,027	0,008-0,01	-	-	0,015-0,019	0,017-0,023	0,027-0,036	-
	An	0,005-0,006	0,002-0,003	-	-	-	-	-	-
Ventosa ventral	L	0,102-0,134	0,116-0,148	0,115	-	0,034-0,038	0,069-0,094	-	0,035-0,04
	An	0,091-0,130	0,137-0,159	0,11	-	0,034-0,046	0,069-0,105	0,014-0,018	0,04-0,045
Faringe	L	0,034-0,046	0,053	-	-	0,019-0,021	-	-	-
	An	0,030-0,055	0,042-0,053	-	-	0,019-0,021	-	-	-
Glándulas penetración		6 pares	Numerosas	8 a 10 pares	3 pares	8 pares	Numerosas	5 pares	8 pares
Glándulas Cistógenas		A lo largo del cuerpo	No muy notables y en la mitad anterior del cuerpo	-	-	-	No muy notables	Por todo el cuerpo	-
Células flaminigeras		2((3+3+3)+(3+3+3))=36	2((3+3+3)+(3+3+3))=36	2((3+3+3)+(3+3+3))=36	2((3+3+3)+(3+3+3))=36	2((2+2+2)+(2+2+2))=24	Más de 60	No se pueden observar	2(2+2+2)+(2+2)=20
Cola	L	0,357-0,548	0,56-0,604	0,44	0,198	0,126-0,145	0,227-0,294	0,144-0,27	0,1-0,125
	An	0,047-0,073	0,053-0,084	0,045		0,023-0,025	0,042-0,05	0,29-0,36	
Aleta natatoria		0,222-0,397	0,031-0,042	-	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente	Ausente
Bolsas caudales		Poco desarrolladas, sin espinas	Poco desarrolladas, sin espinas	-	-	Ausentes	Ausentes	Ausentes	-
Grupo		<i>Cercaria ornatae</i>	<i>Cercaria ornatae</i>	<i>Cercaria ornatae</i>	<i>Cercaria armatae</i>	<i>Cercaria armatae</i>	<i>Cercaria armatae</i>	<i>Cercaria armatae</i>	<i>Cercaria armatae</i>

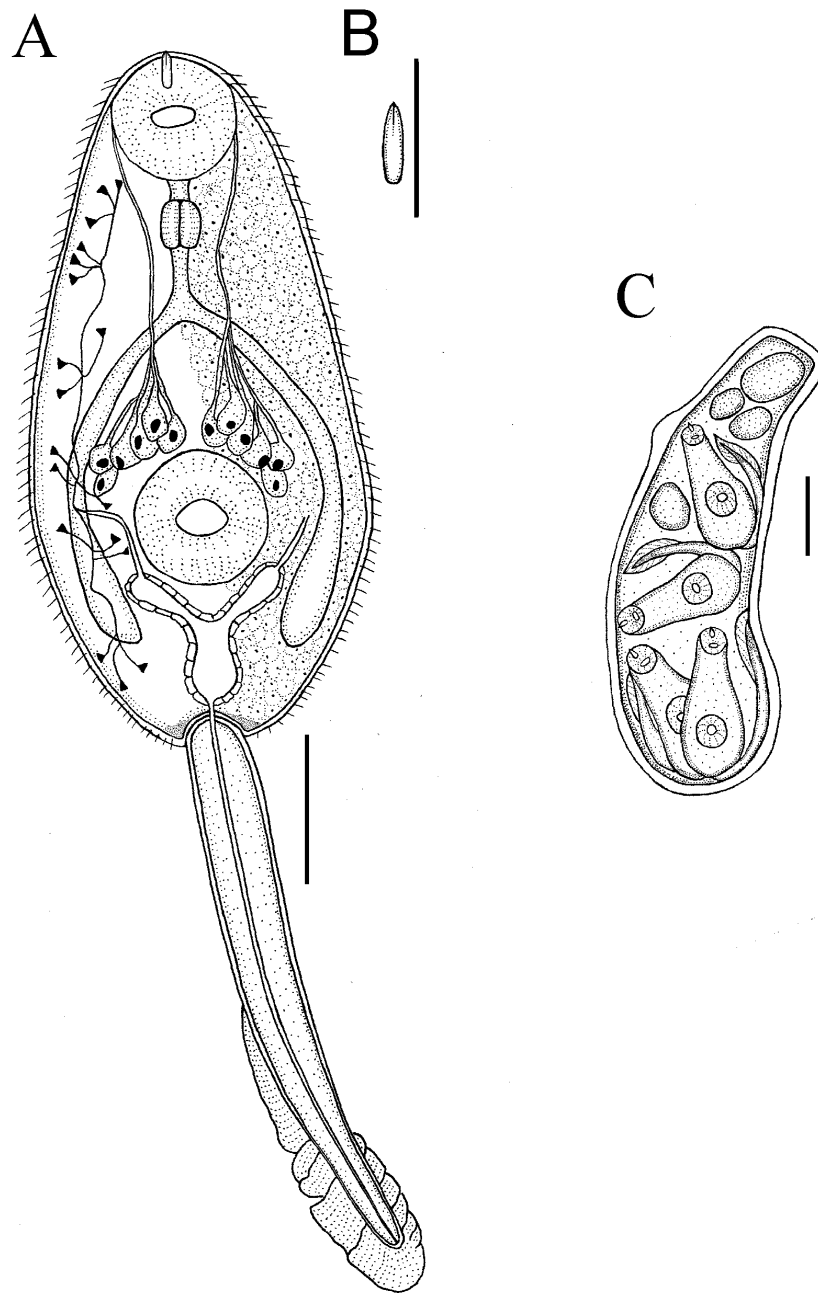


Figura 4. A-C. Xiphidiocercaria gen. sp. 1B, A. Cercaria, B. Estilete, C. Esporocisto.

Escalas: A: 0,1 mm, B: 0,05 mm, C: 0,5 mm.

Familia Strigeidae

Metacercaria Strigeidae gen. sp. 1B

Fig. 5 y tabla 3.

Hospedador: *Biomphalaria peregrina*.

Ubicación: en la glándula digestiva del hospedador.

Localidad: lagunas Mar de Cobo, La Brava, Nahuel Rucá y Reserva del Puerto de Mar del Plata, Prov. Buenos Aires, Argentina

Prevalencia: 3,67% (laguna Mar de Cobo), 1,67% (laguna La Brava), 25,33% (laguna Reserva Puerto Mar del Plata) y 3,67% (laguna Nahuel Rucá).

Intensidad media: 1,18 (laguna Mar de Cobo), 1 (laguna La Brava), 5,16 (laguna Reserva Puerto Mar del Plata) y 2 (laguna Nahuel Rucá).

Intensidad (min-max): 1-2 (laguna Mar de Cobo), 1 (laguna La Brava), 1-34 (laguna Reserva Puerto Mar del Plata) y 1-5 (laguna Nahuel Rucá).

Descripción metacercaria: Metacercaria tetracotyliforme ubicada dentro de quistes ovales de doble envoltura de 0,403 (0,317-0,549) de largo y 0,356 (0,310-0,467) de ancho. Cuerpo plano y ligeramente cóncavo, de forma piriforme o redondeada de 0,44 (0,379-0,549) de largo y de 0,366 (0,317-0,493) de ancho. Ventosa oral de 0,057 (0,031-0,084) de largo y de 0,055 (0,042-0,087) de ancho y a cada lado presenta dos pseudoventosas de 0,091(0,054-0,119) de largo y 0,069 (0,041-0,09) de ancho, localizadas entre las ventosas oral y ventral. Ventosa ventral de 0,076 (0,058-0,111) de largo y de 0,073 (0,061-0,101) de ancho. Faringe muscular de 0,032 (0,024-0,036) de largo y de 0,03 (0,022-0,040) de ancho continuada por un esófago y luego dos ciegos intestinales que llegan hasta el extremo posterior del cuerpo. Posterior a la ventosa ventral se observa el órgano tribocítico. Numerosas concreciones calcáreas esféricas se observan ocupando las regiones laterales del cuerpo.

Comentarios: La forma del cuerpo, la presencia de un órgano tribocítico, un par de pseudoventosas laterales y la formación de un verdadero quiste permiten ubicar a esta metacercaria Tetracotyle dentro de la familia Strigeidae (Ostrowski de Nuñez, 1992).

Cuatro metacercarias pertenecientes a esta familia se han descripto hasta el momento para el género *Biomphalaria*. Ostrowski de Nuñez (1977, 1992) y Ostrowski de Nuñez *et al.* (1997) describieron dos metacercarias “tetracotyle”, una para *B. peregrina* en el río Luján (Zelaya, prov. Buenos Aires) y otra para *B. tenagophila* y *B. orbignyi* en la cuenca del Río Santa Lucía (San Roque, prov. Corrientes). Por su parte, Fernández *et al.* (2013) describieron una metacercaria “tetracotyle” para *B. straminea* en la provincia de Corrientes. Por último, Martorelli *et al.* (2013) describieron una metacercaria Strigeidae (Superfamilia Diplostomoidea) para *B. tenagophila* en la represa de Salto Grande (prov. Entre Ríos). Las características anatómicas de las cuatro metacercarias descriptas por estos autores se asemejan a las de la metacercaria hallada en el presente trabajo, parasitando a *B. peregrina*. Las medidas morfométricas de las cinco metacercarias se detallan en la tabla 3. La aquí descripta difiere de todas estas por poseer un quiste de mayor tamaño y por ubicarse en la glándula digestiva del hospedador mientras todas las otras lo hacen dentro de esporocistos.

Tabla 3. Comparaciones de la *Metacercaria Strigeidae* gen. sp. 1 con las metacercarias descritas por ^AOstrowski de Núñez (1992), ^BOstrowski de Núñez (1977), ^COstrowski de Núñez *et al.* (1997), ^DFernández *et al.* (2013), ^EMartorelli *et al.* (2013).

	<i>Metacercaria Strigeidae</i> gen. sp. 1	<i>Metacercaria</i> “ <i>tetracotyle</i> ” ^{A, B}	<i>Metacercaria</i> “ <i>tetracotyle</i> ” ^C	<i>Metacercaria</i> “ <i>tetracotyle</i> ” ^D	<i>Metacercaria Strigeidae</i> ^E
Quiste (largo x ancho)	0,317-0,549 x 0,310-0,467	0,201-0,233 x 0,148-0,170	0,218-0,275 x 0,129-0,186	0,182-0,210 x 0,130-0,134	0,22-0,23 x 0,175-0,19
Ventosa oral (largo x ancho)	0,031-0,084 x 0,042-0,087	0,04-0,049 x 0,04-0,049	-	-	-
Ventosa ventral (largo x ancho)	0,058-0,111 x 0,061-0,101	0,049-0,054 x 0,054-0,067	-	-	-
Ubicación en el hospedador	Glándula digestiva del molusco	Dentro de los esporoquistes	Dentro de esporoquistes	Dentro de esporoquistes	Vesícula seminal del molusco o dentro de esporoquistes

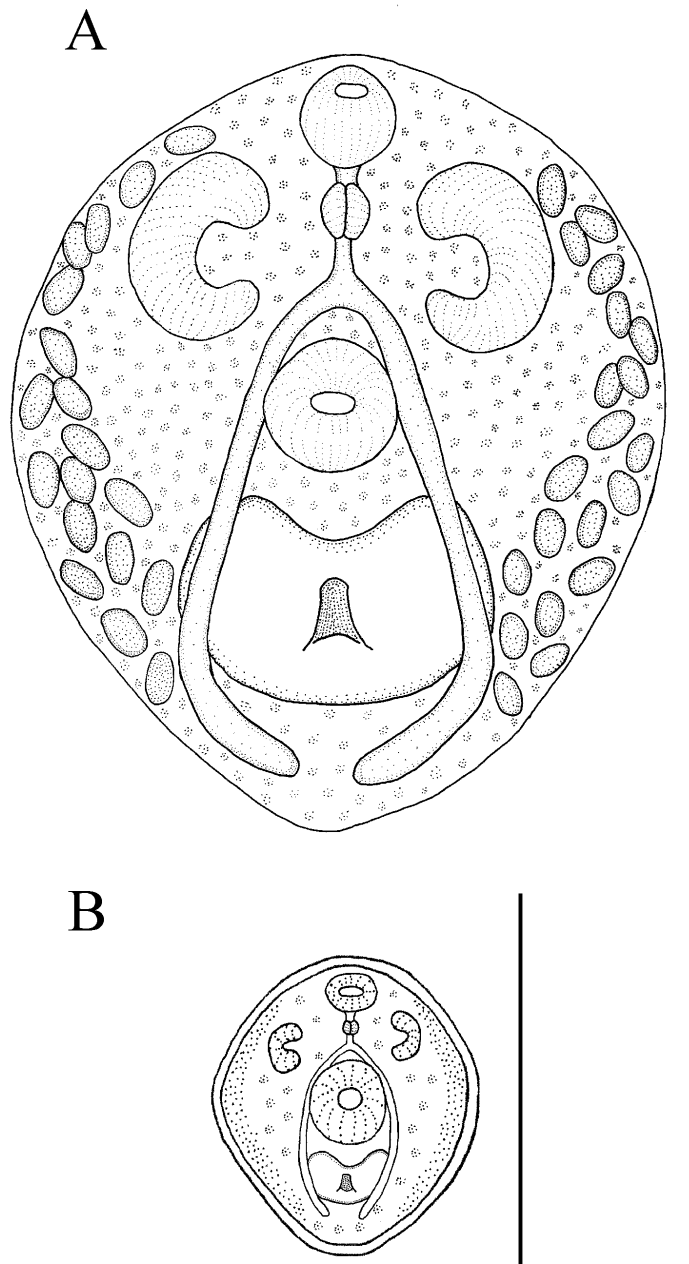


Figura 5. A-B. Metacercaria Strigeidae gen. sp. 1B, **A.** Metacercaria, **B.** Quiste. Escalas:

A: 0,1 mm y **B:** 0,5 mm.

Familia Echinostomatidae

Echinocercaria gen. sp. 1B

Fig. 6 y tabla 4.

Hospedador: *Biomphalaria peregrina*.

Localidad: laguna Mar de Cobo, Prov. Buenos Aires, Argentina.

Prevalencia: 1,39%

Descripción de la cercaria: Cuerpo ovoide de 0,346 (0,203-0,438) de largo y 0,161 (0,143-0,178) de ancho, sin espinas ni pelos sensitivos. Collar cefálico conteniendo 35 espinas, 4 espinas angulares y el resto ubicadas en una sola fila. Cola más larga que el cuerpo de 0,431 (0,360-0,508) de largo y 0,049 (0,035-0,065) de ancho, sin aletas caudales. Ventosa oral subterminal, de 0,054 (0,04-0,065) de largo y 0,046 (0,03-0,063) de ancho. Ventosa ventral post ecuatorial, de 0,063 (0,048-0,071) de largo y 0,055 (0,04-0,073) de ancho. Prefarige de 0,012 (0,008-0,022) de largo continuada por una faringe muscular de 0,025 (0,019-0,032) de largo y 0,018 (0,008-0,025) de ancho. Cuerpo prefaríngeo ausente. Esófago de 0,103 (0,045-0,133) largo que se bifurca en la zona anterior a la ventosa ventral. Ciegos intestinales delgados, de 0,168 (0,143-0,225) de largo que llegan hasta el margen anterior de la vesícula excretora. Glándulas de penetración no conspicuas, sin embargo se observan 6 aperturas de los conductos de las glándulas presentes en el labio dorsal de la ventosa oral. Glándulas cistógenas abundantes, conteniendo inclusiones de apariencia granular esféricas, localizadas lateralmente entre el extremo posterior de la faringe y el extremo final del cuerpo. Glándulas paraesofágicas no observadas. Sistema excretor estenostomátido, con los tubos excretores principales dilatados entre la faringe y el borde medio de la ventosa oral, llenos de gránulos refráctiles. Células flamígeras dificultosas de observar. Vesícula excretora pequeña de forma sacciforme con una constricción en la zona media del margen anterior. Ramas caudales del sistema excretor

ingresando en la parte anterior de la cola, bifurcándose y abriéndose al exterior mediante poros en los bordes laterales. Las cercarias se desarrollan dentro de redias, de 0,612 (0,554-0,713) de largo y 0,184 (0,164-0,196) de ancho. Las mismas presentan una faringe que mide 0,039 (0,033-0,042) de largo y 0,036 (0,03-0,048) de ancho.

Comentarios: La presencia de un collar cefálico de espinas permite ubicar a esta cercaria dentro de la familia Echinostomatidae (Schell, 1970, Kostandinova, 2005).

En Argentina, se han descripto 7 cercarias pertenecientes a la familia Echinostomatidae para el género *Biomphalaria*. Ostrowski de Nuñez *et al.* (1990) describieron una *Echinocercaria* sp. II para *B. straminea* en el río Riachuelo. Además, Ostrowski de Nuñez *et al.* (1991) describió la *Echinocercaria* sp. III en *B. occidentalis* en la laguna Paiva (prov. Corrientes) y Ostrowski de Nuñez *et al.* (1997) describen dos echinocercarias: *Echinocercaria* sp. V (para *B. orbignyi*) y *Echinocercaria* sp. IV (para *B. tenagophila*, *B. occidentalis*, *B. orbignyi*, *B. peregrina* y *B. straminea*) en pequeñas charcas estacionales de agua semipermanente pertenecientes a la cuenca del río Santa Lucía (prov. Corrientes). Por último, Martorelli *et al.* (2013) describieron tres cercarias pertenecientes a la familia Echinostomatidae, una para *B. tenagophila* y *B. straminea* (cercaria Echinostomatidae N° 1) y dos para *B. tenagophila* (cercaria Echinostomatidae N° 2 y cercaria Echinostomatidae N° 3) en la represa de Salto Grande (prov. Entre Ríos). Las características anatómicas de las siete cercarias descriptas por estos autores se asemejan a las de la *Echinocercaria gen. sp. 1* hallada en el presente trabajo, parasitando a *B. peregrina*. Las medidas morfométricas de las 8 cercarias se detallan en la tabla 4. La cercaria aquí descripta difiere de todas las cercarias descriptas hasta el momento por el número y disposición de las espinas cefálicas. De la *Echinocercaria sp. II* se diferencia también por el tamaño del cuerpo, el largo de la ventosa oral, el largo y ancho de la ventosa ventral y el largo y ancho de la cola. De la *Echinocercaria sp. V* se diferencia

también por el largo de la cola y la presencia de una aleta. El tamaño del cuerpo, el largo y ancho de la ventosa ventral, el largo de la cola y la presencia de una aleta diferencia a la *Echinocercaria sp. IV* de la aquí descrita. Por último, se diferencia de la *cercaria Echinostomatidae n°2* y la *cercaria Echinostomatidae n° 3* por la presencia de una aleta, y en esta última también por el largo de la ventosa oral.

Tabla 4. Comparaciones de la *Echinocercaria gen. sp. 1* con las cercarias descritas por ^AOstrowski de Núñez *et al.* (1990), ^BOstrowski de Núñez *et al.* (1991), ^COstrowski de Núñez *et al.* (1997), ^DMartorelli *et al.* (2013). L (largo), An (ancho).

		<i>Echinocercaria gen. sp. 1</i>	<i>Echinocercaria sp. II^A</i>	<i>Echinocercaria sp. III^B</i>	<i>Echinocercaria sp. V^C</i>	<i>Echinocercaria sp. IV^C</i>	Cercaria Echinostomatidae N°1 ^D	Cercaria Echinostomatidae N°2 ^D	Cercaria Echinostomatidae N°3 ^D
Cuerpo	L	0,203-0,438	0,172-0,201	0,27-0,44	0,361-0,479	0,504-0,783	0,32-0,35	0,37-0,44	0,2-0,264
	An	0,143-0,178	0,084-0,105	0,12-0,28	0,168-0,21	0,207-0,297	0,14-0,2	0,19-0,2	0,1-0,165
Ventosa oral	L	0,04-0,065	0,027-0,034	0,04-0,07	0,05-0,067	0,051-0,08	0,045-0,055	0,05-0,06	0,03-0,035
	An	0,03-0,063	0,029-0,036	0,04-0,07	0,042-0,059	0,051-0,08	0,045-0,055	0,05-0,06	0,03-0,035
Espinascéfálicas		35: 4 angulares y 31 en una fila	27: 4 angulares, 12 laterales en una fila y 7 dorsales en doble fila	27: 4 angulares, 12 laterales en una fila y 7 dorsales en doble fila	50: 4-5 angulares	47: 5 angulares y 37 en hilera alternada	27-28: 4 angulares y 19-20 en una fila	37: 4 angulares y 29 en una fila	58: 7 angulares y 44 en una fila.
Ventosa ventral	L	0,048-0,071	0,032-0,036	0,05-0,07	0,067-0,084	0,074-0,097	0,04-0,055	0,06-0,08	0,045-0,048
	An	0,04-0,073	0,032-0,038	0,05-0,07	0,067-0,084	0,074-0,097	0,06-0,075	0,06-0,08	0,05-0,054
Cuerpo prefaringeo		Ausente	-	-	Presente, forma de roseta	Ausente	-	-	-
Faringe	L	0,019-0,032	0,011-0,025		0,027-0,029	-	-	-	-
	An	0,008-0,025	0,011-0,017		0,017-0,021	-	-	-	-
Glándulas penetración		No conspicuas, si 6 aberturas glandulares	No conspicuas, si 4 aberturas glandulares	No conspicuas, si 4 aberturas glandulares	No conspicuas, si 8 aberturas glandulares	-	-	6 pares con 3 aberturas glandulares	-
Glándulas cistógenas		Numerosas con contenido granular esférico	Numerosas con contenido granular en forma de barra	Numerosas con 30-55 gránulos retráctiles	Numerosas con numerosos gránulos de 0,0021-0,0084	Numerosas con numerosos gránulos pequeños	Numerosas con numerosos gránulos esféricos de 0,017-0,02	Numerosas con numerosos gránulos esféricos de 0,059-0,065	Numerosas con gránulos pequeños
Células flaminigeras		Dificultosas de observar	Dificultosas de observar, probablemente 12 pares	14 pares	No pudo determinarse número exacto	-	14 grupos de 2 células cada uno	No determinadas, en grupos de 3	No determinadas por su dificultad de observación, en grupos de 3
Cola	L	0,360-0,508	0,21-0,252	0,36-0,6	0,546-0,672	0,594-0,747	0,35-0,45	0,25-0,4	0,36-0,45
	An	0,035-0,065	0,025-0,034	0,03-0,08	0,05-0,067	0,054-0,081	0,05-0,06	0,059-0,049	0,03-0,039
Aleta natatoria		Ausente	Ausente	Ausente	Dos velos dorsales y uno ventral	Dorsoventrales y un par más pequeño en la parte proximal de la cola	Ausentes	Una lateral en la segunda mitad de la cola	Aletas en la segunda mitad de la cola

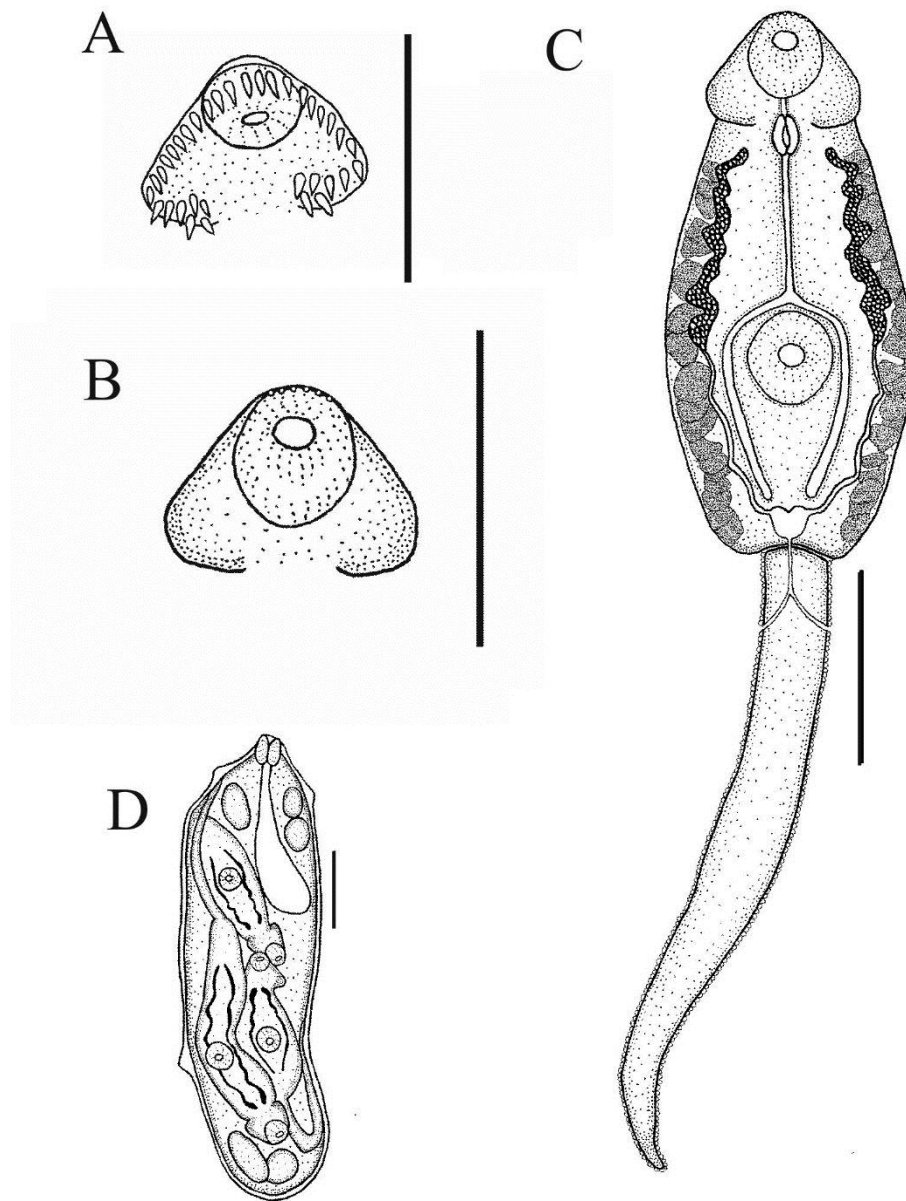


Figura 6. A-D. Echinocercaria gen. sp. 1B, **A.** Cercaria: extremo anterior mostrando detalle de espinas cefálicas, **B.** Cercaria: extremo anterior mostrando detalle de las aperturas de las glándulas de penetración, **C.** Cercaria, **D.** Redia. **Escala:** **A, B y C:** 0,1 mm, **D:** 0,05.

Metacercaria *Echinostomatidae* gen. sp. 1BP

Fig. 7 y tabla 5.

Hospedador: *Biomphalaria peregrina* y *Physa acuta*.

Ubicación: en la glándula digestiva del hospedador.

Localidad: lagunas Mar de Cobo, La Brava, Nahuel Rucá y Reserva del Puerto de Mar del Plata para *B. peregrina* y laguna de los Padres para *P. acuta*, Prov. Buenos Aires, Argentina

Prevalencia: *Biomphalaria peregrina*: 7,33% (laguna Mar de Cobo), 0,33% (laguna La Brava), 2% (laguna Reserva Puerto Mar del Plata) y 3% (laguna Nahuel Rucá). *Physa acuta*: 2% (laguna de los Padres).

Intensidad media: *Biomphalaria peregrina*: 15,91 (laguna Mar de Cobo), 18 (laguna La Brava), 4 (laguna Reserva Puerto Mar del Plata) y 1,33 (laguna Nahuel Rucá). *Physa acuta*: 2,17 (laguna de los Padres).

Intensidad (min-max): *Biomphalaria peregrina*: 1-47 (laguna Mar de Cobo), 1-15 (laguna Reserva Puerto Mar del Plata) y 1-2 (laguna Nahuel Rucá). *Physa acuta*: 1-3 (laguna de los Padres).

Descripción de la metacercaria: Metacercaria plegada dentro de quistes esféricos con una pared hialina gruesa. Cuerpo ovoide con collar cefálico prominente con 38-41 espinas cefálicas, 4 angulares y el resto en una sola fila. Ventosa oral continuada por una faringe muscular seguida de un esófago que se bifurca en dos ciegos intestinales que corren hasta la zona posterior del cuerpo. Ventosa ventral presente. Sistema excretor estenostomático, del cual sólo se observan los tubos excretores principales, entre la faringe y la zona posterior del cuerpo, dilatados y con contenido granular. Glándulas cistógenas abundantes, conteniendo inclusiones de apariencia granular, localizadas lateralmente

entre el extremo posterior de la faringe y el extremo final del cuerpo. Glándulas paraesofágicas no observadas.

Comentarios: La presencia de un collar cefálico de espinas permite ubicar a esta metacercaria dentro de la familia Echinostomatidae (Schell, 1970; Kostadinova, 2005). Martorelli *et al.* (2013) describieron dos metacercarias pertenecientes a la familia Echinostomatidae, Metacercaria Echinostomatidae N° 1 y Metacercaria Echinostomatidae N° 2, que parasitan a *B. straminea* y *B. tenagophyla* y a *B. tenagophyla* en la represa de Salto Grande (Entre Ríos), respectivamente. Las características anatómicas de estos estadios larvales se asemejan a las de la cercaria hallada en el presente trabajo, parasitando a *B. peregrina*. Las comparaciones respectivas se detallan en la tabla 5. Se diferencia de las dos metacercarias descritas por Martorelli *et al.* (2013) en el número de espinas cefálicas.

Si bien los estadios cercaria de *Echinocercaria* gen. sp. 1B y metacercaria *Echinostomatidae* gen. sp. 1BP se encontraron ambos en la laguna Mar de Cobos, nunca se hallaron en el mismo hospedador ni se halló el estadio cercaria en las otras lagunas muestreadas ni en *Physa acuta*. Por lo tanto, hasta realizar infecciones experimentales o análisis moleculares que confirmen la identidad específica de estos organismos, se considerará a la *Echinocercaria* gen. sp. 1B y a la metacercaria *Echinostomatidae* gen. sp. 1BP como pertenecientes a dos especies diferentes.

Tabla 5. Medidas comparativas de las metacercarias descritas por Martorelli *et al.* (2013) y en el presente estudio.

	Martorelli et al., 2013 <i>B. straminea</i> y <i>B. tenagophyla</i>	Martorelli et al., 2013 <i>B. tenagophyla</i>	Parietti, 2018 <i>B. peregrina</i> y <i>P. acuta</i>
diámetro quiste	0,3-0,35	0,146-0,177	0,146 (0,138-0,153)
pared quiste	-	-	0,01 (0,007-0,013)
largo cuerpo	-	-	0,38 (0,328-0,502)
ancho cuerpo	-	-	0,138 (0,109-0,209)
nro. espinas cefálicas	31-33	58	38-41: 4 angulares y el resto en una sola fila
largo ventosa oral	-	-	0,046 (0,029-0,054)
ancho ventosa oral	-	-	0,052 (0,033-0,062)
largo ventosa ventral	-	-	0,061 (0,053-0,072)
ancho ventosa ventral	-	-	0,059 (0,054-0,068)
largo faringe	-	-	0,032 (0,025-0,047)
ancho faringe	-	-	0,022 (0,02-0,027)
largo esófago	-	-	0,16 (0,153-0,172)
largo ciegos intestinales	-	-	0,240 (0,215-0,273)

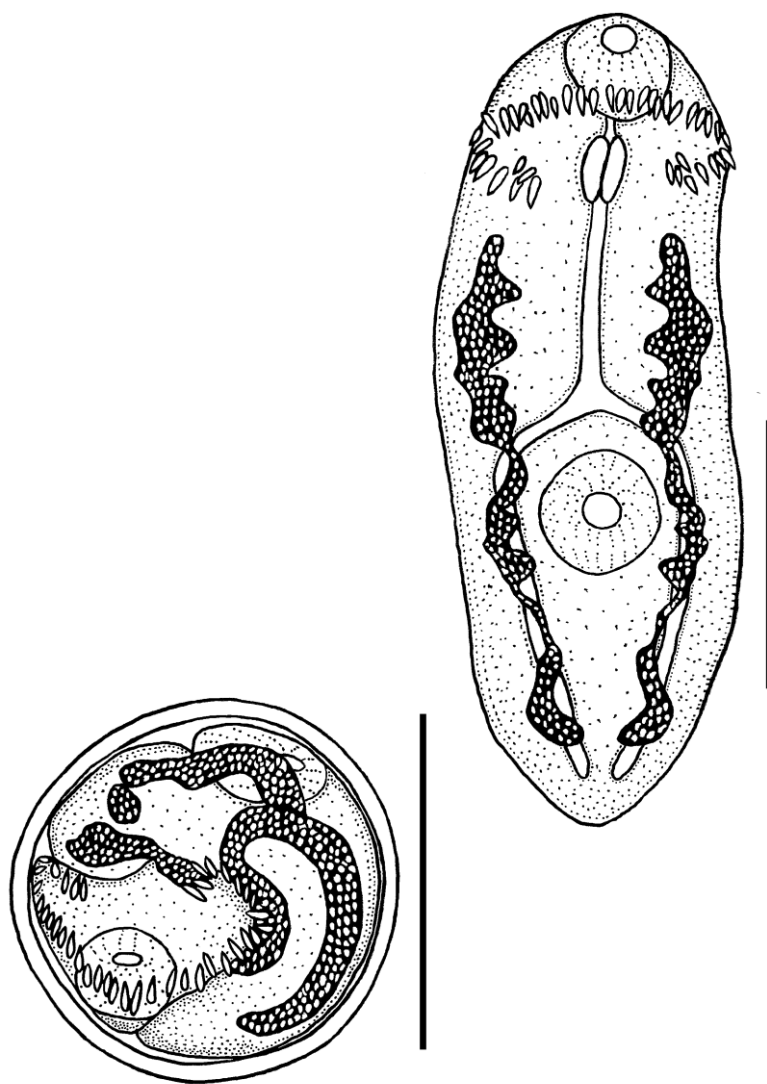


Figura 7. A-B. Metacercaria Echinostomatidae gen. sp. 1BP, **A.** Metacercaria, **B.** Quiste.

Escalas: A y B: 0,1 mm.

Familia Strigeidae o Diplostomidae

Furcocercaria gen. sp. 1B

Fig. 8.

Hospedador: *Biomphalaria peregrina*.

Localidad: laguna Mar de Cobo, Prov. Buenos Aires, Argentina.

Debido a que se encontró en su mayoría en estadios inmaduros y muy pocos especímenes emitidos, y conjuntamente con las sequías producidas en la laguna temporaria de Mar de Cobo, no se pudieron tomar las medidas corporales correspondientes ni completar su estudio morfológico. La presencia de una ventosa oral desarrollada, posición de las glándulas de penetración laterolaterales a la ventosa ventral, presencia de un par de ocelos sin pigmentación a la altura de la ventosa ventral, cola con furcas, desembocadura del canal excretor en la zona media de las furcas y esporocistos con metacercarias enquistadas con “cadena de cuentas” permitirían incluir a esta cercaria en la familia Strigeidae o Diplostómidae, según Ostrowski de Nuñez (1992). Sin embargo, para poder definir y confirmar la pertenencia de esta cercaria a las familias mencionadas, es necesario determinar la presencia y distribución de espinas en el cuerpo, la presencia de anillos de espinas en la ventosa ventral, la presencia de pelos sensitivos en el cuerpo y la cola y el número y disposición de los protonefridios.

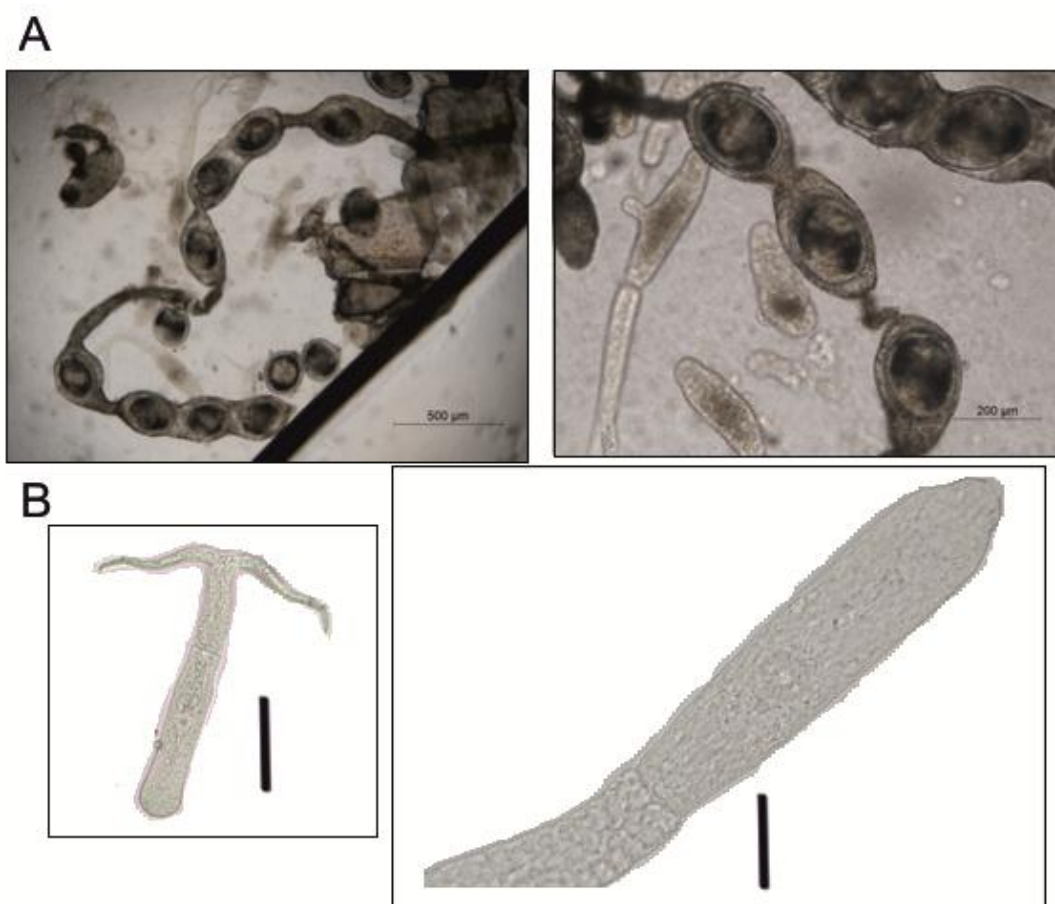


Fig. 8. *Furcocercaria* gen. sp. 1. A) imagen esporocisto “cadena de cuentas” (escala: 0,05 mm y 0,02 mm, respectivamente). B) imagen cercaria (escala; 0,02 mm y 0,01 mm).

Familia Schistosomatidae

Cercaria Schistosomatidae gen. sp. 1B

Fig. 9.

Hospedador: *Biomphalaria peregrina*.

Localidad: laguna Mar de Cobo, Prov. Buenos Aires, Argentina.

Como se menciona en la *Furcocercaria* gen. sp. 1B, se encontraron en su mayoría en estadios inmaduros y muy pocos especímenes emitidos, y conjuntamente con las sequías producidas en la laguna temporaria de Mar de Cobo, no se pudieron tomar las

medidas corporales correspondientes ni completar su estudio morfológico. En base a las características morfológicas mencionadas por Ostrowski de Nuñez (1992) esta cercaria podría incluirse en la familia Schistosomatidae. Dichas características son: un par de ocelos pigmentados, un órgano de penetración, ausencia de faringe, ventosa ventral pequeña, cola con furcas, canal excretor en el extremo de las furcas y aletas natatorias en las furcas. Sin embargo, para poder confirmar la presencia de esta cercaria a la mencionada familia, es necesario la observación de ejemplares maduros que permitan determinar el número y disposición de las glándulas de penetración y la presencia y distribución de espinas en el tegumento.



Fig. 9. *Cercaria Schistosomatidae* gen sp. 1B. Imagen cercarias (escala: 0,01 mm y 0,05 respectivamente).

Familia Echinostomatidae

Cercaria magnacauda gen. sp. 1B

Fig. 10.

Hospedador: *Biomphalaria peregrina*.

Localidad: laguna Mar de Cobo, Prov. Buenos Aires, Argentina.

Como se menciona para las dos cercarias anteriores, se encontraron en su mayoría en estadios inmaduros y muy pocos especímenes emitidos, y conjuntamente con las sequías producidas en la laguna temporaria de Mar de Cobo, no se pudieron tomar las medidas corporales correspondientes ni completar su estudio morfológicos. En base a las características mencionadas por Schell (1970) y Kostandinova (2005) esta cercaria podría incluirse dentro de la familia Echinostomatidae por la presencia de espinas en el collar cefálico alrededor de la ventosa oral. Sin embargo, para confirmar la pertenencia de esta cercaria a la mencionada familia, sería necesario la observación de ejemplares maduros que permitan tomar medidas corporales, determinar el número y disposición de posición de las espinas en el collar cefálico, número y disposición de las glándulas de penetración y características de los gránulos refráctiles.



Fig. 10. *Cercaria Magnacauda* gen. sp. 1B. Imagen cercaria (escala: 0,02 mm).

PARTE II

Dinámica temporal de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a

Biomphalaria peregriana en la laguna temporaria de Mar de Cobo

Introducción

En los últimos años, los estudios de diversidad biológica a escalas local y regional se han diversificado, convirtiéndose en herramientas importantes para la conservación de especies y para el análisis del impacto producido por el efecto antrópico y por el calentamiento global. La utilización de grupos de organismos indicadores, que respondan positiva o negativamente a los cambios de los factores ambientales y a la influencia de las actividades del hombre, surgen entonces herramientas predictoras de cambios climáticos, de cambios en la composición de especies y comparativas entre distintos ambientes. Su utilización permite, a su vez, el desarrollo posterior de políticas de conservación y de preservación ambiental.

La laguna temporaria de Mar de Cobo se presenta como un ambiente promisorio para el estudio de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *Biomphalaria peregriana*. Las características hidrológicas y prístinas de esta laguna (con periodicidad de sequías y aislada completamente de la actividad humana circundante), la convierten en un sitio muy interesante para estudios parasitológicos de variabilidad estacional, como así también para estudios de diversidad y de conservación. Teniendo en cuenta que, en Argentina, los estudios sobre la variabilidad temporal de los ensambles de digeneos larvales en hospedadores moluscos (en ambientes que sufren alternancia de periodos de sequías y aumento de la columna de agua con regularidad durante el año calendario) son escasos, se plantean los siguientes objetivos para este capítulo:

1. Estudiar la estabilidad temporal de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *B. peregrina* en la laguna temporaria de Mar de Cobo a lo largo de cuatro años de estudio.

2. Identificar y analizar los factores que contribuyen a estructurar temporalmente los ensambles de digeneos larvales en *B. peregrina*.

3. Analizar la relación entre la abundancia y la diversidad de digeneos larvales en hospedadores moluscos y la distribución de los hospedadores definitivos en el área.

Materiales y Métodos

Sitio de muestreo:

Las tareas de muestreo se realizaron en un cuerpo de agua temporal ubicado a 2,13 km. de la laguna Mar Chiquita (en las cercanías las ciudades de Mar de Cobo/Parque Lago y Mar Chiquita) y dispuesto a 500 metros de la línea de costa (Fig. 11A, 11B y 12).



Fig. 11. A. Ubicación de la laguna temporaria Mar de Cobo en relación a la laguna costera de Mar Chiquita indicando el sitio de muestreo. B. Fotos satelitales donde se observan los periodos de sequía detectados. Sep. 2014: laguna cubierta por su totalidad por agua. Ago. 2015: laguna cubierta en parte por agua. Mar. 2016: laguna completamente seca. Ene. 2017: laguna cubierta mínimamente por agua



Fig. 12. Fotos de la laguna temporaria de Mar del Cobo donde se puede observar los periodos de agua (con variabilidad en los niveles de agua) y de sequía.

