



**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR**

**Tesis Doctor en Biología**

**HISTORIA NATURAL, CICLO DE VIDA Y DISTRIBUCIÓN DE TRES  
CARACOLES DULCEACUÍCOLAS DE FONDOS DUROS DEL  
GÉNERO *POMACEA* DE LA MESOPOTAMIA ARGENTINA**

**Lic. FERNANDA MARIEL GUROVICH**

**BAHÍA BLANCA**

**ARGENTINA**

**2021**





**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR**

**Tesis Doctor en Biología**

**HISTORIA NATURAL, CICLO DE VIDA Y DISTRIBUCIÓN DE TRES  
CARACOLES DULCEACUÍCOLAS DE FONDOS DUROS DEL  
GÉNERO *POMACEA* DE LA MESOPOTAMIA ARGENTINA**

**Lic. FERNANDA MARIEL GUROVICH**

**BAHÍA BLANCA**

**ARGENTINA**

**2021**

## PREFACIO

Esta tesis se presenta como parte de los requisitos para optar al grado Académico de Doctor en Biología, de la Universidad Nacional del Sur y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad u otra. La misma contiene los resultados obtenidos en investigaciones llevadas a cabo en el Laboratorio de Ecología, dependiente del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia como parte del Grupo de Ecología, Comportamiento y Evolución de Moluscos de Aguas Continentales (INBIOSUR, UNS-CONICET), durante el período comprendido entre el 17 de diciembre de 2013 y el 30 de abril de 2021, bajo la dirección del Dr. Pablo Rafael Martín, Profesor Asociado de Ecología General y Ecología de Poblaciones, y la co-dirección de la Dra. Silvana Burela, Profesora Adjunta de Invertebrados Marinos y Acuicultura General.

01/04/2022

.....

**Fecha**



.....

**Firma**

**Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia**

**UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR**

## RESUMEN

Los ampuláridos son caracoles dulceacuícolas considerados importantes invasores a nivel mundial, aunque esta mala reputación se debe a solo tres especies que causan múltiples impactos ecológicos, sanitarios y económicos, y sobre las cuales se ha centrado el interés científico. Los aspectos biológicos y ecológicos de la mayoría de los ampuláridos son prácticamente desconocidos y su estado de conservación no ha sido abordado aun, como es el caso de *Pomacea megastoma* y *Pomacea americanista*. El objetivo de esta tesis fue proporcionar evidencia nueva sobre estas dos especies, hasta hace poco pertenecientes al género *Pomella*, e incluir el estudio de una población que posiblemente constituya una tercera especie (*Pomacea* sp1). Se obtuvo información de sus hábitats y distribuciones geográficas actuales y se estudiaron los rasgos de sus ciclos de vida bajo condiciones controladas. También se estimaron sus principales parámetros demográficos y de crecimiento corporal, y se compararon sus características morfológicas. La combinación de estos datos es relevante para evaluar su grado de vulnerabilidad y permitir una aproximación acerca del estatus específico de *Pomacea* sp1. Para analizar la distribución geográfica se realizó un muestreo exhaustivo en cursos de agua de la Mesopotamia Argentina y se revisaron las colecciones malacológicas de dos importantes museos. A partir de masas de huevos colectadas en el campo se iniciaron cohortes de 50 individuos de cada especie, criados individualmente bajo condiciones homogéneas controladas ( $26 \pm 1$  °C, fotoperíodo de 14 horas y lechuga *ad libitum*) hasta su muerte natural. Semanalmente se midió la longitud de sus conchillas, se les permitió el apareamiento en un acuario colectivo y se registró el número de huevos depositados y de neonatos. Los muestreos de campo confirmaron su asociación con fondos duros y sus limitadas distribuciones geográficas: *P. americanista* en el Alto Paraná y río Iguazú y *P. megastoma* en el río Uruguay y margen izquierda del Río de la Plata, mientras que *Pomacea* sp1 solo se halló en un afluente del río Uruguay. Antiguos registros de museo por fuera de estas áreas sugieren un rango de distribución más amplio en el pasado para las tres especies. Sus huevos calcáreos

depositados sobre sustratos emergentes y el desarrollo de neonatos precociales apoyan su inclusión en el género *Pomacea*. Las cohortes de *Pomacea* sp1, *P. americanista* y *P. megastoma* presentaron importantes diferencias en sus tallas (43,6; 58,9 y 65,8 mm) y longevidades (84, 143 y 207 semanas) máximas. Las tallas de las conchillas, ajustadas al modelo de von Bertalanffy, reflejaron diferencias en el crecimiento corporal, tanto de hembras ( $K= 0,094; 0,100$  y  $0,038 \text{ sem}^{-1}$ ) como de machos ( $K= 0,086; 0,101$  y  $0,037 \text{ sem}^{-1}$ ). La supervivencia y la fecundidad permitieron confeccionar tablas de vida mensuales de las tres cohortes y estimar sus parámetros demográficos: tanto la tasa intrínseca de crecimiento de *P. americanista* como la de *Pomacea* sp1 se estimaron en  $0,579 \text{ mes}^{-1}$ , siendo más del triple que la de *P. megastoma* ( $0,183 \text{ mes}^{-1}$ ); ésta última exhibió un tiempo generacional de 35,6 meses, frente a los 15,9 de *P. americanista* y los 11,9 de *Pomacea* sp1. En laboratorio, las hembras de *P. americanista* mostraron un comportamiento de cópulas múltiples, mientras que las de *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 participaron en una o unas pocas cópulas en su vida, pero de mayor duración. Las tres cohortes mostraron importantes diferencias en el tamaño de sus huevos y en la morfología de sus vainas del pene, y presentaron dimorfismo sexual en la forma de sus conchillas y opérculos, en la edad a la madurez sexual y en su crecimiento. La cría bajo idénticas condiciones permite descartar que las diferencias observadas en el campo tengan un origen ecofenotípico, ya que persistieron en el laboratorio, apoyando la idea de que *Pomacea* sp1 constituye una especie aun no descrita. Si bien las tres cohortes mostraron ciclos de vida semélparos, en el campo podrían ser iteróparos y plurianuales debido a la estacionalidad térmica. Aunque algunos rasgos estudiados podrían indicar cierta invasividad, la mayoría de ellos, sumados a su hábitat restringido a fondos duros y a la fragilidad de los mismos, las convierte en especies potencialmente vulnerables. La evidencia aquí presentada sugiere que *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 son tres especies diferentes entre sí y diferentes en conjunto a otras especies del género; sin embargo, se requiere complementar con otros estudios, sobre todo genéticos, para determinar si los rasgos compartidos se deben a convergencia por la ocupación de hábitats semejantes o a un ancestro común.

## ABSTRACT

Ampullariids or apple snails are freshwater snails considered as important invaders worldwide, although this bad reputation is due to only three species that cause multiple ecological, sanitary and economic impacts, and on which most scientific interest has focused. The biological and ecological aspects of most ampullariids are practically unknown and their conservation status has not yet been addressed, as is the case of *Pomacea megastoma* and *Pomacea americanista*. The objective of this thesis was to provide new evidence on these two species, until recently placed in the genus *Pomella*, and to study a population that possibly constitutes a third species (*Pomacea* sp1). Information on their current habitats and geographic distributions was obtained and their life history traits were studied under controlled conditions. Their main parameters of demographic and somatic growth were also estimated, and their morphological characteristics were compared. The combination of these data is relevant to assess the degree of vulnerability and to approach a definition of the specific status of *Pomacea* sp1. To analyze the geographical distribution of the three taxa, an exhaustive sampling was carried out in watercourses of Mesopotamia Argentina and the malacological collections of two important museums were reviewed. Cohorts of 50 individuals were started from egg masses of each species collected in the field and reared individually until their natural death under controlled homogeneous conditions ( $26 \pm 1$  °C, photoperiod of 14 hours and lettuce *ad libitum*). The length of their shells was measured weekly, snails were allowed to mate in collective aquaria, and the number of laid eggs and of hatchlings were recorded. Field samplings confirmed their association with hard bottoms and their limited geographic distributions: *P. americanista* in the Alto Paraná and Iguazú River and *P. megastoma* in the Uruguay River and left bank of the Río de la Plata, while *Pomacea* sp1 was only found in a tributary of the Uruguay River. Older museum records outside of these areas suggest a wider past range for all three species. Their calcareous eggs deposited on emerging substrates and the development of precocial hatchlings support their inclusion in the genus *Pomacea*. The cohorts of *Pomacea* sp1, *P.*

*americanista* and *P. megastoma* showed important differences in their maximum lengths (43.6, 58.9 and 65.8 mm) and longevities (84, 143 and 207 weeks). Shell sizes, adjusted to the von Bertalanffy model, reflected differences in somatic growth rates, both in females ( $K = 0.094, 0.100$  and  $0.038 \text{ weeks}^{-1}$ ) and males ( $K = 0.086, 0.101$  and  $0.037 \text{ weeks}^{-1}$ ). Survival and fertility data allowed the calculation of life tables for the three cohorts and to estimate their demographic parameters on a monthly basis: the intrinsic growth rate of both *P. americanista* and *Pomacea* sp1 was estimated at  $0.579 \text{ month}^{-1}$ , being more than threefold higher than that of *P. megastoma* ( $0.183 \text{ month}^{-1}$ ); the generation time of the latter was 35.6 months, as compared to 15.9 and 11.9 months for *P. americanista* and *Pomacea* sp1, respectively. In the laboratory, *P. americanista* females showed multiple copulation behaviour, while *P. megastoma* and *Pomacea* sp1 females participated in one or a few copulations in their lifetime, but of a longer duration. The three cohorts showed important differences in their egg size and penis sheath morphology; they presented sexual dimorphism in the shape of their shells and opercula, in the age at sexual maturity and in shell growth. Breeding under identical conditions makes it possible to rule out that the differences observed in the field have an ecophenotypic origin, since they persisted in the laboratory, supporting the idea that *Pomacea* sp1 constitutes a not-yet-described species. Although the three cohorts showed semelparous life cycles, under field conditions they could be iteroparous and multi-annual due to thermal seasonality. Although some traits of the studied species could indicate invasiveness, most others, in addition to their restricted and fragile hard bottom habitats, make them potentially vulnerable species. The evidence presented here supports that *P. americanista*, *P. megastoma* and *Pomacea* sp1 are three species different from each other and also different as a whole from other species of the genus; however, complementary studies, especially genetic ones, are necessary to determine if the shared traits are due to convergence by the occupation of similar habitats or to a common ancestor.

## AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas (CONICET) y a la Universidad Nacional del Sur (UNS), por otorgarme las becas para realizar este trabajo.

Al Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del Sur (INBIOSUR) y al Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia de la UNS, por ofrecerme un lugar de trabajo.

Al personal del Parque Nacional Iguazú, por permitirnos realizar allí parte de la investigación de campo y por la asistencia recibida. A los chicos del Centro de Investigaciones Ecológicas Subtropicales (CIES) y del Centro de Investigaciones Antonia Ramos (CIAR) por darnos cálido alojamiento y comodidades durante la campaña.

Al personal del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia (MACN) y de la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de la Universidad Nacional de La Plata (FCNyM-UNLP), por facilitarnos el material de sus colecciones malacológicas.

Al Dr. Pablo Martín, mi director, y a la Dra. Silvana Burela, mi co-directora, por brindarme sus amplios conocimientos y ayuda siempre, por su seguimiento constante, por su paciencia y por los buenos momentos compartidos en los viajes de campaña.

A mis papás, por su apoyo incondicional, por su ayuda en todo lo que necesité, por su paciencia infinita y por alentarme. Por estar siempre.

A Franco, por quererme y acompañarme tan de cerquita en este proceso, por aconsejarme y confiar en mí y por priorizarme durante estos meses de escritura.

A Dante, por ser mi motorcito motivacional de los dos últimos años.

A mi suegra Marce y mi cuñada Juli, por su valiosísima ayuda cuidando a Dante siempre que lo necesité.

A mis amigos y a mis hermanas amigas, por escucharme hablar durante tantos años de mi proceso de tesis, por contenerme, por su cariño y apoyo en todo momento.

A los chicos del laboratorio: Nico, Emi, Lucía, Maiko, Enzo y Mara, por su compañerismo, por generar un lindo ambiente de trabajo y compartir muchos mates y almuerzos.

A Rocío, que como estudiante me ayudó durante un tiempo con la limpieza de mis 150 acuarios.