Muestreos:

Las tareas de muestreo se realizaron estacionalmente en la laguna durante cuatro años consecutivos, desde el año 2013 al año 2016. En cada estación, se realizaron dos viajes de campaña y se tomaron un mínimo 5 muestras de moluscos por estación por un total de 300 moluscos. En los casos en los que fue posible, se colectaron entre 10 y 15 muestras por estación (600 y 900 molusco, respectivamente). Los datos del N total recolectado por estación se detallan en la tabla 6. Las mismas fueron utilizadas como réplicas en los análisis estadísticos posteriores. En cada muestreo se utilizó un termómetro digital para medir la temperatura del agua y del aire y una varilla métrica de aluminio para medir la altura de la columna del agua. La metodología de muestreo en el laboratorio, manutención de los especímenes y detección de los estadios larvales se detallan en la introducción (pág. 17). Las cercarias, los esporocistos las redias y las metacercarias detectadas se detallan en el Capítulo 1, Parte I.

Análisis estadísticos:

La densidad relativa de *B. peregrina* a lo largo del periodo de muestreo fue calculada como el número de individuos/1 hora de muestreo. Las densidades estacionales se compraron con un análisis de varianza (ANOVA). Previamente se analizaron la normalidad y la homocedasticidad. Finalmente cuando se detectaron diferencias significativas, las comparaciones a posteriori se realizaron con el test de Tukey (Zar, 2009).

La laguna temporaria de Mar de Cobo presentó agua durante las cuatro estaciones sólo durante el segundo año de muestreo mientras que, en el resto de los tres años, los periodos de sequías variaron desde dos estaciones secas durante el primer año, tres durante el tercer año y una durante el cuarto año. Por este motivo se decidió analizar, por un lado, el segundo año completo, y por otro, todo el periodo muestral de los cuatro años.

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

El estudio de la dinámica temporal de la prevalencia se realizó mediante análisis de la covarianza (ANCOVA), utilizando a la talla de los caracoles como covariable. Mientras que, la comparación de la riqueza específica promedio se realizó por medio de análisis de la varianza (ANOVA). Cuando los análisis (ANCOVAs y ANOVAs) detectaron diferencias significativas, los valores de prevalencia y riqueza específica promedio fueron comparados con la prueba de Tukey. En los casos en los cuales no se cumplieron los supuestos de normalidad y de homogeneidad de varianzas, se modificaron los datos para cumplirlos.

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

Para tal fin se construyó una matriz de similitud utilizando datos de presencia-ausencia de especies de digeneos mediante el índice de Jaccard. También, se calculó la

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

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

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

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

la matriz de similitud en base a presencia-ausencia de especies de digeneos (calculada anteriormente) mediante un análisis de correlación de Pearson.

Tanto los análisis de ANCOVA realizados para la prevalencia, ANOVA realizados para la riqueza específica, como los análisis multivariados no paramétricos (PERMANOVAs, PERMDISPs y SIMPER) fueron comprados estacionalmente, por un lado, para el único año completo de se tuvo en la laguna (año 2014), y por otro, para todas las estaciones muestreadas durante los cuatro años.

Resultados

En total se examinaron 6300 individuos de *B. peregrina* entre los años 2013 y 2016, identificándose nueve especies de digeneos pertenecientes a cinco familias (Capítulo 1, Parte I).

	2013 Año 1	2014 Año 2	2015 Año 3	2016 Año 4
Verano	600 moluscos	600 moluscos	Sequía	Sequía
Otoño	Sequía	900 moluscos	Sequía	300 moluscos
Invierno	Sequía	600 moluscos	Sequía	600 moluscos
Primavera	600 moluscos	900 moluscos	600 moluscos	600 moluscos

Tabla 6. Detalle del número total de moluscos de *B. peregrina* colectados por estación (n total) y detalle de aquellas estaciones que presentaron sequías.

El análisis estacional de densidad de *B. peregrina* arrojó diferencias significativas entre las estaciones ($F_{9;94}=16,50$; $P<0,0001$) (Fig. 13) y el test de Tukey realizado posteriormente indicó que:

- No existieron diferencias significativas entre los otoños ni entre los inviernos analizados ($P>0,05$, para ambos casos).

- El verano del segundo año (V2) fue significativamente menor que el verano del primer año (V1) ($P < 0,05$).
- La primavera del primer año (P1) fue significativamente menor que la primavera del tercer año (P3) y estas primaveras post-sequías fueron ambas significativamente menores que las primaveras que no tuvieron sequías anteriores (P4 y P2) ($P < 0,05$, para todos los casos)
- Cuando se analiza el segundo año, durante el cual se colectaron *B. peregrina* durante las cuatro estaciones, se observó que la primavera fue significativamente mayor al resto de las estaciones del mismo año ($P < 0,05$, para todos los casos).

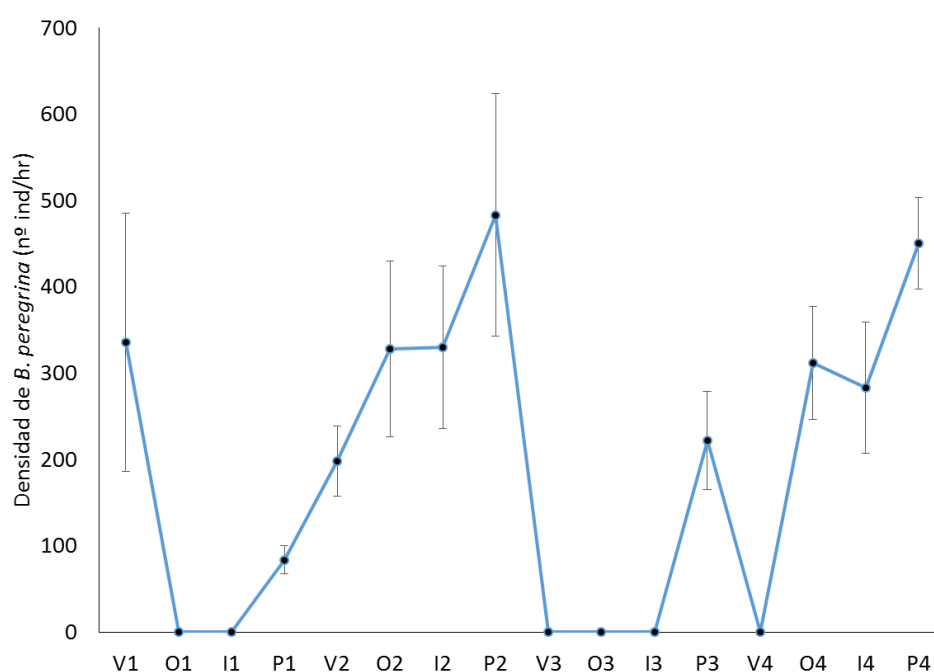


Fig. 13. Valores estacionales de la densidad de individuos de *B. peregrina* en la laguna temporaria de Mar de Cobo.

Composición y dinámica de los ensambles de digeneos larvales durante el año 2014

El análisis de la co-varianza (ANCOVA) para el único año completo (2014) reveló un efecto significativo de la talla sobre la prevalencia ($F_{1;49}=8,09$; $P=0,0067$) y diferencias significativas de la prevalencia entre las estaciones ($F_{3;49}=14,32$; $P<0,0001$) (Fig. 14). El análisis de a pares realizado *a posteriori* indicó que la primavera presentó valores de prevalencia menores al resto de las estaciones y el invierno menores que el verano ($P<0,05$, para todos los casos). No se hallaron diferencias entre el otoño y el verano y entre el otoño y el invierno.

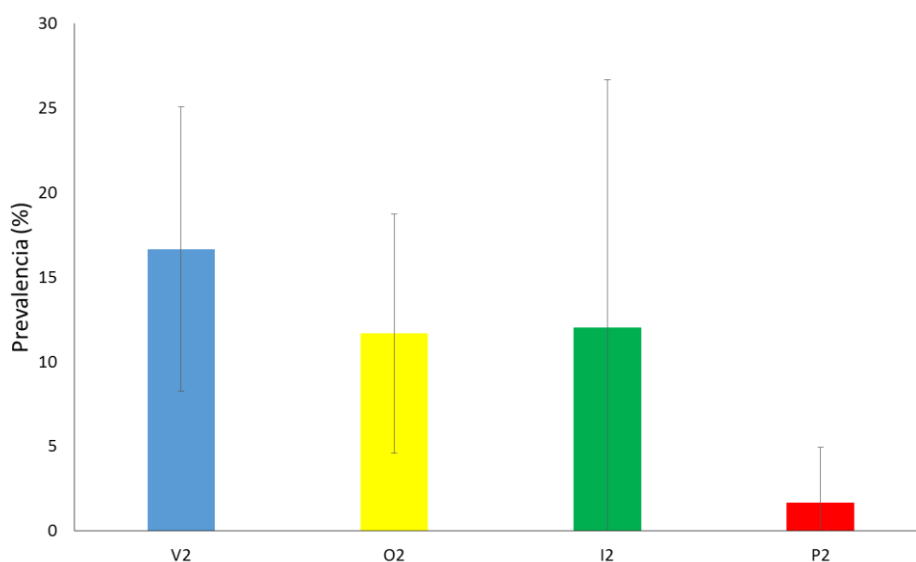


Fig. 14. Valores estacionales de la prevalencia ($\pm$ desvío estándar) de los digeneos larvales que parasitan a *B. peregrina* durante el año 2014. Verano 2 (V2), otoño 2 (O2), invierno 2 (I2) y primavera 2 (P2).

El análisis multivariado de la heterogeneidad temporal de la prevalencia realizado mediante el test PERMANOVA, reveló, de la misma manera que el ANCOVA, un efecto significativo de la talla (co-variable) sobre la variable de estudio (PseudoF=4,74; $P(\text{perm})=0,001$) y diferencias significativas entre las estaciones (PseudoF=5,88;

$P(\text{perm})=0,001$). Sin embargo, el análisis de a pares posterior indicó que todas las estaciones son significativamente diferentes entre sí. A su vez, el test PERMDISP no indicó diferencias significativas ($F=0,44$; $P(\text{perm})=0,818$), lo que significa que no existe dispersión entre las estaciones.

El estudio de la variación de riqueza específica promedio durante el año 2014 mediante el análisis de la varianza (ANOVA) indicó diferencias significativas entre las estaciones ($F_{3;49}=10,97$; $P<0,0001$) (Fig. 15). El análisis de a pares realizado *a posteriori* indicó que la primavera es significativamente menor al otoño y el verano y el invierno es significativamente menor al verano ($P<0,05$, para todos los casos).

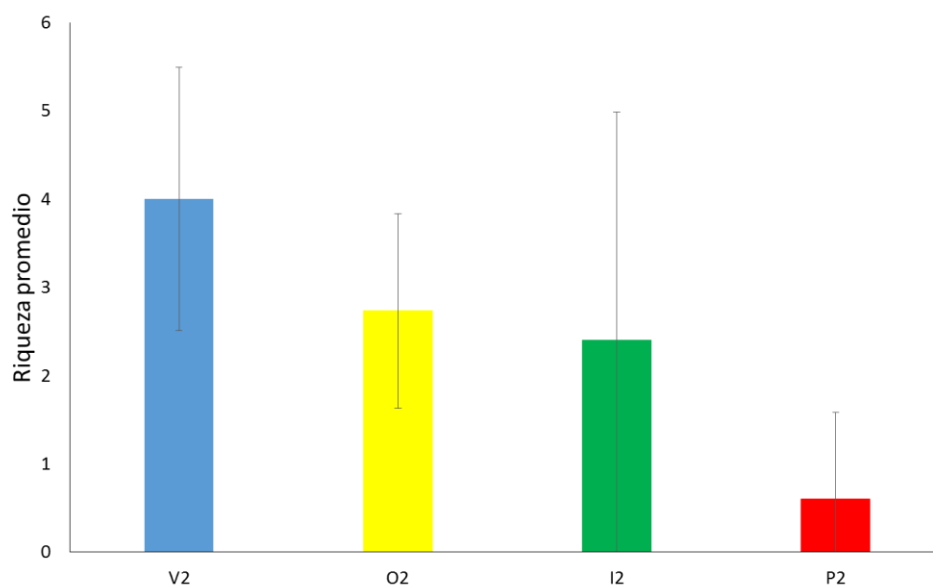


Fig. 15. Valores estacionales de la riqueza específica promedio ($\pm$ desvío estándar) de los digeneos larvales que parasitan a *B. peregrina* durante el año 2014. Verano 2 (V2), otoño 2 (O2), invierno 2 (I2) y primavera 2 (P2).

El análisis multivariado no paramétrico (PERMANOVA) de la riqueza específica reveló diferencias significativas entre las estaciones (PseudoF=4,64; $P(\text{perm})=0,001$). El análisis de a pares posterior indicó que sólo no existen diferencias entre el verano y el

invierno, siendo el resto de las estaciones diferentes entre sí. Sin embargo, el test PERMDISP indicó diferencias significativas ($F=3,95$; $P(\text{perm})=0,043$), lo que significa que algunas estaciones tienen mayor dispersión que otras respecto a su similitud. Debido a esto, los resultados del PERMANOVA pueden deberse a un efecto temporal (diferencias entre estaciones), a la dispersión de datos o a una combinación de ambos.

De acuerdo a la rutina SIMPER, la estación más homogénea fue el invierno con un 80,17% de similitud y la menos homogénea la primavera con un 47% de similitud. Las especies que más contribuyeron a la similitud de las cuatro estaciones fueron la B1, B3, B4 y C1. Por su parte, cuando se analiza la disimilitud entre las estaciones observamos que las estaciones que no tuvieron diferencias significativas en la rutina PERMANOVA fueron las que tuvieron menor disimilitud (38,30%) mientras que de las otras estaciones, las que presentaron mayor disimilitud fueron la primavera con respecto al verano y el invierno (75,11% y 69,01%, respectivamente). Las especies que más contribuyeron a la disimilitud entre las estaciones fueron la B1, B3, B4 y B5. Conjuntamente estas especies explican más del 50% de la disimilitud entre las estaciones.

Composición y dinámica de los ensambles de digeneos larvales a escala estacional durante los cuatro años de muestreo

El análisis de la co-varianza (ANCOVA) para todas las estaciones reveló un efecto significativo de la talla sobre la prevalencia ($F_{1;104}=11,34$; $P=0,0011$) y diferencias significativas de la prevalencia entre las estaciones de los cuatro años analizados ($F_{9;103}=21,94$; $P<0,0001$) (Fig. 16). El análisis de a pares indicó que

- El invierno 4 y la primavera 2 presentaron valores de prevalencias significativamente menores que todas las demás estaciones, exceptuando a la primavera 4 ($P<0,05$, para todos los casos).

- La primavera 4 y el invierno 2 mostraron valores de prevalencia significativamente menores que la primavera 3 y que los dos veranos analizados, el verano 2 y el verano 1 (valor $P < 0,05$, para todos los casos).
- La primavera 3 evidenció valores de prevalencia significativamente mayores que todas las estaciones, a excepción de los dos veranos analizados, el verano 2 y el verano 1 (valor $P < 0,05$, para todos los casos).

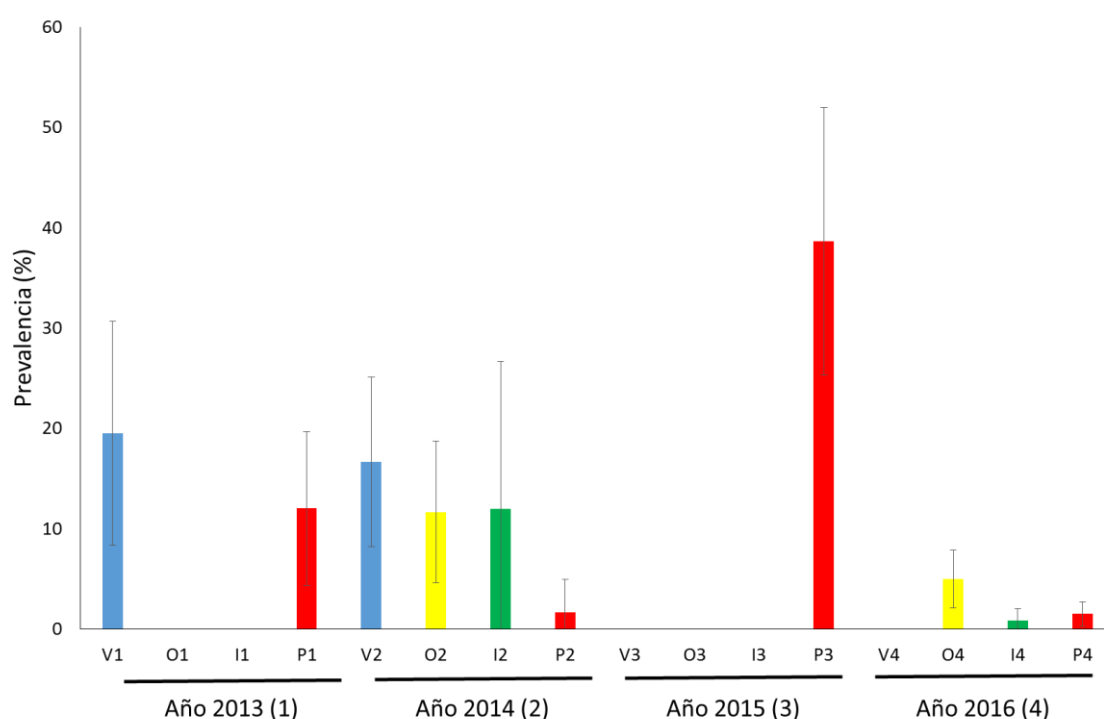


Fig. 16. Valores estacionales de la prevalencia ($\pm$ desvío estándar) de los digeneos larvales que parasitan a *B. peregrina* durante los cuatro años de muestreo. La ausencia de datos se debe a periodos de sequías en la laguna.

El análisis de varianza no paramétrico, reveló ausencia de variación estacional de la prevalencia para dos especies de digeneos: B6 (Kruskal-Wallis test, $P = 0,0142$) y C20 (Kruskal-Wallis test, $P > 0,9999$). El resto de las especies presentaron diferencias significativas entre las estaciones (Kruskal-Wallis test, $P < 0,01$, para todos los casos).

- B1: la prevalencia de esta especie presentó valores de prevalencia significativamente mayores durante la primavera 3 (año 2015) en relación a las primaveras 2 (2014) y 4 (2016, ausente en esta última), las cuales no presentaron estación de sequías previas. Las dos primaveras post sequias (primavera 1-2013 y 3-2015) no presentaron diferencias significativas en los valores de prevalencia para esta especie. Los valores de prevalencia también se mantuvieron constantes en los veranos y otoños, pero diferentes en invierno ya que sólo se registró durante el invierno del año 2014 (2) (Tabla 7, Fig. 17A).
- B2: la prevalencia de esta especie se mantuvo constante durante todo el estudio, pero se registraron valores altos de prevalencia durante la primavera 1 post-sequia (2013) (Tabla 7, Fig. 17B).
- B3: esta metacercaria se encontró ausente en muchas de las estaciones analizadas, presentando valores altos de prevalencia durante el año 2014 y en el primer verano analizado (Tabla 7, Fig. 17C).
- B4: la prevalencia de esta especie se mantuvo baja durante todo el muestreo, presentando un pico alto de prevalencia significativa durante la primavera 3 (2015) después de tres estaciones de sequía (Tabla 7, Fig. 17D).
- B5: la prevalencia de esta especie se mantuvo constante durante todo el muestreo, presentando solamente valores mayores de prevalencia significativa durante la primavera 3 (2015) posterior a tres estaciones secas en relación a la primavera 1 (2013) (ausente en las otras dos primaveras analizadas) (Tabla 7, Fig. 17E)
- B7: especie estuvo presente solo durante los veranos y la primavera 3 (2015) posterior a tres sequías, presentando en las tres estaciones valores constantes de prevalencia (Tabla 7, Fig. 17F)

- C1: la prevalencia de esta especie se mantuvo constante durante todo el muestreo a excepción de los otoños los cuales difieren significativamente entre sí en los valores de prevalencia (Tabla 7, Fig. 17G).

		B1*	B2*	B3*	B4*	B5*	B6	B7*	C1*	C20
2013	verano 1	4,17(4,10)	1,00(0,86)	7,50(9,50)	3,67(2,58)	3,5(3,19)	0	0,33(1,05)	0	0
	otoño 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	invierno 1	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	primavera 1	0,56(0,83)	2,96(2,86)	5,00(6,24)	0,37(1,11)	1,85(2,82)	0	0	1,29(2,86)	0
2014	verano 2	8,33(5,56)	1,83(2,14)	1,17(2,73)	1,00(1,79)	2,50(2,12)	0,67(1,17)	0,17(0,53)	0,83(1,18)	0
	otoño 2	1,67(1,67)	0,78(1,39)	1,11(3,00)	0,44(0,99)	1,11(1,63)	0	0	6,89(4,62)	0
	invierno 2	2,67(3,35)	0,67(1,61)	6,33(12,37)	1,00(1,79)	1,17(1,58)	0	0	1,17(2,23)	0
	primavera 2	0,11(0,43)	0	0	1,00(2,58)	0	0,11(0,43)	0	0,45(0,99)	0
2015	verano 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	otoño 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	invierno 3	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	primavera 3	3,33(2,08)	0,17(0,53)	1,50(3,09)	20,33(10,15)	5,50(3,52)	1,83(2,14)	2,83(3,43)	3,33(3,77)	0
2016	verano 4	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	otoño 4	0,67(0,91)	0	0	0	0	0	0	4,33(2,23)	0
	invierno 4	0	0,17(0,53)	0	0,50(0,81)	0	0	0	0	0,17(0,53)
	primavera 4	0	0,17(0,53)	0	0,50(0,81)	0	0	0	0,84(0,88)	0

Tabla 7. Valores estacionales de la prevalencia ($\pm$ desvío estándar) para cada tipo morfológico de cercaria y metacercaria que parasitan a *B. peregrina* en la laguna temporaria de Mar de Cobo. * Indica diferencias significativas de las prevalencias entre estaciones. Las abreviaturas de los tipos morfológicos se detallan en la Tabla 1.

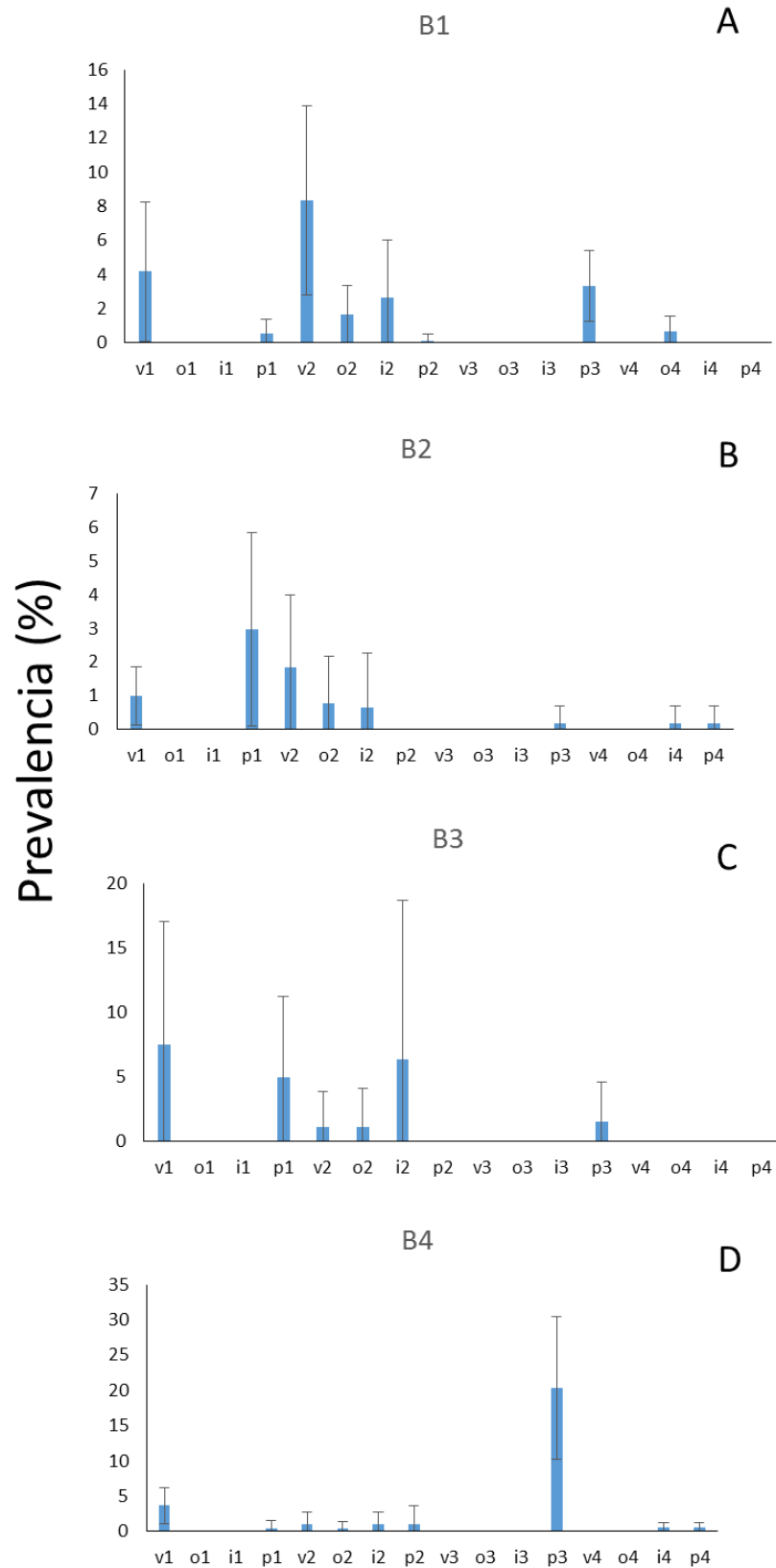
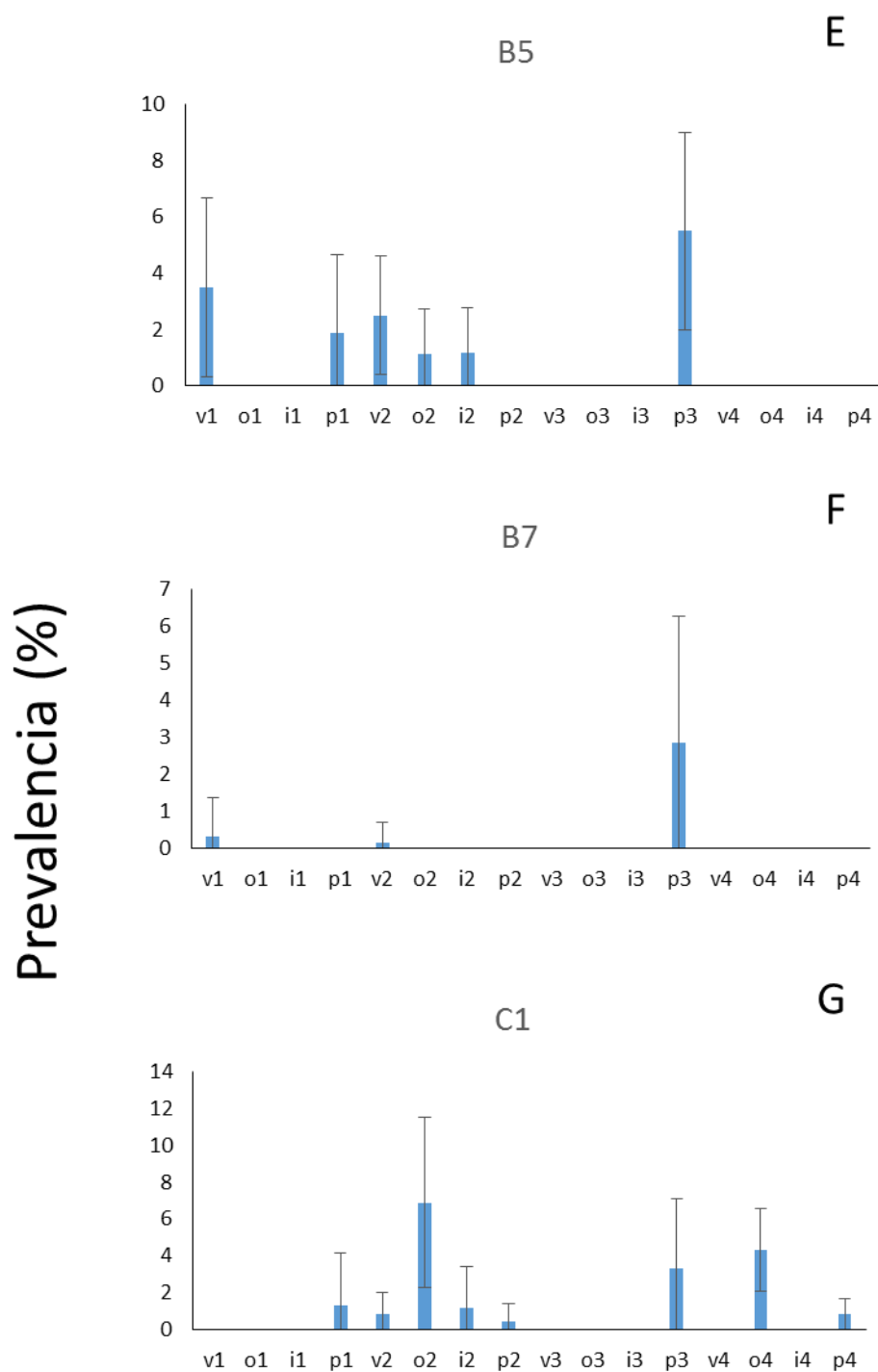


Fig. 17. Valores estacionales de la prevalencia ($\pm$ desvío estándar) para las especies de digeneos que presentaron diferencias significativas entre las estaciones.



Cont. Fig. 17. Valores estacionales de la prevalencia ($\pm$ desvío estándar) para las especies de digeneos que presentaron diferencias significativas entre las estaciones.

El análisis multivariado de la heterogeneidad temporal de la prevalencia realizado mediante el teste PERMANOVA, reveló, de la misma manera que el ANCOVA, un efecto

significativo de la talla (co-variable) sobre la variable de estudio ($PseudoF=7,25$; $P(perm)=0,001$) y diferencias significativas entre las estaciones ($PseudoF=6,59$; $P(perm)=0,001$). El análisis de a pares posterior indicó que:

- La primavera 1 y el verano 1 resultaron significativamente mayores que el resto de las estaciones, a excepción del invierno 2.
- El verano 2 fue significativamente mayor al resto de las estaciones.
- El otoño 2 y el invierno 2 fueron significativamente diferentes de todas las estaciones a excepción del otoño 4.

Sin embargo, el test PERMDISP indicó diferencias significativas ($F=2,97$; $P(perm)=0,022$), lo que significa que algunas estaciones tienen mayor dispersión que otras respecto a su similitud. Debido a esto, los resultados del PERMANOVA pueden deberse a un efecto temporal (diferencias entre estaciones), a la dispersión de datos o a una combinación de ambos.

El estudio de la variación de riqueza específica promedio durante los cuatro años analizados mediante el análisis de la varianza (ANOVA) indicó diferencias significativas entre las estaciones ($F_{9,103}=14,74$; $P<0,0001$) (Fig. 18). El análisis de a pares realizado a posteriori indicó que:

- La primavera 3 fue significativamente mayor en su riqueza específica promedio que el resto de las primaveras analizadas ($P<0,05$, para todos los casos).
- El invierno 4 y la primavera 2 resultaron significativamente menores que los dos veranos analizados, que el otoño 2 y que las primaveras 1 y 3 ($P<0,05$, para todos los casos).
- La primavera 4 fue menor que los dos veranos, que el otoño 2 y que la primavera 3 ($P<0,05$, para todos los casos).

- El otoño 4 resulto significativamente menor que los dos veranos y la primavera 3 ($P < 0,05$, para todos los casos).
- El invierno 2 fue significativamente menor que el verano 1 y la primavera 3 ($P < 0,05$, para todos los casos).

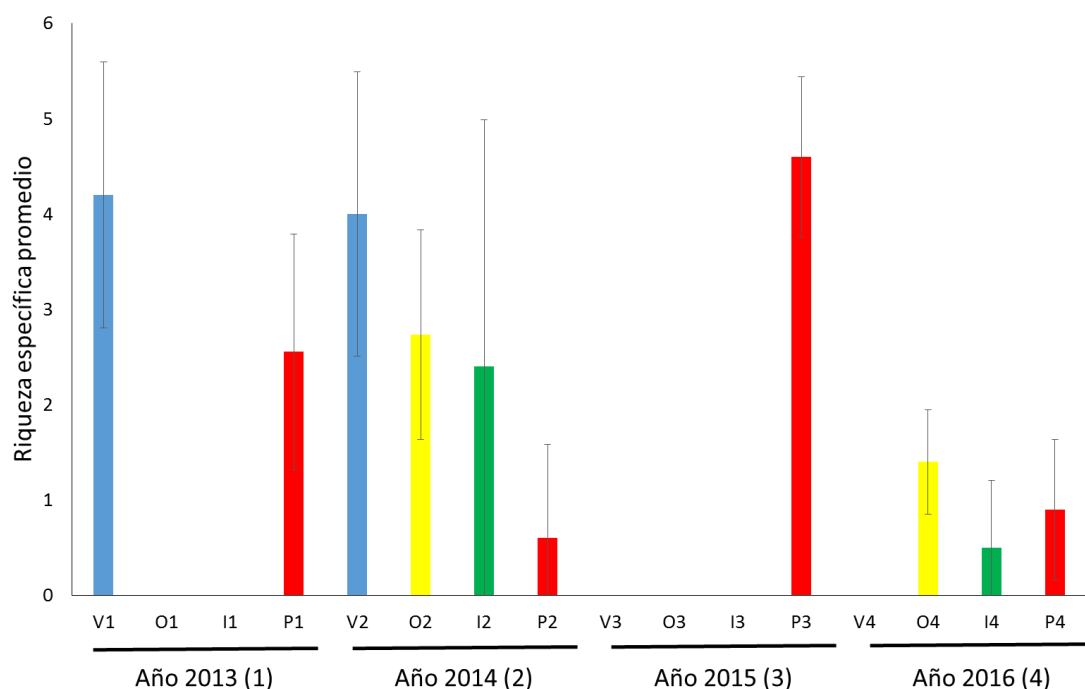


Tabla 18. Valores estacionales de la riqueza específica promedio ($\pm$ desvío estándar) de digeneos larvales que parasitan a *B. peregrina* durante los cuatro años de muestreo. La ausencia de datos se debe a periodos de sequías en la laguna.

El análisis multivariado no paramétrico (PERMANOVA) de la riqueza específica reveló diferencias significativas entre las estaciones (PseudoF=6,385; $P(\text{perm})=0,001$). El análisis de a pares posterior indicó que:

- Los dos veranos analizados y la primavera 1 fueron significativamente mayores en su riqueza específica que todas las estaciones a excepción del invierno 2.

- El otoño 2, el invierno 2 y la primavera 3 fueron significativamente diferentes a todo el resto de las estaciones.

Sin embargo, el test PERMDISP indicó diferencias significativas ($F=3,73$; $P(\text{perm})=0,003$), lo que significa que algunas estaciones tienen mayor dispersión que otras respecto a su similitud. Debido a esto, los resultados del PERMANOVA pueden deberse a un efecto temporal (diferencias entre estaciones), a la dispersión de datos o a una combinación de ambos.

De acuerdo a la rutina SIMPER, las estaciones más homogéneas fueron el verano 1, el invierno 2, la primavera 3 y el otoño 4, siendo en todos los casos el porcentaje de similitud dentro de cada estación mayor al 70%. La estación menos homogénea por su parte fue la primavera 1 con un 38,74% de similitud. Las especies que más contribuyeron a la similitud de todo el estudio fueron la B1, B3, B2, B4 y C1. Por su parte, cuando se analiza la disimilitud entre las estaciones observamos que las estaciones que mayor disimilitud presentan con valores mayores al 80% son:

- Primavera 1 y primavera 2
- Verano 1 y otoño 4
- Primavera 1 y otoño 4
- Invierno 4 y primavera 1, verano 2, otoño 2, invierno 2, otoño 4
- Primavera 4 y verano 1, primavera 1, verano 2

Y las estaciones con menor disimilitud con valores menores al 38% fueron el invierno 2 con los dos veranos analizados y la primavera 3. Las especies que más contribuyeron a la disimilitud entre las estaciones fueron la B1, B2, B3, B4, B5 y C1. Conjuntamente estas especies explican más del 50% de la disimilitud entre las estaciones.

Factores abióticos y bióticos como posibles estructuradores de los ensambles de digeneos larvales a escala estacional durante los cuatro años de estudio

Mediante la identificación de los estadios larvales a nivel de familia fue posible establecer un esquema de los posibles hospedadores definitivos que contribuyen a conformar los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *B. peregrina* en la laguna temporaria de Mar de Cobo (Tabla 8). De este esquema se desprende que las aves y los mamíferos son los principales hospedadores definitivos de los digeneos que parasitan a *B. peregrina*.

Familia	TM	Hospedador definitivo
Notocotylidae	C1	Aves y mamíferos
Echinostomatidae	B2, B3	Aves, mamíferos y peces
Ochetosomatidae	B4	Reptiles
Strigeidae	B1	Aves
Microphallidae	C20	Aves y mamíferos
Schistosomatidae	B5, B6	Aves y mamíferos
Heterophyidae	B7	Aves y mamíferos

Tabla 8. Posibles hospedadores definitivos para cada familia de digeneos hallados en *B. peregrina*. Las abreviaturas de los tipos morfológicos (TM) se detallan en la Tabla 1.

Los censos de aves realizados permitieron distinguir 9 especies pertenecientes a ocho familias (Tabla 9). El índice de correlación de Pearson indicó por una correlación negativa entre la densidad de *B. peregrina* y la prevalencia parasitaria ($R=-0,34$; $P<0,0001$) (Fig. 19D). Sin embargo la correlación entre la abundancia de aves y la

prevalencia ($R=0,22$; $P=0,53$) y la riqueza de aves y la riqueza de digeneos larvales ($R=0,64$; $P=0,05$) no indicaron correlación (Fig. 19A y 19B). Tampoco se encontró correlación entre la similitud de aves y la similitud de los ensambles de digeneos larvales ($R=0,19$; $P=0,21$) (Fig. 19C).

Familia	Especies	
Anatidae	Pato cabeza Negra	<i>Heteronetta atricapilla</i>
Charadiidae	Tero Común	<i>Vanellus chilensis</i>
Ardeidae	Garza Blanca	<i>Egretta alba</i>
	Garzita Blanca	<i>Egretta thula</i>
Anhimidae	Chajá	<i>Chauma torqua</i>
Sternidae	Gaviotín lagunero	<i>Sterna trudeaui</i>
Strigidae	Lechuza viscachera	<i>Athene cunicularia</i>
Accipitridae	Aguilucho	<i>Geranoaetus polyosoma</i>
Ciconiidae	Cigüeña americana	<i>Ciconia maguari</i>

Tabla 9. Ubicación sistemática de las especies de aves registradas en la laguna temporaria de Mar de Cobo.

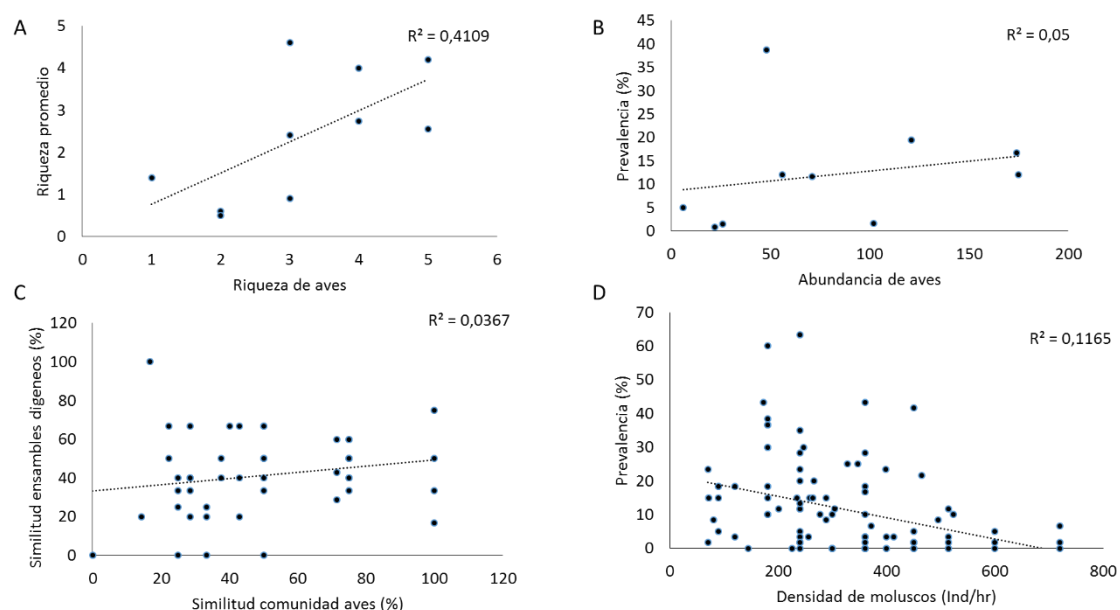


Fig. 19. Relación entre los factores bióticos (abundancia y diversidad de aves y densidad de individuos de *B. peregrina*) y los índices parasitológicos (prevalencia y riqueza específica promedio) de los digeneos larvales hallados en *B. peregrina*. El índice de correlación (R) solo resultó estadísticamente significativo en D ($P < 0,0001$) pero no así en A ($P = 0,05$), en B ($P = 0,53$) y en C ($P = 0,21$).

Los factores abióticos medidos en la laguna a lo largo de todo el estudio fueron la profundidad de la columna de agua y la temperatura del agua. La temperatura presentó una correlación positiva con la prevalencia parasitaria ($R = 0,23$; $P = 0,02$) (Fig. 20A). Contrariamente, la profundidad no presentó correlación con la prevalencia de digeneos larvales ($R = -0,18$; $P = 0,07$) (Fig. 20B).

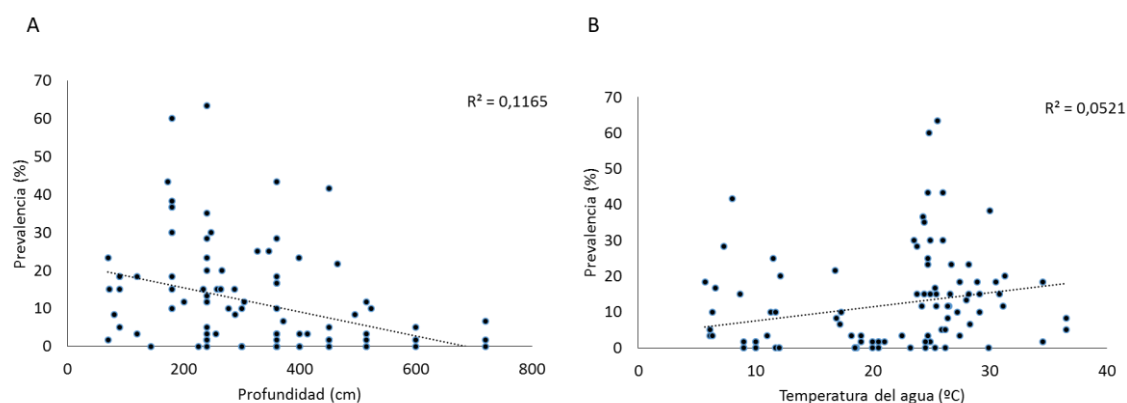


Fig. 20. Relación entre los factores abióticos (profundidad y temperatura del agua) y la prevalencia de los digeneos larvales que parasitan a *B. peregrina* en la laguna temporaria de Mar de Cobo. Índice de correlación de Pearson (R) significativo en B ($P=0,02$) y no significativo en A ($P=0,07$).