A Silvina, técnica del INBIOSUR, por su asistencia en los últimos meses de ensayos y colaboración en la fotografía de las conchillas.

A todos ustedes,

MUCHAS GRACIAS por transitar conmigo este largo camino...

¡¡Y por ayudarme a llegar!!

# HISTORIA NATURAL, CICLO DE VIDA Y DISTRIBUCIÓN DE TRES CARACOLES DULCEACUÍCOLAS DE FONDOS DUROS DEL GÉNERO *POMACEA* DE LA MESOPOTAMIA ARGENTINA

## ÍNDICE

<b>CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN GENERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>1.1. Generalidades y antecedentes de las especies de <i>Pomacea</i> de fondos duros de la Mesopotamia Argentina .....</b>	<b>1</b>
1.1.1. Los moluscos de agua dulce .....	1
1.1.2. La familia Ampullariidae .....	1
1.1.3. Ampuláridos presentes en la Argentina .....	3
1.1.4. El género <i>Pomella</i> .....	4
1.1.5. <i>Pomacea megastoma</i> .....	6
1.1.6. <i>Pomacea americanista</i> .....	7
1.1.7. Identidades confusas y nuevas entidades .....	7
<b>1.2. Características del hábitat natural de las especies en estudio: la cuenca del Río de la Plata .....</b>	<b>8</b>
<b>1.3. Potencial invasor y vulnerabilidad de los ampuláridos .....</b>	<b>10</b>
<b>1.4. Principales amenazas para los ampuláridos de la cuenca del Río de la Plata .....</b>	<b>12</b>
<b>1.5. Objetivos.....</b>	<b>15</b>
1.5.1. Objetivo General.....	15
1.5.2. Objetivos Específicos .....	16
<b>CAPÍTULO 2: DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA Y HÁBITATS .....</b>	<b>18</b>
<b>2.1. Introducción .....</b>	<b>18</b>
<b>2.2. Materiales y Métodos .....</b>	<b>21</b>
2.2.1. Muestreos de campo .....	21
2.2.2. Revisión de material de museos .....	22
<b>2.3. Resultados.....</b>	<b>24</b>
2.3.1. Distribución de <i>Pomacea americanista</i> .....	24
2.3.2. Distribución de <i>Pomacea megastoma</i> .....	27
2.3.3. Distribución de <i>Pomacea</i> sp1 .....	30
<b>2.4. Discusión.....</b>	<b>32</b>

<b>CAPÍTULO 3: CICLOS DE VIDA .....</b>	<b>37</b>
<b>3.1. Introducción .....</b>	<b>37</b>
<b>3.2. Materiales y Métodos .....</b>	<b>40</b>
3.2.1. Origen de los caracoles .....	40
3.2.2. Mantenimiento y cría de los caracoles .....	41
3.2.3. Registro de la talla y determinación del sexo .....	42
3.2.4. Determinación de la madurez, la actividad sexual y la supervivencia .....	44
3.2.5. Determinación de la fecundidad, el número de huevos por masa de huevos, la duración del desarrollo embrionario y la viabilidad .....	47
3.2.6. Determinación de la capacidad para almacenar espermatozoides fértiles .....	49
<b>3.3. Resultados.....</b>	<b>50</b>
3.3.1. <i>Pomacea americanista</i> .....	50
3.3.2. <i>Pomacea megastoma</i> .....	60
3.3.3. <i>Pomacea</i> sp1.....	69
<b>3.4. Discusión.....</b>	<b>79</b>
 <b>CAPÍTULO 4: CRECIMIENTO CORPORAL Y POBLACIONAL .....</b>	 <b>90</b>
<b>4.1. Introducción .....</b>	<b>90</b>
<b>4.2. Materiales y Métodos .....</b>	<b>92</b>
4.2.1. Origen y cría de los caracoles .....	92
4.2.2. Modelo de crecimiento corporal de von Bertalanffy .....	92
4.2.3. Tablas de vida y parámetros demográficos .....	93
<b>4.3. Resultados.....</b>	<b>94</b>
4.3.1. Modelo de von Bertalanffy .....	94
4.3.2. Tablas de vida y parámetros demográficos .....	94
<b>4.4. Discusión.....</b>	<b>99</b>
 <b>CAPÍTULO 5: COMPARACIONES MORFOLÓGICAS .....</b>	 <b>106</b>
<b>5.1. Introducción .....</b>	<b>106</b>
<b>5.2. Materiales y Métodos .....</b>	<b>110</b>
5.2.1. Conchillas y opérculos .....	110
5.2.2. Neonatos .....	110
5.2.3. Huevos y masas de huevos.....	111
5.2.4. Aparato copulatorio.....	112
<b>5.3. Resultados.....</b>	<b>114</b>
5.3.1. Conchillas y opérculos .....	114
5.3.2. Neonatos .....	119
5.3.3. Huevos y masas de huevos.....	121
5.3.4. Aparato copulatorio.....	125

5.4. Discusión.....	130
<b>CAPÍTULO 6: CONCLUSIONES, CONSIDERACIONES FINALES Y PERSPECTIVAS .....</b>	<b>140</b>
6.1. Variación morfológica y ecológica interespecífica.....	140
6.2. Distribución y hábitats.....	143
6.3. Potencial biótico y resiliencia .....	145
6.4. Dimorfismo sexual .....	146
6.5. Conservación .....	147
6.6. Perspectivas.....	149
<b>BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>151</b>

# Capítulo 1: INTRODUCCIÓN GENERAL

## 1.1. Generalidades y antecedentes de las especies de *Pomacea* de fondos duros de la Mesopotamia Argentina

### 1.1.1. Los moluscos de agua dulce

Con aproximadamente 100.000 especies descritas, los moluscos constituyen el segundo grupo animal más diverso luego de los artrópodos, y se estima que existen otras 100.000 especies aún sin describir. La mayoría de los moluscos habitan entornos marinos, sin embargo, también se encuentran bien representados por gasterópodos y bivalvos en ambientes continentales, mostrando variadas adaptaciones tróficas, ecológicas y morfológicas (Lindberg *et al.*, 2004). El 48 % de los moluscos amenazados corresponde a especies dulceacuícolas, constituyendo uno de los grupos animales más amenazados (Kay, 1995; Lydeard *et al.*, 2004).

Existe gran incertidumbre acerca de la riqueza de especies de moluscos, debido a la gran cantidad de taxones nominales existentes cuya sinonimia es incierta, a las extensas regiones que aún permanecen inexploradas y probablemente alberguen especies no descritas, y a la falta de un adecuado equipo de taxónomos de moluscos para cubrir la amplia diversidad. Algo similar ocurre con lo que respecta a su estado de conservación, ya que menos del 10 % de las especies de moluscos conocidas han sido debidamente evaluadas (Cowie *et al.*, 2017).

### 1.1.2. La familia Ampullariidae

Dentro del orden Caenogastropoda, que contiene aproximadamente el 60 % de las especies de gasterópodos vivos (Ponder *et al.*, 2008), se destaca la familia de caracoles

dulceacuícolas Ampullariidae. Los integrantes de esta familia, vulgarmente conocidos como “caracoles manzana” debido a la forma globosa y el tamaño de sus conchillas, incluyen a los caracoles de agua dulce de mayor tamaño (Cowie, 2002). Naturalmente habitan cuerpos de agua lénticos y lóticos en áreas tropicales, subtropicales y templadas de América, África y Asia (Berthold, 1991; Hayes *et al.*, 2015). Los géneros neotropicales son *Asolene*, *Felipponea*, *Marisa* y *Pomacea*, siendo este último el de más amplia distribución, desde la península de Florida, en Estados Unidos, hasta las sierras de Tandilia y Ventania, en el sur de la provincia de Buenos Aires (Hayes *et al.*, 2012; Martín *et al.*, 2001).

Los miembros de la familia Ampullariidae tienen varias particularidades ecofisiológicas (Cowie, 2002), por ejemplo, la capacidad de obtener oxígeno tanto del agua como del aire, gracias a la presencia conjunta de una branquia y de un pulmón que es ventilado a través de un sifón respiratorio o *snorkel* (Andrews, 1965; Berthold, 1991); este sistema de respiración dual ha llevado a considerar a los ampuláridos como caracoles anfibios. Poseen, además, un opérculo córneo que les permite ocluir la abertura de sus conchillas y así resistir la deshidratación ante condiciones ambientales de sequía. También se caracterizan, a diferencia del resto de los caracoles de agua dulce, por su alimentación esencialmente macrofitófaga (Cazzaniga & Estebenet, 1984; Morrison & Hay, 2011; Saveanu & Martín, 2013, 2015). Poseen un aparato copulatorio de complejidad variada y sus masas de huevos pueden corresponder a uno de dos tipos: algunos géneros, como *Pomacea* y *Pila*, depositan masas de huevos de cáscara calcárea sobre sustratos que se encuentran por encima de la superficie del agua, mientras que otros, como *Asolene*, *Marisa*, *Felipponea* y *Lanistes*, depositan huevos gelatinosos sobre sustratos subacuáticos (Berthold, 1989; Cowie, 2002; Hayes *et al.*, 2009b).

Las peculiaridades nombradas convierten a los ampuláridos en modelos evolutivos muy prometedores para la investigación científica, aunque hasta ahora han sido poco utilizados (Hayes *et al.*, 2009b, 2015). Si bien ya ha sido abordado el estudio de sus características anatómicas generales y algunos rasgos relacionados con su taxonomía y nomenclatura, la

información sobre aspectos biológicos, ecológicos y aquellos relacionados con la conservación de la mayoría de los ampuláridos es prácticamente inexistente (Hayes *et al.*, 2015; Martín *et al.*, 2013).

Basándose en características conquiológicas y anatómicas, Berthold (1991) fue el primero en proponer una filogenia dentro de la familia Ampullariidae, trabajo que luego fue revisado por Bieler (1993). Berthold reconoció 10 géneros: los africanos *Afropomus*, *Saulea* y *Lanistes*, el africano y asiático *Pila*, el asiático *Turbinicola*, y los sudamericanos *Marisa*, *Asolene*, *Pomella*, *Felipponea* y *Pomacea*. Posteriormente, y sumando estudios genéticos, la filogenia de la familia fue abordada por Jørgensen (2008), aunque sus estudios se centraron en los géneros africanos, y por Hayes *et al.* (2009a, 2009b, 2012), quienes propusieron nuevos árboles filogenéticos y, tras excluir a *Turbinicola*, reconocieron nueve de los diez géneros propuestos por Berthold.

### 1.1.3. Ampuláridos presentes en la Argentina

La familia Ampullariidae se encuentra bien representada en la Argentina, habitando aguas continentales del norte y centro del país (Rumi *et al.*, 2008). El siguiente listado, que incluye las especies de ampuláridos que habitan la República Argentina, se realizó tomando como base la lista publicada por Rumi *et al.* (2008):

Fam. Ampullariidae Gray 1824

Gen. *Asolene* d'Orbigny 1875

*A. platae* (Maton 1809)

*A. pulchella* (Anton 1839)

*A. spixii* (d'Orbigny 1835)

Gen. *Felipponea* Dall 1919

*F. neritiformis* (Dall 1919)

*F. elongata* (Dall 1921)

*F. iheringi* (Pilsbry 1933)

Gen. *Marisa* Gray 1824

*M. planogyra* Pilsbry 1933

Gen. *Pomacea* Perry 1810

*P. canaliculata* (Lamarck 1822)

*P. insularum* (d'Orbigny 1835)

*P. scalaris* (d'Orbigny 1835)

Gen. *Pomella* Gray 1847

*P. americanista* (Ihering 1919)

*P. megastoma* (Sowerby 1825)

Desde la publicación de Rumi *et al.* (2008) *Asolene pulchella* ha sido considerada sinónimo de *Asolene platae* (Tiecher *et al.*, 2016) y *Pomacea insularum* de *Pomacea maculata* (Hayes *et al.*, 2012).

#### 1.1.4. El género *Pomella*

Los integrantes del género *Pomella* fueron caracterizados por conchillas neritiniiformes, gruesas, con una abertura muy expandida y una espira casi nula, frecuentemente erosionada. Si bien estos rasgos suelen asociarse con hábitats de aguas rápidas y sustratos duros (Hylton Scott, 1943; Simone, 2004; Chatellenaz, 2007), la distribución geográfica de las especies que integran el género no ha sido estudiada con profundidad, por lo que dicha asociación está basada mayormente en datos circunstanciales de *P. megastoma* (Clavijo *et al.*, 2008; Hylton Scott, 1958).