Discusión

Los pulmonados se encuentran bien adaptados a estresores abióticos y puntuales, como variaciones en los niveles de agua y episodios de sequías estacionales, gracias a su respiración pulmonar y su gran plasticidad genética y fenotípica. Esto les permite tener un alto nivel de respuesta a estos cambios ambientales (Gérard *et al.*, 2008). Los episodios de sequías no sólo resultan en la pérdida del hábitat sino también en un progresivo deterioro de la calidad del agua (Baldwin & Mitchell, 2000; Magoulick & Kobza, 2003), en la limitación de los recursos alimenticios y en un aumento de la presión de predación, conjuntamente con competencia intra- o inter-específica de los recursos (Dudgeon, 1983). Existen estrategias por parte de los pulmonados para contrarrestar estos fenómenos, ellas consisten en migrar a zonas más favorables de la laguna, enterrarse en el sustrato para estivar o reducir la desecación o generar huevos resistentes a la desecación (Aldridge, 1983; Schwartz & Jenkins, 2000). La habilidad de estivación en Limneidos y Planórbidos ha sido demostrada por algunos autores. Los mismos sugieren que, la proporción de

supervivientes al final de la estivación, depende directamente del tiempo de duración de la sequía y varía dependiendo de las especies y las cepas (Richards, 1963; Storey, 1972, Brown, 1979). Pueden sobrevivir a la disecación por muchos meses, o aún más, y el tiempo de supervivencia puede aumentar dependiendo de si los moluscos encuentran microhábitats protegidos de la humedad en el suelo (Barbosa & Barbosa, 1959; Cridland, 1967; Sturrock, 1970, Pointer & Combes, 1976; Véra *et al.*, 1994).

Después de los periodos de sequías, se observan importantes densidades de *B. peregrina* en la laguna temporaria de Mar de Cobo, sugiriendo un rápido periodo reproductivo y una rápida secuencia generacional, en concordancia con lo obtenido por Vera *et al.* (1995) en otros moluscos del género *Biomphalaria*. En ese trabajo, estudios de laboratorio demostraron que el tiempo generacional de *B. senegalensis* resulta en un mínimo de 13 días entre huevo y huevo, a temperatura del agua constante de 26°C. El rápido aumento de las densidades poblacionales de *B. peregrina* en la laguna indicaría una buena adaptación de este molusco a las lagunas temporarias y, la desaparición del mismo cuando el hábitat se seca, sugeriría un sitio de estivación hacia el fondo de la laguna, como se demostró para otros moluscos del género *Biomphalaria* (Betterton *et al.*, 1988; Vera *et al.*, 1995).

La relación entre la talla del hospedador molusco y la prevalencia parasitaria de los digeneos, ha sido foco de estudio en la mayoría de los sistemas molusco-digeneo. En general, se considera que la producción de cercarias está relacionada con los aumentos en las tallas y con las edades de los moluscos hospedadores, como resultado de dos posibles explicaciones: un mayor tiempo de exposición a los estadios infestantes de los digeneos o un incremento en la tasa de crecimiento del molusco parasitado (fenómeno conocido como gigantismo) (Sousa, 1993; Kuris & Lafferty, 1994; Curtis, 2002; Mouritsen & Poulin, 2002; Faltýnková *et al.*, 2008). Se considera que el aumento de la talla del

hospedador molusco, producto de la adaptación del mismo al parasitismo, podría generar una mayor disponibilidad espacial para el desarrollo de los estadios intra-molusco y/o un aumento en la visibilidad del hospedador molusco por parte de su depredador, que resultará en hospedador del siguiente estadio del digeneo (Minchella, 1985; McCarthy *et al.*, 2004). Los moluscos adultos son también más resistentes a la disecación que los juveniles, lo que indicaría que, a medida que crecen, progresivamente toleran mejor la disecación (Facon *et al.*, 2004). Este fenómeno también sucede en la laguna temporaria de Mar de Cobo. Por estos motivos, y con el fin de minimizar el efecto producido por la talla del hospedador molusco en la variación temporal de los ensambles de digeneos larvales, se decidió utilizar la talla de los moluscos como co-variable en los análisis estadísticos. El programa utilizado corrige el efecto producido por la talla posteriormente a detectar un efecto de esta sobre los valores de prevalencia parasitaria.

Cabe recordar que la laguna temporaria de Mar de Cobo presentó agua durante las cuatro estaciones sólo durante el segundo año de muestreo, mientras que en el resto de los tres años se produjeron periodos de sequías que variaron desde dos estaciones secas durante el primer año, tres en el tercer año y una durante el cuarto año. Por este motivo se decidió analizar el segundo año individualmente, además del análisis de todo el periodo muestral.

Cuando se analizó el segundo año (2014), durante el cual la laguna presentó agua durante las cuatro estaciones, se halló una clara estacionalidad en los valores de prevalencia en las estaciones cálidas (verano y otoño), siendo la prevalencia parasitaria más alta en estas estaciones que en las de invierno-primavera. Lo mismo ocurre con la riqueza de especies de parásitos, que también presentaron un régimen estacional similar, con mayores riquezas durante el verano y el otoño.

Sin embargo, cuando se analizó comparativamente los cuatro años de estudios realizados en la laguna, pudo observarse una particularidad con respecto a la estacionalidad que evidenció el segundo año (2014). Las cuatro primaveras estudiadas fueron las únicas estaciones que presentaron agua en la laguna durante los cuatro años analizados. Pudo observarse que, en aquellas dos primaveras que presentaron sequías en las estaciones inmediatamente anteriores (primaveras post-sequías), estas se comportaron en forma similar a una estación cálida (verano u otoño) con respecto a su prevalencia parasitaria y a la riqueza de especies. Distinto fue lo que se pudo observar durante el segundo año y lo que sucede con la primavera del cuarto año que no presenta sequías previas. Además, mientras el periodo de sequía previo a la primavera resulta ser más duradero en el tiempo, mayor es el aumento de la prevalencia y de la riqueza parasitaria. Esto pudo observarse comparativamente entre la primavera del primer año y la del tercer año. En el año 2013 (año 1) se sucedieron dos estaciones secas previas a la primavera (otoño e invierno), mientras que en el año 2015 (año 3) se acoplaron tres estaciones secas antes de la primavera (verano, otoño e invierno), resultando la primavera 3 significativamente mayor en sus valores de prevalencia parasitaria que la primavera 1. Más aún, la primavera 3 fue la estación con el valor más alto de prevalencia encontrado para los cuatro años de estudio. El mismo efecto que se evidenció para las primaveras post-sequías sucedió en el otoño del año 2016 (año 4). Una estación post-sequía (presentando solo una sequía previa, en verano), en la cual se registraron altos valores de prevalencia comparativamente con el otro otoño analizado (año 2, 2014).

Por otro lado, tanto el invierno como la primavera del último año (año 4, 2016), que no tuvieron estaciones secas previas, presentaron el mismo comportamiento que las mismas estaciones en el año completo (año 2, 2014): bajas prevalencias y riqueza de especies. Lo mismo se observó para el verano del primer año (2013) el cual se comportó

de forma similar al verano del año completo (año 2, 2013), con altos valores de prevalencia.

En aquellas estaciones en las cuales no se produjeron sequías previas, el comportamiento de las mismas se condice con lo detectado en la estacionalidad del año completo: estaciones cálidas (verano-otoño) con alta prevalencia y riqueza de especies, estaciones frías (invierno-primavera) con bajas prevalencias parasitarias y riqueza de especies. Pero esto no sucede cuando se producen periodos de sequías, y varía aún más en función del número de estaciones secas previas. Pudo detectarse una relación positiva entre la cantidad de estaciones secas que se suceden en un determinado año, con los valores de prevalencia parasitaria. Dicha relación podría sugerir una compensación parasitaria a la falta prolongada de agua y la necesidad de completar el ciclo de vida por parte de las distintas especies parásitas detectadas.

El mismo patrón se aplica a la riqueza específica, observando el mayor número de especies en la primavera del tercer año (2015) que presentó tres estaciones de sequías consecutivas, contrariamente a lo que sucede en las primaveras que no son post-sequías, en las cuales los valores de riqueza específica son los más bajos. Mismos resultados se observan para la primavera del primer año (2013) que se sucede a dos estaciones secas.

Una de las principales preguntas que surge es: ¿cómo responden los digeneos, con sus ciclos de vida complejos, a la ausencia de agua, un factor fundamental para la transmisión de sus estadios larvales de un hospedador a otro? Cuando se analizan las prevalencias parasitarias individualmente de cada especie, se observó que solo dos de las nueve especies de digeneos identificadas no presentaron estacionalidad, probablemente debido a su baja presencia y prevalencia en *B. peregrina*. Sin embargo el resto de las especies presentaron estacionalidad en sus valores de prevalencia y parecen no estar afectadas por las sequías que se suceden en la laguna. En la primavera 1 (2013), posterior

a dos estaciones seca, seis de las nueve especies identificadas para *B. peregrina* fueron registradas durante esta estación, mientras que en la primavera 3 (2015), posterior a tres estaciones secas, se detectaron ocho de las nueve especies registradas. Esto significa entre un 67% y un 89% de presencia de especies de digeneos posterior a entre seis y nueve meses de ausencia de agua en la laguna.

Una de las primeras cosas para destacar es que cuatro de las nueve especies que se registraron en *B. peregrina* se encontraron en el estadio de metacercaria. Este estadio podría favorecer a la especie parásita, ya que permanecería dentro del molusco mientras éste se encuentra en la fase de estivación, a la espera del retorno del agua en la laguna y posterior paso al estadio definitivo por la vía trófica. Pero esto solo parecería suceder en la especie B1, ya que solo ésta presento valores altos de prevalencia en la primavera posterior a tres sequías, aunque menores a los valores detectados en estaciones no post-sequía. Las otras dos metacercarias registradas (especies B3 y C1) parecerían no tolerar las sequías y no se registraron en las estaciones posteriores a estas. Por su parte, la especie C20 sólo se registró en una estación y con bajos valores de prevalencia (invierno 4, 2016).

En el resto de las especies detectadas, nos encontramos con patrones variados. Por un lado, las especies B4 y B7 presentaron valores altos de prevalencia en las estaciones post-sequía, lo que indicaría que la ausencia de competencia intra-específica favorecería el desarrollo de estas especies. La especie B5, por su parte, presento una clara estacionalidad en los veranos analizados. Sin embargo, luego de estaciones secas, en las primaveras por-sequías, aumento sus valores de prevalencia alcanzando los del verano, algo que no sucede en las primaveras que no presentaron sequías previas. Por último, la especie B2 se registró con altos valores de prevalencia durante la primavera 1 (2013) pero con valores muy bajos durante la primavera 3 (2015), lo que podría indicar que esta especie toleraría no más de dos estaciones secas.

Cabe destacar que la especie B5 presento lo que se denomina “cadena de cuentas” (Ostrowski de Nuñez, 1977), una suerte de abreviación del ciclo de vida, también denominado “enquistamiento precoz” (O’Dwyer & Poulin, 2015), en el cual la cercaria se enquista dentro de los esporocistos en el molusco, generando esporoquistes. El enquistamiento de las cercarias dentro de sus propios esporoquistes ocurre con poca frecuencia. Leste & Lee (1976) observan metacercarias de *Diplostomun spateahaceum* en sus propios esporoquistes cuyas cercarias penetran normalmente en peces. Ulmer (1955) cita metacercarias en distintos estados de desarrollo dentro de esporocistos de la familia Echinostomatidae. En algunas especies del género *Phyllodistomum*, las cercarias se enquistan normalmente en sus propios esporoquistes (Wanson & Larson, 1972). Ostrwosky de Nuñez (1978) registró la presencia de esporoquistes para *B. peregrina* en el río Luján (Prov. Buenos Aires).

En esta tesis, se podría considerar que la especie B5, registrada con los esporoquistes, podría corresponderse con la especie B1 (estadio metacercaria), la cual podría tener una doble estrategia en su ciclo de vida. Por un lado, emitir las cercarias al ambiente e infectar las *B. peregrina*, desarrollando el estadio de metacercaria libre dentro del molusco. Por otro lado, cuando las condiciones ambientales no son favorables, como en el caso de estrés por la sequía, no emitir las cercarias y que estas se enquisten dentro de sus esporoquistes. La cercaria B5 no pudo ser descripta con detalle en el Capítulo 1, Parte 1, ya que se encontró emitida en muy baja proporción en el laboratorio, otros de los motivos que nos hace suponer esta relación con la especie B1. Lo mismo podría suceder con las especies B2 y B3 (estadio metacercaria), las cuales podrían tratarse de estadios distintos de la misma especie. La ausencia de otros moluscos en la laguna y la ausencia de conexión de esta laguna con otros cuerpos de agua, nos hacen llegar a estas

suposiciones. Sin embargo sería necesaria la implementación de estudios moleculares para confirmar esta presunción.

Por su parte, las metacercarias C1 y C20 ingresan al molusco como miracidios y desarrollan los estadios cercaria y metacercaria dentro del mismo hospedador. La cercaria B4 continúa su ciclo en peces como segundo hospedador intermediario, como así también las cercarias B6 y B7, aunque estas se encontraron en muy pocas estaciones y en muy bajas prevalencias, lo que podría indicar que el ambiente no es muy favorable para ellas. Claramente, todas las especies de digeneos tienen sus ciclos de vida altamente adaptados a las condiciones de sequía y de estivación del hospedador, completando dos de sus estadios (cercaria y metacercaria) dentro del molusco, o el estadio metacercaria en peces, los cuales pueden desarrollar huevos de resistencia a la sequía, lo que les permitiría una rápida colonización de la laguna con el retorno del agua.

Se ha sugerido que las condiciones en las cuales puede suceder un enquistamiento precoz pueden ser: desarrollo bajo alguna condición de estrés, en situaciones de infecciones importantes o en hospedadores no convenientes (Ganapath & Hanumantha, 1968). En especies de digeneos que parasitan hospedadores que no se encuentran permanentemente sumergidos, la presencia de agua desencadena la emisión de cercarias (Galaktionov & Dobrovolskij, 2003), por lo que se podría pensar que a pesar de que ciertos estresores ambientales pueden reducir la emisión de cercarias, las sequías tendrían un efecto contrario. Concentrando la emisión de cercarias durante los periodos de inmersión en los cuales regresa el agua a la laguna, los digeneos en moluscos expuestos a condiciones de sequía no podrían liberar las cercarias hasta que el agua se encuentre presente (O'Dwyer & Poulin, 2015). Estos últimos autores detectaron en su trabajo que los moluscos expuestos previamente a condiciones de sequía en el laboratorio liberaron mayor número de cercarias que los expuestos a condiciones húmedas previas. Esta

estrategia adaptativa y selectiva de abreviación del ciclo de vida a través del enquistamiento precoz, permitiría a los digeneos parasitar moluscos bajo condiciones de sequía y, eventualmente, llegar a su transmisión a los hospedadores definitivos de manera trófica.

La supervivencia a las sequías juega un rol primordial en los procesos invasivos, influyendo en dos componentes: 1) en la habilidad de dispersarse de un cuerpo de agua a otro, ya que como individuos migrantes deben permanecer determinado tiempo fuera del agua, y 2) en el aumento de la capacidad de colonización o resistencia de la población local a la extinción en el ambiente, caracterizado por la fluctuación en los niveles del agua (Facon *et al.*, 2004). La capacidad de supervivencia de *B. peregrina*, conjuntamente con estas características, le permitirían ser un buen colonizador y perpetuador de este y otros cuerpos de agua dulce. Esto resulta de vital importancia sanitaria, ya que al ser *B. peregrina* un posible hospedador de *Schistosoma mansoni* (Ostrowski de Nuñez *et al.*, 1990; Rumi & Hamann, 1990; Morgan *et al.*, 2002; Thiengo *et al.*, 2002; Caldeira *et al.*, 2009; Rollinson, 2011), las características del molusco podrían permitir el asentamiento de la enfermedad en la región. La capacidad de supervivencia de otras especies de hospedadores intermediarios de *Schistosoma* a las sequías, ya fue demostrado en África y por periodos que varían desde 90 días de sequías (Cridland, 1967) a 6-7 meses (Vera *et al.*, 1995).

Los factores que pueden regular la variabilidad temporal de los ensambles de digeneos larvales son: a) las condiciones abióticas del ambiente (temperatura del agua y altura de la columna del agua), b) la biología de los hospedadores intermediarios (uso del hábitat, densidad, duración del ciclo de vida del hospedador, etc.) y c) la biología del hospedador definitivo (diversidad y abundancia, comportamiento del hospedador, etc.). Estas relaciones han sido ampliamente estudiadas y demostradas por diversos autores:

Rohde (1981), Curtis & Hurd (1983), Fernandez & Esch (1991), Sousa (1993) Sapp & Esch (1994), Lafferty *et al.* (1994), Jokela & Lively (1995a,b), Granovitch *et al.* (2000), Esch *et al.* (2001), Kube *et al.* (2002), Pietroock & Marcogliese (2003), Fingerut *et al.* (2003), Skirnisson *et al.* (2004), Poulin (2006), Poulin & Mouritsen (2006), Byers *et al.* (2008) y Faltynkova *et al.* (2008), entre otros.

La alta variabilidad en la estabilidad de la laguna de Mar de Cobo la convierte en un sitio ideal para el estudio de las variaciones en la composición de los ensambles de digeneos larvales y de las características ecológicas y biológicas de todos los hospedadores del ciclo de vida complejo de los digeneos. La periodicidad de sequía de la laguna, se continúa con un periodo de presencia de agua (con diferentes niveles de altura en la columna de agua) en la cual se registraron la presencia de moluscos *B. peregrina*, estadios larvales y adultos de distintas especies de anfibios (del orden Anura), alta diversidad de estadios larvales y adultos acuáticos de artrópodos, peces, mamíferos y principalmente aves. La cercanía con la laguna de Mar Chiquita (2000 mts) y a la línea de costa (500 mts) convierte a esta laguna temporaria de Mar de Cobo en un sitio de alimentación de las aves que habitan toda la laguna estuarial. Toda esta fauna estaría influyendo también en los ensambles de digeneos larvales, en su estacionalidad y en la capacidad de tolerancia a las fases de sequía (Kuris & Lafferty, 1994; Huspeni *et al.*, 2005; Hechinger *et al.*, 2008). Si bien no se obtuvo una correlación directa entre los digeneos larvales en el primer hospedador intermediario y la presencia de aves, la relación entre estos dos niveles ha sido demostrada con anterioridad por Smith (2001; 2007), Hechinger & Lafferty (2005) y Fredensborg *et al.* (2006).

Como mencionamos anteriormente, los factores abióticos pueden regular los ensambles de digeneos larvales, entre ellos la temperatura del agua y la profundidad de la columna de agua. La altura de la columna del agua no presento, en este estudio, ninguna

correlación con la prevalencia. Sin embargo, pudo encontrarse una correlación positiva entre la prevalencia parasitaria y la temperatura del agua. Esto podría explicarse de dos formas distintas y complementarias. La influencia de la temperatura sobre los estadios larvales de los digeneos ha sido ampliamente estudiada, determinándose que un aumento en unos pocos grados en la temperatura ambiental puede producir un marcado aumento en la emisión de cercarias, desde el primer hospedador intermediario caracol, con una leve reducción en su eficacia de transmisión (Poulin, 2005). Asimismo, el aumento de la temperatura favorece la reducción del tiempo de desarrollo de los estadios intramolusco de los digeneos (Ginetsinskaya, 1988). A pesar de sus efectos directos en la reproducción e infectividad del parásito, la temperatura también puede presentar efectos indirectos que podrían resultar más significativos para el ensamble de digeneos larvales en moluscos. Los mismos actuarían sobre la abundancia y sobre el comportamiento de los hospedadores definitivos, influenciando la abundancia y riqueza parasitarias (Steinauer & Font, 2003).

La dinámica de las poblaciones de moluscos es otro factor a tener en cuenta a la hora de analizar la abundancia de digeneos larvales. En este estudio, se observó una correlación negativa entre la densidad de moluscos y la prevalencia parasitaria. La hipótesis de la limitación por miracidios sugiere que, en la transmisión de digeneos a una pequeña escala, el aumento de la densidad de los caracoles reduce la prevalencia (la cual estaría limitada por la menor abundancia de miracidios en relación con el número de potenciales hospedadores) (Kuris & Lafferty, 2005).

Muchas preguntas quedan sin responder respecto a la relación entre digeneos-molusco a la hora de producirse la sequía en la laguna y posterior estivación del hospedador. Existen muchos estudios fisiológicos sobre la estivación en diferentes especies de moluscos, que indicarían un accionar de enzimas glicolíticas, y diferencias en

su fosforilación (Brooks & Storey, 1997), y acumulación de urea y ácidos grasos durante el proceso (Horne, 1973). Pero, ¿cómo responden los digeneos a la estivación del hospedador?, ¿cuáles son las respuestas fisiológicas de los digeneos?, ¿las enzimas actuando en el hospedador al momento de inducir la estivación, tendrían algún efecto sobre los digeneos? Claramente, existe algún tipo de señalización que indicaría a los digeneos que se entró en un periodo de sequía, para evitar así la liberación de cercarias a un ambiente seco desfavorable. Al igual que alguna señalización de que el agua retorna a la laguna y deben liberarse las cercaria, lo que sucede en gran número, explicando así los altos valores de prevalencia registrado posterior a una sequía. La co-evolución entre digeneos y sus hospedadores, ampliamente estudiada (Lively, 1996; Blair *et al.*, 2001; Jokela *et al.*, 2009; entre otros), sugeriría la existencia de procesos conjuntos en esta relación parásito-molusco a la hora de encontrarse con una fase de sequía. Sin dudas, deberán realizarse futuras investigaciones para poder contestar estas y otras preguntas.

Las lagunas temporarias presentan un sitio ideal para el estudio de dinámicas de food-webs, la persistencia de especies raras o en peligro, preservación de aves o anfibios, como así también generar predictores de futuras sequías o, aún más, cambios locales en el clima (Finlayson & Moser, 1991; Batzer & Wissinger, 1996; Williams, 1996; Williams & Hogg 1996), importantes para desarrollar políticas de conservación. La heterogeneidad temporal de los ensambles de digeneos larvales de *B. peregrina* en la laguna temporaria de Mar de Cobo, estaría relacionada con la dinámica de las variables ambientales, con la dinámica poblacional del hospedador molusco y con las fluctuaciones en la presencia de hospedadores definitivos. Sin embargo, estos factores de heterogeneidad temporal, no actuarían de forma independiente sino que interactuarían entre sí. Los mismos factores de heterogeneidad temporal fueron propuestos por Kuris & Lafferty (1994), Etchegoin (1997), Kube *et al.* (2002), Huspeni *et al.* (2005), Faltynkova *et al.* (2008) y Merlo (2013).

Sin embargo, las fases de sequía producidas particularmente en esta laguna, serían uno de los factores estructuradores de mayor importancia, afectando las dinámicas temporales de los ensambles de digeneos larvales y los hospedadores que forman parte de sus ciclos de vida complejos.



Capítulo 2: *Physa acuta*

PARTE I

Dinámica temporal de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *Physa*

acuta en la laguna Los Padres

Introducción

El molusco nativo de América del Norte *Physa acuta* (Hydrophila: Physidae) - sinónimo de *P. cubensis*, *P. integrata*, *P. virgata*, entre otros (ver Paraense & Pointier, 2003, Wethington & Lydeard, 2007)- es el Physidae con mayor distribución en todo el mundo y se ha establecido poblaciones en todos los continentes, excepto en la Antártida (Dillon & Wethington, 2002; Paraense & Pointier, 2003). Es capaz de dispersarse rápidamente, colonizar nuevas áreas y alcanzar altas densidades (Winterbourn, 1980, Brackenbury y Appleton, 1993, Nuñez, 2010). *Physa acuta* es también una especie invasiva y generalizada en América del Sur, en Brasil, Bolivia, Chile y Perú, donde ha alcanzado altas densidades principalmente en ambientes perturbados (Pinto *et al.*, 2014). En Argentina, esta especie fue registrada por primera vez en 1985 (Nuñez y Pelichotti, 2003), y su introducción probablemente se debió a la importación y transporte de plantas acuáticas (Miquel & Zelaya, 1999; Dillon & Wethington, 2002; Cope & Winterbourn, 2004). El impacto de esta especie en los ensambles larvales de digeneos larvales de los moluscos nativos, así como en su propio ensamble, fue reportado previamente por Brackenbury & Appleton (1993); Ibrahim (2007); Nuñez (2010) y Mitchell & Leung (2016), entre otros.

Physa acuta se registró llevando los morfos ectocomensales y parasitarios del oligoqueto Naidido *Chaetogaster limnaei* (Fernández *et al.*, 1991; Ibrahim, 2007; Mitchell & Leung, 2016). Este oligoqueto infecta muchas especies de moluscos pulmonados y prosobranquios de agua dulce, distribuidos en grandes áreas del mundo, y han sido reportados desde Europa (Buse, 1974), América del Norte (Hoover y Lodes,

1986), América del Sur (Martins y Alves, 2010), África (Fashuyi y Williamns, 1977), Asia y Australia (Brinkhurst y Jamieson, 1971). Es bien conocido en la literatura que el morfo ectocomensal de *C. Limnaei* consume estadios larvales de digeneos, protegiendo así al molusco hospedador de las infecciones (Khalil, 1961, Rodgers *et al.*, 2005, Ibrahim, 2007, Hopkins *et al.*, 2013, Mitchell & Leung, 2016).

No se han realizado estudios sobre la fauna parasitaria de *P. acuta* en Argentina y por esta razón los objetivos de este capítulo fueron:

1. Analizar las características biológicas del molusco exótico *P. acuta* en la laguna de Los Padres.
2. Estudiar la estabilidad temporal de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *P. acuta* en la laguna de Los Padres.
3. Identificar y analizar los factores bióticos y abióticos que contribuyen a estructurar temporalmente los ensambles de digeneos larvales en *P. acuta*.
4. Analizar el rango de infección de *C. limnaei* en *P. acuta*, registrado por primera vez para este molusco exótico en Argentina, y su implicación como potencial regulador del ensamble de digeneos larvales de este molusco en la laguna de Los Padres.

Materiales y Métodos

Sitio de muestreo:

La reserva integral laguna de Los Padres (Fig 21.) está situada en el borde oriental de las Sierras de los Padres (37°56' S – 57°44' O) en la Provincia de Buenos Aires. Presenta un afluente y un efluente, el arroyo de Los Padres y el Arroyo de La Tapera, respectivamente (Campana *et al.*, 2001). La laguna cubre un área de 216 ha, con una profundidad media de 1,24 m y alcanza una profundidad máxima de 2,4 m (Bocanegra &

del Río, 1991; Pozzobon & Tell, 1995). En esta laguna se han realizado diversos estudios sobre su vegetación (Romanelli, 2006), perifiton (Esquiús, 2009), contaminación en sedimentos, fauna y flora (González Sagrario *et al.*, 2002; Miglioranza *et al.*, 2004) y la ornitofauna (Josens, 2011). La Laguna de los Padres es un valioso recurso natural que contribuye a la calidad de vida de la población, tanto residente en sus proximidades como en el área de influencia (Mar del Plata, 700.000 habitantes, aproximadamente). Otra de sus características es su ubicación dentro del Cinturón Hortícola de la ciudad, una zona con prácticas de manejo que incluyen el uso de fertilizantes orgánicos e inorgánicos que llegan a la laguna a través de la esorrentía y de su afluente (Baccaro *et al.*, 2006). Además, la laguna se encuentra dentro del predio de una reserva natural de usos múltiples, con un vivero municipal e infraestructura vinculada a clubes de pesca, recreos y restaurantes.



Fig. 21. Imagen satelital de la ubicación de la laguna de Los Padres y específicamente del sitio de muestreo. Imágenes del sitio de muestreo en la laguna.

Procedimiento de muestreo:

Las tareas de muestreo se realizaron durante tres años. En cada estación, se realizó un viaje de campaña y en cada ocasión se tomaron 10 muestras de *P. acuta* (Fig. 22), las cuales fueron utilizadas como réplicas en los análisis estadísticos posteriores. En cada muestreo se utilizó un termómetro digital para medir la temperatura y una varilla métrica de aluminio para medir la altura de la columna del agua. La metodología de muestreo en el laboratorio, manutención de los especímenes y detección de los estadios larvales se detallan en la introducción (pág. 17).

Los ejemplares de *Chaetogaster limnaei* fueron identificados de acuerdo con Di Persia (1979) y con Hiltunen & Klemm (1980). En cada molusco, se registraron tanto el número de *C. limnaei* como su localización en el caracol, con el fin de detectar las formas parasíticas y ectocomensales del oligoqueto (Fig. 23).



Fig. 22. Ejemplar de *Physa acuta* (Draparnaud, 1805).



Fig. 23. Ejemplar de *Chaetogaster limnaei* (Von Baer, 1827).

Análisis estadísticos:

En una primera instancia, para analizar las características ecológicas del molusco hospedador, *P. acuta*, se realizaron dos análisis de varianza no paramétrica (Test de Kruskal-Wallis) para comparar la densidad de moluscos y la talla de los moluscos a lo largo de las cuatro estaciones analizadas. Los análisis de a pares fueron realizados *a posteriori* cuando fue necesario. También cuatro test de correlación de Pearson fueron realizados para correlacionar tanto la densidad de moluscos como su talla con los factores abióticos registrados, temperatura del agua y altura de la columna de agua.

A fin de analizar y comparar la dinámica temporal de la metacercaria registrada parasitando a *P. acuta*, se calculó la prevalencia parasitaria (número de hospedadores parasitados/número total de hospedadores examinados) (Margolis *et al.*, 1982) y abundancia parasitaria (número de metacercarias encontradas/ número total de hospedadores examinados) (Magurran, 2004). Dos análisis de varianza no paramétricos (test de Kruskal-Wallis) fueron realizados para comparar ambos índices parasitológicos (prevalencia y abundancia) a lo largo de las cuatro estaciones del año analizadas. Los análisis de a pares fueron realizados *a posteriori* cuando fue necesario. También ocho test

de correlación de Pearson fueron realizados para correlacionar estos índices parasitológicos con los factores abióticos, temperatura del agua y alto de la columna de agua, y con las características del molusco hospedador, densidad de caracoles y talla de los moluscos.

Finalmente, dos análisis de varianza no paramétricos (test de Kruskal-Wallis) fueron realizados para comparar la densidad de *C. limnaei* en cada molusco (D. Número de *C. limnaei* / total de moluscos examinados) y el porcentaje de moluscos infectados con *C. limnaei* (PMI. Número de moluscos infectados por *C. limnaei* / total de moluscos analizados) en las cuatro estaciones del año analizadas. Por otro lado, para analizar el efecto de *C. limnaei* en la prevalencia y abundancia de la metacercaria registrada, cuatro test de correlación de Pearson fueron realizados para comparar los índices parasitarios con la densidad del oligoqueto en cada molusco (D) y el porcentaje de moluscos infectado con *C. limnaei* (PMI).

En todos test de correlación de Pearson realizados para la abundancia parasitaria los valores fueron transformados para satisfacer los requisitos. Todos los análisis fueron realizados utilizando R Studio (R Development Core Team, 2010).

Resultados

Physa acuta fue solo localizado en las primaveras y veranos durante todo el estudio, por esta razón, estas cuatro estaciones fueron utilizadas para los análisis: primavera 2012 (P1), verano 2013 (V1), primavera 2013 (P2) y verano 2014 (V2).

Physa acuta

Se examinaron un total de 2220 individuos de *P. acuta*. La talla máxima de la valva se registró en 9,048 mm. y la mínima en 2,65 mm. Se encontraron diferencias

significativas entre las tallas del molusco en las cuatro estaciones analizadas (Krusal-Wallis test, $P < 0,0001$) (Tabla 10, Fig. 24A), siendo las cuatro estaciones del año significativamente diferentes una de la otra ($P < 0,05$, en todos los casos) y en orden creciente de las tallas: P2, V2, P1 y V1.

La densidad de *P. acuta* varió entre el rango de 138 ind./hr. y 833 ind./hr. y se detectaron diferencias significativas entre las cuatro estaciones analizadas (Kruskal-Wallis test, $P = 0,0379$) (Tabla 10, Fig. 24B). La P2 resultó significativamente mayor que la P1 y el V2 ($P < 0,05$, en todos los casos).

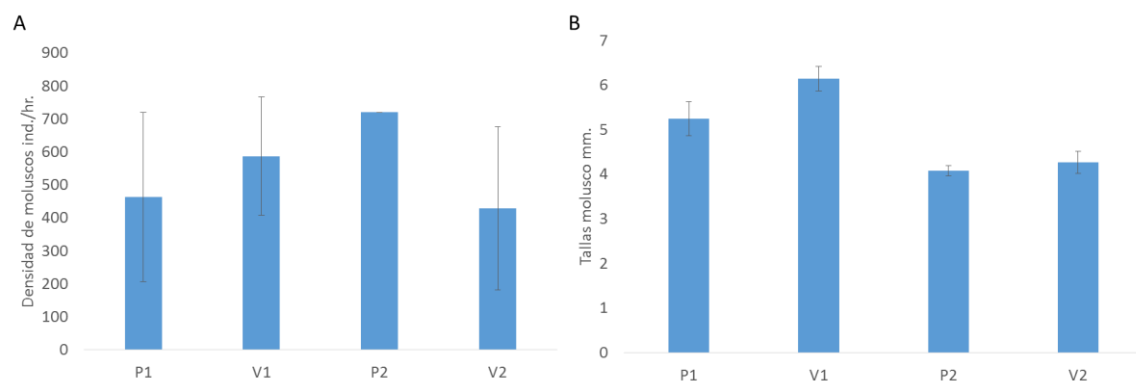


Fig. 24. Valores estacionales de la densidad ($\pm$ desvío estándar) y de las tallas ($\pm$ desvío estándar) de *P. acuta* en la laguna de Los Padres. Primavera 2012 (P1), verano 2013 (V1), primavera 2013 (P2) y verano 2014 (V2).

La temperatura del agua no tuvo influencia en la densidad del molusco ni en su talla, sin embargo se encontró una correlación positiva entre la profundidad de la columna de agua y la densidad de caracoles y entre la misma y talla del molusco (Tabla 10 y 11, Fig. 25).

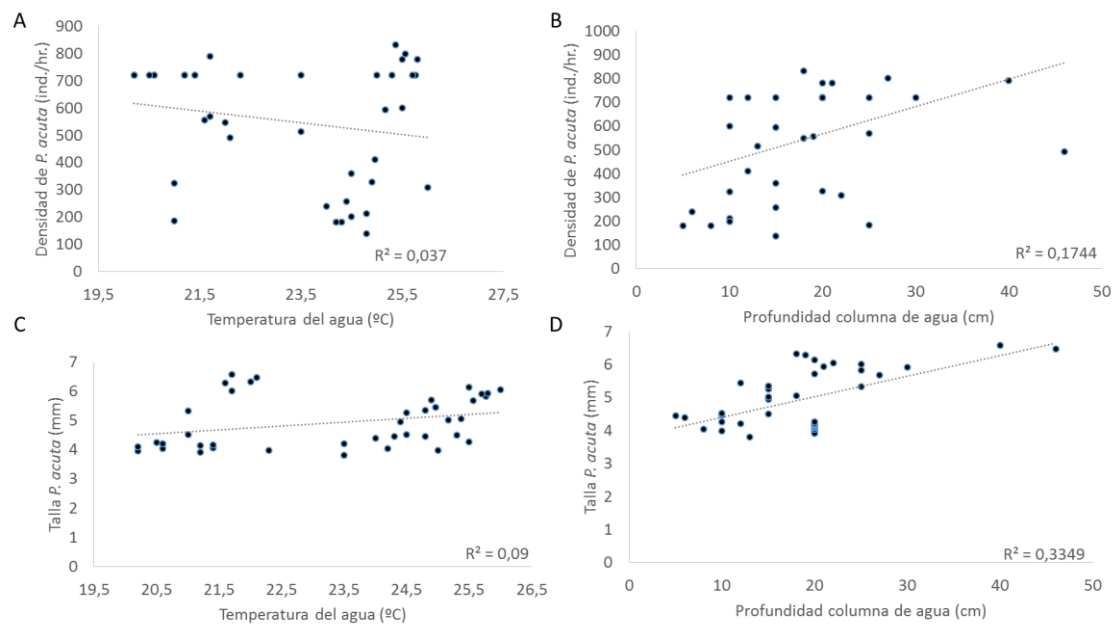


Fig. 25. Relación entre los factores abióticos (temperatura y profundidad) con la densidad y talla de *Physa acuta*.

	Metacercaria Echinostomatidae			<i>Chaetogaster limnaei</i>			Temperatura media °C (D. S.)	Profundidad media cm (D. S.)	<i>Physa acuta</i>	
	Prevalencia media (D. S.)	Abundancia media (D. S.)	Abundancia (min.-max.)	% moluscos infectados (D. S.)	Densidad en cada molusco (D. S.)	Rango de infestación (min.-max.)			Talla media mm (D. S.)	Densidad media ind./hr. (D. S.)
P1	1,836 (1,449)	0,030 (0,025)	1-3	45,834 (15,700)	0,807 (0,315)	1-6	24,253 (1,768)	17,70 (5,908)	5,244 (0,379)	462,15 (256,29)
V1	3,836 (1,365)	0,060 (0,037)	1-5	23,501 (6,779)	0,315 (0,142)	1-4	23,700 (2,007)	26,10 (9,655)	6,140 (0,271)	587,10 (179,48)
P2	1,010 (1,171)	0,028 (0,061)	1-10	38,501 (8,801)	0,450 (0,124)	1-4	20,960 (0,660)	20,0 (0)	4,082 (0,271)	714,00 (24,59)
V2	4,334 (2,251)	0,450 (0,287)	1-30	1,573 (2,195)	0,020 (0,020)	1	24,460 (0,695)	9,90 (3,035)	4,262 (0,246)	428,61 (247,19)

Tabla 10. Índices registrados para la metacercaria Echinostomatidae (prevalencia media y abundancia media $\pm$ desvío estándar; abundancia mínima y máxima), *Chaetogaster limnaei* (porcentaje de moluscos infectados y densidad de oligoquetos en cada molusco $\pm$ desvío estándar; rango de infestación máximo y mínimo) y *Physa acuta* (talla media y densidad de individuos media $\pm$ desvío estándar). Registros de la temperatura ($\pm$ desvío estándar) y profundidad de la columna de agua ($\pm$ desvío estándar). Todos los valores están registrados para las cuatro estaciones analizadas: primavera 2012 (P1), verano 2013 (V1), primavera 2013 (P2) y verano 2014 (V2).

	Temperatura °C		Profundidad cm.		Talla molusco mm.	Densidad molusco ind./hr.	Densidad oligoqueto en cada molusco	% moluscos infectados con oligoqueto	
Talla molusco mm.	R=0,18	P=0,27	R=0,8	P<0,0001	-	-	-	-	-
Densidad molusco ind./hr.	R=0,09	P=0,59	R=0,42	P=0,01	-	-	-	-	-
Prevalencia parasitaria	R=0,28	P=0,18	R=-0,10	P=0,52	R=0,23	P=0,14	R=-0,27	P=0,09	R=-0,47 P<0,0001
Abundancia parasitaria	R=0,22	P=0,17	R=-0,46	P<0,0001	R=-0,27	P=0,09	R=-0,03	P=0,84	R=-0,99 P<0,0001 R=-0,68 P<0,0001

Tabla 11. Índices de correlación de Pearson (R) y valor P (P) para las correlaciones entre la talla del molusco (mm), la densidad de individuos de *P. acuta* (ind./hr.), la prevalencia parasitaria, la abundancia parasitaria, la temperatura del agua (°C), la profundidad de la columna de agua (cm), la densidad de oligoquetos en cada molusco y el porcentaje de moluscos infectados con el oligoqueto.

Digeneos larvales

Se identificó un solo tipo morfológico de metacercaria que fue descrito por primera vez para este molusco: metacercaria *Echinostomatidae gen. sp. 1* (familia Echinostomatidae) (ver descripción Capítulo 1, parte I pp. 40). Su abundancia y prevalencia se observa en la tabla 10.

La prevalencia de la metacercaria resultó significativamente diferente en las cuatro estaciones del año analizadas (Kruskal-Wallis test, $P=0,001$) (Fig. 26A), los dos veranos analizados fueron significativamente mayores que las primaveras analizadas ($P<0,05$, para todos los casos). No se encontró correlación para ninguno de los factores abióticos analizados, ni la temperatura del agua, ni la profundidad de la columna de agua, ni la densidad de caracoles, ni sus tallas influencia la prevalencia parasitaria en este caso (Tabla 11, Fig. 27A y 27B).

La abundancia de la metacercaria también varió significativamente a lo largo de las estaciones (Kruskal-Wallis test, $P=0,0002$) (Fig. 26B). El V2 resultó ser la estación con mayores valores de abundancia con respecto a las otras tres estaciones y la P2 resultó ser menor que el V1 ($P<0,05$, en todos los casos). No se encontró correlación entre la temperatura del agua, la densidad de caracoles y sus tallas con la abundancia parasitaria, pero sí se encontró una correlación negativa entre la abundancia y la profundidad de la columna de agua (Tabla 11, Fig. 27C y 27D).

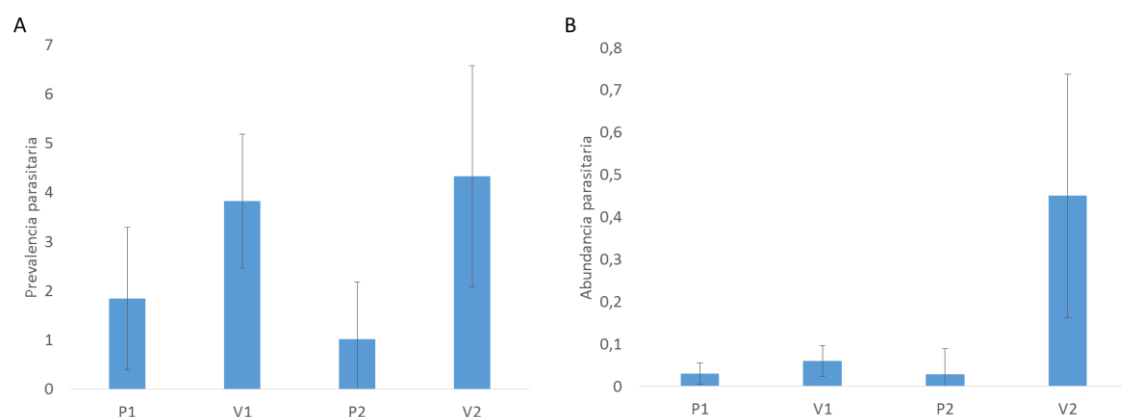


Fig. 26. Valores estacionales de la prevalencia ($\pm$ desvío estándar) y de la abundancia ($\pm$ desvío estándar) de la metacercaria que parasita a *Physa acuta*. Primavera 2012 (P1), verano 2013 (V1), primavera 2013 (P2) y verano 2014 (V2).