*Pomacea americanista* y *Pomacea megastoma* fueron descritas originalmente como parte del género *Ampullaria*. Luego, en su revisión de ampuláridos de la Argentina, Hylton Scott (1958) colocó estas especies dentro del género *Asolene* y el subgénero *Pomella*, ya

que comparten una serie de características anatómicas diferentes al resto de los ampuláridos, tales como una conchilla de gran tamaño que prácticamente carece de espira, una abertura muy expandida, un opérculo pequeño en relación con la abertura y un hábitat particular, de fondos duros y aguas rápidas. Otra característica que llevó a que algunos autores consideraran a estas especies como un subgénero aparte era el pequeño tamaño del sifón utilizado para la ventilación pulmonar (Hylton Scott, 1943, 1958), aunque individuos de ambas especies fueron observados frecuentemente en el laboratorio realizando ventilaciones pulmonares a través de sifones plenamente desarrollados (observaciones personales). Berthold (1991) restableció a *Pomella* como un género, reuniendo en él a estas dos especies de la cuenca del Río de la Plata junto con *Pomella sinamarina* (Bruguière, 1792) de Surinam (Cowie & Thiengo, 2003).

Hasta hace poco se desconocía si las masas de huevos de estas especies eran aéreas y calcáreas como en los géneros *Pomacea* y *Pila*, o gelatinosas y subacuáticas como en los géneros *Asolene*, *Marisa*, *Felipponea* y *Lanistes* (Berthold, 1989; Cowie, 2002; Hayes *et al.*, 2009b). Basándose en caracoles y masas de huevos recolectados en el río Uruguay por otro naturalista, Ihering (1919) sugirió que las masas de huevos de *P. megastoma* pertenecían a este último tipo. Hayes *et al.* (2009b), sin embargo, informaron que esta especie deposita masas de huevos con cáscaras calcáreas por encima de la superficie del agua. Basados principalmente en este último dato y en las similitudes genéticas halladas, Hayes *et al.* (2012) incluyeron a *Pomella megastoma* dentro del género *Pomacea* y sinonimizaron *Pomella* con *Pomacea*. Si bien esta clasificación se mantuvo vigente en una revisión sobre la familia Ampullariidae (Hayes *et al.*, 2015), los huevos y las masas de huevos de *P. americanista* han permanecido inexplorados y sus aspectos anatómicos y genéticos se desconocen por completo, por lo que esta especie ha sido omitida en todas las revisiones antes nombradas. El género *Pomella* aún incluye a *P. sinamarina*, cuyas peculiares características probablemente justifiquen el mantenimiento de *Pomella* como un género diferente. El estudio de *P. americanista* permitiría un reanálisis de *Pomella* para

determinar su estatus genérico, subgenérico o una sinonimización mejor fundamentada con *Pomacea*.

### 1.1.5. *Pomacea megastoma*

*Pomacea megastoma* es el ampulárido más grande de la Cuenca del Plata. Debido a su espira baja, que a menudo se observa muy erosionada, la especie era conocida localmente como “Caracol Ñato” (Doello-Jurado, 1915). Si bien su anatomía ha sido estudiada (Hylton Scott, 1943, 1958; Simone, 2004), otros aspectos de su biología y ecología han recibido poca atención. Por ejemplo, la información disponible acerca de su distribución geográfica data de hace más de seis décadas y se restringe principalmente a la margen izquierda del río Uruguay (Doello-Jurado, 1915; Hylton Scott, 1943, 1958). En la República Oriental del Uruguay la distribución geográfica de *P. megastoma* ha sido bien estudiada (Clavijo *et al.*, 2008; Röhrdanz Rosa, 2017), sin embargo, esta información para la Argentina solo está basada en datos aislados (por ejemplo, Chatellenaz, 2007; Martín y Negrete, 2007; Damborenea & Brusa, 2008).

Si bien *P. megastoma* está incluida dentro de la Lista Roja de Especies Amenazadas de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN), se la considera de “Preocupación Menor” (UICN 2021; Pastorino & Darrigran, 2011), debido principalmente a su distribución en tres países: Argentina, Brasil y Uruguay. Sin embargo, este criterio omite que dicha distribución, en apariencia amplia, está restringida solo a una cuenca hidrográfica, la del río Uruguay, compartida entre los tres países mencionados (Hylton Scott, 1958, Clavijo *et al.*, 2008; Rumi *et al.*, 2008), por lo que la vulnerabilidad de la especie podría ser mayor. En la República Oriental del Uruguay, esta especie fue catalogada como Especie Amenazada de Conservación Prioritaria, debido a su restringida área de distribución en el país, a su identificación como especie amenazada en la literatura y a su valor desde el punto de vista biológico y cultural (Clavijo & Scarabino, 2013). Este último criterio está

fundado en el uso que le daban los guaraníes, habitantes originales de la región, que posiblemente los consumían y utilizaban sus conchillas en rituales funerarios (Gascue *et al.*, 2019). Otro dato interesante es que el río Uruguay probablemente deba su nombre a esta emblemática especie, ya que una hipótesis acerca de su etimología afirma que esta palabra significa “río de los caracoles” (*uruguá*: caracol; *y*: agua, río): los guaraníes estarían haciendo referencia a *P. megastoma*, que era abundante en dichas aguas, lo que constituye una evidencia adicional para considerarla de preocupación mayor.

### **1.1.6. *Pomacea americanista***

A excepción de *Pomacea occulta* Yang & Yu 2019, descubierta y descrita en China y probablemente originaria del Río de la Plata (Yang & Yu, 2019), *P. americanista* es la especie argentina de *Pomacea* que ha sido descrita más recientemente. La información disponible sobre esta especie es aún más escasa que para *P. megastoma* dado que hasta el momento no se han realizado estudios sobre su anatomía ni su historia natural. Su descripción original se basó en conchillas encontradas en el río Alto Paraná (ciudad de Encarnación, Paraguay) y en el río Iguazú (Cataratas del Iguazú, Argentina-Brasil), siendo esta última su localidad tipo (Ihering, 1919; Hylton Scott, 1958), y hasta la actualidad no se han realizado estudios profundos sobre su distribución geográfica.

### **1.1.7. Identidades confusas y nuevas entidades**

Se considera que tanto *P. americanista* como *P. megastoma* poseen distribuciones geográficas relativamente restringidas (Castellanos & Fernández, 1976; Clavijo *et al.*, 2008; Hylton Scott, 1958; Rumi *et al.*, 2008), limitándose *P. megastoma* al río Uruguay y *P. americanista* a los ríos Iguazú y Alto Paraná. Sin embargo, en informes recientes esta distribución fue cuestionada, reportándose la presencia de *P. megastoma* en los ríos Paraná e Iguazú y la de *P. americanista* en el río Uruguay (Gutiérrez Gregoric *et al.*, 2006; Martín &

Negrete, 2007; Clavijo *et al.*, 2008). Dada la similitud de las conchillas, los opérculos y los hábitats de estas dos especies, para evaluar el alcance real de sus rangos de distribución geográfica resulta necesario considerar la posible existencia de identificaciones erróneas en la bibliografía y en las colecciones malacológicas.

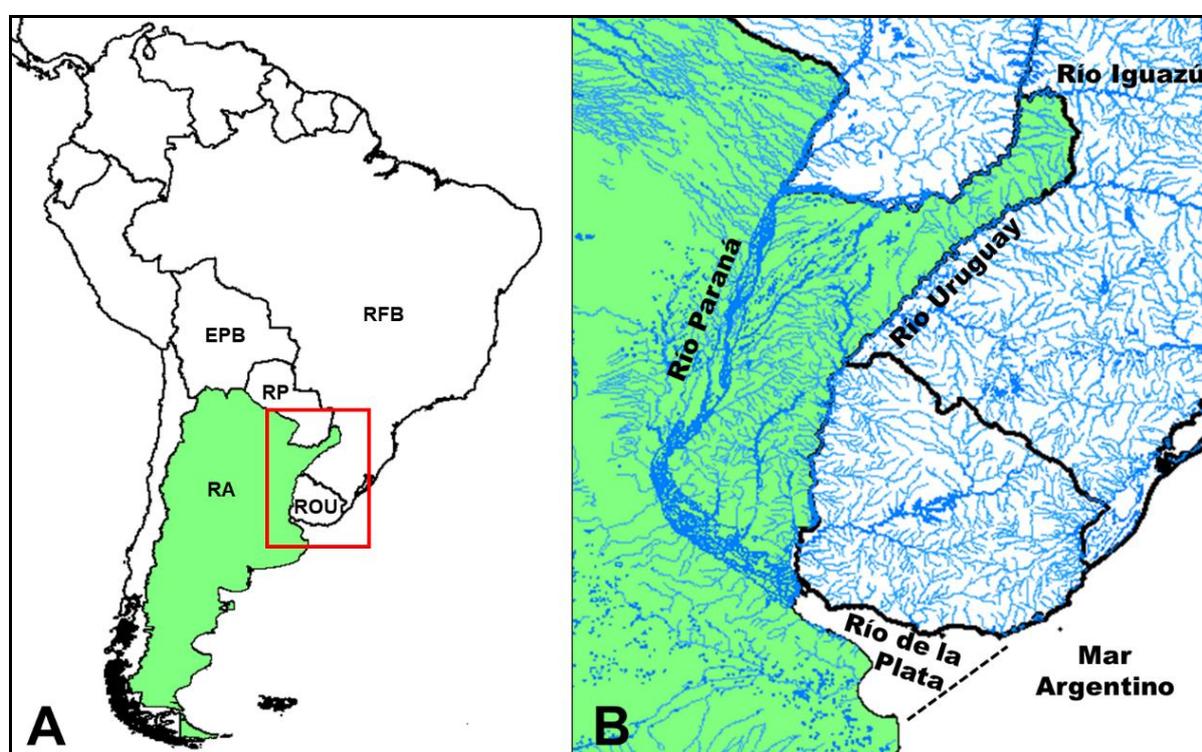
Otro factor que dificulta la conservación de los ampuláridos es la posible existencia de especies aún no descritas, como fue el caso de *P. occulta*, descrita en 2019 (Yang & Yu, 2019). Al comienzo de esta tesis se registró una población de caracoles sobre fondos basálticos en la cabecera de un afluente del río Uruguay, que presentaba conchillas de aspecto similar a las de las especies antes nombradas, especialmente a las de *P. megastoma*, pero de una talla máxima mucho menor, planteando dudas sobre su identidad. Esta población posiblemente constituya una tercera especie, por lo que en adelante será tratada como *Pomacea* sp1.

## **1.2. Características del hábitat natural de las especies en estudio: la cuenca del Río de la Plata**

La cuenca del Río de la Plata se considera un área de gran aporte en biodiversidad de organismos de agua dulce, y constituye el hábitat natural de muchas especies de *Pomacea*, incluyendo a *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1. Es el segundo sistema de drenaje más grande de América del Sur (Figura 1.1), cubriendo más de tres millones de km<sup>2</sup> y abarcando territorios de cinco países: Brasil, Bolivia, Paraguay, Argentina y Uruguay. Los dos principales afluentes de la cuenca son los ríos Paraná y Uruguay, que nacen en Brasil y desembocan juntos en el Río de la Plata (Pringle *et al.*, 2000; Colombo *et al.*, 2015). Dicha cuenca posee, además, una densa red de afluentes, subafluentes y tributarios menores, como el río Iguazú.

El río Paraná es el segundo río más largo de Sudamérica, luego del Amazonas, con una longitud de 4880 km. Se lo clasifica como río aluvial, ya que constantemente genera

bancos e islas debido a la gran cantidad de sedimentos que transporta en su curso, con dirección mayormente hacia el sur (Bonetto *et al.*, 1986; Orfeo & Stevaux, 2002). El Alto Paraná, la zona más cercana a su nacimiento, corre encajonado entre grandes barrancas que dan origen a rápidos, correderas y cataratas, entre las que se destacaban las cataratas del Guairá, 193 km antes de la afluencia del Iguazú (Bonetto *et al.*, 1986); ésta era la mayor cascada de agua del río Paraná hasta su desaparición, en 1982, por la construcción de una represa hidroeléctrica (sección 1.4).