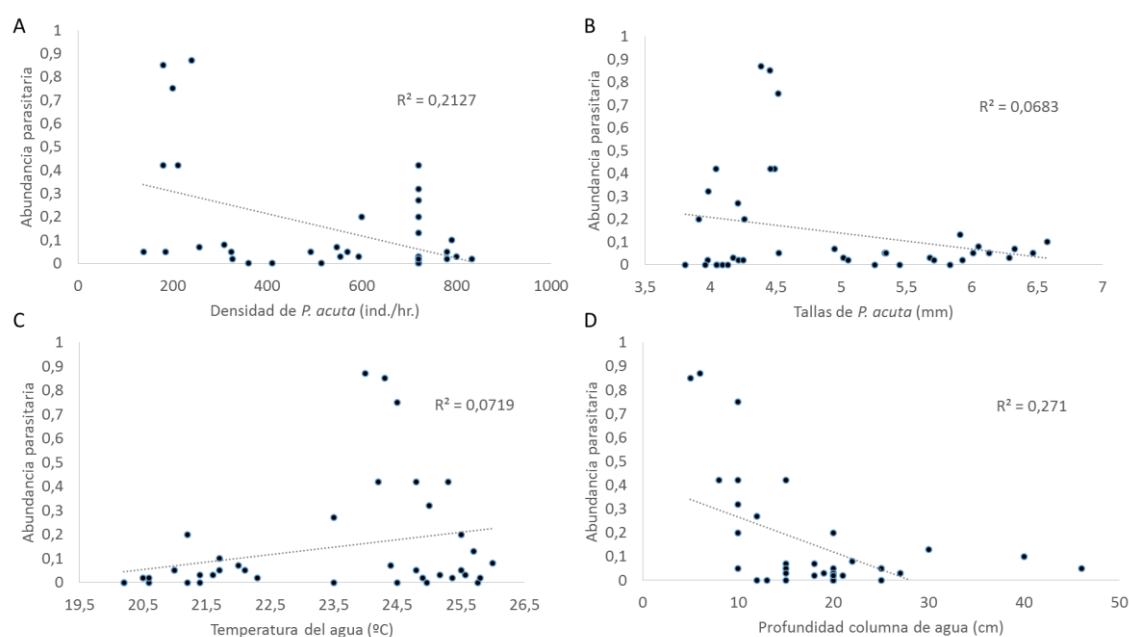


Fig. 27. Relación entre la densidad y talla de *Physa acuta* y de los factores abióticos (temperatura y profundidad) con la abundancia parasitaria de la metacercaria que parasita a este molusco (gráfico realizado con los valores sin transformar de la abundancia parasitaria).

Chaetogaster limnaei

Se registró la forma ectocommensal del oligoqueto *C. limnaei* localizado alrededor de la región de la cabeza y el pie del molusco y por debajo del margen de la valva. El porcentaje de moluscos infectados con *C. limnaei* (PMI) y la densidad del mismo en cada molusco (D) se observan en la tabla 10.

La densidad de *C. limnaei* en cada molusco (D) y el porcentaje de moluscos infectados con *C. limnaei* (PMI) variaron significativamente en las cuatro estaciones estudiadas (Kruskal-Wallis test, $P < 0,0001$, en los dos casos) (Fig. 28). El V2 fue significativamente menor en los dos análisis. El V1 resultó significativamente menor que la P1, también en los dos análisis ($P < 0,05$, para todos los casos).

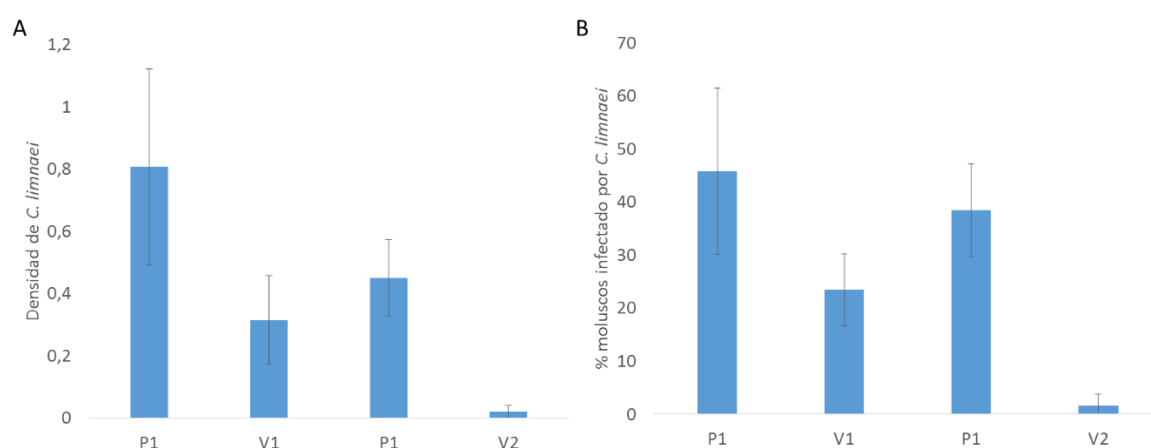


Fig. 28. Valores estacionales de la densidad por molusco de *Chaetogaster limnaei* ($\pm$ desvío estandar) y del porcentaje de moluscos infectados por este oligoqueto ($\pm$ desvío estandar). Primavera 2012 (P1), verano 2013 (V1), primavera 2013 (P2) y verano 2014 (V2).

Cuando analizamos el efecto de *C. limnaei* sobre la prevalencia y la abundancia de la metacercaria registrada, se observó que ambos índices parasitarios se correlacionaban negativamente con el PMI y la D. (Tabla 11, Fig. 29).

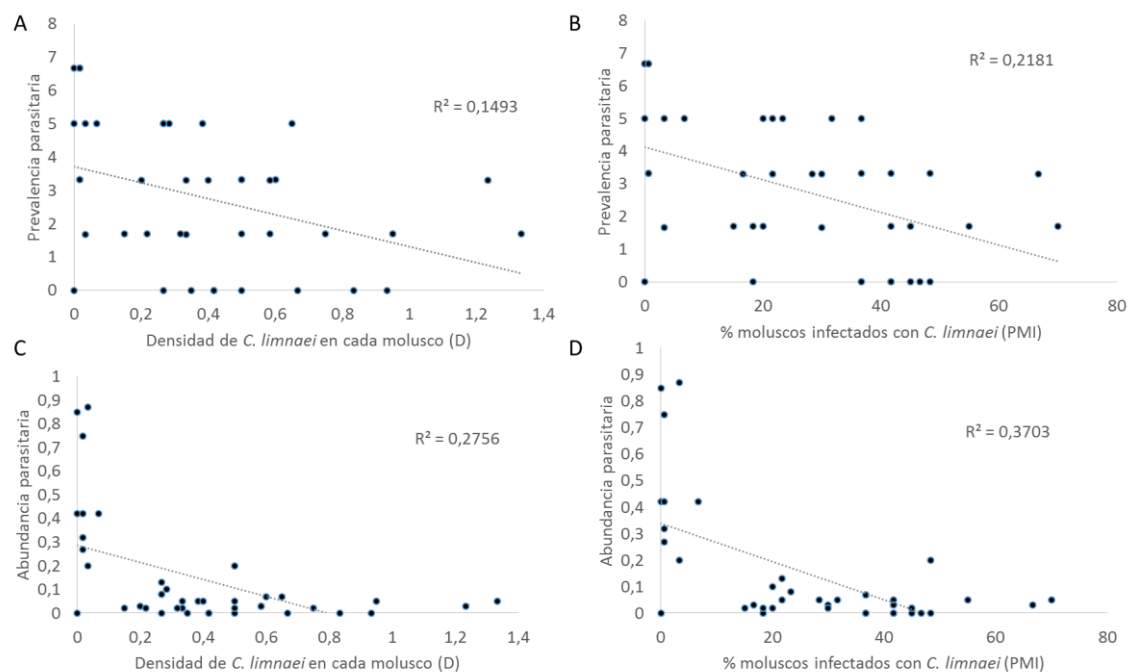


Fig. 29. Relación entre la densidad de *Chaetogaster limnaei* (D) y el porcentaje de moluscos infectados con este oligoqueto (PMI) con los índices parasitológicos (prevalencia y abundancia parasitaria) de la metacercaria que parasita a *Physa acuta* (gráfico realizado con los valores sin transformar de la abundancia parasitaria).

Discusión

Physa acuta

La mayoría de los moluscos de la familia Physidae presentan ciclos de vida semélparos, anuales o subanuales, uniformes o bivoltinos, con un grado variable de reemplazo de cohortes (Brown, 1979; Calow, 1978; Duncan, 1959). Estudios sobre Physidae, de regiones templadas y templadas frías en el Hemisferio Norte, indican el período reproductivo principal en primavera o verano (Duncan, 1959, Caquet, 1993, entre otros). *Physa acuta* es un caracol hermafrodita, que se reproduce de forma uniparental a través de la autofecundación interna y, biparentalmente, a través de la fertilización cruzada. En las poblaciones naturales, esta especie exhibe altas tasas de cruzamientos y

alta depresión endogámica (Tsitrone *et al.*, 2003; Facon *et al.*, 2006; Escobar *et al.*, 2007; 2009). Todas estas características hacen de *P. acuta* un colonizador exitoso. En las regiones templadas la población suele ocupar hábitats inestables de agua dulce, con sequías en verano y bajas temperaturas e inundaciones en invierno (Escobar *et al.*, 2007, 2009), sufriendo ciclos de extinción y recolonización, así como episodios de baja densidad (Henry *et al.*, 2005).

En Argentina, *P. acuta* se menciona desde la década de los '80 (Paraense, 2005). Actualmente, su distribución es generalizada y abundante, fundamentalmente en ambientes relacionados con la cuenca del Plata (Nuñez, 2010). Sin embargo, este es el primer registro para esta laguna en el sudeste de la provincia de Buenos Aires. Si bien la ausencia de *P. acuta* en la laguna durante el invierno y el otoño indicaría un efecto de la temperatura del agua, no se pudo comprobar la correlación de esta con las densidades y tallas del caracol. Sin embargo, podría aplicarse para *P. acuta* en esta área estudiada, los resultados de Sankurathri y Holmes (1976), quienes concluyen que "a temperaturas inferiores a 10°C o cantidades muy elevadas de vegetación aparentemente limitaban la población de *P. gyrina* en el invierno".

Aunque Brackenbury y Appleton (1993) informaron de la erradicación total de poblaciones de *P. acuta* después de las inundaciones, en el sudeste de la provincia de Buenos Aires las estaciones lluviosas ocurren en primavera-verano y, por lo tanto, no coinciden con los períodos de ausencia de *P. acuta*. Además, las relaciones positivas entre la profundidad con la densidad y tallas del molusco, son contrarias a lo que han encontrado otros autores. Estas relaciones positivas, sumado a la observación de una relación negativa entre la profundidad y la presencia de metacercarias parasitando a *P. acuta*, podrían considerarse como una adaptación del caracol contra el parasitismo.

Digeneos larvales

Physa acuta actúa como hospedador de una metacercaria de la familia Echinostomatidae. Los resultados encontrados en esta investigación son congruentes con los encontrados en otras partes del mundo, en los cuales, la mayoría de los casos, solo se registraron especies en estadio de metacercarias y con valores de prevalencia muy bajos. En Australia, *P. acuta* se encontró parasitado con una metacercaria no identificada, con un 18,7% de prevalencia (Mitchell & Leung, 2016). En la República Checa, el 12% de los caracoles analizados estaban parasitados con una metacercaria de *Echinostoma spp.*, entre otras especies (Faltýnková, 2005). En México, el 4,88% de *P. acuta* estaban parasitadas sólo con una metacercaria Strigeidae (Barragán-Sáenz *et al.*, 2009). En Alemania se encontraron dos metacercarias parasitas de *P. acuta*, de las cuales *Echinostoma sp.* presentó 0,7% de prevalencia (Faltýnková & Haas, 2006). Solamente en Marruecos e Irak no se encontraron parásitos en *P. acuta*, a pesar de su alta frecuencia y abundancia en la zona (Laamrani *et al.*, 2005, Mohammad, 2015).

La dinámica temporal de la metacercaria Echinostomatidae resultó similar a la dinámica temporal de otras especies de digeneos que se encuentran en la región Pampeana (Merlo & Etchegoin, 2010, Merlo, 2013; Parietti *et al.*, 2013). La variación temporal de la prevalencia es una de las características principales de los ensambles de digeneos larvales en el primer hospedador intermediario (Esch & Fernández, 1994; Esch *et al.*, 2001; Kube *et al.*, 2002). La prevalencia parasitaria de *P. acuta* fue mayor en las estaciones de verano que en las de primavera. Esta variación en los valores de prevalencia entre estaciones, podría explicarse a través de los valores de prevalencia de la cercaria en el primer hospedador intermedio, la cual afecta al siguiente estadio del ciclo de vida. Merlo (2013), encontró en el área estudiada una *Echinocercaria sp. 1* parasitando al caracol *Heleobia parchappii*, con mayores valores de prevalencia durante el verano

(7,22±6,74). Sin embargo, esta cercaria no podría ser el estadio anterior de las metacercarias registradas aquí, porque *Echinocercaria sp. 1* no presenta espinas en el cuello cefálico y las metacercarias encontradas en *P. acuta* si las tienen. Desafortunadamente, no se dispone de datos sobre los valores de prevalencia de cercarias en otros moluscos que habitan en la laguna, como *Biomphalaria sp.*, *Depanotrema sp.* y *Pomacea canaliculata* (observación personal).

Una explicación para la mayor prevalencia de metacercarias registrada en ambos veranos puede vincularse a la biología del hospedador definitivo (diversidad, abundancia, comportamiento, etc.). Para la familia de Echinostomatidae, los hospedadores definitivos son las aves, los peces y los mamíferos. En el área del delta de la laguna, se registraron colonias de cría de aves acuáticas y una mayor riqueza y abundancia de aves durante el verano (Josens *et al.*, 2009; Josens, 2011), las que podrían actuar como hospedadores definitivos de la metacercaria registrada parasitando a *P. acuta*.

Aunque los digeneos a menudo tienen un alto grado de especificidad del primer hospedador intermediario (Esch & Fernández, 1994), esta especificidad es relativamente más baja para el segundo hospedador intermediario (Esch y Fernández, 1994, Scheneck & Fried, 2004, Muñoz Antoli *et al.*, 2008). McCarthy (1990) ha demostrado, para los equinostomátidos, la existencia de intercambios en el hospedador. Esto ocurre cuando un parásito se establece en una especie hospedadora previamente no explotada, y abandona completamente la especie hospedadora original o deja un linaje parásito hermano dentro de ella (Blair *et al.*, 2001). En este sentido, la baja prevalencia de la metacercaria encontrada en *P. acuta* podría explicarse por este efecto.

Chaetogaster limnaei

Chaetogaster limnaei (CLL) ha sido reportado en más de 40 especies de caracoles de agua dulce, de al menos 10 familias y, principalmente, miembros de las familias Lymnaeidae, Physidae y Planorbidae (Buse, 1974, Joy & Welch, 1984, Smythe *et al.*, 2015). En el campo, las tasas de infección de algunas especies de caracoles son menores a 8 CLL/caracol, por lo menos durante partes del año (Gruffyd, 1965, Buse, 1971, 1974, Fernández *et al.*, 1991). Sin embargo, los datos de campo para las tasas de infección en *P. acuta* son escasos. En Egipto, Ibrahim (2007) reporta tasas de infestación promedio de primavera de 4 CLL/caracol. En Alemania, Stoll *et al.*, (2013) encontraron, en dos ocasiones de muestreo, una tasa media de infestación de 1,6 CLL/caracol y 4,2 CLL/caracol. En Australia, Mitchell & Leung (2016) registraron un rango de infestación de 1-7 CLL/caracol. Los rangos de tasa de infestación encontrados en este trabajo son congruentes con los registrados en la literatura.

En la mayoría de los casos, las tasas de infestación por *C. limnaei* suelen mostrar dinámicas estacionales marcadas, alcanzando los niveles más altos en primavera y principios de verano, coincidiendo con la temporada en la que muchas especies de caracoles se recuperan de las pérdidas invernales y se reproducen (Fernández *et al.*, 1991; Ibrahim, 2007). Hopkins *et al.* (2015) demostraron que el contacto directo entre individuos hospedadores es necesario para la transmisión eficiente de *C. limnaei*. Esto también se pudo observar en la laguna de Los Padres. Los picos más altos de porcentaje de caracoles que transportan *C. limnaei* en primavera fueron consistentes con las mayores densidades de *P. acuta* en esta laguna, disminuyendo su porcentaje al verano.

Pero, ¿por qué encontramos estos rangos de infección en *P. acuta* y no en otros moluscos de la laguna? La presencia de este oligoqueto en *H. parchappii* es rara e infrecuente, y ningún *C. limnaei* se registró en *P. canaliculata*. Se conoce que la relación

entre *P. acuta* y *C. limnaei* es densodependiente (Stoll *et al.*, 2013) y esta podría ser una explicación plausible. En la laguna de Los Padres, la densidad de *P. acuta* es significativamente mayor que las densidades de otros moluscos encontrados en la laguna. También puede estar relacionado con las diferencias en muchas características del hábitat y la disponibilidad del hospedador entre los sitios. La elección del hospedador por parte de este oligoqueto no es clara y la mayoría de los estudios se centraron en analizar una sola especie de molusco, y no incluyeron especies alternativas de hospedadores (Stoll *et al.*, 2016). Sólo Ibrahim (2007) encontró diferencias en los patrones de infección de *C. limnaei* entre diferentes especies de hospedadores, pero las razones siguen siendo poco claras. ¿Podría ser *C. limnaei* una especie introducida junto con *P. acuta*? Sería necesario profundizar las investigaciones para responder a éste interrogante.

Chaetogaster limnaei desempeña un papel importante en la estructuración de las poblaciones de caracoles en el campo, sus efectos sobre los caracoles pueden ser positivos o negativos (Stoll, 2016), y actúa como un regulador en la dinámica de la infección por digeneos (véase también Michelson, 1964; Ibrahim, 2007; Fried *et al.*, 2008). Sankurathri & Holmes (1976) sugirieron que la presencia y la acción depredadora de estos gusanos desalientan a otras cercarias a intentar penetrar en el hospedador. *Chaetogaster limnaei* es bien conocido por tener una actividad depredadora sobre los miracidios o cercarias de varios digeneos y, como consecuencia, puede reducir la tasa de infestación de los caracoles. Varias investigaciones confirman esta premisa (Khalil, 1961; Shigina, 1970; Potekhina & Shigina, 1970; Sankurathri & Holmes, 1976; Fernández *et al.*, 1991; Ibrahim, 2007; Fried *et al.*, 2008). Los análisis realizados en la laguna de Los Padres están en concordancia con esta aseveración. La abundancia de la metacercaria fue significativamente mayor en el verano de 2014 que en las otras temporadas. Esto fue concordante con el valor más bajo encontrado para la densidad de *C. limnaei* y para el

porcentaje de *P. acuta* infectado con este oligoqueto, en la misma estación. En los cuatro casos, se encontró una correlación negativa entre la abundancia de la metacercaria y la prevalencia, con los índices tomados para *C. limnaei*. De acuerdo a estos resultados, este oligoqueto podría influir sobre el conjunto de los digeneos larvales en *P. acuta*, siendo un factor importante a tener en cuenta en los estudios de variaciones temporales en los ensambles de digeneos en moluscos de agua dulce.

Discusión general

Se ha registrado que el origen de los ensambles de especies de parásitos se genera, principalmente, durante el tiempo evolutivo en el que los linajes de parásitos son adquiridos por la descendencia de hospedadores (Lively, 1996; Blair *et al.*, 2001; Jokela *et al.*, 2009, entre otros). Pero, estos ensambles de parásitos ¿cómo actúan en especies exóticas cuando se introducen en un nuevo ambiente? Los intercambios de hospedadores, como las transferencias de especies de parásitos de una especie a otra, no son lo suficientemente frecuentes como para permitir que un ensamble diverso de parásitos se genere en un corto período de tiempo. Sin embargo, varios trabajos desafían estas ideas (Dove 1998; Poulin & Mouillot, 2003).

A través de varios mecanismos, el proceso de invasión de una especie exótica puede afectar la cantidad de parásitos que se registran en un nuevo ambiente. Por lo general, el hospedador exótico puede perder parásitos durante el curso de la invasión. Principalmente porque las invasiones a menudo resultan de la introducción de pequeños subconjuntos de individuos proporcionalmente a las poblaciones nativas y generalmente de hospedadores no infectados (Torchin *et al.*, 2003; Torchin & Mitchell, 2004). La ausencia de condiciones necesarias para el desarrollo de una especie parasitaria (como otros hospedadores potenciales, otros hospedadores que se necesitan en ciclos de vida

complejos, condiciones ambientales, entre otros) conduce a una disminución en el número de parásitos introducidos y en la proporción de hospedadores infectados en el nuevo ambiente. A su vez, los parásitos con transmisión denso-dependiente encuentran un cuello de botella en las etapas iniciales de invasión que pueden romper la transmisión, eliminando un gran número de especies de parásitos (Torchin & Mitchell, 2004). Sin embargo, las especies hospedadoras exóticas pueden introducir sus parásitos y, si las condiciones están dadas para la transmisión parasitaria, la infección puede "derramarse" afectando a las especies nativas (Kelly *et al.*, 2009).

Otro mecanismo de importancia potencial resulta cuando el hospedador exótico puede actuar como nuevo hospedador para agentes de infección nativa, operando de dos maneras posibles. Por un lado, el hospedador exótico puede ser menos competente como hospedador, generando un "efecto de dilución" en la prevalencia general en la población nativa. Esto se debe a que los parásitos que infecten este hospedador exótico tienen pocas probabilidades de completar su ciclo, y de este modo, se reduce el número de estadios infectivos posteriores, como miracidios o cercarias. Pero, por otro, puede ser un hospedador competente, resultando entonces en un "derrame" de la infección a la fauna nativa, aumentando el número de hospedadores definitivos infectados, y por ende, de estadios infectivos posteriores (Hall *et al.*, 2009; Kelly *et al.*, 2009; Mitchell & Leung, 2016, entre otros).

Los parásitos, a menudo, reducen la abundancia y densidad de su hospedador, afectando su reproducción o tiempo de vida. Esto genera que, en la mayoría de los casos, las especies exóticas que pueden actuar como hospedadores, no invaden un nuevo ambiente con su comunidad parasitaria. Como consecuencia, las especies hospedadoras exóticas, al invadir un nuevo ambiente con un bajo porcentaje de parasitismo, se convierten en invasoras peligrosas. Esto se debe a que presentan altas probabilidades de

reproducción y mayor expectativa de vida, que no se encuentra afectada por su carga parasitaria. De manera contraria, por los motivos que se mencionaron anteriormente, los parásitos exóticos presentan una menor probabilidad de convertirse en invasores peligrosos.

En este sentido, los bajos valores de prevalencia y abundancia de la metacercaria *Echinostomatidae*, registrados para *P. acuta* en la laguna de Los Padres, otorgan indicios que nos permiten hipotetizar un efecto de dilución parasitaria en este sistema y hacia los hospedadores nativos. Probablemente, *P. acuta* se introdujo al sistema sin su fauna parasitaria nativa y actuaría en la laguna como un hospedador esporádico para esta especie de digeneo, presuponiendo la existencia de un hospedador nativo más adecuado. Esto podría conducir a una reducción de las tasas de infección parasitarias en las poblaciones nativas, ya que, aunque no de forma mayoritaria, un porcentaje de digeneos larvales de esta especie parasitaria a *P. acuta*, y dejaría de hacerlo con la especie nativa.

En favor de lo expuesto previamente, *P. acuta* se descubrió recientemente en este país y, probablemente, no tenía mucho más tiempo habitando en estas áreas. Esto puede dificultar la posibilidad de que las especies de digeneos se establezcan en mayor grado como parásitos para este molusco. Torchin *et al.*, (2003) reportaron que el número de especies parasitarias encontradas en poblaciones nativas fue el doble que el encontrado en poblaciones exóticas, lo que podría validar lo observado aquí. Además, la ecología de este molusco (que sólo habita en el sitio de muestreo durante cortos períodos de tiempo en el año) podría presentarse como desfavorable al aumento de la tasa de infección por digeneos. Sumado a esto, la presencia de *C. limnaei* podría desalentar el enquistamiento de las cercarias en *P. acuta*.

Sin embargo, la falta de conocimiento del ciclo de vida del parásito, su variación temporal y estacional, la característica de su primer hospedador intermedio y la

variabilidad de *P. acuta*, hace difícil llegar a conclusiones definitivas. A esto se agrega la falta de identificación del estatus de parásitos compartidos (nativos o exóticos) y principalmente registros de fauna parasitaria de hospedadores nativos antes de la introducción de una especie exótica, información de necesidad primordial. A pesar de ello, el estudio del ensamble parasitario de una especie exótica en una nueva área, proporciona la base de conocimiento para futuros estudios sobre la posible influencia de los digeneos en el establecimiento de *P. acuta*. Además, permitiría determinar la influencia de este molusco sobre otras especies nativas de caracoles. Los resultados de este estudio en Argentina son consistentes con los de otras partes del mundo, confirmando la suposición de que *P. acuta* es un colonizador exitoso, con posibles influencias sobre otras especies de caracoles nativos, y, además, *C. limnaei* representa una clara barrera para la establecimiento de larvas de digeneos en este molusco.



Capítulo 3: *Heleobia parchappii*

Introducción

Los arroyos son cuerpos pequeños y de escasa profundidad, con márgenes casi verticales compuestos de suelo y sedimento en vez de roca. Su caudal puede variar en las distintas épocas del año, por lo que durante algún tiempo el flujo de agua de algún arroyo se ve interrumpido y se seca. Esto es más común en épocas de sequía o de falta de lluvias en verano o invierno. Al igual que otros cuerpos de agua, pueden desembocar en el mar o en grandes cuerpos de agua dulce. Poseen un lecho rocoso y muchos son fácilmente vadeables, es decir, pueden cruzarse a pie, sin necesidad de una embarcación. Los arroyos pueden clasificarse en perennes si sus aguas fluyen durante todo el año, intermitentes si solo fluyen durante ciertas épocas del año y efímeros cuando sus aguas fluyen únicamente después de llover.

Estos ambientes se tratan de ecosistemas de transporte direccional, en los que los procesos ecológicos, tanto en las cuencas aguas arriba como en sus cuencas adyacentes, se rigen bajo las condiciones locales (Allan, 2004; Allen & Vaughn, 2010; Jähnig *et al.*, 2012). Los fuertes gradientes ambientales crean un gran número de microhábitats diversos, pero estrechamente entrelazados, y hacen de los ecosistemas de arroyos los sistemas más heterogéneos a pequeñas escalas espaciales (Erös & Schmera, 2010). Diferentes aspectos del régimen hidrológico, como la magnitud y la velocidad del flujo, o la estacionalidad a largo plazo y la variabilidad a corto plazo en los volúmenes de descarga, hacen que los cuerpos de agua lóticos sean un entorno particularmente inestable e impredecible dentro de largos períodos de tiempo y su biota acompañante puede cambiar drásticamente de forma pulsante (Junk *et al.*, 1989).

Alrededor del 9,5% de todas las especies animales descritas se registraron en hábitats de agua dulce, los cuales cubren sólo alrededor del 0,01% de la superficie terrestre (Balian *et al.*, 2008). En estos, los arroyos se destacan como “hotspots” de

biodiversidad. El asentamiento de las poblaciones humanas alrededor de estos ambientes, con la combinación de cambio climático, cambio en el uso de la tierra, fragmentación de hábitats y extracción de agua, sitúa a las especies que habitan los ecosistemas de arroyos entre los más vulnerables de todos (Carpenter *et al.*, 1992; Dudgeon *et al.*, 2006).

El estudio de la fauna parasitológica en *H. parchappii* en Argentina fue realizado para ambientes lénticos y lóticos (Martorelli, 1985; 1986a; 1986b; 1988; 1989; Ostrowski de Nuñez, 1992; 1993; 1995; 2001; 2007; Merlo, 2013; Merlo *et al.*, 2014), como así también el estudio de su heterogeneidad espacio-temporal, que fue realizada por Merlo (2013) en las laguna Nahuel Rucá, Los Padres y La Brava (sudeste de la provincia de Buenos Aires). Los conocimientos sobre la fauna parasitológica y la heterogeneidad de los ensambles de digeneos larvales en este molusco no fue realizada todavía en ambientes lóticos del sudeste bonaerense, pese a la abundancia de arroyos presentes en el sudeste de la provincia y de la abundancia de moluscos de *H. parchappii* en estos ambientes. La marcada diferencia en las características hidrológicas de los ambientes lóticos conlleva a la necesidad de analizar cómo se comportan los ensambles de digeneos larvales, y de qué forma estas características hidrológicas pueden beneficiar o perjudicar y estructurar estos.

PARTE I

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

Introducción

El objetivo de la presente parte de este capítulo fue:

1. Identificar las formas larvales de los digeneos que parasitan *Heleobia parchappii* en los arroyos La Tapera, El Alfar, Lobería y La Carolina.

Materiales y Métodos

Los ejemplares de *Heleobia parchappii* (Fig. 30) fueron colectados de los arroyos La Tapera (37°56'S - 57°58'O), El Alfar (38°05'S - 57°33'O), Lobería (38°09'S - 57°38'O) y La Carolina (38°20'S - 57°59'O). Se examinaron un total de 6000 individuos de *H. parchappii* (1200 del arroyo La Tapera, 1200 del arroyo El Alfar, 2400 del arroyo Lobería y 1200 del arroyo La Carolina). Las metodologías correspondientes al muestreo y al mantenimiento de los especímenes en el laboratorio, así como a la detección de los estadios larvales de los parásitos, se detallan en el capítulo "Introducción" (pág. 17).

Para las comparaciones con otras cercarias y metacercarias se utilizaron sólo descripciones de digeneos larvales que parasitan a moluscos del género *Heleobia* en la República Argentina. La denominación de los tipos morfológicos se realizó utilizando un sistema de letras y números (C1, C2.....Cn). Este sistema, aunque arbitrario, permite unificar nomenclaturas utilizadas en la descripción de cercarias (trabajos previos ya publicados).



Fig. 30. Ejemplar de *Heleobia parchappii* (d'Orbigny, 1835)

Resultados y Discusión

Durante los muestreos realizados se registraron 12 tipos morfológicos de cercarias y metacercarias (o especies) en los ensambles de digeneos larvales de *H. parchappii*, pertenecientes a ocho familia. Entre los tipos morfológicos hallados, se registraron 11 estadios larvales previamente citados para *H. australis*, para *H. conexa* y para *H. parchappii* (Tabla 12, Fig. 31).

Familia	Denominación original	TM	Arroyo	Referencia	Hospedadores definitivos
Notocotylidae	Notocotylidae sp.1	C1	LT, EA, L, LC	Etchegoin & Martorelli (1998)	Aves y mamíferos
Heterophyidae	Pleurolophocercaria VI	C2	AL	Martorelli & Etchegoin (1996)	Aves y mamíferos
	Pleurolophocercaria II	C12	LT, EA, L, LC	Etchegoin (1997)	
	Pleurolophocercaria IV	C18	LT, L, LC	Martorelli & Etchegoin (1996)	
	Cercaria Heterophyidae sp. 8	C27	LT, L, LC	Parietti (2011)	
Echinostomatidae	Echinocercaria sp. 1	C8	EA	Etchegoin (1997)	Aves, mamíferos y peces
Microphallidae	<i>Microphallus similimus</i>	C20	LT, EA, L, LC	Etchegoin (1997)	Aves y mamíferos
	<i>Microphallus szidati</i>	C21	LT, EA, L, LC	Martorelli (1986a) y Etchegoin (1997)	
Hemiuridae	<i>Genarchella genarchella</i>	C30	LT, EA, L, LC	Szidat (1956) y Martorelli (1989)	Peces
Acanthostomidae	Cercaria Acanthostomidae sp. 1	C31	LT, EA, L, LC	Merlo (2013)	Peces, reptiles y anfibios
Haploporidae	Cercaria Haploporidae sp. 1	C10	LT	Etchegoin (1997)	Peces
Psilostomidae	Cercaria y metacercaria aff. <i>Psilochasmus oxyurus</i>	-	LT, EA, L, LC	Szidat (1957) y presente trabajo	Aves y mamíferos

Tabla 12. Posible ubicación sistemática de los tipos morfológicos de cercarias (TM) hallados en *H. parchappii*. Arroyo La Tapera (LT), arroyo El Alfaro (EA), arroyo Loberia (L) y arroyo La Carolina (LC).

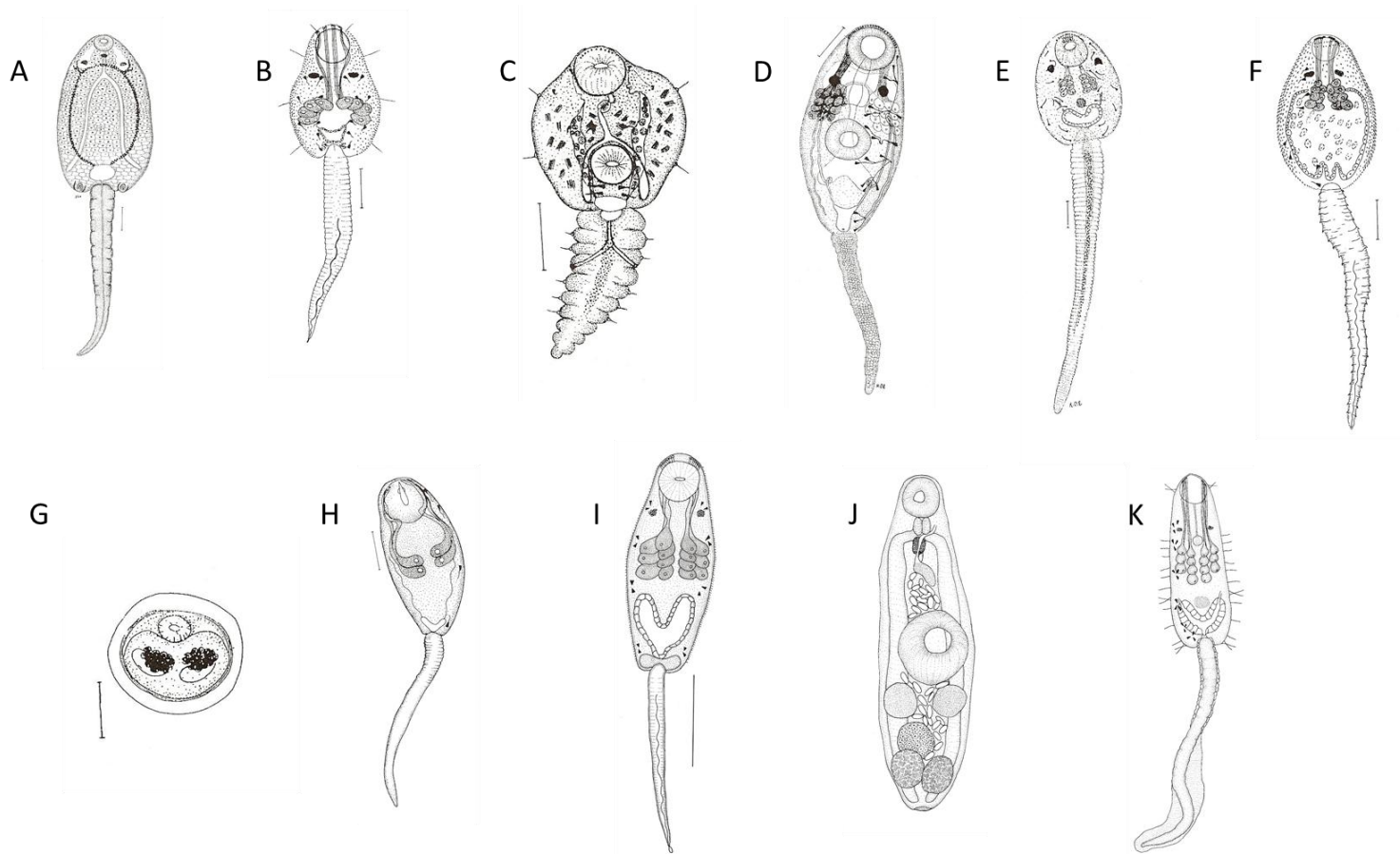


Fig. 31 a) C1 (cercaria Notocotylidae sp. 1. Escala: 0,05 mm); b) C2 (pleurolophocercaria VI. Escala: 0,02mm); c) C8 (echinocercaria sp. 1. Escala: 0,05 mm); d) C10 (); e) C12 (pleurolophocercaria II. Escala: 0,025 mm); f) C18 (pleurolophocercaria IV. Escala: 0,05 mm); g) C20 (*Microphallus simillimus*, metacercaria enquistada. Escala: 0,05 mm); h) C21 (*Microphallus szidati*. Escala: 0,02 mm); i) C27 (cercaria Heterophyidae. Escala: 0,1 mm); j) C30 (*Genarchella genarchella*, metacercaria progenética. Escala: 0,01 mm); k) C31 (cercaria Acanthostomidae sp. 1. Escala: 0,1 mm). Las ilustraciones fueron tomadas de las fuentes indicadas en la tabla 12.

Superfamilia Echinostomatoidea

Familia Psilostomidae

Cercaria y metacercaria aff. *Psilochasmus oxyurus*

Fig. 32 y 33 y tabla 13 y 14.

Hospedador: *Heleobia parchappii*

Procedencia: A. La Tapera, A. El Alfar, A. Lobería y A. La Carolina

Prevalencia: A. La Tapera: 4,5%; A. El Alfar: 2,58%; A. Lobería: 5,65%; A. La Carolina: 38,08%.

Descripción de la cercaria: Cuerpo oval y alargado, cubierto con abundantes células cistógenas. En el extremo anterior se observan 5 pares de pelos sensitivos dispuestos sobre una base papiliforme y dos pares más en los márgenes laterales en la región esofágica. Cola robusta tan larga como el cuerpo, con una aleta dorsal que se extiende hasta el tercio posterior del lado ventral. Ventosa oral redondeada. Faringe presente. Esófago alargado que se bifurca en el bode anterior de la ventosa ventral y cuyos ciegos intestinales alcanzan la zona posterior del cuerpo. Ventosa ventral con musculatura acentuada ubicada en el tercio posterior del cuerpo. Vesícula excretora anepiteliocística que recibe los conductos de dos tubos colectores que recorren el cuerpo hasta la zona inferior de la ventosa oral. Los tubos colectores contienen abundantes gránulos en su interior y presentan dos divertículos medios a la altura de la faringe. No se observaron las células flamígeras. Los túbulos de la cola se bifurcan a una distancia de un tercio de la longitud de la cola.

Descripción de la redia: Cuerpo pigmentado con dos apéndices locomotora en la zona posterior y una faringe pequeña que se comunica con un corto ciego intestinal. Las cercarias maduras se localizan en la zona anterior de la redia y las inmaduras en la zona inferior, ambas dentro de una cámara de incubación.

Descripción de la metacercaria: Quiste grande y esférico con doble pared hialina. Metacercaria alargada con pigmentos reticulares, ventosa oral y ventosa ventral fuertemente muscular con unos gruesos labios semicirculares en la parte anterior de la misma. Sistema digestivo formado por una faringe y ciegos intestinales que llegan hasta el final del cuerpo. En la zona posterior del cuerpo se observa la terminación espiniforme caudal característica del adulto.

Comentarios: La morfología de esta cercaria es similar a *P. oxyurus* descrita por Szidat (1957) en *H. parchappii* (citada como *Littoridina australis*) en la laguna de Chascomús y la redescrita por Wisniewski (1958) para *Bithynia tentaculata*. Etchegoin (1997) y Alda (2010) hallaron la misma cercaria en *H. conexa* en la laguna de Mar Chiquita y *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca, respectivamente. Los valores morfométricos de las cuatro cercarias descritas difieren considerablemente (tabla 13), siendo la cercaria aquí descrita de igual tamaño corporal que la descrita por Szidat (1957), pero de menor tamaño que la descrita por Etchegoin (1997) y de mayor tamaño que la descrita por Alda (2011). También difiere en la descrita por Etchegoin (1997) y Alda (2011) en la presencia de los divertículos medios en los túbulos colectores.

La metacercaria aquí descrita coincide con la morfología de las metacercarias descritas por Szidat (1957), Wisniewski (1958) y Alda (2010). La misma se encontró enquistada en el saco visceral del molusco de la misma especie que produce las cercarias. Las comparaciones de las medidas anatómicas, correspondientes a las cuatro registros de metacercarias descritas como *Metacercaria* aff. *Psilochasmus oxyurus*, se detallan en la tabla 14. Las metacercarias descritas por Szidat (1957), Wisniewski (1958) y Alda (2010) tienen un quiste de diámetro menor y un tamaño del cuerpo más corto que la metacercaria aquí descrita.

Tabla 13. Medidas comparativas de las redias y de las cercarias, correspondientes a *Cercaria* aff. *Psilochasmus oxyurus*, descritas por Szidat (1957), Wisniewski (1958), Etchegoin (1997), Alda (2010) y en el presente estudio.

	Szidat, 1957 <i>H. parchappii</i>	Wisniewski , 1958 <i>Bithynia tentaculata</i>	Etchegoin, 1997 <i>H. conexa</i>	Alda, 2011 <i>H. australis</i>	Parietti, 2018 <i>H. parchappii</i>
<i>cercaria</i>					
largo cuerpo	0,58	0,46-1,1	1,15 (1,05-1,22)	0,382 (0,350-0,423)	0,593 (0,426-0,710)
ancho cuerpo	0,22	0,12-0,3	0,48 (0,44-0,54)	0,132 (0,107-0,150)	0,251 (0,134-0,342)
largo ventosa oral	0,07 (diametro)	0,09-0,13 (diametro)	0,145 (0,14-0,15)	0,059 (0,057-0,060)	0,087 (0,073-0,097)
ancho ventosa oral	-		0,13 (0,12-0,15)	0,046 (0,037-0,050)	0,091 (0,081-0,097)
largo faringe	0,05 (diametro)	0,05 (diametro)	0,062 (0,06-0,068)	0,034 (0,030-0,037)	0,056 (0,052-0,061)
ancho faringe	-		0,047 (0,045-0,053)	0,027 (0,023-0,030)	0,058 (0,056-0,060)
largo esófago	-		-	0,083 (0,073-0,097)	-
ancho esófago	-		-	0,032 (0,027-0,040)	-
largo ciegos intestinales	-		-	0,188 (0,157-0,207)	-
ancho ciegos intestinales	-		-	0,010 (0,008-0,013)	-
largo v. ventral	0,15 (diametro)	0,16-0,2	0,3 (0,27-0,33)	0,063 (0,053-0,073)	0,128 (0,097-0,155)
ancho v. ventral	-	0,17-0,2	0,22 (0,18-0,24)	0,077 (0,067-0,083)	0,121 (0,103-0,155)
largo cola	0,55	0,53-0,77	0,75 (0,69-0,83)	0,336 (0,307-0,357)	0,564 (0,548-0,574)
ancho cola	-		0,13 (0,15-0,12)	0,032 (0,027-0,037)	0,076 (0,065-0,087)
<i>redia</i>					
largo total	0,95	1-1,9	1,89 (1,54-2,21)	1,538	0,907 (0,631-1,097)
ancho total	0,1	0,16-0,25	0,36 (0,32-0,41)	0,308	0,223 (0,187-0,265)
largo faringe	0,03 (diametro)	0,07 (diametro)	0,034 (0,03-0,038)	0,069	0,046 (0,039-0,055)
ancho faringe	-		0,042 (0,038-0,045)	0,092	0,056 (0,039-0,065)

Tabla 14. Medidas comparativas de las metacercarias, correspondientes a *Metacercaria* aff. *Psilochasmus oxyurus*, descritas por Szidat (1957), Wisniewski (1958), Alda (2010) y en el presente estudio.