**Figura 1.1.** Localización del área de estudio. **A.** Ubicación del área de estudio (recuadro rojo) en Sudamérica, señalando los países que forman parte de la cuenca del Río de La Plata. RA: República Argentina, ROU: República Oriental del Uruguay, RP: República del Paraguay, RFB: República Federativa de Brasil, EPB: Estado Plurinacional de Bolivia. **B.** Detalle del área de estudio con los principales ríos y sus afluentes. El territorio argentino se señala en color verde.

El curso del río Iguazú, con una longitud de 1275 km, se suele dividir en dos tramos: el Iguazú Superior o Alto Iguazú, que comprende desde el nacimiento hasta las cataratas del mismo nombre y el Iguazú Inferior o Bajo Iguazú que va desde éstas hasta la

desembocadura en la margen izquierda del río Paraná, en la triple frontera entre Argentina, Brasil y Paraguay. El primer tramo se ubica mayormente en territorio brasilero, mientras que solo la última parte actúa de límite entre Argentina y Brasil y se encuentra dentro del Parque Nacional Iguazú, en la ecorregión Selva Paranaense. La clara tonalidad de las aguas del Alto Paraná y el Iguazú los caracterizaba como ríos de meseta, pero el uso intensivo del suelo debido a la creciente actividad agrícola, el desmonte y la consecuente erosión, contribuyeron a que actualmente presenten un color acentuadamente rojizo debido a los materiales que llevan en suspensión.

El río Uruguay, con sus 1800 km de longitud, actúa de frontera natural de Argentina con Uruguay y con Brasil. En su curso son frecuentes los afloramientos basálticos que crean rápidos, saltos y restingas, siendo los más importantes los que dan origen a los denominados Salto Grande y Salto Chico. Sus márgenes poseen características diferentes: mientras que la margen izquierda presenta altas barrancas, sobre la derecha son más bajas, a excepción de las observadas en la provincia de Misiones, donde forman los Saltos del Moconá.

### **1.3. Potencial invasor y vulnerabilidad de los ampuláridos**

Es habitual ver a los ampuláridos como generadores de impactos negativos (Burlakova *et al.*, 2009; EFSA, 2014) y como importantes invasores a nivel mundial (Joshi & Sebastian, 2006; Horgan *et al.*, 2014), pero esta mala reputación se debe fundamentalmente a tres especies: *Pomacea canaliculata*, *Pomacea maculata* y *Marisa cornuarietis* Linnaeus 1758. Son conocidas por causar múltiples impactos ecológicos, sanitarios y económicos (Joshi *et al.*, 2017; Zhu *et al.*, 2019; Martín *et al.*, 2019), ya que provocan grandes daños sobre cultivos acuáticos (Cowie, 2002; Hayes *et al.*, 2008), sobre los ecosistemas de los humedales naturales que invaden (Carlsson *et al.*, 2004), así como sobre poblaciones de moluscos nativos (Cowie, 2002). Además, *P. canaliculata*, listada entre los cien peores

invasores a nivel mundial (Lowe *et al.*, 2000), puede actuar como hospedadora intermediaria de diversos parásitos transmisibles al hombre, como *Angiostrongylus cantonensis* y *Gnathostoma spinigerum* (Komalamisra *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2013).

Desde la década de los 80, tanto *P. canaliculata* como *P. maculata* fueron dispersadas intencionalmente por el hombre desde Sudamérica hacia nuevas regiones del mundo (Tanaka *et al.*, 1999; Hayes *et al.*, 2012; Martín *et al.*, 2019) para ser utilizadas como animales de acuario y como agentes de control biológico (Lv *et al.*, 2009; Horgan *et al.*, 2014). Debido a los daños que causan estas especies, América del Norte y la Unión Europea prohibieron completamente el comercio y el transporte de todas las especies de *Pomacea* (Cowie *et al.*, 2009; EFSA, 2012). Sin embargo, son pocas las especies de ampuláridos que han logrado establecerse fuera de su rango nativo y menos aun las que han generado impactos negativos (Horgan *et al.*, 2014).

La mayoría de los estudios, tanto básicos como aplicados, de las últimas décadas se han enfocado en las especies invasoras nombradas, mientras que otros ampuláridos, posiblemente vulnerables, no son considerados *a priori* como tales o no cuentan con información suficiente para poder categorizarlos y proponer medidas para su conservación (Martín *et al.*, 2013); por lo tanto, el número de especies de *Pomacea* en peligro, o ya extintas, puede verse subestimado (Hayes *et al.*, 2015; Cowie & Hayes, 2019). Solo unas pocas especies han sido estudiadas en términos de conservación, como es el caso del caracol de Florida *Pomacea paludosa* (Say 1829), cuyas poblaciones han disminuido debido a la modificación del hábitat y probablemente también a la invasión de *P. maculata*. Sin embargo, el interés sobre esta especie fue mayormente incidental, ya que constituye el alimento principal del gavián caracolero *Rostrhamus sociabilis*, un ave en peligro de extinción de los Estados Unidos (Darby *et al.*, 2004, 2008; Marzolf *et al.*, 2018).

Las historias de vida de los ampuláridos neotropicales son diversas (Hayes *et al.*, 2015) y algunos rasgos difieren profundamente entre especies invasoras y no invasoras (Tiecher *et al.*, 2016). El estudio de los aspectos de los ciclos de vida de otras especies de *Pomacea*

permitiría evaluar el potencial de las especies invasoras para colonizar nuevas áreas (Cowie *et al.*, 2009), o su grado de vulnerabilidad, en el caso de las especies no invasoras, siendo en este último caso, de suma ayuda para evaluar su estado de conservación y la respuesta de sus poblaciones ante posibles impactos (Martín *et al.*, 2013).

Hasta el momento no hay información disponible acerca de *P. megastoma* y *P. americanista* con respecto al ciclo de vida, los parámetros demográficos y de crecimiento corporal, entre otros rasgos que resultan relevantes para evaluar su potencial biótico, su resiliencia y la vulnerabilidad de sus poblaciones ante posibles impactos.

#### **1.4. Principales amenazas para los ampuláridos de la cuenca del Río de la Plata**

Desde el punto de vista de la conservación, los ampuláridos merecen ser estudiados como especies vulnerables (Clavijo & Scarabino, 2013; Martín *et al.*, 2013), como proveedores de servicios a los ecosistemas (Hayes *et al.*, 2015) y por su potencial papel en la resistencia biótica ante malezas acuáticas (Morrison & Hay, 2011) y ante caracoles invasores (Maldonado & Martín, 2019).