	Szidat, 1957 <i>H. parchappii</i>	Wisniewski , 1958 <i>Bithynia tentaculata</i>	Alda, 2011 <i>H. australis</i>	Parietti, 2018 <i>H. parchappii</i>
diámetro quiste	0,25-0,35	0,33-0,35	0,268 (0,197-0,308)	0,372 (0,325-0,395)
pared quiste	-	0,025	0,010 (0,008-0,015)	0,025 (0,019-0,029)
largo cuerpo	-	0,7-0,8	0,897	1,016 (0,968-1,071)
ancho cuerpo	-	0,2-0,3	0,308 (0,183-0,397)	0,318 (0,290-0,356)
largo ventosa oral	-	0,12	0,117 (0,064-0,157)	0,15 (0,136-0,162)
ancho ventosa oral	-	0,1	0,088 (0,036-0,143)	0,131 (0,121-0,145)
largo ventosa ventral	-	0,21	0,176 (0,093-0,371)	0,286 (0,200-0,365)
ancho ventosa ventral	-	0,18	0,157 (0,087-0,237)	0,273 (0,200-0,362)
largo faringe	-	-	0,071 (0,059-0,087)	0,071 (0,065-0,077)
ancho faringe	-	-	0,073 (0,051-0,097)	0,070 (0,058-0,077)

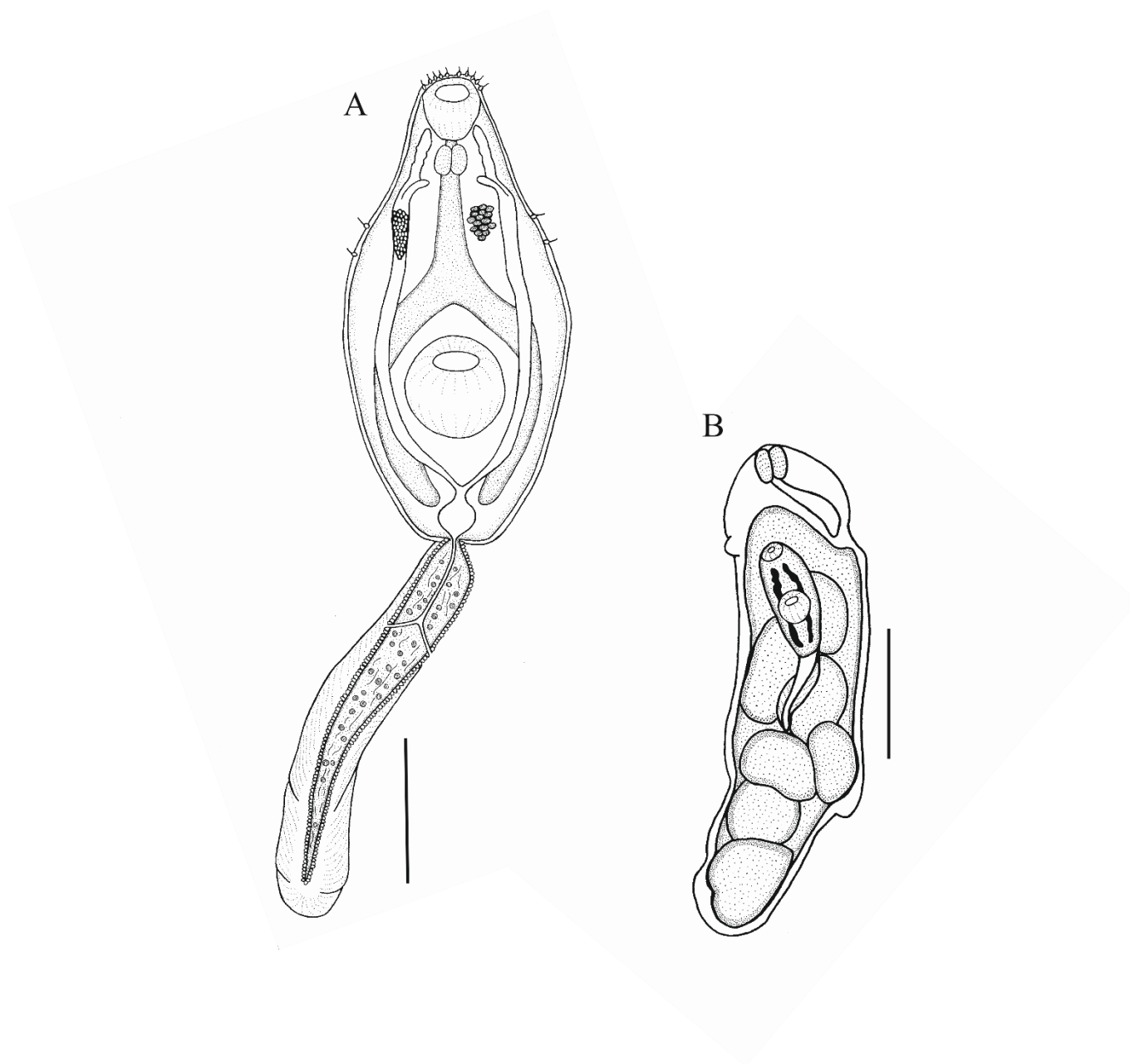


Figura 32. A-B. Cercaria aff. *Psilochasmus oxyurus*, **A.** Cercaria, **C.** Redia **Escalas:** **A y B:** 0,1 mm.

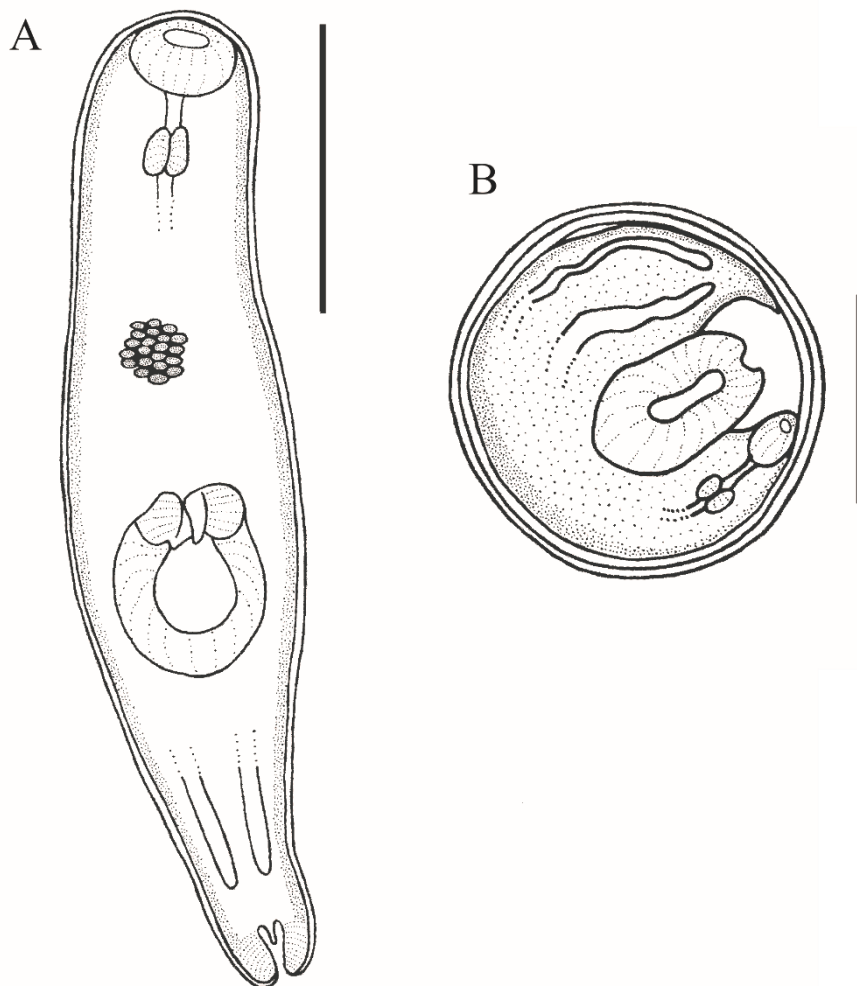


Figura 33. A-B. Metacercaria aff. *Psilochasmus oxyurus*, **A.** Metacercaria, **B.** Quiste.

Escalas: A y B: 0,1 mm.

PARTE II

Dinámica temporal y variación espacial de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *Heleobia parchappii* a lo largo de un gradiente costero en los arroyos La Tapera, El Alfar, Lobería y La Carolina

Introducción

Los parásitos son funcionalmente importantes en los ecosistemas, interviniendo a través de diferentes mecanismos y generando un profundo efecto sobre el resto de la fauna del ecosistema (Poulin, 1999). Muchos conservadores son conscientes de que el parasitismo es una de las principales causas de regulación poblacional en muchas especies (Anderson & May, 1979; Anderson & Gordon, 1982; Scott, 1988; Rousset *et al.*, 1996; Pape Moller, 2005) y es ampliamente aceptado que la introducción o eliminación de los parásitos en un ecosistema puede afectar en gran medida las interacciones entre un diverso rango de especies de la comunidad, afectando, así, a la biodiversidad (Torchin *et al.*, 2002; Lafferty & Kuris, 2005). En consecuencia, en la última década se ha prestado particular atención a entender la importancia ecológica de los parásitos en los diferentes ecosistemas y generar estrategias apropiadas para la conservación de la biodiversidad (Thomas *et al.*, 2005; Collinge & Ray, 2006; Hudson *et al.*, 2006).

Los ecólogos han diferenciado tres componentes en la diversidad de especies: la riqueza de especies local (alfa-diversidad α), la riqueza de especies regional (gamma-diversidad γ) y el recambio espacial (beta-diversidad β). Estos tres componentes de la diversidad se hallan interrelacionados, de modo que la identificación de la alfa-diversidad (α), la variación de especies entre zonas (β) y la identificación de los factores bióticos y abióticos que modelan esta diversidad, nos permitiría definir el pool regional de especies (γ) (Koleff, 2005). Entonces, la beta-diversidad podría definirse como el recuento de

especies compartida entre distintas áreas, y el patrón de ganancia y pérdida de estas (Koleff & Gaston, 2002).

Harrison *et al.* (1992) sugieren que la beta-diversidad puede estar asociada, no solo con la productividad del ambiente, sino también con la riqueza del pool regional de especies que pueden derramar, mejorando así la riqueza tanto dentro (α) como entre (β) las comunidades. Dado que los parásitos dependen de sus hospedadores para completar sus ciclos de vida, se espera que la capacidad de dispersión de los hospedadores que forman parte de su ciclo de vida resulte de vital importancia en el recambio de especies entre ambientes (beta-diversidad) (Thieltges *et al.*, 2011). Conjuntamente a estos factores, Rocchini (2007) plantea que la beta-diversidad entre dos puntos debería incrementarse a medida que aumenta la distancia espacial entre los mismo, fenómeno conocido como relación distancia-disminución o “distance-decay relationship” (Morlon, *et al.*, 2008). Los estudios parasitológicos asociados a esta temática incluyen principalmente a los hospedadores vertebrados y, en menor medida, a los invertebrados (Oliva & González, 2005; Poulin, 2003; 2010a; 2010b; Thieltges *et al.*, 2009; Timi *et al.*, 2010; Merlo, 2013).

Los digeneos larvales han sido considerados como bioindicadores de fluctuaciones ambientales, debido a que requieren dos o más hospedadores para completar sus ciclos de vida, y a que su abundancia y diversidad se encuentran influenciados por disturbios ambientales. Esto, sumando a la necesidad de utilizar las tramas tróficas para el desarrollo y dispersión de sus ciclos de vida, indicaría que un ensamble diverso de digeneos en hospedadores moluscos sería el resultado de una fauna diversa y abundante de hospedadores definitivos e intermediarios (Lafferty, 1997; Huspeni *et al.*, 2005; Marcogliese, 2005; Lafferty *et al.*, 2006). Es interesante destacar que para acceder a la información acerca de la diversidad faunística en un área, basta con la identificación a nivel de familia de las cercarias, lo cual permite tipificar el hospedador intermediario

secundario (crustáceo, pez, etc.) y los hospedadores definitivos (ave, pez, reptil, anfibio o mamífero) que utiliza el digeneo para completar su ciclo de vida (Merlo, 2013).

Heleobia parchappii presenta una distribución geográfica amplia el norte y centro de la República Argentina (Rumi *et al.*, 2008), habitando ambientes heterogéneos a lo largo de un gradiente latitudinal. Conjuntamente a esta amplia distribución, presenta una variada fauna parasitaria, siendo un posible hospedador intermediario de al menos 23 especies de digeneos. Estas características son esenciales para detectar y analizar la influencia de los parámetros ambientales sobre los ensambles de digeneos larvales, pudiendo localizar así, zonas de reemplazo de especies, áreas de fragmentación y de impacto antrópico (Merlo, 2013).

Dada la carencia de conocimiento del sistema molusco-digeneo en *H. parchappii* en ambientes lóticos, para esta parte se plantearon los siguientes objetivos:

1. Analizar la variabilidad temporal de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *H. parchappii* en los arroyo La Tapera, El Alfar, Lobería y La Carolina (alfa-diversidad α)
2. Analizar la variabilidad espacial de la abundancia y diversidad de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *H. parchappii* en un gradiente costero de 65 km en los arroyos La Tapera, El Alfar, Lobería y La Carolina (beta-diversidad β)
3. Determinar si la similitud en la composición de especies de los ensambles de digeneos larvales de *H. parchappii* decae con el aumento de la distancia espacial.
4. Identificar y analizar los factores bióticos y abióticos que contribuyen a estructurar temporalmente los ensambles de digeneos larvales de *H. parchappii* dentro de cada arroyo y a lo largo de este gradiente costero.

Materiales y métodos

Sitios de muestreo:

Para las tareas de muestreo se seleccionaron 4 arroyos ubicados en el sudeste de la Provincia de Buenos Aires (Fig. 34). Los mismos fueron seleccionados en función de la presencia del molusco a muestrear y la accesibilidad al sitio de muestreo. En todos los casos se seleccionó el lugar más cercano a la línea de costa para tomar las muestras. El arroyo La Tapera ($37^{\circ}56'42,11''\text{S} - 57^{\circ}32'24''\text{O}$) (Fig. 35) se ubica en el límite norte de la ciudad de Mar del Plata en cercanías al Parque Camet y el sitio de muestreo a 0,73 km en línea recta de la costa. El arroyo El Alfar ($38^{\circ}05'32,15''\text{S} - 57^{\circ}33'37,96''\text{O}$) (Fig. 36) se ubica en el límite sur de la ciudad de Mar del Plata en el barrio El Alfar y el sitio de muestreo a 1,39 km en línea recta a la costa. El arroyo Lobería ($38^{\circ}09'59,75''\text{S} - 57^{\circ}38'17,77''\text{O}$) (Fig. 37) se ubica en el barrio Playa Chapadmalal a 19,40 km de la zona céntrica de la ciudad de Mar del Plata y el sitio de muestreo a 0,81 km en línea recta a la costa. El arroyo La Carolina ($38^{\circ}20'11,44''\text{S} - 57^{\circ}59'25,06''\text{O}$) (Fig. 38) se ubica en la zona norte del acceso a la ciudad de Mar del Sud, a 54,58 km de la ciudad de Mar del Plata y el sitio de muestreo a 1,33 km en línea recta a la costa.

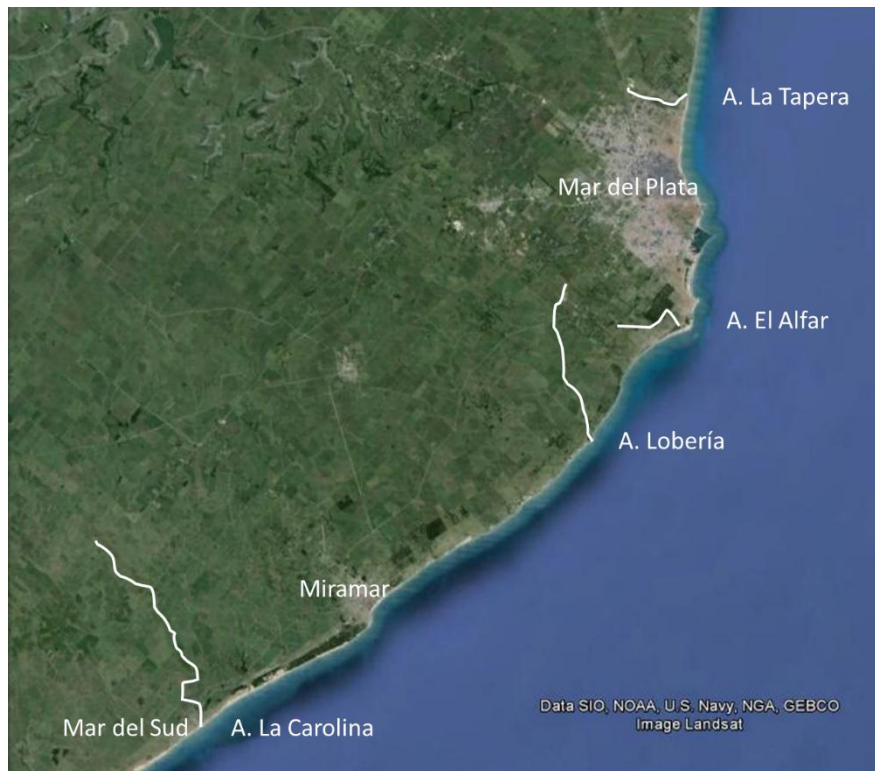


Fig. 34. Ubicación geográfica y de los sitios de muestreo de *H. parchappii* en los cuatro arroyos seleccionados.



Fig. 35. Fotografía panorámica del arroyo La Tapera y específicamente del sitio costero de donde se tomaron las muestras.



Fig. 36. Fotografías panorámica del arroyo El Alfaro.



Fig. 37. Fotografías panorámica del arroyo Lobería.



Fig. 38. Fotografías panorámica del arroyo La Carolina.

Muestreos:

Las tareas de muestreo se realizaron estacionalmente durante el año 2014 para los arroyos La Tapera, El Alfar, Lobería y La Carolina. En cada estación, se realizó un viaje de campaña y en cada ocasión se tomaron 5 muestras de 60 caracoles, las cuales fueron utilizadas como réplicas en los análisis estadísticos posteriores. En cada muestreo se utilizó un termómetro digital para medir la temperatura, una varilla métrica de aluminio para medir la altura de la columna del agua, un disco de Secchi para medir la turbidez de los arroyos, el ancho y la velocidad del cauce de los arroyos. La metodología de muestreo en el laboratorio, manutención de los especímenes y detección de los estadios larvales se detallan en la introducción (pág. 17). Las cercarias, los esporocistos y las redias detectadas se detallan en el Capítulo 3, Parte I.

Análisis estadísticos:

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

Heterogeneidad espacial:

Se comparó la prevalencia parasitaria anual entre los arroyos mediante un análisis de la covarianza (ANOVA), utilizando la talla de los caracoles como co-variable. La prevalencia anual de cada arroyo fue calculada como el promedio de la prevalencia de cada una de las muestras analizadas durante todo el año. También se realizó un análisis de covarianza de dos vías (ANCOVA) para analizar la dinámica temporal de la prevalencia parasitaria dentro de cada arroyo y comparar la prevalencia parasitaria espacial entre los cuatro arroyos muestreados a lo largo del gradiente costero. La talla de

los moluscos fue utilizada como co-variable, y el lugar de muestreo y la estación del año como variables a analizar. Cuando se detectaron diferencias significativas, los valores de prevalencia se compararon con el test de Tukey. Dado que los datos no cumplían los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas, los mismos fueron modificados con $\ln(x+1)$.

La riqueza específica promedio se analizó estacionalmente para cada arroyo y espacialmente entre los arroyos durante todo el año de muestreo con un análisis de varianza (ANOVA). Cuando el análisis arrojó diferencias significativas, los valores de riqueza se compararon mediante la prueba de Tukey.

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

Para cada una de las estaciones de cada arroyo se construyó una matriz de similitud utilizando datos de presencia-ausencia de especies de digeneos mediante el índice de Jaccard. También, se calculó la matriz de similitud utilizando las prevalencias de cada especie de digeneo utilizando el índice de Bray-Curtis. Con cada una de estas matrices, se realizó el análisis multivariado de la dinámica temporal de los ensambles de digeneos larvales en *H. parchappii*, mediante el test PERMANOVA, un test no paramétrico cuyos

cálculos se basan en permutaciones. Cuando se analizó por medio de este test la matriz construida mediante el índice de Bray-Curtis se utilizó la talla de los caracoles como covariable. Dado que el test PERMANOVA es sensible a la dispersión dentro de los grupos, en aquellos casos en los que se detectaron diferencias significativas en la similitud, la dispersión fue estudiada siguiendo la rutina PERMDISP. Para cada una de las estaciones, además, se calcularon los porcentajes de similitud en la composición de especies de digeneos (utilizando la matriz de similitud calculada con datos de presencia/ausencia) dentro y entre las muestras mediante la rutina SIMPER. Estos análisis multivariados no paramétricos (PERMANOVA, PERMDISP y SIMPER) se realizaron con el programa PRIMER v6.1 (Clarke & Warwick, 2001; Clarke & Gorley, 2006) con el programa adicional PERMANOVA + add on (Anderson *et al.*, 2008).

Biodiversidad:

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

La determinación de la tasa de variación de la similitud de la composición de especies en función de la distancia geográfica se realizó mediante un análisis de regresión lineal. En base a la ecuación de regresión obtenida para los análisis realizados en cada estación y para el total de los datos, se calculó la distancia media (*halving distance*)

necesaria para que la similitud decaiga a la mitad de la similitud inicial. La distancia media se calculó según la siguiente fórmula: $(\text{valor de la pendiente de la recta de regresión} - \text{valor de la ordenada al origen de la recta de regresión}) / (2 \times \text{valor de la pendiente de la recta de regresión})$ (Soininen *et al.*, 2007). La similitud inicial se obtiene del valor de la ordenada al origen de la recta de regresión.

La distancia geográfica entre los arroyos fue calculada utilizando la función de medición del Google Earth.

Factores abióticos y bióticos:

Las variables ambientales (profundidad de la columna de agua, temperatura del agua, turbidez, ancho del cauce y velocidad del agua) y las características biológicas del hospedador molusco (densidad y tallas de individuos) se analizaron conjuntamente con la prevalencia parasitaria en un análisis de correlación de Pearson para cada arroyo individualmente.

A su vez, se compararon las variables ambientales (profundidad de la columna de agua, temperatura del agua, turbidez, ancho del cauce y velocidad del agua) y las características biológicas del hospedador molusco (densidad y tallas de los individuos) estacionalmente y espacialmente entre los cuatro arroyos con un análisis de varianza de dos vías (ANOVA), en los cuales se utilizaron el lugar de muestreo y la estación del año como variables a analizar. Cuando se detectaron diferencias significativas, los valores se compararon con el test de Tukey.

Para evaluar la relación entre las variables abióticas medidas en cada arroyo y la prevalencia parasitaria de cada estación del año de cada arroyo, se realizó un Análisis de Correspondencia Canónico (CCA). La diferencia estadística se evaluó a partir del test irrestricto de Monte Carlo (full model) involucrando 999 permutaciones a $P < 0,001$. El CCA fue desarrollado utilizando CANOCO 4.0 (ter Braak & Smilauer, 1998).

Resultados

Variabilidad espacial de los ensambles de digeneos larvales

Se examinaron 1200 ejemplares de *H. parchappii* por arroyo, identificándose 10 especies de digeneos pertenecientes a siete familias para el arroyo La Tapera, ocho especies de digeneos pertenecientes a siete familias para el arroyo El Alfar, 10 especies de digeneos pertenecientes a seis familias para el arroyo Lobería y nueve especies de digeneos pertenecientes a seis familias para el arroyo La Carolina (Capítulo 3, Parte I, Tabla 12).

El estudio de la prevalencia parasitaria anual realizado mediante un análisis de covarianza (ANCOVA) indicó que no existe un efecto de la talla (co-variable) sobre la prevalencia anual ($F_{1;75}=3,92$; $P=0,0513$) pero si existieron diferencias significativas entre los arroyos ($F_{3;75}=92,06$; $P<0,0001$). El análisis de a pares indicó que los cuatro arroyos resultaron significativamente diferentes entre sí ($P<0,05$, para todos los casos), en el cual el arroyo La Carolina presentó los valores de prevalencia más altos, seguido por el arroyo Lobería, luego el arroyo La Tapera, y el arroyo El Alfar presentó los valores más bajos de prevalencia anuales (Fig. 39).

Al comparar la prevalencia parasitaria estacional dentro de cada arroyo y la prevalencia espacial entre los cuatro arroyos muestreados, el análisis de covarianza de dos vías (ANCOVA) indicó que no existe efecto de la talla como covariable ($F_{1;63}=2,3$; $P=0,1347$) y se encontró una interacción entre las dos variables analizadas, la estación del año y arroyo muestreado, indicando diferencias significativas ($F_{9;63}=3,26$; $P=0,0026$).

El análisis de a pares realizado *a posteriori* indicó que dentro de cada arroyo no existieron diferencias entre las estaciones, presentando cada arroyo homogeneidad en sus valores de prevalencia parasitaria durante todo el año (Fig. 39).

Cuando se comparan los valores de prevalencia parasitaria entre todos los arroyos para las cuatro estaciones, el análisis de a pares realizado *a posteriori* presentó los siguientes resultados (Fig. 39):

- Otoño: el arroyo El Alfar tuvo prevalencias significativamente menores que los otros tres arroyos analizados, La Tapera, Lobería y La Carolina ($P < 0,05$, para todos los casos).
- Invierno: el arroyo El Alfar también presentó valores de prevalencia menores que los otros tres arroyos analizados, y el arroyo La Tapera resultó significativamente menor que el arroyo La Carolina ($P < 0,05$, para todos los casos).
- Primavera y verano: los arroyos El Alfar y La Tapera fueron significativamente menores en sus valores de prevalencia parasitaria que los arroyos Lobería y La Carolina en las dos estaciones ($P < 0,05$, para todos los casos).

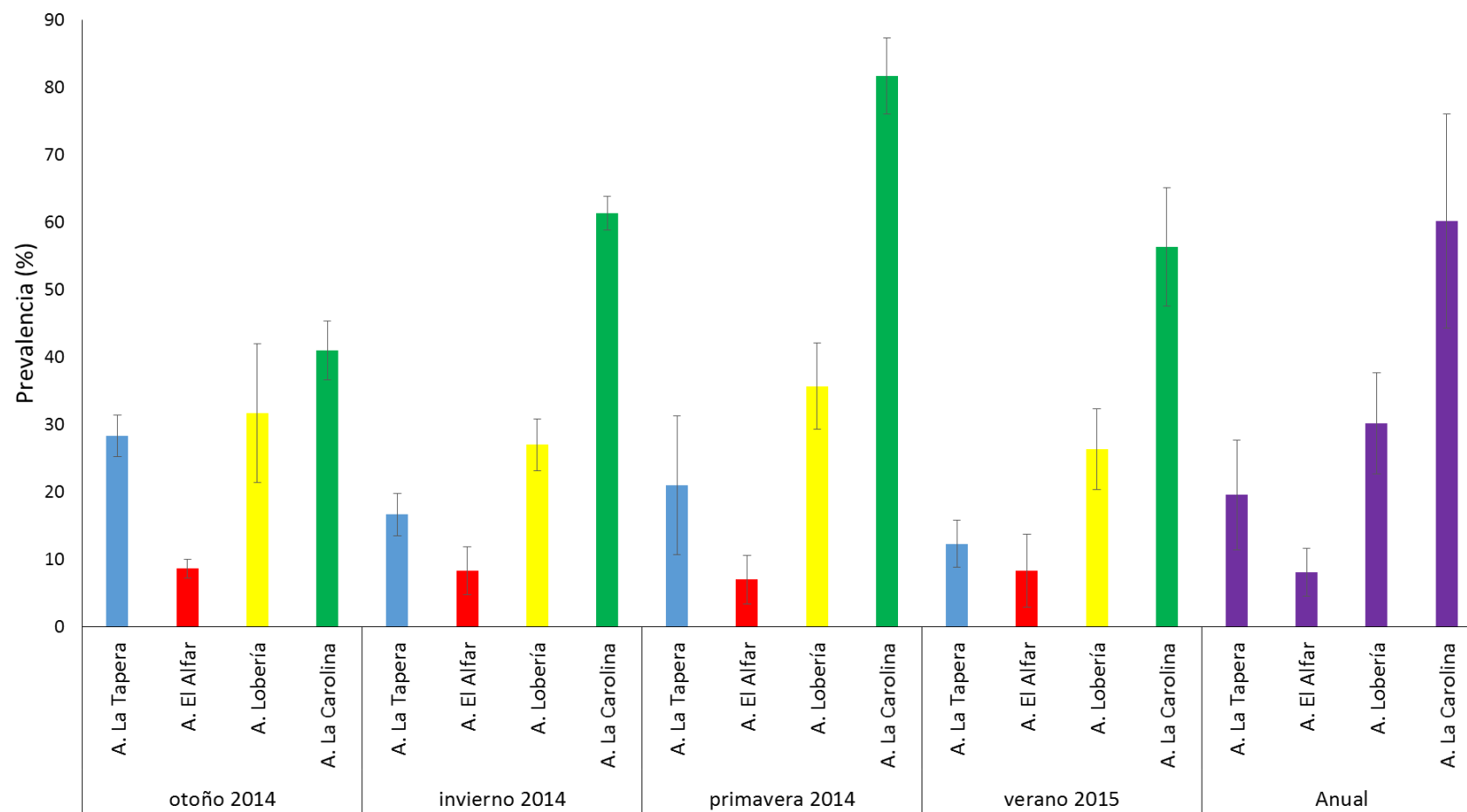


Fig. 39. Valores estacionales de la prevalencia parasitaria ($\pm$ desvío estándar) de los digeneos larvales que parasitan a *H. parchappii* en los arroyos La Tapera, El Alfar, Lobería y La Carolina

Al analizar los valores de riqueza específica estacional con el análisis de covarianza de dos vías (ANCOVA) se encontró una interacción entre las dos variables analizadas, la estación del año y el arroyo muestreado ($F_{9;64}=3,74$; $P=0,0008$).

El análisis de a pares realizado *a posteriori* indicó que dentro de cada arroyo no existieron diferencias entre las estaciones, presentando cada arroyo homogeneidad en sus valores de riqueza específica durante todo el año (Fig. 40).

Cuando se comparan los valores de riqueza específica entre todos los arroyos para las cuatro estaciones, el análisis de a pares realizado *a posteriori* presentó los siguientes resultados (Fig. 40):

- Otoño: los valores de riqueza registrados en el arroyo El Alfar resultaron significativamente menor que los registrados en los arroyos La Tapera y La Carolina ($P<0,05$, para todos los casos).
- Invierno: el arroyo El Alfar presentó valores significativamente menores en la riqueza específica que los arroyos Lobería y La Carolina ($P<0,05$, para todos los casos).
- Primavera: los arroyos El Alfar y La Tapera presentaron valores significativamente menores que los arroyos Lobería y La Carolina ($P<0,05$, para todos los casos).
- Verano: los arroyos El Alfar y La Tapera presentaron valores significativamente menores de riqueza específica que el arroyo La Carolina ($P<0,05$, para todos los casos).

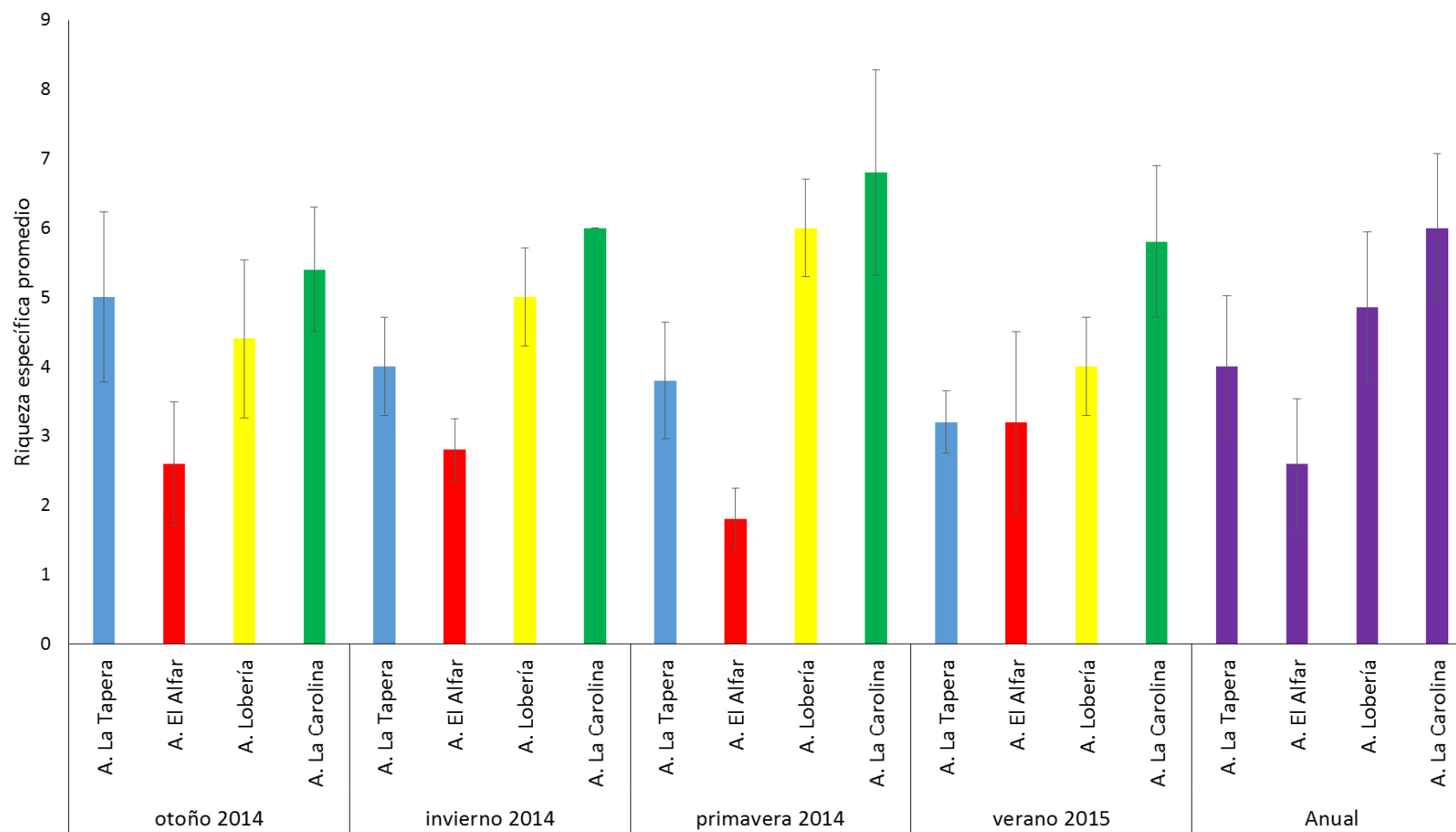


Fig. 40. Valores estacionales de la riqueza específica promedio ($\pm$ desvío estándar) de los digeneos larvales que parasitan a *H. parchappii* en los arroyos La Tapera, El Alfár, Lobería y La Carolina.

Análisis multivariado de la dinámica estacional de los ensambles de digeneos larvales dentro de cada arroyo analizado

- Arroyo La Tapera:

En el arroyo La Tapera el análisis multivariado de la heterogeneidad temporal de la prevalencia evaluado por el PERMANOVA, reveló un efecto significativo de la talla como covariable sobre la variable de estudio (PseudoF=3,3988; P(perman)=0,018) y diferencias entre las estaciones de estudio (PseudoF=2,8101; P(perman)=0,003). El análisis de a pares posterior indico que el otoño es significativamente diferente que la primavera ($P < 0,05$) pero no con el invierno ni el verano. El test PERMDISP no indicó diferencias ($F=3,645$; P(perman)=0,075) por lo que las diferencias encontradas entre las estaciones no pueden explicarse por una gran dispersión en los datos.

Por su parte, el análisis multivariado no paramétrico de la riqueza (PERMANOVA) indicó diferencias significativas entre las estaciones (PseudoF=2,7239; P(perman)=0,007), pero el análisis de a pares indicó que el verano es solo significativamente diferente del otoño y el invierno ($P < 0,005$, para ambos casos). Nuevamente, el test PERMDISP no indicó diferencias significativas en la dispersión de los datos ($F=2,0234$; P(perman)=0,242).

De acuerdo a la rutina SIMPER la estación menos homogénea de este arroyo fue el verano, con una similitud de 56,67%, siendo el resto de las estaciones similarmente homogéneas con más de un 70% de similitud. Las especies que más contribuyeron a esta similitud fueron la C27 y C30, que combinadas explican más del 50% de la similitud. Las estaciones que tuvieron mayor disimilitud (baja similitud) fueron el otoño y el verano, con un 52,22% de disimilitud y explicado por las especies C2 y C21 en más de un 50%.

- Arroyo El Alfar:

El análisis multivariado de la heterogeneidad temporal de la prevalencia realizado en el arroyo El Alfar y evaluado por el PERMANOVA, indicó que no se detecta un efecto significativo de la talla como covariable sobre la variable de estudio (PseudoF=1,3921; P(perm)=0,258). Sin embargo si detectó diferencias significativas entre las estaciones de estudio (PseudoF=2,1906; P(perm)=0,005). El análisis de a pares posterior indico que el que el otoño es significativamente diferente que la primavera y que el verano ($P < 0,05$, para ambos casos). El test PERMDISP, a su vez, también indicó diferencias significativas ($F=5,4631$; P(perm)=0,019) por lo que las diferencias encontradas entre las estaciones podrían explicarse por una gran dispersión en los datos, a un efecto temporal o a una combinación de ambos factores.

Por su parte, el análisis multivariado no paramétrico de la riqueza específica (PERMANOVA) también indicó diferencias significativas entre las riquezas de las estaciones (PseudoF=1,8292; P(perm)=0,042), pero el análisis de a pares indicó que el verano fue significativamente diferente del invierno ($P < 0,005$). El test PERMDISP no indicó diferencias significativas en la dispersión de los datos ($F=2,8087$; P(perm)=0,157).

De acuerdo a la rutina SIMPER la estación menos homogénea de este arroyo fue la primavera, con una similitud de 25%, y la más homogénea el invierno, con un 69%. La especie que más contribuyó a esta similitud en ambos casos fue la C20, que explica más del 50% de la similitud. Las estaciones que tuvieron mayor disimilitud (baja similitud) fueron la primavera con el otoño y el verano, con un 75,73% y 74,27% respectivamente, explicado por las especies C20 y C21 y por las especies C20, C10 y C12 en más de un 50%.

- Arroyo Lobería:

El análisis multivariado de la heterogeneidad temporal de la prevalencia realizado en el arroyo Lobería (PERMANOVA), indicó que existe un efecto significativo de la talla

como covariable sobre la variable de estudio (PseudoF=11,865; P(perman)=0,001) y detectó diferencias significativas entre las estaciones de estudio (PseudoF=4,2243; P(perman)=0,001). El análisis de a pares realizado *a posteriori* indicó que solo el otoño difirió significativamente del verano ($P < 0,05$). El test PERMDISP, por su parte, no indicó diferencias significativas ($F=0,4069$; P(perman)=0,761) por lo que las diferencias encontradas entre las estaciones no podrían deberse a una gran dispersión en los datos.

Por su parte, el análisis multivariado no paramétrico para la riqueza específica (PERMANOVA) indicó también diferencias significativas entre las estaciones (PseudoF=2,0937; P(perman)=0,043) y el análisis de a pares indicó que el verano fue significativamente menor que el otoño y que la primavera ($P < 0,05$, para ambos casos). El test PERMDISP no indicó diferencias significativas ($F=1,6711$; P(perman)=0,292), por lo que las diferencias encontradas entre las estaciones no podrían deberse a una gran dispersión en los datos.

De acuerdo a la rutina SIMPER todas las estaciones del año fueron altamente homogéneas, con una similitud mayor al 75% en las cuatro estaciones, y siendo las especies C1, C20 y C30 las especies que más contribuyen a esta similitud. Las estaciones que tuvieron mayor disimilitud (baja similitud) fueron el verano con el otoño y con la primavera con un 23% y 24,84% respectivamente, explicado por las especies C2 y C18 en ambos casos. Por otro lado, las estaciones con menor disimilitud fueron el invierno con el otoño y el verano con un 15,49% y 16,70% respectivamente y explicado por las especies C2, C18 y C31.

- Arroyo La Carolina:

El análisis multivariado de la heterogeneidad temporal de la prevalencia realizado para el arroyo La Carolina y evaluado por el PERMANOVA, indicó un efecto significativo de la talla como covariable sobre la variable de estudio (PseudoF=7,4102;

$P(\text{perm})=0,001$) y diferencias significativas entre las estaciones de estudio ($\text{PseudoF}=12,69$; $P(\text{perm})=0,001$). El análisis de a pares posterior indico que el invierno fue significativamente diferente del otoño y la primavera, y el otoño fue significativamente diferente del verano ($P<0,05$, para todos los casos). El test PERMDISP no indicó diferencias significativas ($F=1,5645$; $P(\text{perm})=0,344$) por lo que las diferencias encontradas entre las estaciones no se deben a la dispersión en los datos.

Por su parte, el análisis multivariado no paramétrico realizado para la riqueza específica (PERMANOVA) indicó diferencias significativas entre las estaciones ($\text{PseudoF}=5,4879$; $P(\text{perm})=0,001$) y que el otoño y la primavera fueron iguales, siendo el resto de las comparaciones entre las estaciones significativamente diferentes entre sí ($P<0,05$, para todos los casos). El test PERMDISP no indicó diferencias significativas en la dispersión de los datos ($F=3,116$; $P(\text{perm})=0,251$).

De acuerdo a la rutina SIMPER todas las estaciones fueron altamente homogéneas, con valores mayores al 77%. Las especies que más contribuyeron a esta similitud fueron la C27, C18, C1, C12, C2 y C30, que juntas explica más del 50%. Las estaciones que tuvieron mayor disimilitud (baja similitud) fueron la primavera con el verano, con un 39,83% respectivamente, explicado por las especies C2, C8 y C10 en más de un 50%.

Similitud en la composición de los ensambles de digeneos larvales y la distancia geográfica

Las distancias geográficas calculadas mediante la función de medición del Google Earth arrojó los siguientes resultados: La Tapera-El Alfar 17 km, La Tapera-Lobería 28 km, La Tapera-La Carolina 64 km, El Alfar-Lobería 11 km, El Alfar-La Carolina 47 km y Lobería-La Carolina 36 km.

Los análisis de regresión lineal revelaron que la similitud de los ensambles de digeneos larvales disminuye con el aumento de la distancia geográfica en los ensambles de *H. parchappii* en ambientes lóticos. Esta relación negativa se observó en las cuatro estaciones de año y cuando se utilizaron como único set de datos (Tabla 15, Fig. 41). La similitud inicial de los ensambles de digeneos larvales se mantuvo constante en otoño, primavera y verano; no así la distancia geográfica necesaria para que dicha similitud descienda al 50%, que varió entre 135,92 km en verano y 368,38 km en otoño (Tabla X.).

Estación	Ecuación de regresión	P	R ²	Similitud inicial (%)	Distancia media (km)
Otoño	Sim= -0,066 D +48,56	<0,001	0,36	48,56	368,38
Invierno	Sim= -0,2228 D +64,019	<0,001	0,38	64,019	140,89
Primavera	Sim= -0,0778 D +41,849	<0,001	0,46	41,849	269,45
Verano	Sim= -0,1555 D +42,115	<0,001	0,16	42,115	135,92
Total	Sim= -0,1308 D +49,136	<0,001	0,26	49,136	188,33

Tabla 15. Relación entre la similitud de los ensambles de digeneos larvales (Sim) y la distancia geográfica (D). Coeficiente de regresión (R²).

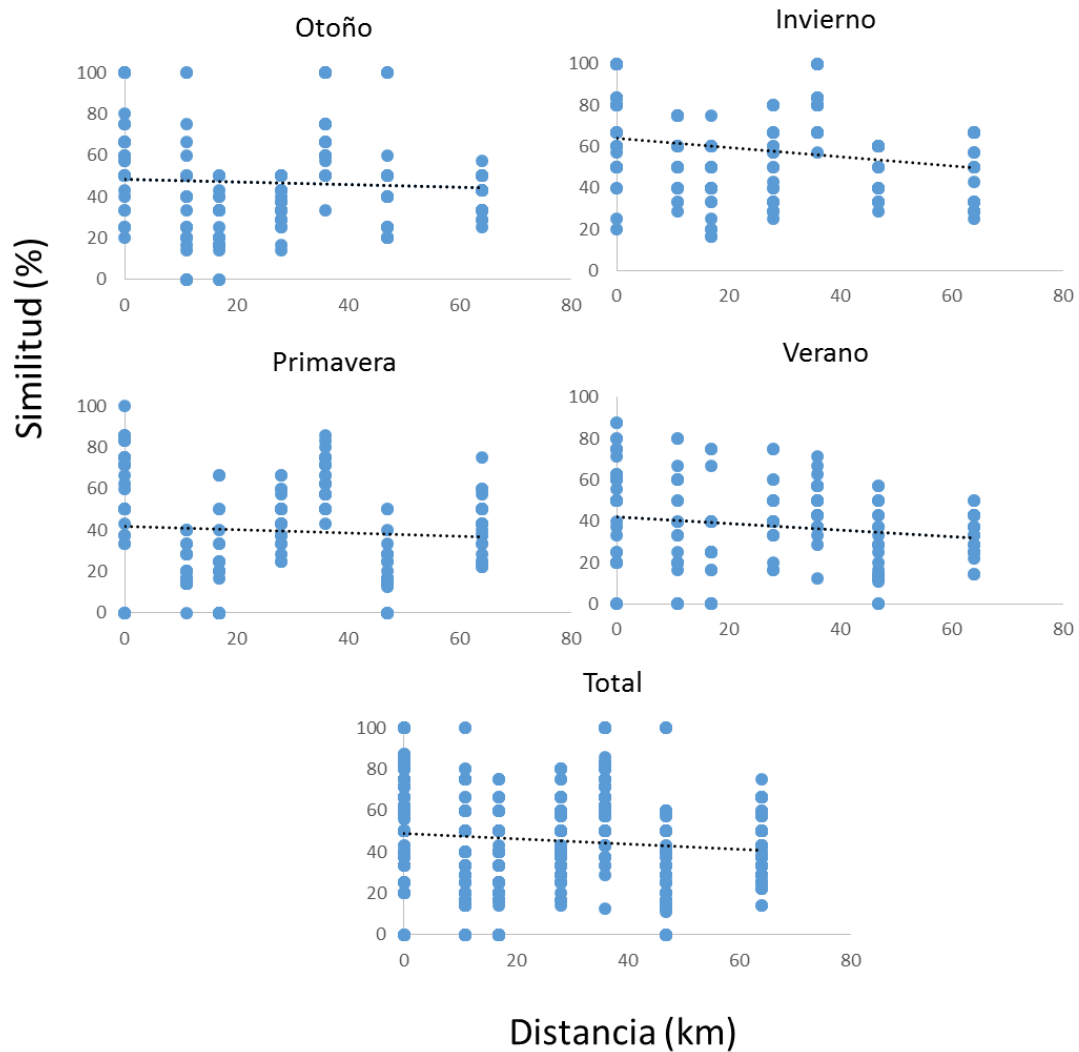


Fig. 41. Relación total y estacional entre la similitud de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *H. parchappii* y la distancia geográfica entre los arroyos.

Factores abióticos y bióticos como posibles estructuradores de los ensambles de digeneos larvales a escala estacional en cada uno de los cuatro arroyos estudiados y en el gradiente costero analizado.

Los factores abióticos analizados en los cuatros arroyos fueron la profundidad de la columna de agua (cm), la temperatura del agua (°C), la turbidez del arroyo (cm), el ancho del cauce del arroyo (mt) y la velocidad del agua del arroyo (mt/seg). A su vez se analizó

la densidad del hospedador como posible factor estructurador. A continuación se detallan los índices de correlación de Pearson para cada uno de los arroyos:

- Arroyo La Tapera: solo se encontró una correlación positiva entre la prevalencia parasitaria y la turbidez del agua, no así con el resto de los factores abióticos analizados o con la densidad de moluscos (Tabla 16, Fig. 42).
- Arroyo El Alfar y Lobería: no se encontró ninguna correlación con los factores abióticos analizados y tampoco con la densidad de moluscos (Tabla 16, Fig. 43 y 44).
- Arroyo La Carolina: se detectó una correlación positiva entre la temperatura del agua y la prevalencia parasitaria, no así con el resto de los factores abióticos analizados y con la densidad de moluscos (Tabla 16, Fig. 45)

Arroyo La Tapera

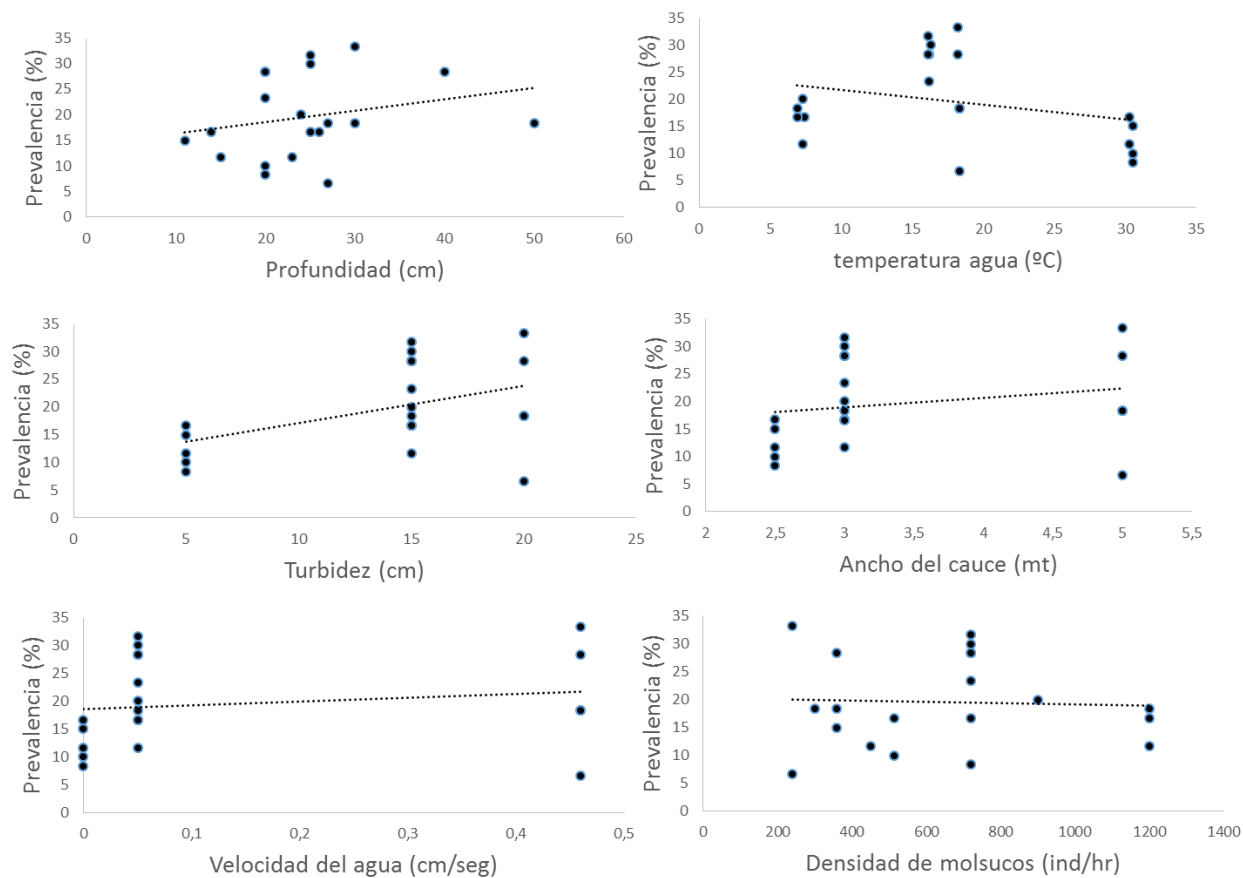


Fig. 42. Relación entre los factores abióticos (profundidad, temperatura del agua, turbidez, ancho del cauce y velocidad del agua) y bióticos (densidad del molusco) con la prevalencia parasitaria de los digeneos larvales que parasitan a *H. parchappii* en el arroyo La Tapera.

Arroyo El Alfar

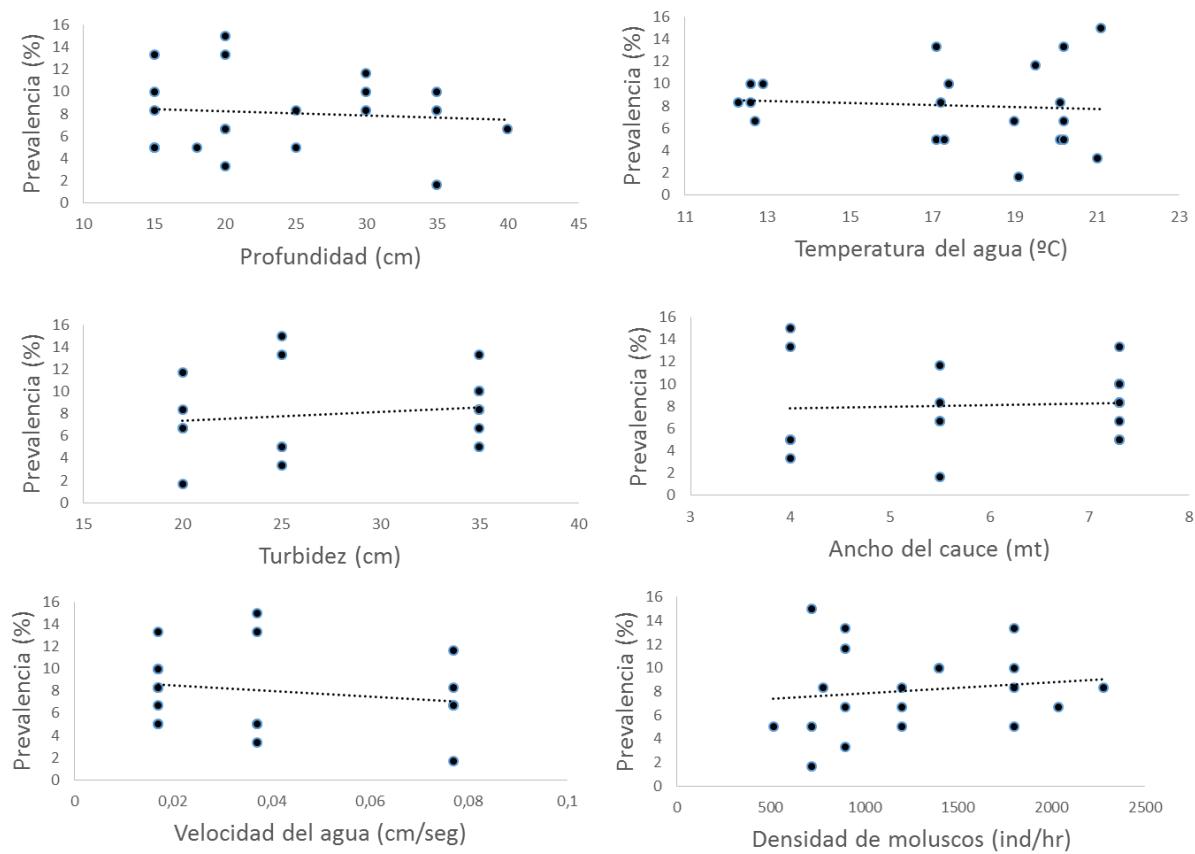


Fig. 43. Relación entre los factores abióticos (profundidad, temperatura del agua, turbidez, ancho del cauce y velocidad del agua) y bióticos (densidad del molusco) con la prevalencia parasitaria de los digeneos larvales que parasitan a *H. parchappii* en el arroyo El Alfar.

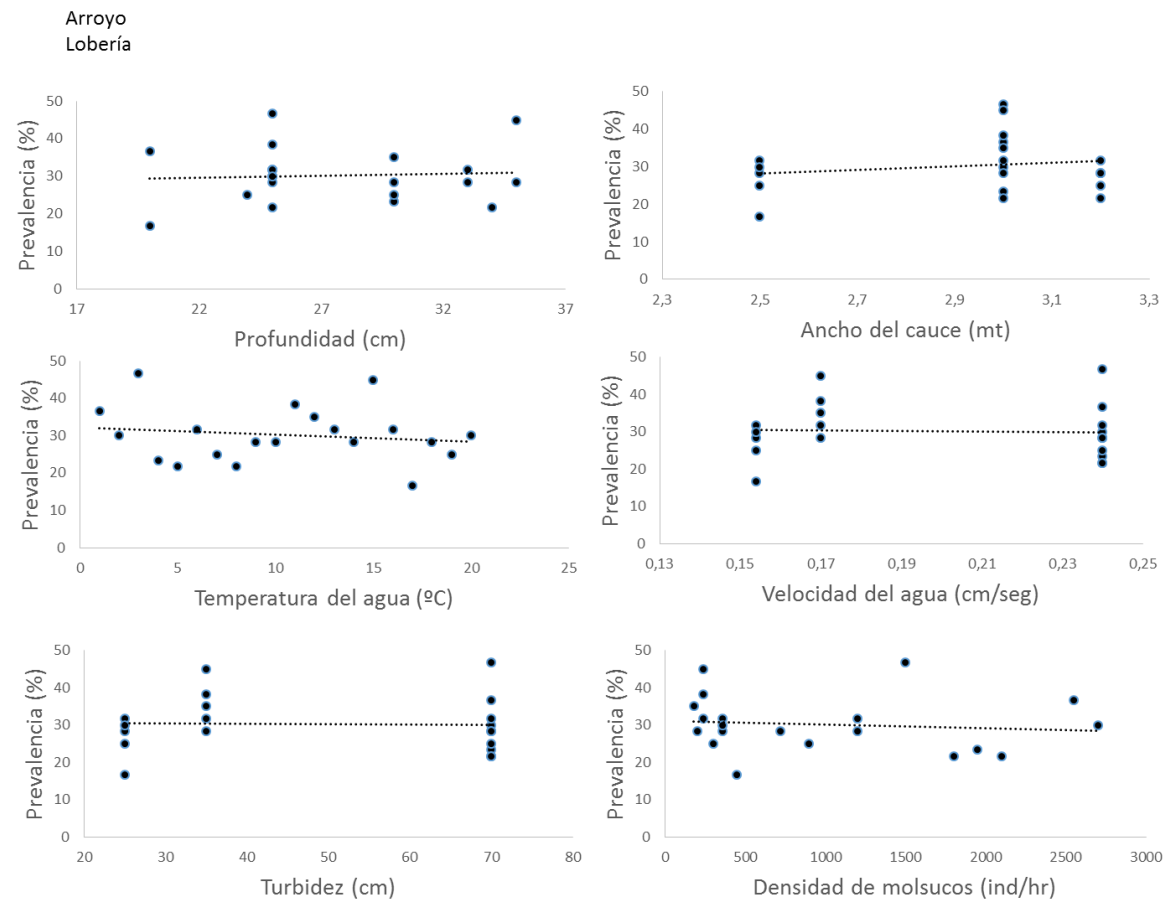


Fig. 44. Relación entre los factores abióticos (profundidad, temperatura del agua, turbidez, ancho del cauce y velocidad del agua) y bióticos (densidad del molusco) con la prevalencia parasitaria de los digeneos larvales que parasitan a *H. parchappii* en el arroyo Lobería.

Arroyo La Carolina

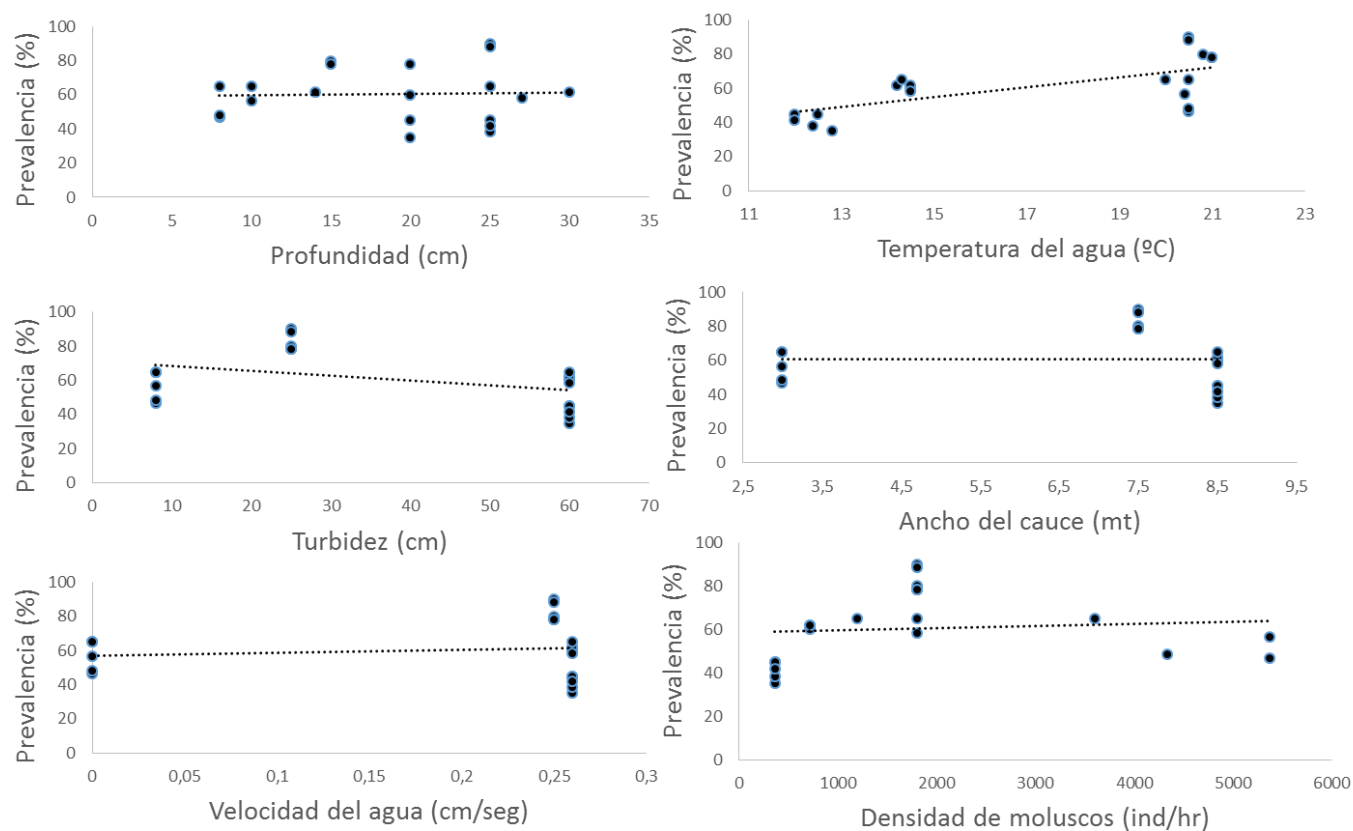


Fig. 45. Relación entre los factores abióticos (profundidad, temperatura del agua, turbidez, ancho del cauce y velocidad del agua) y bióticos (densidad del molusco) con la prevalencia parasitaria de los digeneos larvales que parasitan a *H. parchappii* en el arroyo La Carolina.

	Profundidad (cm)		Temperatura agua (°C)		Turbidez (cm)		Ancho cauce (mt)		Velocidad del agua (cm/seg)		Densidad de moluscos (ind/hr)	
A. La Tapera	R=0,24	P=0,31	R=-0,28	P=0,22	R=0,46	P=0,04	R=0,21	P=0,37	R=0,16	P=0,50	R=-0,04	P=0,86
A. El Alfar	R=-0,09	P=0,71	R=-0,08	P=0,74	R=0,15	P=0,52	R=0,06	P=0,80	R=-0,18	P=0,45	R=0,14	P=0,55
A. Lobería	R=0,07	P=0,77	R=0,03	P=0,92	R=-0,03	P=0,89	R=0,17	P=0,48	R=-0,05	P=0,84	R=-0,11	P=0,64
A. La Carolina	R=0,02	P=0,93	R=0,67	P=0,0013	R=-0,40	P=0,08	R=-0,01	P=0,98	R=0,11	P=0,64	R=0,10	P=0,67

Tabla. 16. Valores R y P de las correlaciones de Pearson para todos los factores abióticos (profundidad, temperatura del agua, turbidez, ancho del cauce y velocidad del agua) y bióticos (densidad del molusco) con la prevalencia parasitaria de los digeneos larvales que parasitan a *H. parchappii* en los arroyos La Tapera, El Alfar, Lobería y La Carolina. Valores en negrita indican diferencias significativas ($P < 0,05$).

Por su parte, cuando se compararon los factores abióticos y bióticos estacional y espacialmente entre los arroyos analizados, el análisis de la varianza de dos vías (ANOVA) indicó una interacción entre las dos variables analizadas, estación de año y lugar de muestreo, para los siete ANOVA realizados: profundidad ($F_{9;64}=8,61$; $P<0,0001$), temperatura ($F_{9;64}=1056,34$; $P<0,0001$), turbidez ($F_{9;64}=1575,8$; $P<0,0001$), ancho del cauce ($F_{9;64}=3509,65$; $P<0,0001$), velocidad del agua ($F_{9;64}=1575,67$; $P<0,0001$), talla de los moluscos ($F_{9;64}=9,09$; $P<0,0001$) y densidad de los moluscos ($F_{9;64}=27,32$; $P<0,0001$).

Cuando se realizaron los test de Tukey *a posteriori* de cada ANOVA se encontraron las siguientes diferencias entre los arroyos para cada factor abiótico y biótico analizado (Tabla 17, Fig. 46 y 47):

- Profundidad de la columna de agua: el arroyo Lobería presentó una menor profundidad que los otros tres arroyos analizados ($P<0,05$, para todos los casos).
- Temperatura del agua: los valores obtenidos en el arroyo Lobería resultaron ser significativamente menores que los registrados en otros tres arroyos. El arroyo La Tapera, por su parte, presentó valores significativamente mayores que los arroyos La Carolina y El Alfar ($P<0,05$, para todos los casos).
- Turbidez, ancho de cauce y velocidad del agua: todos los arroyos son significativamente diferentes entre sí para los tres factores abióticos ($P<0,05$, para todos los casos) y en orden creciente: arroyo La Tapera, arroyo El Alfar, arroyo Lobería y arroyo La Carolina.
- Talla de los moluscos: los moluscos colectados en los arroyos La Tapera y La Carolina presentaron tallas significativamente mayores que los colectados en los arroyos El Alfar y Lobería ($P<0,05$, para todos los casos).

- Densidad de moluscos: el arroyo La Carolina presentó mayor densidad de moluscos que los otros tres arroyos analizados y el arroyo La Tapera presentó una densidad significativamente menor que la observada en el arroyo El Alfar ($P < 0,05$, para todos los casos).

Las diferencias entre las cuatro estaciones para los cuatro arroyos para cada factor abiótico y biótico analizado, con los test de Tukey realizados *a posteriori* de cada ANOVA se detallan en la Tabla 17.

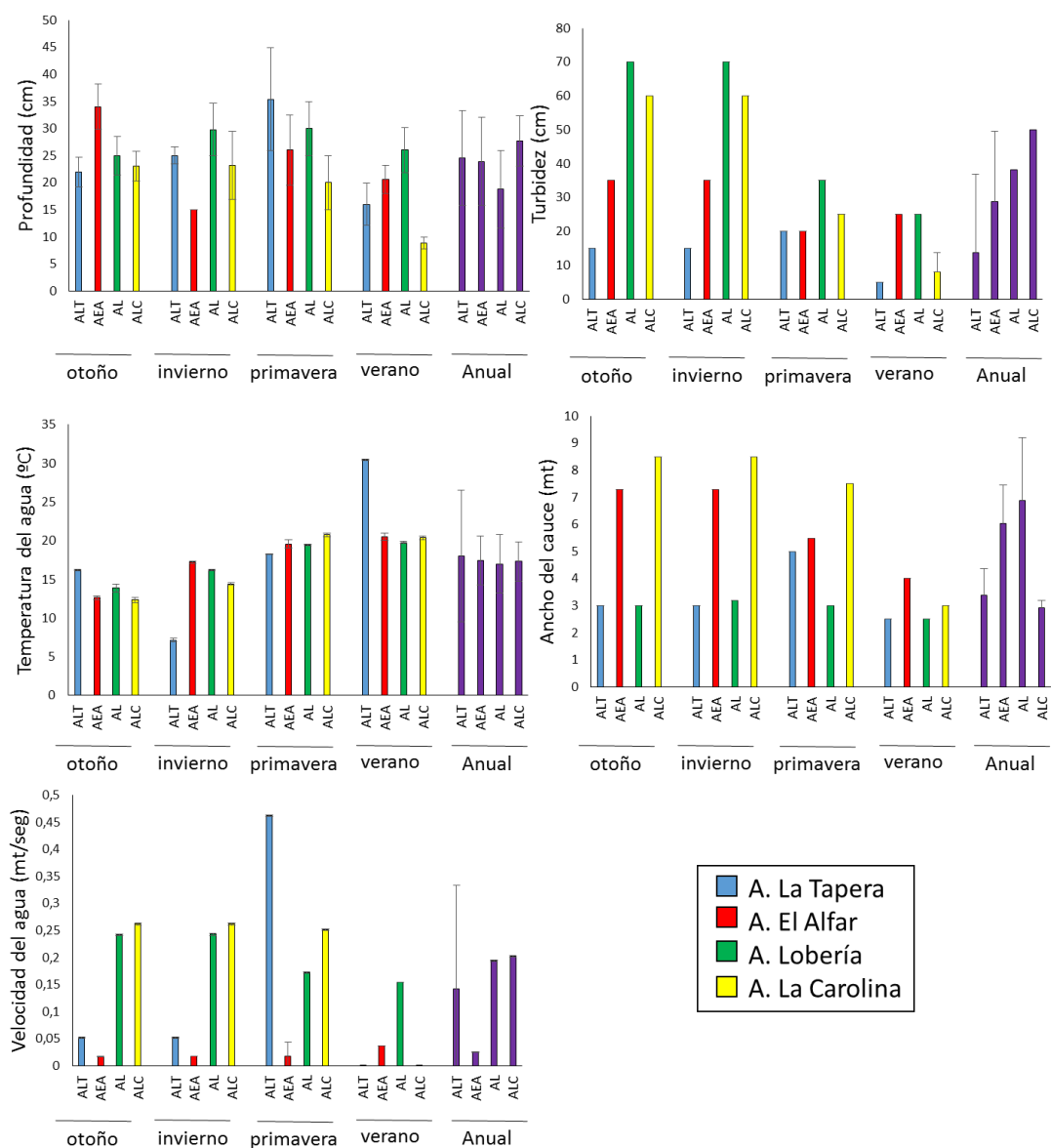


Fig. 46. Valores estacionales de la profundidad (cm), temperatura del agua (°C), velocidad del agua (mt/seg), turbidez (cm) y ancho del cauce (mt) ($\pm$ desvío estándar) de los arroyos La Tapera (ALT), El Alfar (AEA), Lobería (AL) y La Carolina (ALC).

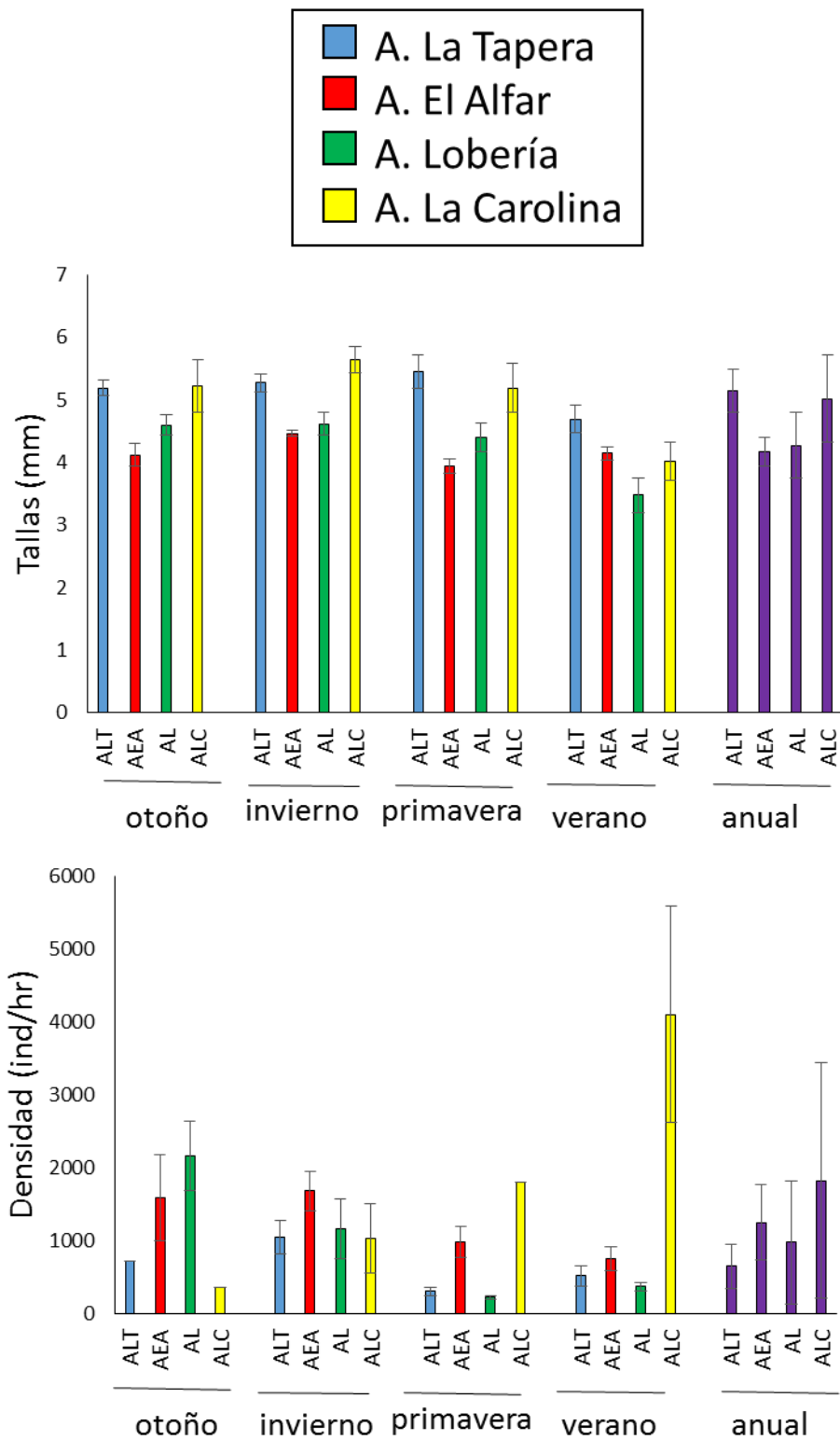


Fig. 47. Valores estacionales de la talla (mm) y la densidad de moluscos (ind/hr) ($\pm$ desvío estándar) de los arroyos La Tapera (ALT), El Alfar (AEA), Lobería (AL) y La Carolina (ALC).

Factor	Estación	La Tapera vs. El Alfar	La Tapera vs. Lobería	La Tapera vs. La Carolina	El Alfar vs. Lobería	El Alfar vs. La Carolina	Lobería vs. La Carolina
Profundidad	Otoño	P<0,05	Ns	Ns	P<0,05	Ns	Ns
	Invierno	Ns	Ns	Ns	Ns	P<0,05	Ns
	Primavera	Ns	P<0,05	Ns	Ns	Ns	Ns
	Verano	Ns	Ns	Ns	P<0,05	Ns	P<0,05
Temperatura	Otoño	P<0,05	P<0,05	P<0,05	Ns	P<0,05	P<0,05
	Invierno	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05
	Primavera	P<0,05	P<0,05	P<0,05	Ns	P<0,05	P<0,05
	Verano	P<0,05	P<0,05	P<0,05	Ns	P<0,05	Ns
Turbidez	Otoño	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05
	Invierno	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05
	Primavera	Ns	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05
	Verano	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	Ns	P<0,05
Ancho del cauce	Otoño	P<0,05	P<0,05	Ns	P<0,05	P<0,05	P<0,05
	Invierno	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05
	Primavera	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05
	Verano	P<0,05	P<0,05	Ns	P<0,05	P<0,05	P<0,05
Velocidad del agua	Otoño	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05
	Invierno	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05
	Primavera	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05
	Verano	P<0,05	Ns	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05
Talla moluscos	Otoño	P<0,05	P<0,05	Ns	Ns	P<0,05	P<0,05
	Invierno	P<0,05	P<0,05	Ns	Ns	P<0,05	P<0,05
	Primavera	P<0,05	P<0,05	Ns	Ns	P<0,05	P<0,05
	Verano	P<0,05	P<0,05	P<0,05	P<0,05	Ns	P<0,05
Densidad moluscos	Otoño	Ns	P<0,05	Ns	Ns	P<0,05	P<0,05
	Invierno	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns	Ns
	Primavera	Ns	Ns	P<0,05	Ns	Ns	P<0,05
	Verano	Ns	Ns	P<0,05	Ns	P<0,05	P<0,05

Tabla 17. Prueba de Tukey. Comparación de las variables ambientales (profundidad de la columna de agua, temperatura del agua, turbidez, ancho del cauce y velocidad del agua) y la talla y densidad de individuos de *H. parchappii*, entre los arroyos estudiados. Ns (no significativo).

La ordenación de las estaciones de los arroyos analizados considerando los factores abióticos basado en el Análisis de Correspondencia Canónico (CCA) (Fig. 48) se dio como resultado de la selección, por parte del análisis, de la velocidad del agua como la variable que más explica esta ordenación, del resto de las variables analizadas. El 40,5% de la varianza y ordenación está explicada por la variable seleccionada (velocidad del agua). Sin embargo, la permutación de Monte Carlo para todos los ejes canónicos, y la ordenación por esta variable, no resultó significativo ($P > 0,05$), indicando un valor de probabilidad de $P = 0,1291$ (1000 permutaciones). Los primeros dos ejes del CCA contabilizan el 33,5% de la variación de la prevalencia parasitaria de las estaciones de los distintos arroyos. Las correlaciones de los sitios-variables abióticas del eje 1 del CCA (Correlación de Pearson, $R = 0,775$) y del eje 2 del CCA (Correlación de Pearson, $R = 0,607$) fueron altas, pero, nuevamente, no significativas ($P = 0,4484$).

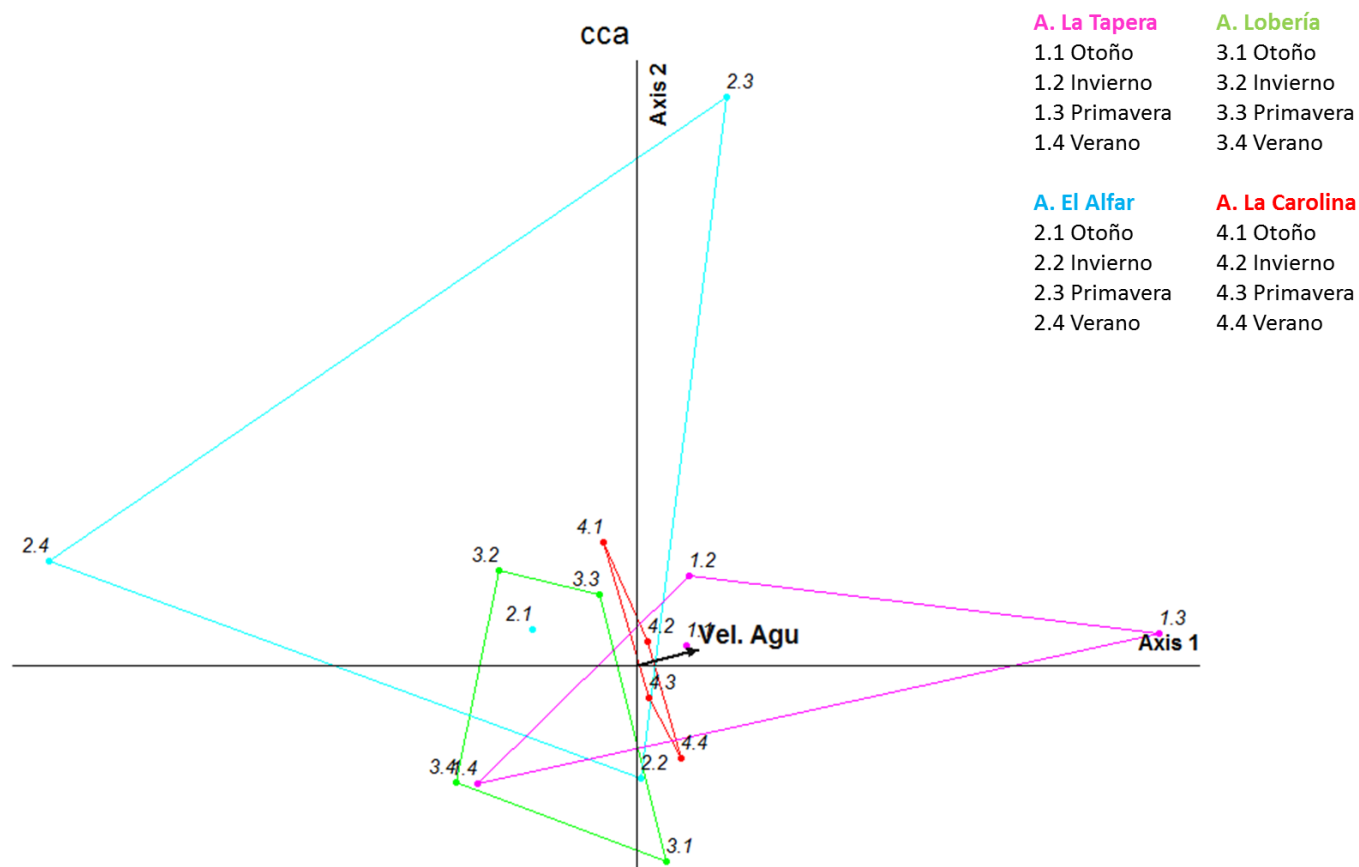


Fig. 48. Diagrama de ordenación de Análisis de Correspondencia Canónico (CCA) indicando la relación entre las estaciones del año (otoño, invierno, primavera y verano) de cada sitio de muestreo (arroyos La Tapera, El Alfar, Lobería y La Carolina) y la variable ambiental más explicativa (velocidad del agua).

Discusión

Variabilidad espacial de los ensambles de digeneos larvales en ambientes lóticos del sudeste bonaerense

La composición y variación temporal de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a moluscos del género *Heleobia* fue estudiado para varias especies del género en la provincia de Buenos Aires. En la laguna costera de Mar Chiquita, Etchegoin (1997), Merlo & Etchegoin (2011) y Parietti *et al.* (2013), estudiaron los ensambles de digeneos que parasitan a *H. australis* y a *H. conexa*, mientras que Alda (2011) estudió los ensambles de digeneos parásitos de *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca. En estos trabajos, la riqueza específica registrada para *H. australis* fue de 20 especies en la laguna de Mar Chiquita y de 15 especie en el estuario de Bahía Blanca, mientras que el número de especies registrada para *H. conexa* fue de 24. Merlo (2013), estudió la composición de los ensambles de digeneos larvales para *H. parchappii* en las lagunas de Nahuel Rucá, Los Padres y La Brava, registrando 22, 13 y 12 especies, respectivamente. Los valores de riqueza específica registrados para *H. parchappii* en este trabajo para arroyos costeros fueron menores a los registrado para la misma especie, y para otras especies del género, tanto en ambientes lóticos como lénticos. Se registraron entre 8 y 10 especies de digeneos por arroyo.

El análisis de los valores de prevalencias parasitarias anuales a lo largo del gradiente costero mostró un patrón claro. Los arroyos ubicados al sur de este gradiente (Lobería y La Carolina) presentaron los valores de prevalencias más altos durante todo el año de estudio, mientras que los arroyos ubicados al norte de este gradiente (La Tapera y El Alfar) presentaron los valores menores. Contrariamente al bajo número de especies registradas, los valores de prevalencia anuales variaron ampliamente, tanto en relación con arroyo analizado como en comparación con otros trabajos realizados para el mismo

hospedador en lagunas de la zona (Merlo, 2013). En Merlo (2013), se indicaron valores de prevalencia anuales entre 30% y 40% para las tres lagunas analizadas. Valores similares se detectaron para el arroyo Lobería. Sin embargo, los arroyos ubicados al norte del gradiente costero (La Tapera y El Alfar) resultaron más conservadores respecto a las lagunas analizadas por Merlo (2013), con valores anuales de prevalencia del 19% y 8%, respectivamente. Mientras que el arroyo La Carolina, ubicado al sur de este gradiente, tuvo los mayores valores anuales que las lagunas, con el 60% de prevalencia.

La dinámica temporal de la prevalencia y la riqueza específica de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *H. parchappii*, resultó homogénea dentro de cada arroyo a lo largo del año, no exhibiendo la heterogeneidad temporal característica de los ensambles de digeneos larvales. La variación temporal de la prevalencia y de la riqueza específica son dos de los rasgos característicos de los ensambles de digeneos larvales en el primer hospedador (Esch & Fernandez, 1994; Esch *et al.*, 2001; Kube *et al.*, 2002). Los análisis realizados previamente para *H. parchappii*, y para otros moluscos del género *Heleobia* en cuerpos lénticos de la zona, coinciden en una estacionalidad caracterizada por altos índices parasitológicos (prevalencia parasitaria y riqueza específica de especies) durante las estaciones de primavera-verano, y bajos índices durante las estaciones frías de otoño-invierno (Etchegoin, 1997; Merlo & Etchegoin, 2011; Parietti, 2011; Merlo 2013). Sin embargo, este patrón no se condice con los índices encontrados en los arroyos costeros analizados.

La ausencia de heterogeneidad temporal de los ensambles de digeneos larvales, es una característica atribuida a los sistemas molusco-digeneo en ambientes tropicales o en aquellos moluscos que actúan como hospedadores intermediarios y presentan ciclos de vida longevos (Rhode, 1981; Sousa, 1993; Fernandez & Esch, 1994). Estas características ambientales y biológicas del hospedador, no se presentan en los ambientes analizados en

este trabajo. *H. parchappii* presenta un ciclo de vida corto con una duración promedio de 20,33 meses (Merlo, 2013), por lo que la homogeneidad registrada no podría deberse al mayor tiempo de contacto entre el molusco y los digeneos. Una posible explicación para los patrones de homogeneidad registrados en los índices parasitarios dentro de cada arroyo, podría ser el uso de manera homogénea de estos ambientes por parte de los hospedadores definitivos locales durante todo el año.

Resultados similares de homogeneidad en estos índices fueron observados por Merlo (2013) en las lagunas de Los Padres y La Brava para *H. parchappii*. Ciparis *et al.* (2013) solo encontró heterogeneidad en los valores de prevalencia parasitaria de digeneos entre estaciones para cinco de 15 cuerpos de agua lóticos. Para descartar si se trata de un patrón característico del ambiente o de una tendencia circunstancial, sería necesario extender los periodos de análisis y realizar estudios similares en otros cuerpos de agua lóticos.

En comparación con los sistemas lénticos, los sistemas lóticos tienen una mayor variabilidad en las características físicas del hábitat. Esto puede ser el factor más importante para estructurar las poblaciones de moluscos y digeneos a escalas espaciales más pequeñas y, potencialmente, podría superar los efectos a gran escala de la eutrofización (Wetzel & Shreve, 2003; Tolley-Jordan & Owen, 2008). Esta variabilidad podría limitar las especies de digeneos que utilizan estos ambientes. Entre las potenciales especies de digeneos que pueden parasitar a *H. parchappii*, solo el 40% se registraron en los arroyos costeros.

Sin embargo, cuando se analizó la variabilidad espacial y estacional en los valores de prevalencia y riqueza específica entre los arroyos, se encontró heterogeneidad en el gradiente costero y similitud en los patrones de ambos índices. Los arroyos ubicados al sur del gradiente costero (Lobería y La Carolina) no difieren entre sí en ninguna de las

estaciones, y presentaron los mayores valores de prevalencia y riqueza específica en las cuatro estaciones. Por otro lado, los arroyos ubicados al norte de este gradiente, tuvieron los menores valores en los índices durante todas las estaciones del año. El arroyo El Alfar, fue el que presentó los menores valores y, el arroyo La Tapera, los valores intermedios.

Similitud en la composición de los ensambles de digeneos larvales y la distancia geográfica en los ambientes lóticos del sudeste bonaerense

La caída de la similitud con el aumento de la distancia entre comunidades, se puede explicar por tres mecanismos diferentes. Primero, la caída en la similitud con la distancia puede deberse a una pérdida de la semejanza en las características ambientales de los sitios analizados. Segundo, porque el ambiente puede limitar la dispersión de los organismos. Y tercero, porque aunque el ambiente sea homogéneo, la similitud entre comunidades decae por las características de dispersión intrínsecas de los organismos (Soininen *et al.*, 2007a; b). En el caso de los parásitos con ciclos de vida complejos, existen otros mecanismos a tener en cuenta. Por un lado, respecto a la capacidad dispersiva de los parásitos, se esperaría que los hospedadores definitivos contribuyan más a su dispersión que los hospedadores intermediarios. Esto se debe a que, la movilidad de los organismos que actúan como hospedadores intermediarios primarios y secundarios, presentan una capacidad de dispersión limitada (Thieltges *et al.*, 2011). Por otra parte, la capacidad de dispersión de los parásitos autogénicos (que utilizan peces para completar sus ciclos de vida en ambientes de agua dulce) sería menor que la capacidad de movilidad de los parásitos alogénicos (que utilizan aves, mamíferos o reptiles para completar sus ciclos de vida, generalmente afuera de los cuerpos de agua) (Esch *et al.*, 1988; Criscione & Blouin, 2004).

De acuerdo a los resultados obtenidos en este trabajo, la similitud de ensambles de digeneos larvales, disminuiría cuando aumenta la distancia entre las comunidades de *H. parchappii* en los ambientes lóticos del sudeste bonaerense. Resultados similares encontró Merlo (2013) para este hospedador lagunas de la zona, y concuerda con lo hallado por Thieltges *et al.* (2009) para comunidades parasitarias de *Cerastoderma edule*, *Hydrobia ulvae* y *Littorina littorea*, en el noreste del océano Atlántico.

En el análisis de beta-diversidad, o reemplazo de especies entre arroyos (calculada como la pendiente de la recta de regresión lineal y la distancia media), resultó menor en el otoño y mayor en el invierno. La similitud inicial (calculada como la ordenada al origen de la recta de regresión lineal), sin embargo, fue menor en la primavera y mayor en el invierno. En el análisis de todos los datos como un único set, los valores de similitud inicial y distancia media son intermedios entre los valores máximos y mínimos hallados en las estaciones, concordantemente con lo encontrado por Merlo (2013) en ambientes lóticos de la zona.

La distancia media calculada varió entre 135,92 km y 368,38 km, y la distancia máxima registrada entre arroyos fue de 64 km. Esta distancia media representa entre dos (212,92%) y seis (575,92%) veces más que la distancia total. Esto resulta completamente discordante con lo encontrado por Merlo (2013) para el mismo hospedador en lagunas de la zona, en las cuales la distancia media representa solo el 85,71% a 92,85% de la distancia máxima entre las lagunas analizadas, distancia de 56 km, menor a la distancia analizada en este trabajo. El porcentaje que representa la distancia media en relación a la distancia total puede considerarse una medida de la beta-diversidad. Altos porcentajes indican un menor reemplazo de especies (beta-diversidad), mientras que porcentajes bajos indican un elevado recambio de especies. En función de este concepto, el recambio

de especies detectado en ambientes lénticos para *H. parchappii* es significativamente mayor al que registramos en ambientes lóticos del sudeste bonaerense.

Es de esperar que la beta-diversidad disminuya con el aumento de la capacidad dispersiva de los organismos (Soinien *et al.*, 2007a, b), y se ha demostrado que es menor en especies que habitan sitios lénticos en comparación con aquellas que habitan sitios lóticos (Hof *et al.*, 2008). Sin embargo, cuando se analizó la comunidad parasitaria en *H. parchappii* en ambientes lóticos, los resultados no son coincidentes con esta premisa. La disminución en la similitud de los ensambles de digeneos larvales, a medida que aumenta la distancia, concuerda con lo encontrado en los arroyos costeros. Sin embargo, los valores de beta-diversidad son significativamente menores que lo registrado, para la misma especie de hospedador, en ambientes lénticos de la zona.

Los bajo valores de beta-diversidad están asociados, generalmente, a la vagilidad de las especies que actúan como hospedadores definitivos. Esto significa que, a mayor capacidad dispersiva de los hospedadores, menor es tasa de reemplazo de especies (Thieltges *et al.*, 2009; Locke *et al.*, 2012). Cinco de las ocho familias de digeneos registradas en los arroyos utilizan aves como hospedadores definitivos. Las aves podrían estar utilizando los cuatro arroyos de manera homogénea, disminuyendo la tasa de recambio de especies de digeneos. De este modo, se podría explicar la baja beta-diversidad registrada.

A pesar de encontrar resultados significativos en los análisis de diversidad, la distancia media, necesaria para que la similitud decaiga a la mitad de la similitud inicial, resultó muy alta en comparación a la distancia total del gradiente costero. Esto podría llevar a concluir, erróneamente, que si ampliamos el gradiente costero analizado hasta los 368,38 km, encontraríamos un patrón similar entre los arroyos ubicados entre esa distancia, con altos valores de beta-diversidad (bajo recambio de especies). Sin embargo,

para poder llegar a conclusiones definitivas, y considerar esta una característica típica de los cuerpos de agua lóticos de la provincia de Buenos Aires, deberían corroborarse los índices aumentando la escala latitudinal entre los arroyos.

Existe una variada interacción entre factores que determinan la diversidad a lo largo de diferentes escalas espaciales. A una escala mayor, la riqueza de especies puede encontrarse afectada por factores como la fragmentación del ambiente (Didham *et al.*, 1996; Cane, 2001), la diversidad del ambiente (Steffan-Dewenter *et al.*, 2002; Dauber *et al.*, 2003; Krauss *et al.*, 2003; Kruess, 2003); la urbanización (Zanette *et al.*, 2005) o el clima (James & Shine, 2000; Opdam & Wascher, 2004). A una menor escala, los factores modeladores cambian, actuando el tipo de hábitat (Kruess, 2003; Weibull *et al.*, 2003); el área del hábitat (Ritchie & Olff, 1999; James & Shine, 2000; Krauss *et al.*, 2003; Summerville & Crist, 2004); e intracciones inter- o intraespecíficas (Veech *et al.*, 2002) y, en el caso de los parásitos con ciclos de vida complejos, debemos incluir entre estas variables la distribución y abundancia en el ambiente de los hospedadores definitivos e intermediarios (Hechinger & Lafferty, 2005; Fredensborg *et al.*, 2006). Todas estas variables deberían ser analizadas para determinar los posibles factores que influyen sobre la diversidad alfa (α) y beta (β) de los ensambles de digeneos larvales.

Factores abióticos y bióticos como posibles estructuradores de los ensambles de digeneos larvales en el gradiente costero analizado

La variabilidad en las características ambientales e hidrológicas de los cuatro arroyos podría explicar la heterogeneidad observada en los ensambles de digeneos, para el gradiente costero, y en cada arroyo en particular, y sus características físicas intrínsecas interaccionarían de manera diferente con los ensambles de digeneos larvales. Los factores ambientales asociados con el hábitat del primer hospedador intermediario repercuten en

la movilidad y desarrollo de los estadios miracidio y cercaria de los digeneos. Estos modelan y regulan la variabilidad estacional de estas comunidades parasitarias. Los arroyos ubicados al norte de gradiente costero (La Tapera y El Alfar) fueron los más estancos, mas angostos y menos turbios. El arroyo Lobería fue el menos profundo y el que presentó los valores más bajos de temperatura del agua durante el año. Por su parte, el arroyo La Carolina fue intermedio en sus características.

En el arroyo La Tapera, se encontró que la turbidez del agua se correlaciona positivamente con la prevalencia parasitaria. Existen evidencias de que la luz y la radiación ultravioleta natural afectan la supervivencia y la tasa de infección de las fases de vida libre de los parásitos. Prah & James (1977) demostraron que la radiación UV de la luz del sol penetra, a una profundidad máxima de 15 cm, en cuerpos de agua limpios, claros y tranquilos, acortando significativamente la vida útil de la natación libre del miracidio. Si se considera esto, los miracidios estarían protegidos en diferentes turbideces: cuanto más turbias sean las aguas, menos perjudicial será efecto de la radiación UV. Rowan (1965) y Christensen *et al.* (1980), por su parte, indicaron que altos recuentos de cercarias en condiciones de agua turbia podría deberse al papel de la turbidez como protector contra la depredación de varios organismos acuáticos. Tal cobertura, probablemente, desempeña un papel importante en las dinámicas de las cercarias en la naturaleza. Bashir Shah *et al.* (2013) confirmaron que la transparencia del agua parece estar inversamente relacionada con la densidad de caracoles y, en consecuencia, a la abundancia de larvas de digeneos.

Todo lo mencionado, podría estar explicando la correlación encontrada en el arroyo La Tapera. Sin embargo, ¿por qué esta correlación no se encuentra para los otros arroyos? El arroyo La Tapera presentó la menor turbidez de los cuatro cuerpos lóticos analizados. Probablemente, cuando mayor sea la turbidez del arroyo, otros factores podrían estar

afectando en mayor medida la prevalencia parasitaria, o los efectos de la turbidez sobre la prevalencia serían inocuos o inexistentes. Por ejemplo, la visibilidad de los hospedadores definitivos, a mayor turbidez, podría estar disminuida afectando su alimentación y, de este modo, afectar la transmisión trófica de los digeneos. Por otra parte, una mayor eutrofización generaría un aumento de la producción de biofilm y un “bloom algar”, modificando así la dinámica poblacional del hospedador intermediario molusco y los ensambles de digeneos larvales (Jonhson & Chase, 2004; Johnson *et al.*, 2007).

En el arroyo La Carolina se encontró una correlación positiva entre la prevalencia parasitaria y la temperatura del agua, la cual puede afectar la tasa de desarrollo de los huevos de digeneos y el tiempo de emergencia, y periodo de vida, de las larvas miracidios. También, indirectamente, afectando la abundancia y diversidad de los hospedadores definitivos (Kuris, 1979; Chappell, 1980; Ferrel *et al.*, 2001; Zbikowska, 2004). Los arroyos Lobería y La Tapera tuvieron los menores y mayores promedios de temperaturas anuales de los cuatro arroyos. Probablemente, las temperaturas intermedias se encontrarían más relacionadas con los valores de prevalencia parasitaria. Pero ¿por qué no se detecta esta correlación en el arroyo El Alfar? La baja prevalencia parasitaria detectada en este cuerpo de agua podría explicar la ausencia de esta correlación.

Respecto a las características biológicas de *H. parchappii* se analizaron dos factores, la talla del molusco y su densidad en cada arroyo. La talla del hospedador intermediario molusco, por su parte, no presentó una influencia sobre la prevalencia parasitaria en los análisis realizados. Sin embargo, en los análisis multivariados no paramétricos, se encontró que si existía tal efecto. A su vez, los resultados de la comparación de la talla *H. parchappii* en los cuatro arroyos, indicaron que los arroyos ubicados en los extremo del gradiente costero (La Tapera y La Carolina) presentaron las tallas más grandes. El aumento de las tallas del hospedador pueden deberse a un efecto

causado por los parásitos sobre el hospedador (fenómeno conocido como gigantismo) o por el mayor tiempo de contacto entre el hospedador y el digeneo (Jokela & Lively, 1995; Sokolova, 1995; De Montaudouin *et al.*, 2009; Graham, 2003; Miura *et al.*, 2006). De todas formas, las tallas máximas registradas en los arroyos son menores a las registradas por Merlo (2013) para el mismo molusco en la laguna Nahuel Rucá. Este autor registró tallas máximas de 9,36 mm, mientras que en el arroyo La Tapera la talla máxima registrada fue de 6,16 mm y en La Carolina de 6,14 mm. Estos valores podrían explicar porque Merlo (2013) encuentra un efecto de la talla como co-variable sobre la prevalencia parasitaria y no se encontró esta relación en los cuatro arroyos costeros.

En el arroyo La Carolina se encontraron los mayores valores de densidad de *H. parchappii* de los cuatro arroyos y, a su vez, los valores de densidades registradas para los cuatro arroyos fueron superiores a los encontrados en lagunas de la zona. Merlo (2013) registró densidades de *H. parchappii* entre 200 y 500 individuos/hr. en las lagunas Nahuel Rucá, Los Padres y La Brava, mientras que los promedios anuales en los arroyos costeros analizados variaron entre 650 y 1800 individuos/hr. Estas diferencias tan grandes en las densidades de moluscos podrían deberse a las características hidrológicas de los cuerpos de agua lóticos. Las corrientes de agua podrían transportar los moluscos y depositarlos en las barras de meandro o “point bar”, en las curvaturas internas del arroyo, generando altas densidades de moluscos en ciertos puntos del lecho y bajas en otros. Es destacable, de todas formas, que *H. parchappii* presentó las mayores densidades en los cuerpos de agua lóticos del sudeste bonaerense aunque las menores tallas, en comparación con los cuerpos de agua lénticos de la zona.

Muchos autores han indicado correlaciones positivas o negativas entre los valores de prevalencia parasitarias y las densidades de hospedadores, ya sea por una mayor posibilidad de contacto entre el hospedador y el digeneo o por un efecto de dilución

causado por las altas densidades (Kuris & Lafferty, 2005; Rifkin *et al.*, 2012; Buck & Lutterschmidt, 2016). En los arroyos costeros analizados no existió tal correlación, entre los digeneos y la densidad de *H. parchappii*. Otros autores indicaron que no existe tal asociación, o esta asociación es débil. Como la producción de los estadios de transmisión ocurre en los hospedadores definitivos, sería independiente de la densidad de los hospedadores intermediarios, excepto a escalas espaciales muy grandes (Moore *et al.*, 1988; Côté & Poulin, 1995; Arneberg, 2001).

Sin embargo, las diferencias en las características de cada ambiente no explicarían, *per se*, la heterogeneidad espacial y temporal encontrada en el gradiente costero. A pesar de que el porcentaje de varianza explicada por el CCA resultó alta, no fue significativa. El CCA indicó que la variable ambiental que más explicaría la heterogeneidad, sería la velocidad del agua. Esto no resulta sorprendente ya que es la característica hidrológica más representativa de los cuerpos de agua lóticos. Esta variable, sin embargo, no se encuentra relacionada con la varianza encontrada en el arroyo El Alfar, probablemente por su condición más estanca comparativamente con los otros arroyos y sus bajos valores de prevalencia. El efecto de la velocidad del agua sobre la prevalencia parasitaria ya fue estudiado por otros autores. Jacobs *et al.* (1993) indicaron que, con el aumento de la velocidad del agua, existe una disminución de la prevalencia e intensidad de la infección por parte de los digeneos en larvas de la mosca negra. Esto puede deberse a que las cercarias son más fáciles de barrer lejos por la fuerza del agua a altas velocidades. Por su parte, Webbe (1966) encontró que la tasa de infección de ratones blancos con *Schistosoma mansoni* disminuye linealmente a medida que aumenta la velocidad del agua.

Los ensambles parasitarios en moluscos están influenciados por disturbios ambientales a causa de las actividades humanas (Kuris & Lafferty, 1994; Keas & Blankespoor, 1997; Huspeni & Lafferty, 2004). Los arroyos analizados en este trabajo,

así como las lagunas estudiadas por Merlo (2013), son sitios utilizados recreativamente durante las estaciones cálidas y como sitios vacacionales durante el verano. La ciudad de Mar del Plata (en la cual se localizan tres de los cuatro arroyos) y la ciudad de Mar del Sud (donde se localiza el arroyo La Carolina) son sitios de gran afluente turístico durante los meses de verano. Mar del Plata recibió 1.400.000 turistas solamente durante el mes de enero de 2014 y, específicamente, el barrio El Alfar, donde habitan 4000 familias permanentemente, triplica su población durante esta estación. En la localidad de Chapadmalal (Mar del Plata), donde se localiza el arroyo Lobería, habitan de manera permanente 4112 personas (INDEC, censo 2010), mientras que en la ciudad de Mar del Sud viven 453 habitantes de manera permanente (INDEC, censo 2010). En los meses de verano son utilizadas como localidades balnearias, y en Mar del Sud, además, se realiza pesca y caza deportiva menor de patos, liebres y perdices.

Las actividades recreativas, conjuntamente con el aumento poblacional estacional, podrían afectar la comunidad de aves que utilizan estos arroyos para alimentarse, reduciendo la abundancia y el tiempo que pasan en estos ambientes, como indican Cardoni *et al.* (2008) para la laguna de Los Padres. La presencia de un mayor número de habitantes en zonas aledañas a estos arroyos, podría actuar como una barrera para los ensambles de digeneos larvales, reduciendo así el contacto entre el hospedador definitivo y los hospedadores intermediarios, y de este modo, la probabilidad de contacto entre el estadio infectante del parásito y su primer hospedador intermediario molusco.

Claramente los arroyos ubicados al norte, los cuales reciben un caudal de gente mucho mayor en las estaciones estivales que los arroyos ubicados al sur, son los más perjudicados. Cabe destacar que ninguno de los cuatro barrios asociados a los cuatro arroyos, presenta disponibilidad de red cloacal y, muy probablemente, filtraciones de los pozos ciegos y descargas ilegales podrían llegar a los arroyos. Para poder arribar a

conclusiones más definitorias, deberían realizarse futuros análisis que incluyan variables de contaminación y disponibilidad de nutrientes.

Discusión general

Por todo lo expuesto anteriormente, se podría indicar que la heterogeneidad temporal observada en los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *H. parchappii* en ambientes lóticos, estaría relacionada con la dinámica de las variables ambientales, la dinámica poblacional del primer hospedador intermediario molusco, las fluctuaciones en la presencia de los hospedadores definitivos y, posiblemente, habría un gran efecto antrópico sobre estas condiciones. De todas maneras, estos factores no actuarían de manera independiente, sino que existiría una interacción multifactorial.

El análisis de los sistemas moluscos-digeneos deben realizarse de manera independiente, en función del ambiente y considerando un accionar interdependiente de diferentes factores que puedan estar estructurando estos sistemas. La marcada diferencia en los resultados comparativamente entre ambientes lénticos y lóticos, indica la necesidad de realizar estudios de caso y evitar generalizaciones. En los ambientes lóticos, la tasa de recambio de especies observada, así como la variación estacional y espacial del ensamble de digeneos larvales a lo largo del gradiente costero, puede explicarse desde varios factores. Entre ellos, podemos nombrar las características ambientales e hidrológicas, la distribución y uso del hábitat por parte de los hospedadores definitivos, las características del micro-ambiente utilizado por el primer hospedador intermediario, el efecto antrópico, entre otros. Estos factores cumplirían un rol fundamental en la estructuración de los ensambles de digeneos larvales de *H. parchappii* y resultarían necesarios para poder llevar adelante medidas de control y de conservación.

Conclusiones

Capítulo 1: *Biomphalaria peregrina*

Parte I: Estadios larvales de digeneos presentes en *Biomphalaria peregrina*: descripción y comentarios.

- En el molusco *B. peregrina* se registró la presencia de siete tipos morfológicos de cercarias y dos tipos morfológicos de metacercarias, pertenecientes a siete familias. Cinco de estos tipos morfológicos fueron descritos por primera vez.

Parte II: Dinámica temporal de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *Biomphalaria peregrina* en la laguna temporaria de Mar de Cobo.

- El molusco *B. peregrina*, y su ensamble de digeneos larvales, se encontraron bien adaptados a los procesos de sequía que se sucedieron en la laguna temporaria de Mar de Cobo.
- Cuando la laguna presento agua durante un año completo, existió una heterogeneidad estacional en la prevalencia y riqueza de especies de los ensambles de digeneos, con mayores valores durante las estaciones más cálidas (primavera y verano).
- Algunas de las especies de digeneos larvales registradas presentaron una compensación y tolerancia a la sequía. Se observó una relación positiva entre la cantidad de estaciones secas y los valores de prevalencia parasitaria postsequía. Estos valores resultaron mayores a los detectados cuando no hubieron sequías previas.
- En la laguna temporaria de Mar de Cobo, la heterogeneidad temporal de los ensambles de digeneos larvales de *B. peregrina* estaría relacionada con tres factores que interactúan entre sí: la dinámica de las variables ambientales, con la dinámica poblacional del hospedador molusco y con las fluctuaciones en la presencia de hospedadores definitivos.

- Las fases de sequía producidas en esta laguna, serían uno de los factores estructuradores de mayor importancia, afectando las dinámicas temporales de los ensambles de digeneos larvales y los hospedadores que forman parte de sus ciclos de vida.

Capítulo 2: *Physa acuta*

Parte I: Dinámica temporal de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *Physa acuta* en la laguna Los Padres.

- El molusco exótico, *P. acuta*, fue registrado por primera vez para la laguna de Los Padres.
- Se registró una metacercaria perteneciente a la familia Echinostomatidae parasitando *P. acuta*. Este molusco, a su vez, presentaba la forma ectocomensal del oligoqueto *Chaetogaster limnaei*.
- La heterogeneidad temporal registrada para la metacercaria Echinostomatidae estaría influenciada por la dinámica del segundo hospedador intermediario, la dinámica del estadio cercaria y la dinámica de los hospedadores intermediario y definitivo (principalmente las aves). Estos factores actuarían interdependientes.
- El oligoqueto *C. limnaei* afectó negativamente la abundancia y prevalencia de la metacercaria, desalentando el enquistamiento de este digeneo en *P. acuta*.

Capítulo 3: *Heleobia parchappii*

Parte I: Estadios larvales de digeneos presentes en *Heleobia parchappii*: descripción y comentarios.

- En el molusco *H. parchappii* se registró la presencia de 12 tipos morfológicos de cercarias y metacercarias, pertenecientes a ocho familias. Se realizó la descripción de la cercaria y metacercaria aff. *Psilochasmus oxyurus*.

Parte II: Dinámica temporal y variación espacial de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *Heleobia parchappii* a lo largo de un gradiente costero en los arroyos La Tapera, El Alfar, Lobería y La Carolina.

- La dinámica temporal de la prevalencia y la riqueza específica de los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *H. parchappii* en cada arroyo no presentó variaciones a lo largo del año. Esto podría deberse a la utilización del ambiente de manera uniforme estacionalmente por parte de los hospedadores definitivos locales (principalmente aves).
- La prevalencia promedio anual indicó un patrón concreto a lo largo del gradiente costero analizado. Los arroyos ubicados al sur del gradiente costero (Lobería y La Carolina) presentaron los valores más altos mientras que, los arroyos ubicados al norte de este gradiente (La Tapera y El Alfar), presentaron los más bajos. El mismo patrón se registró para la prevalencia y riqueza estacional entre los arroyos.
- En los ambientes lóticos del sudeste bonaerense, la similitud de ensambles de digeneos larvales disminuyó cuando aumentó la distancia entre las comunidades de *H. parchappii*. La baja beta-diversidad estaría asociada con la vagilidad de las especies que actúan como hospedadores definitivos.
- En el gradiente costero analizado, la heterogeneidad temporal observada en los ensambles de digeneos larvales que parasitan a *H. parchappii*, estaría relacionada con la dinámica de las variables ambientales, la dinámica poblacional del primer hospedador intermediario molusco, las fluctuaciones en la presencia de los hospedadores definitivos y, posiblemente, habría un gran efecto antrópico sobre

estas condiciones. Estos factores no actuarían de manera independiente, sino que existiría una interacción multifactorial.

Bibliografía

- Alda, M. P. (2011). Estadios larvales de digeneos parásitos de *Heleobia australis* (d'Orbigny 1835) en el estuario de Bahía Blanca. Universidad Nacional del Sur.
- Aldridge, D.W. (1983) Physiological ecology of freshwater prosobranchs. *The Mollusca*, 6:329–358.
- Allan, J. D. (2004). Landscapes and riverscapes: the influence of land use on stream ecosystems. *Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.*, 35:257-284.
- Allen, D. C. & Vaughn, C. C. (2010). Complex hydraulic and substrate variables limit freshwater mussel species richness and abundance. *Journal of the North American Benthological Society*, 29(2):383-394.
- Anderson, R. M. & May, R. M. (1979). Prevalence of schistosome infections within molluscan populations: observed patterns and theoretical predictions. *Parasitology*, 79(01):63–94.
- Anderson, R. M. & Gordon, D. M. (1982). Processes influencing the distribution of parasite numbers within host populations with special emphasis on parasite-induced host mortalities. *Parasitology*, 85(02):373-398.
- Anderson, M. J., Gorley, R. N. & Clarke, K. R. (2008). PERMANOVA+ for PRIMER: Guide to Software and Statistical Methods. PRIMER-E, Plymouth, UK.
- Arneberg, P. (2001). An ecological law and its macroecological consequences as revealed by studies of relationships between host densities and parasite prevalence. *Ecography*, 24: 352–358.
- Baldwin D. S. & Mitchell A. M. (2000) Effects of drying and reflooding on the sediment/soil nutrient dynamics of lowland river floodplain systems – a synthesis. *Regulated Rivers: Research and Management*, 16:457–467.
- Balian, E. V., Segers, H., Lévêque, C., & Martens, K. (2008). The freshwater animal diversity assessment: an overview of the results. *Hydrobiologia*, 595(1):627-637.

- Barbosa, F. S. & Barbosa, I. (1959). Observations on the ability of the snail *Australorbis nigricans* to survive out of water in the laboratory. *The Journal of Parasitology*, 45(6):627–30.
- Barragán-Sáenz, F. A., Sánchez-Nava, P., Hernández-Gallegos, O. & Salgado-Maldonado, G. (2009). Larval stages of trematodes in gastropods from Lake Chicahuapan, State of Mexico, Mexico. *Parasitology Research*, 105(4):1163–1167.
- Batzer, D. P., & Wissinger, S. A. (1996). Ecology of insect communities in nontidal wetlands. *Annual review of entomology*, 41(1):75–100.
- Betterton, C., Ndifon, G. T. & Tan, R. M. (1988). Schistosomiasis in Kano state, Nigeria. I. Field studies on aestivation in *Bulinus rohlfsi* (Clessin) and *B. globosus* (Morelet) and their susceptibility to local strains of *Schistosoma haematobium* (Bilharz). *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 82:571–579.
- Blair, D., Campos, A., Cummings, M. P. & Laclette, J. P. (1996). Evolutionary biology of parasitic platyhelminths: the role of molecular phylogenetics. *Parasitology Today*, 12:66–71.
- Blair, D., Davis, G. M. & Wu, B. (2001). Evolutionary relationships between trematodes and snails emphasizing schistosomes and paragonimids. *Parasitology*, 123:229–243.
- Borda, C. E. & Rea, M. J. F. (1997). Susceptibilidad de *Biomphalaria tenagophila* de Las Cuencas de Los Ríos Paraná y Uruguay a *Schistosoma mansoni*. *Pan America Journal of Public Health*, 1:167–73.
- Borda, C. E. & Rea, M. J. F. (2010). Susceptibility and compatibility of *Biomphalaria tenagophila* from the Río de La Plata Basin with *Schistosoma mansoni* from Brazil. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 105(4):496–98.

- Brackenbury, T. D. & Appleton, C. C. (1993). Recolonization of the Umsindusi river, Natal, South Africa, by the invasive gastropod, *Physa acuta* (Basommatophora, Physidae). *Journal of Medical and Applied Malacology*, 5:39-44.
- Brinkhurst, R. O. & Jamieson, B. G. M (1971). Aquatic Oligochaeta of the world.
- Brooks, S. P. J. & Storey, K. B. (1997). Glycolytic controls in estivation and anoxia: a comparison of metabolic arrest in land and marine molluscs. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Physiology*, 118(4):1103-1114.
- Brown, K. M. (1979). The adaptive demography of four freshwater pulmonate snails. *Evolution*, 417-32.
- Buck, J. C. & Lutterschmidt, W. I. (2017). Parasite abundance decreases with host density: evidence of the encounter-dilution effect for a parasite with a complex life cycle. *Hydrobiologia*, 784(1):201-210.
- Buse, A. (1971). Population dynamics of *Chaetogaster limnaei vaghini* Gruffydd (Oligochaeta) in a field population of *Lymnaea stagnalis*. *L. Oikos*, 50-55.
- Buse, A. (1974). The relationship of *Chaetogaster limnaei* (Oligochaeta: Naididae) with a variety of gastropod species. *The Journal of Animal Ecology*, 821-837.
- Byers, J. E., Blakeslee, A. M. H., Cooper, E. A. B. & Magurie, T. J. (2008). Control of spatial variation in the prevalence of trematode parasites infecting marine snail. *Ecology*, 89(2):439-51.
- Caldeira, R. L., Jannotti-Passos, L. K. & Carvalho, O. S. (2009). Molecular epidemiology of brazilian *Biomphalaria*: a review of the identification of species and the detection of infected snails. *Acta Tropica*, 111(1):1-6.
- Callisto, M., Moreno, P., Gonçalves, J. F. Jr., Ferreira, W. R. & Gomes, C. L. Z. (2005) Malacological assessment and natural infestation of *Biomphalaria straminea* (Dunker, 1848) by *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907) and *Chaetogaster limnaei*

- (K. von Baer, 1827) in an urban eutrophic watershed. *Brazilian Journal of Biology*, 65:217–228.
- Calow, P. (1978). Evolution of life-cycle strategies in freshwater gastropods. *Malacologia*, 17(2):351-364.
- Cane, J. (2001). Habitat fragmentation and native bees: a premature verdict?. *Conservation Ecology*, 5(1).
- Cardoni, D. A., Favero, M. & Isacch, J. P. (2008). Recreational activities affecting the habitat use by birds in Pampa's Wetlands, Argentina: implications for waterbird conservation. *Biological Conservation*, 141(3):797–806.
- Carpenter, S. R., Fisher, S. G., Grimm, N. B., & Kitchell, J. F. (1992). Global change and freshwater ecosystems. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 23(1):119-139.
- Chappell, L. H. (1980). Physiology of parasites. Blackie & Son. Glasgow and London.
- Christensen, N. O., Frandsen, F. & Nansen, P. (1980). The interaction of some environmental factors influencing *Schistosoma mansoni* cercarial host-finding. *J. Helminthol.* 54:203-205.
- Clarke, K. R. & Warwick, R. M. (2001). Change in marine communities: an approach to statistical analysis and interpretation. 2nd edn. PRIMER-E, Plymouth, UK.
- Clarke, K. R. & Gorley, R. N. (2006). PRIMER V6: User Manual/Tutorial. PRIMER-E, Plymouth, UK.
- Collinge, S. & Ray, C. (2006). Disease Ecology: Community Structure and Pathogen Dynamics. Oxford University Press. UK.
- Côté, I. M. & Poulin, R. (1995). Parasitism and group-size in social animals: a metaanalysis. *Behavioral Ecology*, 6:159–165.

- Criscione, C. D. & Blouin, M. S. (2007). Parasite phylogeographical congruence with salmon host evolutionarily significant units: implications for salmon conservation. *Molecular Ecology*, 16:993–1005
- Curtis, L. A. (2002). Ecology of larval trematodes in three marine gastropods. *Parasitology*, 124(07):43-56.
- Curtis, L. A. & Hubbard, K. M. (1990). Trematode infections in a gastropod host misrepresented by observing shed cercariae. *Journal of Experimental Marine Biolology and Ecology*, 143:146
- Ciparis, S., Iwanowicz, D. D. & Voshell, J. R. (2013). Relationships between nutrient enrichment, pleurocerid snail density and trematode infection rate in streams. *Freshwater Biology*, 58(7):1392–1404.
- Cope, N. J. & Winterbourn, M. J. (2004). Competitive interactions between two successful molluscan invaders of freshwaters: an experimental study. *Aquatic Ecology*, 38(1):83-91.
- Cridland, C. C. (1967). Resistance of *Bulinus (Physopsis) globosus*, *Bulinus (Ph.) africanus*, *Biomphalaria pfeifferi* and *Lymnaea natalensis* to experimental desiccation. *Bulletin of the World Health Organization*, 36(3):507.
- Curtis, L. A. & Hubbard, K. M. (1990). Trematode infections in a gastropod host misrepresented by observing shed cercariae. *Journal of Experimental Marine Biology Ecology*, 143:131–37.
- Curtis, L. A. & L. E. Hurd. (1983). Age, sex and parasites: spatial heterogeneity in a sandflat population of *Ilyanassa obsoleta*. *Ecology*, 64(4):819–28.
- Daszak, P., Cunningham, A. A., & Hyatt, A. D. (2000). Emerging infectious diseases of wildlife--threats to biodiversity and human health. *Science*, 287(5452):443.

- Daszak, P., Cunningham, A. A., & Hyatt, A. D. (2001). Anthropogenic environmental change and the emergence of infectious diseases in wildlife. *Acta tropica*, 78(2):103-116.
- Dauber, J., Hirsch, M., Simmering, D., Waldhardt, R., Otte, A., & Wolters, V. (2003). Landscape structure as an indicator of biodiversity: matrix effects on species richness. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 98(1):321-329.
- Davies, D., Davies, C., Lauthier, J. J., Hamann, M. & Ostrowski de Núñez, M. (2015). Morphological and ITS2 molecular characterization of *Ribeiroia* cercariae (Digenea: Psilostomidae) from *Biomphalaria* spp. (Gastropoda: Planorbidae) in Northern Argentina. *Journal of Parasitology*, 101(5):549–55.
- De Montaudouin, X., Thieltges, D. W., Gam, M., Krakau, M., Pina, S., Bazairi, H., Dabouineau, L., Russell-Pinto, F. & Jensen, K. M. (2009). Digenean trematode species in the cockle *Cerastoderma edule*: identification key and distribution along the North-eastern Atlantic Shoreline. *Journal of the Marine Biological Association of the United Kingdom*, 89(3):543–56.
- Di Persia, D. H. (2005). Clave para la determinación de géneros y subgéneros de oligoquetos Naididae del Nordeste Argentino. *Natura Neotropicalis*, 1(9):1–12.
- Didham, R. K., Ghazoul, J., Stork, N. E., & Davis, A. J. (1996). Insects in fragmented forests: a functional approach. *Trends in Ecology & Evolution*, 11(6):255-260.
- Dillon, R. T. & Wethington, A. R. (2002). Populations of the European freshwater pulmonate *Physa acuta* are not reproductively isolated from American *Physa heterostropha* or *Physa integra*. *Invertebrate Biology*, 121(3):226–234.
- Dove, A. D. M. (1998). A silent tragedy: parasites and the exotic fishes of Australia. *Proceedings of the Royal Society of Queensland*, 107:109-113.

- Dudgeon, D. (1983). The effects of water level fluctuations on a gently shelving marginal zone of Plover Cover Reservoir, Hong Kong. *Archiv für Hydrobiologia*, 2/3 (suppl. 65):163–196.
- Dudgeon, D., Arthington, A. H., Gessner, M. O., Kawabata, Z. I., Knowler, D. J., Lévêque, C. & Sullivan, C. A. (2006). Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological reviews*, 81(2):163-182.
- Duncan, C. J. (1959). The life cycle and ecology of the freshwater snail *Physa fontinalis* (L.). *The Journal of Animal Ecology*, 97–117.
- Erős, T., & Schmera, D. (2010). Spatio-temporal scaling of biodiversity and the species–time relationship in a stream fish assemblage. *Freshwater biology*, 55(11):2391-2400.
- Esch, G. W., Kennedy, C. R., Bush, A. O. & Aho, J. M. (1988). Patterns in helminth communities in freshwater fish in Great Britain: alternative strategies for colonization. *Parasitology*, 96:519-532.
- Esch, G. W. & Fernandez, J. C. (1994). Snail-trematode interactions and parasite community dynamics in aquatic systems: a review. *The American Midland Naturalist Journal*, 131:209–37.
- Esch, G. W., Curtis, L. A. & Barger, M. A. (2001). A perspective on the ecology of trematode communities in snails. *Parasitology*, 123:57–75.
- Esch, G. W., Barger, M. A. & Fellis, K. J. (2002). The transmittion of digenetic trematodes: style, elegance, complexity. *Integrate and Comparative Biology*, 42:304–12.
- Escobar, J. S., Epinat, G., Sarda, V. & David, P. (2007). No correlation between inbreeding depression and delayed selfing in the freshwater snail *Physa acuta*. *Evolution*, 61(11): 2655–2670.

- Escobar, J. S., Facon, B., Jarne, P., Goudet, J. & David, P. (2009). Correlated evolution of mating strategy and inbreeding depression within and among populations of the hermaphroditic snail *Physa acuta*. *Evolution*, 63(11):2790–2804.
- Etchegoin, J. A. (1997). Sistemas parasitarios presentes en la albufera Mar Chiquita. PhD Thesis. Universidad Nacional de Mar del Plata.
- Etchegoin, J. A. & Martorelli, S. R. (1998). Nuevas cercarias en *Heleobia conexa* (Mollusca: Hydrobiidae) de la albufera Mar Chiquita. *Neotropica*, 44:41–50.
- Facon, B., Machline, E., Pointier, J. P. & David, P. (2004). Variation in desiccation tolerance in freshwater snails and its consequences for invasion ability. *Biological Invasions*, 6 (3):283–93.
- Facon, B., Ravigné, V. & Goudet, J. (2006). Experimental evidence of inbreeding avoidance in the hermaphroditic snail *Physa acuta*. *Evolutionary Ecology*, 20(5):395–406.
- Faltýnková, A. (2005). Larval trematodes (Digenea) in molluscs from small water bodies near Šeské Budšjovice, Czech Republic. *Acta Parasitologica*, 52:49-55.
- Faltýnková, A. & Haas, W. (2006). Larval trematodes in freshwater molluscs from the Elbe to Danube Rivers (Southeast Germany): before and today. *Parasitology Research*, 99(5):572-582.
- Faltýnková, A., Nasincová, V. & Kablaskova, L. (2008). Larval trematodes (Digenea) of planorbid snails (Gastropoda: Pulmonata) in Central Europe: a survey of species and key to their identification. *Syst Parasitol* 69: 155–78.
- Fashuyi, S. A. & Williams, M. O. (1977). The role of *Chaetogaster limnaei* in the dynamics of trematode transmission in natural populations of freshwater snails. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 54(1):55-60.

- Fernandez, J. & Esch, G. W. (1991). Effect of parasitism on the growth rate of the pulmonate snail *Helisoma anceps*. *The Journal of Parasitology*, 937–44.
- Fernandez, J., Goater, T. M. & Esch, G. W. (1991). Population dynamics of *Chaetogaster limnaei limnaei* (Oligochaeta) as affected by a trematode parasite in *Helisoma anceps* (Gastropoda). *American Midland Naturalist*, 195–205.
- Fernandez, M. A. & Thiengo, S. C. (2006). Susceptibility of *Biomphalaria amazonica* and *Biomphalaria occidentalis* from Manso Dam, Mato Grosso, Brazil to infection with three strains of *Schistosoma mansoni*. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz* 101:235–37.
- Fernández, M. V., Hamann, M. I. & Ostrowski de Núñez, M. (2013a). Larval trematodes of *Biomphalaria straminea* (Mollusca: Planorbidae) in a ricefield in Corrientes province, Argentina. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 84(3):756–64.
- Fernández, M. V., & Hamann, M. I. (2013b) Cercariae (Digenea: Strigeidae, Diplostomidae) in *Biomphalaria straminea* (Planorbidae) from a rice field in Northeastern Argentina. *Revista de Biología Tropical/International Journal of Tropical Biology and Conservation*, 65(2).
- Ferrell, D. L., Negovetich, N. J. & Wetzel, E. J. (2001). Effect of temperature on the infectivity of metacercariae of *Zygocotyle lunata* (Digenea: Paramphistomidae). *Journal of Parasitology*, 87(1):10–13.
- Fingerut, J. T., Zimmer, C. A. & Zimmer, R. K. (2003). Patterns and processes of larval emergence in an estuarine parasite system. *The Biological Bulletin*, 205:110–120.
- Finlayson, M. & Moser, M. (1991). Wetlands. International Waterfowl and Wetlands Research Bureau.

- Flores, V. R. & Brugni, N. (2005). *Notocotylus biomphalariae* n. sp. (Digenea: Notocotylidae) from *Biomphalaria peregrina* (Gastropoda: Pulmonata) in Patagonia, Argentina. *Systematic Parasitology*, 61:207–214.
- Flores, V. R., Semenas, L. G. & Veleizan, A. A. (2010). Larval digenean community parasitizing the freshwater snail, *Biomphalaria peregrina* (Pulmonata: Planorbidae), from a temporary pond in Patagonia, Argentina. *Journal Parasitology*, 96(3):652–56.
- Font, W. F. (1998) Parasites in paradise: patterns of helminth distribution in Hawaiian stream fishes. *Journal of Helminthology*, 72:307–311.
- Fredensborg, B. L., Mouritsen, K. N. & Poulin, R. (2006). Relating bird host distribution and spatial heterogeneity in trematode infections in an intertidal snail—from small to large scale. *Marine Biology*, 149:275–83.
- Fried, B., Peoples, R. C., Saxton, T. M. & Huffman, J. E. (2008). The association of *Zygocotyle lunata* and *Echinostoma trivolvis* with *Chaetogaster limnaei*, an ectosymbiont of *Helisoma trivolvis*. *Journal of Parasitology*, 94(2):553–54.
- Galaktionov, K. V. & Dobrovolskij, A. A. (2003). The biology and evolution of trematodes: an essay on the biology, morphology, life cycles, transmission, and evolution of digenetic trematodes. Kluwer Academic Publishers.
- Ganapathi, P. N. & Hanumantha, R. K. (1968). An anomalous emission of echinostome larval stages and the intraredial encystment of cercariae in the snail, *Pila globosa* (Swainson). *Curr. Sci.*, 37:19–20.
- Ginetsinskaya, T. A. (1988) Trematodes, their life cycles, biology and evolution. Amerind Publishing, New Delhi

- Grabda-Kazubska, B. (1971). Main morphological characters in Xiphidiocercariae armatae Luhe, 1909 and their taxonomic importance. *Parasitology Schriftenreihe* 21:49-55.
- Graham, A. L. (2003). Effects of snail size and age on the prevalence and intensity of avian schistosome infection: Relating laboratory to field studies. *89(3)*:458-463.
- Grassi, L. M., Torres, J., Andrade, Z. & González Cappa, S. M. (2001). Short report: *Schistosoma mansoni* miracidia are killed by the defense system of an argentine strain of *Biomphalaria straminea*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 65(4):290–92.
- Granovitch, A. I., Sergievsky, S. O. & Sokolova, I. M. (2000). Spatial and temporal variation of trematode infection in coexisting populations of intertidal gastropods *Littorina saxatilis* and *L. obtusata* in the white sea. *Diseases of Aquatic Organisms*, 41:53–64.
- Gruffydd, L. D. (1965). The population biology of *Chaetogaster limnaei limnaei* and *Chaetogaster limnaei vaghini* (Oligochaeta). *The Journal of Animal Ecology*, 667-690.
- Hall, S. R., Becker, C. R., Simonis, J. L., Duffy, M. A., Tessier, A. J. & Cáceres, C. E. (2009). Friendly competition: evidence for a dilution effect among competitors in a planktonic host–parasite system. *Ecology*, 90(3):791–801.
- Harrison, S., Ross, S. J. & Lawton, J. H. (1992). Beta diversity on geographic gradients in Britain. *Journal of Animal Ecology*, 61:151– 158.
- Hechinger, R. F. & Lafferty, K. D. (2005). Host diversity begets parasite diversity: bird final hosts and trematodes in snail intermediate hosts. *Proc. R. Soc. B*, 272:1059–66.

- Hechinger, R. F., Lafferty, K. D. & Kuris, A. M. (2008). Diversity increases biomass production for trematode parasites in snails. *Proceedings of the Royal Society*, 275:2707–14.
- Henry, P. Y., Bousset, L., Sourrouille, P. & Jarne, P. (2005). Partial selfing, ecological disturbance and reproductive assurance in an invasive freshwater snail. *Heredity*, 95(6):428-436.
- Hiltunen, J. K. & Klemm, D. J. (1980). A Guide to the Naididae (Annelida, Clitellata, Oligochaeta) of North America. Vol. 1. Environmental Monitoring and Support Laboratory, Office of Research and Development, US Environmental Protection Agency.
- Hof, C., Brändle, M., & Brandl, R. (2008). Latitudinal variation of diversity in European freshwater animals is not concordant across habitat types. *Global Ecology and Biogeography*, 17(4):539-546.
- Hoover, J. J. & Lodes, M. J. (1986). *Chaetogaster limnaei* (Oligochaeta: Naididae) in Oklahoma. *The Southwestern Naturalist*, 31(4):542-544.
- Hopkins, S. R., Wyderko, J. A., Sheehy, R. R., Belden, L. K. & Wojdak, J. M. (2013). Parasite predators exhibit a rapid numerical response to increased parasite abundance and reduce transmission to hosts. *Ecology and evolution*, 3(13):4427-4438.
- Hopkins, S. R., Boyle, L. J., Belden, L. K. & Wojdak, J. M. (2015). Dispersal of a defensive symbiont depends on contact between hosts, host health, and host size. *Oecologia*, 179(2):307-318.
- Horne, F. R. (1973). The utilization of foodstuffs and urea production by a land snail during estivation. *The Biological Bulletin*, 144(2):321-330.

- Hudson, P. J., Dobson, A. P. & Lafferty, K. D. (2006). Is a healthy ecosystem one that is rich in parasites? *TRENDS in Ecology and Evolution*, 21(7):381–85.
- Humphries, J. (2011). Effects of larval *Schistosomes* on *Biomphalaria* snails. En *Biomphalaria Snails and Larval Trematodes*, edited by Rafael Toledo and Bernard Fried, 103–25. Springer New York.
- Huspeni, T. C. & Lafferty, K. D. (2004). Using larval trematodes that parasitize snails to evaluate a saltmarsh restoration project. *Ecological Application*, 14(3):795–804.
- Huspeni, C. T., Hechinger, R. F & Lafferty, K. D. (2005). Trematodes parasites as estuarine indicators: opportunities, applications and comparisons with conventional community. En *Estuarine Indicators*, edited by S. Bortone, 297–314. CRC Press. USA.
- Ibrahim, M. M. (2007). Population dynamics of *Chaetogaster limnaei* (Oligochaeta: Naididae) in the field populations of freshwater snails and its implications as a potential regulator of trematode larvae community. *Parasitology Research*, 101:25–33.
- Jacobs, P., Rau, M. E. & Lewis, D. J. (1993). Factors affecting the acquisition of *Plagiorchis noblei* (Trematoda: Plagiorchiidae) cercariae by black fly (Diptera: Simuliidae) larvae and the effect of metacercariae on host survival. *Journal American Mosquito Control Association*, 9:36–36.
- Jähnig, S. C., Kuemmerlen, M., Kiesel, J., Domisch, S., Cai, Q., Schmalz, B. & Fohrer, N. (2012). Modelling of riverine ecosystems by integrating models: conceptual approach, a case study and research agenda. *Journal of Biogeography*, 39(12):2253–2263.
- James, C. D. & Shine, R. (2000). Why are there so many coexisting species of lizards in Australian deserts?. *Oecologia*, 125(1):127–141.

- Johnson, P. T. & Chase, J. M. (2004). Parasites in the food web: linking amphibian malformations and aquatic eutrophication. *Ecology Letters*, 7:521-526.
- Johnson, P. T., Chase, J. M., Dosch, K. L., Hartson, R. B., Gross, J. A., Larson, D. J., Sutherland, D. R. & Carpenter, S. R. (2007). Aquatic eutrophication promotes pathogenic infection in amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104:15781-15786.
- Jokela, J. & Curtis, M. L. (1995a). Parasites, sex, and early reproduction in a mixed population of freshwater snails. *Evolution*, 49(6):1268-71.
- Jokela, J. & Curtis, M. L. (1995b). Spatial variation in infection by digenetic trematodes in a population of freshwater snails (*Potamopyrgus antipodarum*). *Oecologia*, 103(4):509-17.
- Jokela, J., Dybdahl, M. F. & Lively, C.M. (2009). The maintenance of sex, clonal dynamics, and host-parasite coevolution in a mixed population of sexual and asexual snails. *The American Naturalist*, 174:43-53.
- Josens, M. L., Pretelli, M. G. & Escalante, A. H. (2009). Censos de aves acuáticas en sus colonias reproductivas en lagunas del sudeste de la Provincia de Buenos Aires. *El Hornero*, 24(1):7-12.
- Josens, M. L. (2011). Rol de las comunidades de aves acuáticas en lagunas continentales del sudeste bonaerense: un estudio de su estructura, impacto y estacionalidad. Phd Thesis, Universidad Nacional de Mar del Plata.
- Joy, J. E. & Welch, K. J. (1984). *Chaetogaster limnaei* (Oligochaeta: naididae) in the aquatic snail, *Helisoma trivolvis*, from Charles Fork Lake, West Virginia. *The Nautilus*, 98(4):138-142.

- Junk, W. J., Bayley, P. B., & Sparks, R. E. (1989). The flood pulse concept in river-floodplain systems. *Canadian special publication of fisheries and aquatic sciences*, 106(1):110-127.
- Keas, B. E. & Blankespoor, H. D. (1997). The prevalence of cercariae from *Stagnicola emarginata* (Lymnaeidae) over 50 Years in Northern Michigan. *Journal of Parasitology*, 83(3):536–40.
- Kelly, D. W., Paterson, R. A., Townsend, C. R., Poulin, R. & Tompkins, D. M. (2009). Parasite spillback: a neglected concept in invasion ecology? *Ecology*, 90(8):2047–2056.
- Khalil, L. F. (1961). On the capture and destruction of miracidia by *Chaetogaster limnaei* (Oligochaeta). *Journal of Helminthology*, 35(3/4):269-274.
- Koleff, P. (2005). Conceptos y medidas de la diversidad beta.” En *Sobre diversidad biológica: el significado de las diversidades alfa, beta y gamma.*, edited by G; J. Soberón; P. Koleff & A. Melic Halffter, 19–40. Zaragoza: Monografías del Tercer Milenio.
- Koleff, P. & Gaston, K. J. (2002). The relationships between local and regional species richness and spatial turnover. *Global Ecology and Biogeography*, 11(5):363–75.
- Kostadinova, A. (2005). Family Echinostomatidae. En *Keys to the Trematoda* (Vol. 2) (ed. Jones, A., Bray, R. A. and Gibson, D. I.), pp. 9–64. Natural History Museum, London and CAB International, Wallingford, UK.
- Krauss, J., Klein, A. M., Steffan-Dewenter, I., & Tschamntke, T. (2004). Effects of habitat area, isolation, and landscape diversity on plant species richness of calcareous grasslands. *Biodiversity and Conservation*, 13(8):1427-1439.
- Kruess, A. (2003). Effects of landscape structure and habitat type on a plant-herbivore-parasitoid community. *Ecography*, 26(3):283-290.

- Kube, S., Kube, J. & Bick, A. (2002). Component community of larval trematodes in the mudsnail *Hydrobia ventrosa*: temporal variations in prevalence in relation to host life history. *Journal of Parasitology*, 88(4):730–737.
- Kuris, A. M. (1979). *Echinostoma liei* miracidia and *Biomphalaria glabrata* snails: effect of egg age, habitat heterogeneity, water quality and volume on infectivity. *International Journal for Parasitology*, 10:21–25.
- Kuris, A. M. (1990). Guild structure of larval trematodes in molluscan hosts: prevalence, dominance and significance of competition. En: *Parasite Communities: Patterns and Processes*. Esch, G.W., Bush, A.O. and Aho, J.M. (Eds.). Chapman & Hall, London, England.
- Kuris, A. M., & Lafferty, K. D. (1994). Community structure: larval trematodes in snail host. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 25:189–217.
- Kuris, A. M. & Lafferty, K. D. (2005). Population and communities ecology of larval trematodes in molluscan first intermediate host. En: *Marine Parasitology*. Rohde, K (Ed). CSIRO Publishing.
- Lafferty, K. D. (1997). Environmental parasitology: what can parasites tell us about human impacts on the environment? *Parasitology Today*, 13(7):251–55.
- Lafferty, K. D., Sammond, D. T. & Kuris, A. M. (1994). Analysis of larval trematode communities. *Ecology*, 75(8):2275–85.
- Lafferty, K. D. & Kuris, A. M. (1999). How environmental stress affects the impacts of parasites. *Limnol. Oceanogr.*, 44(3):925–31.
- Lafferty, K. D., Dobson, A. & Kuris, A. M. (2006). Parasites dominate food web links. *Pnas*, 103(30):11211–16.
- Lafferty, K. D., & Kuris, A. M. (2005). Parasitism and environmental disturbances. *Parasitism and ecosystems*, 113-123.

- Laamrani, H., Boelee, E. & Madsen, H. (2005). Trematode infection among freshwater gastropods in Tessaout Amont Irrigation System, Morocco. *African Zoology*, 40(1):77–82.
- Lester, R. J. G., & Lee, T. D. G. (1976). Infectivity of the progenetic metacercariae of *Diplostomum spathaceum*. *Journal of Parasitology*, 62(5):832–833.
- Lively, C. M. (1996). Host-parasite coevolution and sex. *Bioscience*, 46(2):107–114.
- Locke, S. A., Levy, M. S., Marcogliese, D. J., Ackerman, S. & and McLaughlin, J. D. (2012). The decay of parasite community similarity in ring-billed gulls *Larus delawarensis* and other hosts. *Ecography*, 35(6):530–38.
- Lodge, D. M., Brown, K. M., Klosiewski, S. P., Stein, R. A., Covich, A. P., Leathers, B. K. & Bronmark, C. (1987). Distribution of freshwater snails: spatial scale and the relative importance of physicochemical and biotic factors. *American Malacological Bulletin*, 5(1):73–84.
- Lühe, M. (1909). Parasitische Plattwürmer. 1: Süßwasserfauna Deutschlands. (Bauer), Heft 17 Jena.
- MA. Millennium Ecosystem Assessment. (2005). Ecosystems and Human Well-Being: Wetlands and Water Synthesis. Millennium Ecosystem Assessment report to the Ramsar Convention. World Resources Institute, Washington, DC.
- Magoulick D. D. & Kobza R. M. (2003). The role of refugia for fish during drought: a review and synthesis. *Freshwater Biology*, 48:1186–1198.
- Magurran, A. E. (2004). Ecological Diversity and Its Measurement. Princeton University Press. Princeton, U.S.A.
- Marcogliese, D. J. (2001). Implications of climate change for parasitism of animals in the aquatic environment. *Canadian Journal of Zoology*, 79(8):1331–52.

- Marcogliese, D. J. (2005). Parasites of the superorganism: are they indicators of ecosystem health? *International Journal for Parasitology*, 35:705–16.
- Margolis, L., Esch, G. W., Holmes, J. C. & Kuris, A. M. (1982). The use of ecological terms in parasitology (report of an Ad Hoc Committee of the American Society of Parasitologists). *Journal of Parasitology*, 68:131–33.
- Martins, R. T. & Alves, R. G. (2010). Occurrence of *Chaetogaster limnaei* k. von Baer, 1927 (Oligochaeta, Naididae) associated with gastropoda mollusks in horticultural channels in Southeastern Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 70(4):1055–57.
- Martorelli, S. R. (1985). Estudios parasitológicos en biotopos lénticos de la República Argentina I: el ciclo biológico de *Echinochasmus talaensis* sp. nov. (Digenea) parásita de *Pitangus sulphuratus bolivianus* (Aves: Tyrannidae). *Neotrópica*, 31:187–200.
- Martorelli, S. R. (1986a). Estudio sistematico y biologico de un digeneo perteneciente a la familia Microphallidae Travassos, 1920. I: *Microphallus szidati* sp. nov. parásito intestinal de *Rallus sanguinolentus sanguinolentus* (Aves: Rallidae) e *Himantopus melanurus* (Aves: Recurvirostridae). *Rev. Iber. Parasitol.*, 46(4):373–78.
- Martorelli, S. R. (1986b). Estudio sistemático y biológico de un digeneo perteneciente a la familia Microphallidae Travassos, 1920. II: Desarrollo del ciclo biológico de *Microphallus szidati* en dos ambientes de condiciones ecológicas diferentes. *Rev. Iber. Parasitol.* 46(4):379–85.
- Martorelli, S. R. (1988). El ciclo biológico de *Levinseniella cruzi* Travassos, 1920 (Digenea, Microphallidae) parásito de los ciegos cólicos de *Rollandia rolland chilensis* (Aves, Podicipedidae) e *Himantopus melanurus* (Aves, Recurvirostridae). *Iheringia*, 68:49–62.

- Martorelli, S. R. (1989). Estudios parasitológicos en biotopos lénticos de la República Argentina. V. Desarrollo del ciclo biológico monoxeno de la metacercaria progenética de *Genarchella genarchella* Travassos, 1928 (Digenea, Hemiuridae) Parásita de *Littoridina parchappei* (Mollusca, Hidrobiidae). *Rev. Mus. La Plata. (N.S.), Zool.*, 14(157):109–17.
- Martorelli, S. R. & Etchegoin, J. A. (1996). Cercarias de la superfamilia Opisthorchioidea en *Heleobia conexa* (Mollusca: Hydrobiidae) de la Albufera de Mar Chiquita.” *Neotrópica*, 42:61–68.
- Martorelli, S. R., Alda, M. P., Marcotegui, P. S., La Sala, L. F., Montes, M. M. (2013). Larval digeneans in *Biomphalaria* snails from the Salto Grande dam in the Uruguay river. Publicación del laboratorio de helmintos y parásitos de crustáceos del CEPAVE.
- McCarthy, A. M. (1990). Speciation of echinostomes: evidence for the existence of two sympatric sibling species in the complex *Echinoparyphium recurvatum* (von Linstow 1873) (Digenea: Echinostomatidae). *Parasitology*, 101(01):35–42.
- McCarthy, H. O., Fitzpatrick, S. M. & Irwin, S. W. B. (2004). Parasite alteration of host shape: a quantitative approach to gigantism helps elucidate evolutionary advantages. *Parasitology*, 128(01):7–14.
- Merlo, M. J. & Etchegoin, J. A. (2011). Testing temporal stability of the larval digenean community in *Heleobia conexa* (Mollusca: Cochliopidae) and its possible use as an indicator of environmental fluctuations. *Parasitology*, 138(2):249–56.
- Merlo, M. J. (2013). Ecología de las comunidades de digeneos larvales en hospedadores moluscos del género *Heleobia* Stimpson, 1865 (Gastropoda: Rissoidea). PhD Thesis, Universidad Nacional de Mar del Plata.

- Miquel, S. E. & Zelaya, D. G. (1999). Nuevos hallazgos de *Physella cubensis* y *P. venustula* en la Argentina (Mollusca, Physidae). *Physis B*, 57:9-10.
- Michelson, E. H. (1964). The protective action of *Chaetogaster limnaei* on snails exposed to *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology*, 441-444.
- Minchella, D. J. (1985). Host life-history variation in response to parasitism. *Parasitology*, 90:205-216.
- Minns, C. K., & Moore, J. E. (1995). Factors limiting the distributions of Ontario's freshwater fishes: the role of climate and other variables, and the potential impacts of climate change. *Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences*, 137-160.
- Mitchell, D. R. & Leung, T. L. F. (2016). Sharing the load: a survey of parasitism in the invasive freshwater pulmonate, *Physa acuta* (Hydrophila: Physidae) and sympatric native snail populations. *Hydrobiologia*, 766(1):165–72.
- Miura, O., Kuris, A. M., Torchin, M. E., Hechinger, R. F. & Chiba, S. (2006). Parasites alter host phenotype and may create a new ecological niche for snail hosts. *Proc. R. Soc. B* 273:1323–28.
- Mohammad, M. K. (2015). The parasitic infection of the freshwater snails collected in Central Iraq. *International Journal of Current Microbiological Appliance Science*, 4(3):47–55.
- Moore, J., Simberloff, D. & Freehling, M. (1988). Relationships between bobwhite quail social-group size and intestinal helminth parasitism. *American Naturalist*, 131:22–32.
- Morgan, J. A. T., DeJong, R. J., Jung, Y., Khallaayoune, K., Kock, S., Mkoji, G. M. & Lokera, E. S. (2002). A phylogeny of Planorbid snails, with implications for the

- evolution of *Schistosoma* parasites. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 25:477–88.
- Morley, N. J. (2007). Anthropogenic effects of reservoir construction on the parasite fauna of aquatic wildlife. *EcoHealth*, 4 (4):374–83.
- Morlon, H., Chuyong, G., Condit, R., Hubbell, S., Kenfack, D., Thomas, D., Valencia, R. & Green, J. L. (2008). A general framework for the distance–decay of similarity in ecological communities. *Ecology Letters*, 11(9):904–17.
- Morris, M. R. (1976). Contribución al conocimiento del parasitismo de *Biomphalaria peregrina* (D'Orbigny) (Mollusca, Gastropoda). *Neotrópica*, 22:93–98.
- Morris, M. R. (1978). Estados larvales de trematodes digeneos en moluscos dulceacuícolas. *Neotropica*, 24(71):69–72.
- Mouritsen, K. N. & Poulin, R. (2002). Parasitism, community structure and biodiversity in intertidal ecosystems. *Parasitology*, 124:101–17.
- Muñoz-Antoli, C., Marin, A., Vidal, A., Toledo, R. & Esteban, J.G. (2008). *Euparyphium albuferensis* and *Echinostoma friedi* (Trematoda: Echinostomatidae): experimental cercarial transmission success in sympatric snail communities. *Folia parasitologica*, 55(2):122.
- Narosky, T. & Yzurieta, D. (2010). Guía para la identificación de las aves de Argentina y Uruguay. Ed: Vazquez Mazzini. Editorial del Plata.
- Núñez, V. & Pelichotti, P. E. (2003). Sinopsis y nuevas citas para la distribución de la familia Physidae en la Argentina (Gastropoda: Basommatophora). *Comunicaciones de La Sociedad Malacológica Del Uruguay*, 8(80–81):259–61.
- Núñez, V. (2010). Differences on allocation of available resources, in growth, reproduction, and survival, in an exotic gastropod of Physidae compared to an endemic one. *Iheringia Serial Zoologia*, 100:275–279.

- Núñez, V., Gutiérrez Gregoric, D. E. & Rumi, A. (2010). Freshwater gastropod provinces from Argentina. *Malacologia*, 53(1):47–60.
- O'Dwyer, K. & Poulin, R. (2015). Taken to the limit—Is desiccation stress causing precocious encystment of trematode parasites in snails? *Parasitology International*, 64(6):632–37.
- Oliva, M. E. & Huaquin, L. G. (2000). Progenesis in *Proctoeces lintoni* (Fellodistomidae), a parasite of *Fissurella crassa* (Archaeogastropoda) in a latitudinal gradient in the Pacific Coast of South America. *Journal of Parasitology*, 86:768–772.
- Oliva, M. E. & Gonzáles, M. T. (2005). The decay of similarity over geographical distance in parasite communities of marine fishes. *Journal of Biogeography*, 32:1327–32.
- Olson, P. D., Cribb, T. H., Tkach, V. V., Bray, R. A. & Littlewood, D. T. J. (2003). Phylogeny and classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda). *International Journal for Parasitology*, 33:733–55.
- Opdam, P., & Wascher, D. (2004). Climate change meets habitat fragmentation: linking landscape and biogeographical scale levels in research and conservation. *Biological conservation*, 117(3):285–297.
- Ostrowski de Núñez, M. (1972). Fauna de agua dulce de la República Argentina. I. Anotaciones sobre furcocercarias. *Neotropica*, 18:137–140.
- Ostrowski de Núñez, M. (1974). Fauna de agua dulce de la República Argentina. III. Cercarias de la superfamilia Plagiorchioidea (Trematoda). *Neotropica*, 20:1–8.
- Ostrowski de Núñez, M. (1977). Fauna de agua dulce de la República Argentina. VIII. Furcocercarias (trematoda) nuevas de moluscos de las familias Planorbidae y Ancyliidae. *Physis, Sección B* 37, (93):117–25.

- Ostrowski de Núñez, M. (1978). Fauna de agua dulce de la República Argentina. VII. Cercarias de la familia Schistosomatidae (Trematoda, Digenea). *Rev. Mus. Bernardino Rivadavia*, 2(3):65–76.
- Ostrowski de Núñez, M. (1981). Fauna de agua dulce de la República Argentina. X. Cercarias de las superfamilias Echinostomatoidea, Allocreadioidea y Microphalloidea (Trematoda, Digenea). *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia*, 2:1–9.
- Ostrowski de Núñez, M. (1992). Trematoda. Familias Strigeidae, Diplostomidae, Clinostomidae, Schistosomatidae, Spirorchiidae y Bucephalidae. En: de Castellanos ZA. (Ed). Fauna de agua dulce de la República Argentina. Fundación para la Educación, la Ciencia y la Cultura. Buenos Aires. Pp. 5–55.
- Ostrowski de Núñez, M. (1993). Life-history studies of Heterophyid trematodes in the Neotropical Region: *Ascocotyle (Phagicola) diminuta* (Stunkard & Haviland, 1924) and *A. (P.) angrense* Travassos, 1916. *Systematic Parasitology*, 24:191–99.
- Ostrowski de Núñez, M. (1995). Life history of *Pygidiopsis crassus* n. sp. (Trematoda, Digenea, Heterophyidae) in the Neotropical Region. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 90(1):13–19.
- Ostrowski de Núñez, M. (2001). Life cycles of two new sibling species of *Ascocotyle* (Digenea, Heterophyidae) in the Neotropical Region. *Acta Parasitologica*, 46(2).
- Ostrowski de Núñez, M. (2007). Life cycle of *Stephanoprora uruguayense* (Digenea: Echinostomatidae) in Argentina. *Journal of Parasitology*, 93(5):1090–96.
- Ostrowski de Núñez, M, Hamann M. I. & Rumi A. (1990). Larval trematodes of *Schistosoma mansoni* transmitting snails, *Biomphalaria* spp., in Northeastern Argentina. *Acta Parasitologica Polonica*, 35(2):85–96.

- Ostrowski de Nuñez, M., Hamann, M. I. & Rumi, A. (1991). Population dynamics of planorbid snails from a lentic biotope in Northeastern Argentina. Larval trematodes of *Biomphalaria occidentalis* and analysis of their prevalence and seasonality. *Acta Parasitologica Polonica*, 36(4):159–66.
- Ostrowski de Nuñez, M., Hamann, M. I. & Rumi, A. (1997). Estudios de trematodes larvales en *Biomphalaria spp.* (Mollusca, Planorbidae) de la localidad de San Roque, Provincia de Corrientes, Argentina. *Physis, Seccion B*, 126(127):7–15.
- Pape Møller, A. (2005). Parasites, predators and the duration of developmental periods. *Oikos*, 111(2):291–301.
- Paraense, W. L. & Correa, L. R. (1989) A potential vector of *Schistosoma mansoni* in Uruguay. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 84, 281–288.
- Paraense, W. L. & Pointier, J. P. (2003). *Physa acuta* Draparnaud, 1805 (Gastropoda: Physidae): a study of topotypic specimens. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 98(4):513–517.
- Paraense, W. L. (2005). Planorbidae, Lymnaeidae and Physidae of Argentina (Mollusca: Basommatophora). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100(5):491–493.
- Parietti, M. (2011). Distribución espacial estabilidad temporal de la comunidad de digeneos larvales que parasitan a *Heleobia australis* (Mollusca: Cochliopidae) en la laguna de Mar Chiquita. Thesis. Universidad Nacional de Mar del Plata.
- Parietti, M., Merlo, M. J. & Etchegoin, J. A. (2013). Can the studies at a spatial scale of 100s meters detect the spatiotemporal fluctuations of a parasite assemblage? *Acta Parasitologia*, 58(4):577–84.
- Pietroock, M. & Marcogliese, D. J. (2003). Free-living endohelminth stages: at the mercy of environmental conditions. *TRENDS in Parasitology*, 19(7):293–99.

- Pinto, H. A., Brant, S. V. & de Melo, A. L. (2014). *Physa marmorata* (Mollusca: Physidae) as a natural intermediate host of *Trichobilharzia* (Trematoda: Schistosomatidae), a potential causative agent of avian cercarial dermatitis in Brazil. *Acta Tropica*, 138:38–43.
- Poulin, R. (1999). The intra- and interspecific relationship between abundance and distribution in helminth parasites of birds. *Journal of Animal Ecology*, 68:719–25.
- Poulin, R. (2003). The decay of similarity with geographical distance in parasite communities of vertebrate hosts. *Journal of Biogeography*, 30:1609–15.
- Poulin, R. (2005). Evolutionary trends in body size of parasitic flatworms. *Biological Journal of the Linnean Society*, 85:181–89.
- Poulin, R. (2006). Global warming and temperature-mediated increases in cercarial emergence in trematode parasites. *Parasitology*, 132: 143–51.
- Poulin, R. (2010a). Decay of similarity with host phylogenetic distance in parasite faunas. *Parasitology*, 137(4):733.
- Poulin, R. (2010b). Latitudinal gradients in parasites diversity: bridging the gap between temperate and tropical areas. *Neotropical Helminthology*, 4(2):169–77.
- Poulin, R. & Cribb, T. H. (2002). Trematode life cycles: short is sweet?" *TRENDS in Parasitology*, 18(4):176–83.
- Poulin, R. & Mouillot, D. (2003). Host introductions and the geography of parasite taxonomic diversity. *Journal of Biogeography*, 30(6):837–45.
- Poulin, R. & Mouritsen, K. N. (2006). Climate change, parasitism and the structure of intertidal ecosystems. *Journal of Helminthology*, 80:183–191.
- Prah, S. K., & James, C. (1977). The influence of physical factors on the survival and infectivity of miracidia of *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium* I. Effect of temperature and ultra-violet light. *Journal of Helminthology*, 51(01):73–85.

- Prepelitchi, L. (2009). Ecoepidemiología de *Fasciola hepatica* (Trematoda, Digenea) en el norte de la provincia de Corrientes destacando aspectos ecológicos de *Lymnaea columella* (Pulmonata, Lymnaeidae) y su rol como hospedador intermediario. PhD Thesis, Universidad de Buenos Aires.
- Pointier, J. P. & Combes, C. (1976) La saison sèche en Guadeloupe et ses conséquences sur la démographie des mollusques dans les biotopes à *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818), vecteur de la bilharziose intestinale. *Terre et Vie*, 30:121–147
- Potekhina, L. F. & Shigina, N. G. (1970). Some questions on the biology of *Chaetogaster limnaei* in connection with its consumption of trematode larvae. *Trudy Vsesoyuznogo Instituta Gel'mintologii im. KI Skryabina*, 16:181-188.
- Richards, C. S. (1963). Apertural lamellae, epiphragms and aestivation of planorbids molluscs. *Am. J. trop. Med. Hyg.*, 12:254–263.
- Rifkin, J. L., Nunn, C. L. & Garamszegi, Z. (2012). Do animals living in larger groups experience greater parasitism? A meta-analysis. *Am. Nat.*, 180:70–82
- Ritchie, M. E., & Olff, H. (1999). Spatial scaling laws yield a synthetic theory of biodiversity. *Nature*, 400(6744):557-560.
- Rocchini, D. (2007). Distance decay in spectral space in analysing ecosystem B-diversity. *International Journal of Remote Sensing*, 28(11):2635–44.
- Rodgers, J., Sandland, G. J., Joyce, S. R. & Minchella, D. J. (2005). Multi-species interactions among a commensal (*Chaetogaster limnaei limnaei*), a parasite (*Schistosoma mansoni*), and an aquatic snail host (*Biomphalaria glabrata*). *Journal of Parasitology*, 91(3):709–12.
- Rohde, K. (1981). Population dynamics of two snail species, *Planaxis sulcatus* and *Cerithium moniliferum*, and their trematode species at Heron Island, Great Barrier Reef. *Oecologia*, 49:344–52.

- Rollinson, D. (2011). Biomphalaria: natural history, ecology and schistosome transmission. *Biomphalaria Snails and Larval Trematodes*, 57–79.
- Rousset, F., Thomas, F., de Meeus, T. & Renaud, F. (1996). Inference of parasite-induced host mortality from distributions of parasite loads. *Ecology*, 77(7):2203–11.
- Rowan, W. B. (1965). The ecology of schistosome transmission foci. *Bull. WHO*. 33:63–71.
- Rumi, A., Gutiérrez Gregoric, D. E., Núñez, V. & Darrigran, G. A. (2008). Malacología latinoamericana. Moluscos de agua dulce de Argentina. *Revista Biológica Trópica*, 56(1):77–111.
- Rumi, A. & Hamann, M. I. (1990). Potential schistosome-vector snails and associated trematodes in ricefields of Corrientes Province, Argentina: preliminary results. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 85(3):321–28.
- Russell-Hunter, W. D. (1978). Ecology of freshwater pulmonates. *Pulmonates*, 2, 334–383.
- Quirós, R. (2005). La ecología de las lagunas de Las Pampas. *Investigación y Ciencia*, 1:13.
- Quirós, R., Rennella, A. M., Boveri, M. A., Rosso, J. J. & Sosnovsky, A. (2002). Factores que afectan la estructura y el funcionamiento de las lagunas Pampeanas. *Ecología Austral*, 12(2):175–85.
- Sambon, L. W. (1907). Remarks on *Schistosoma mansoni*. *Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 10:303–4.
- Sapp, K. K. & Esch, G. W. (1994). The effects of spatial and temporal heterogeneity as structuring forces for parasite communities in *Helisoma anceps* and *Physa gyrina*. *The American Midland Naturalist*, 132:91–103.

- Schell, S. C. (1970). How to know de trematodes. W.C. Brown Company Publishers, Dubuque.
- Schneck, J. L. & Fried, B. (2004). Effects of snail size on encystment of *Echinostoma caproni* in juvenile *Biomphalaria glabrata* (NMRI strain) and observations on the survival of infected snails. *Journal of helminthology*, 78(03):277-279.
- Schwartz, S. S. & Jenkins, D. G. (2000). Temporary aquatic habitats: constraints and opportunities. *Aquat. Ecol.*, 34:3–8.
- Scott, J. S. (1988). Helminth parasites of redbfish (*Sebastes fasciatus*) from the Scotian Shelf, Bay of Fundy, and eastern Gulf of Maine. *Canadian journal of zoology*, 66(3):617-621.
- Shah, H. B., Yousuf, A. R, Chishti, M. Z. & Ahmad, F. (2013). Metacercariae of *Clinostomum schizothoraxi* Kaw, 1950 (Digenea: Clinostomatidae) in *Carassius carassius* (Linnaeus) under different environmental conditions. *Folia Parasitologica*, 60(2):163.
- Shigina, N. G. (1970). The feeding of *Chaetogaster limnaei* (Oligochaeta, Naididae) and its role in the extermination of trematode larvae. *Zoologicheskii Zhurnal*, 49(5).
- Skirnisson, K., Galaktionov, K. V. & Kozminsky, E V. (2004). Factors influencing the distribution of digenetic trematode infections in a mudsnail (*Hydrobia ventrosa*) population inhabiting salt marsh pond in Iceland. *Journal of Parasitology*, 90(1):50–59.
- Smith, N. F. (2001). Spatial heterogeneity in recruitment of larval trematodes to snail intermediate hosts. *Oecologia*, 127:115–22.
- Smith, N. F. (2007). Associations between shorebird abundance and parasites in the sand crab, *Emerita analoga*, along the California Coast. *Journal of Parasitology*, 93(2):265–73.

- Smythe, A. B., Forgrave, K., Patti, A., Hochberg, R. & Litvaitis, M. K. (2015). Untangling the ecology, taxonomy, and evolution of *Chaetogaster limnaei* (Oligochaeta: Naididae) species complex. *The Journal of Parasitology*, 101(3):320–26.
- Sokolova, I. M. (1995). Influence of trematodes on the demography of *Littorina saxatilis* (Gastropoda: Prosobranchia: Littorinidae) in the White Sea.” *Diseases of Aquatic Organisms*, 21:91–101.
- Soininen, J., McDonald, R. & Hillebrand, H. (2007a). The distance decay of similarity in ecological communities. *Ecography*, 30:3–12.
- Soininen, J., Lennon, J. J., & Hillebrand, H. (2007b). A multivariate analysis of beta diversity across organisms and environments. *Ecology*, 88(11):2830-2838.
- Sousa, W. P. (1990). Spatial scale and the processes structuring a guild of larval trematode parasites. En *Parasites Communities: Patterns and Processes*. Esch, G.W.; Bush; A.O. & Aho, J. M., 41–67.
- Sousa, W. P. (1993). Interspecific antagonism and species coexistence in a diverse guilds of larval trematode parasites. *Ecological Monographs*, 63(2):103–28.
- Spatz, L., Gonzalez Cappa, S. M. & Ostrowski de Núñez, M. (2012). Susceptibility of wild populations of *Biomphalaria spp.* from neotropical South America to *Schistosoma mansoni* and interference of *Zygocotyle lunata*. *The Journal of Parasitology*, 98(6):1291–95.
- Steffan-Dewenter, I., Münzenberg, U., Bürger, C., Thies, C., & Tscharntke, T. (2002). Scale-dependent effects of landscape context on three pollinator guilds. *Ecology*, 83(5):1421-1432.

- Steinauer, M. L., & Font, W. F. (2003). Seasonal dynamics of the helminths of bluegill (*Lepomis macrochirus*) in a subtropical region. *Journal of Parasitology*, 89(2):324–328.
- Stoll, S., Früh, D., Westerwald, B., Hormel, N. & Haase, P. (2013). Density-dependent relationship between *Chaetogaster limnaei limnaei* (Oligochaeta) and the freshwater snail *Physa acuta* (Pulmonata). *Freshwater Science*, 32(2):642–49.
- Stoll, S., Hormel, N., Früh, D. & Tonkin, J. D. (2016). Effects of *Chaetogaster limnaei limnaei* (Oligochaeta, Tubificidae) on freshwater snail communities. *Hydrobiologia*, 1–13.
- Storey, R. (1972). Dormancy in *Lymnaea peregra* (Müller) during periods of dryness. *J. Conch.*, 27:377–386.
- Strong, E., Gargominy, O., Ponder, W. & Bouchet, P. (2008). Global diversity of gastropods (Gastropoda; Mollusca) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595(1):149–66.
- Sturrock, R. F. (1970). An investigation of some factors influencing the survival of St Lucian *Biomphalaria glabrata* deprived of water. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 64:365–371
- Sukhdeo, M. V. K. & Sukhdeo, S. C. (2004). Trematode behaviours and the perceptual worlds of parasites. *Canadian Journal of Zoology*, 82(2):292–315.
- Summerville, K. S. & Crist, T. O. (2004). Contrasting effects of habitat quantity and quality on moth communities in fragmented landscapes. *Ecography*, 27(1),3-12.
- Szidat, L. (1956). Über den entwicklungszyklus mit progenetischen larvenstadien (Cercariaeen) von *Genarchella genearchella* Travassos, 1928 (Trematoda, Hemiuridae) und die möglichkeit einer hormonalen beeinflussung der parasiten durch ihre wirtstiere. *Zeitschrift Fur Tropenmedizin Und Parasitologie*, 7:132–53.

- Szidat, L. (1957). Über den entwicklungszyklus von *Psilochasmus oxyurus* (Creplin 1852, Lühe 1910) (Trematoda, Psilostomatidae) in Argentinien. *Z. F. Parasitenkunde*, 18:24–35.
- Teles, H. M. S., Ferreira, C. S., Carvalho, M. E., Lima, V. R. & Zacharias F. (2002) *Schistosomiasis mansoni* in Bananal (State of São Paulo, Brazil). II. Intermediate hosts. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 97:37–41.
- Ter Braak, C. J. F. (1988) CANOCO. Agricultural Mathematics Group. Technical Report LWA-88-02. Wageningen, Netherlands.
- Thieltges, D. W., Ferguson, M. A. D., Jones, C. S., Krakau, M., de Montaudouin, X., Noble, L. R., Relse, K. & Poulin, R. (2009). Distance decay of similarity among parasite communities of three marine invertebrate hosts. *Oecologia*, 160:163–73.
- Thieltges, D. W., Hof, C., Dehling, D. M., Brändle, M., Brandl, R. & Poulin, R. (2011). Host diversity and latitude drive trematode diversity patterns in the European freshwater fauna. *Global Ecology and Biogeography*, 20:675–82.
- Thiengo, S. C., Fernandez, M. A., Boaventura, M. F., Gault, C. E., Silva, H. F. R., Mattos, A. C. & Santos, S. B. (2001). Freshwater snails and *Schistosomiasis mansoni* in the State of Rio de Janeiro, Brazil: I - Metropolitan Mesoregion. *Memoria Instituto Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, 96:177–84.
- Thiengo, S. T., Fernandez, M. A., Boaventura, M. F., Magalhães, M. G. & Santos, S. B. (2002). Freshwater snails and *Schistosomiasis mansoni* in the State of Rio de Janeiro, Brazil: III - Baixadas Mesoregion. *Mem Inst Oswaldo Cruz*, 97(1):43–46.
- Thomas, F., Adamo, S. & Moore, J. (2005). Parasitic manipulation: where are we and where should we go? *Behavioural Processes*, 68:185–99.

- Timi, J. T., Luque, J. L. & Poulin, R. (2010). Host ontogeny and the temporal decay of similarity in parasite communities of marine fish. *International Journal for Parasitology*, 40(8):963–68.
- Tolley-Jordan, L. R. & Owen, J. M. (2008). Habitat influences snail community structure and trematode infection levels in a spring-fed River, Texas, USA. *Hydrobiologia*, 600:29–40.
- Torchin, M. E., Lafferty, K. D., Dobson, A., McKenzie, V. J. & Kuris, A. M. (2003). Introduced species and their missing parasites. *Nature*, 421:628–30.
- Torchin, M. E., Lafferty, K. D. & Kuris, A. M. (2002). Parasites and marine invasions. *Parasitology*, 124:137–51.
- Torchin, M. E. & Mitchell, C. E. (2004). Parasites, pathogens, and invasions by plants and animals. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2(4):183–90.
- Tsitrone, A., Jarne, P. & David, P. (2003). Delayed selfing and resource reallocations in relation to mate availability in the freshwater snail *Physa acuta*. *The American Naturalist*, 162(4):474–88.
- Ulmer, M. J. (1955). Notes on tetracotyles within echinostoma rediae from the Okoboji region. *Proc. Iowa Acad. Sci.*, 62:550-554
- Veech, J. A., Summerville, K. S., Crist, T. O. & Gering, J. C. (2002). The additive partitioning of species diversity: recent revival of an old idea. *Oikos*, 99:3–9.
- Véra C, Brémond P, Labbo R, Meuchet F, Sellin E, Boulanger D, Pointier JP, Delay B & Sellin B (1994) Seasonal fluctuations in population densities of *Bulinus senegalensis* and *B. truncates* (Planorbidae) in temporary pools in a focus of *Schistosoma haematobium* in Niger: implications for control. *Journal of Molluscan Studies*, 61:79–88

- Véra, C., Bremond, P., Labbo, R., Mouchet, F., Sellin, E., Boulanger, D., Pointier, J. P., Delay, B. & Sellin, B. (1995). Seasonal fluctuations in population densities of *Bulinus senegalensis* and *B. truncatus* (Planorbidae) in temporary pool in a focus of *Schistosoma haematobium* in Niger: implications for control. *Journal of Molluscan Studies*, 61(1):79–88.
- Wanson, W. W. & Larson, O. R. (1972). Studies on helminths of North Dakota. V. Life history of *Phyllodistomum nocomis fischthal*, 1942 (Trematoda: Gorgoderidae). *The Journal of parasitology*, 1106-1109.
- Webbe, G. (1966). The effect of water velocities on the infection of *Biomphalaria sudanica tanganyicensis* exposed to different numbers of *Schistosoma mansoni* miracidia. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 60:85-89
- Weibull, A. C., Östman, Ö. & Granqvist, Å. (2003). Species richness in agroecosystems: the effect of landscape, habitat and farm management. *Biodiversity and conservation*, 12(7):1335-1355.
- Wethington, A. R. & Lydeard, C. (2007). A molecular phylogeny of Physidae (Gastropoda: Basommatophora) based on mitochondrial DNA sequences. *Journal of Molluscan Studies*, 73(3):241–57.
- Wetzel, E. J. & Shreve, E. W. (2003). The influence of habitat on the distribution and abundance of metacercariae of *Macravestibulum obtusicaudum* (Pronocephalidae) in a small Indiana stream. *Journal of Parasitology*, 89(5):1088-1090.
- Williams, D. D. (1996). Environmental constraints in temporary fresh waters and their consequences for the insect fauna. *Journal of the North American Benthological Society*, 634–50.

- Williams, J.A. & Esch, G. W. (1991). Infra-and component community dynamics in the pulmonate snail *Helisoma anceps*, with special emphasis on the hemiurid trematode *Halipegus occidualis*. *Journal of Parasitology*, 77(2):246–53.
- Williams, D. D. & Hogg, I. D. (1996). Ecological disruption resulting from the creation and modification of agricultural and urban drainage channels in Canada and Australia—can such habitats contribute to invertebrate conservation. *Nature conservation and the management of drainage system habitat*. John Wiley, London.
- Wisniewski, W. L. (1958). The development cycle of *Psilochasmus oxyuris* Creplin, 1825. *Acta Parasitologica Polonica*, 6(8/21).
- Zanette, L. R. S., Martins, R. P. & Ribeiro, S. P. (2005). Effects of urbanization on Neotropical wasp and bee assemblages in a Brazilian metropolis. *Landscape and Urban Planning*, 71(2):105-121.
- Zar, J. H. (2009). *Biostatistical analysis*, 5th edition. Pearson Education, Inc. New Jersey. U.S.A.
- Zbikowska, E. (2004). Does behavioural fever occur in snails parasitised with trematode larvae? *Journal of Thermal Biology*, 29:675–79.
- Zelmer, D. A., Wetzel, E. J. & Esch, G. W. (1999). The role of habitat in structuring *Halipegus occidualis* metapopulations in the green frog. *The Journal of Parasitology*, 19–24.