La información disponible sobre *Pomacea megastoma* es escasa, pero su gran tamaño y el gran número de huevos que depositan en cada oviposición (Kyle *et al.*, 2013) puede llevar a la conclusión de que esta especie tiene potencial invasor y no es vulnerable a impactos ambientales. Por consiguiente, la investigación orientada a su conservación y a la de otras especies afines, como *Pomacea americanista*, se vería retrasada, desalentando posibles medidas para su protección. Para poder evaluar sus potenciales bióticos, y por ende la resiliencia y vulnerabilidad de sus poblaciones, resulta necesario considerar otros factores, tales como la viabilidad de sus huevos, las tasas de crecimiento y supervivencia y la edad de madurez, que hasta el momento permanecen desconocidos.

Si bien dentro de las fronteras argentinas de la cuenca del Río de la Plata habitan once o doce especies de ampuláridos, solo cuatro de ellas han sido incluidas en la Lista Roja de Especies Amenazadas (UICN, 2021). Dos de ellas fueron consideradas de "Preocupación Menor": *Asolene platae* (tratada como *A. pulchella*) y *Pomacea megastoma* (tratada como *Pomella megastoma*). Solo una especie, *Felipponea iheringi*, fue categorizada como con "Datos Insuficientes" debido a la falta de información confiable sobre su distribución, situación que seguramente se aplica a muchas otras especies cuyo estado de conservación no ha sido abordado aún por la UICN. Por el contrario, sobre la costa este del Río de la Plata inferior, en la República Oriental del Uruguay, las diez especies de ampuláridos presentes ya han sido evaluadas y seis de ellas, incluyendo a *P. megastoma*, se consideraron bajo amenaza y, por lo tanto, de conservación prioritaria (Clavijo & Scarabino, 2013).

Los ampuláridos que cuentan con una distribución geográfica restringida a una única cuenca hidrográfica, como aparentemente ocurre con *P. megastoma* y *P. americanista*, pueden verse más afectados ante estresores ambientales, entre los que se incluyen cambios en el uso de la tierra, dispersión de especies invasoras y represas hidroeléctricas situadas aguas arriba de su área de distribución (Martín *et al.*, 2013).

La deforestación y la intensificación del uso del suelo, principalmente a través de prácticas no sustentables en la agricultura, como el uso de arados, favorece la erosión y modifica los aportes de materia orgánica y de sedimentos en los cuerpos de agua cercanos, produciendo cambios en las comunidades acuáticas. A su vez, el mayor uso de agroquímicos y un mal manejo en cuanto al desecho de los envases estaría provocando grandes daños, e incluso la muerte, de poblaciones de moluscos terrestres y de agua dulce (Clavijo & Scarabino, 2013).

Los moluscos invasores como *Corbicula fluminea*, *Melanoides tuberculata* y *Limnoperna fortunei*, son considerados como potenciales amenazas para los ampuláridos (Clavijo & Scarabino, 2013). El alto potencial biótico y la capacidad de incrustación biológica

(*biofouling*) del mejillón dorado *L. fortunei*, afecta principalmente a aquellas especies que habitan sustratos duros, como *P. megastoma* (Scarabino, 2004; Clavijo *et al.*, 2008; Clavijo & Scarabino, 2013), debido a las gruesas capas que los mejillones forman sobre los sustratos, y que pueden crecer también adheridos a las conchillas de los caracoles (Darrigran & Damborenea, 2006). Esta especie está muy extendida en la cuenca del Río de la Plata y continúa en expansión (Scarabino, 2004; Brugnoli *et al.*, 2005; Martín *et al.*, 2013; Clavijo & Scarabino, 2013).

En la cuenca del Río de la Plata, la construcción de grandes represas hidroeléctricas ha afectado grandes áreas de los ríos Uruguay, Alto Paraná e Iguazú, causando cambios en los ciclos hidrológicos de estos ríos aguas abajo (Bonetto *et al.*, 1989; Agostinho *et al.*, 2005). Tanto sus embalses como las construcciones debidas a estos proyectos causan una gran alteración del ambiente, constituyendo una fuerte amenaza para las poblaciones de ampuláridos allí presentes, especialmente para las especies no invasoras, cuyo potencial para resistir cambios en el ambiente es muy reducido. El aumento del nivel del agua que ocurre río arriba de las represas provoca un cambio drástico en la concentración de oxígeno, fitoplancton y materiales en suspensión, mientras que aguas abajo, las fluctuantes descargas de los embalses también producen cambios en los niveles de agua, y en ocasiones en los cursos de los ríos (Clavijo & Scarabino, 2013), lo que en términos relativos podría beneficiar a las especies de ampuláridos invasoras. El complejo hidroeléctrico argentino-paraguayo Yacyretá, por ejemplo, que ocupa la zona más austral del área de distribución nativa de *P. americanista* (Capítulo 2), ya ha sido responsable de la extinción en la naturaleza de dos especies de caracoles endémicos dulceacuícolas de aguas rápidas (*Aylacostoma guaraniticum* y *Aylacostoma stigmaticum*; Vogler *et al.*, 2014). Otro ejemplo llamativo lo constituye la represa Itaipú, entre Paraguay y Brasil, el segundo mayor proyecto hidroeléctrico del mundo, que ocupó 200 km del río Alto Paraná, aguas arriba de su confluencia con el Iguazú, dejando sumergidas las grandes cascadas del Guairá. Son numerosas las represas hidroeléctricas que actualmente se encuentran operando en estos

ríos, principalmente en territorio brasileño; sobre el río Uruguay, por ejemplo, se construyeron cinco represas, mientras que otras cinco están en proyecto (Abadie, 1998; Schork & Zaniboni-Filho, 2017).

Por otra parte, y como consecuencia de la creciente urbanización y el desarrollo industrial, las poblaciones de moluscos de agua dulce también se ven afectadas por la contaminación causada por los vertidos de aguas cloacales, industriales y la escorrentía de agrotóxicos (Clavijo & Scarabino, 2013), que conducen al deterioro de la calidad del agua, afectando la integridad biológica de los ecosistemas acuáticos (Nardelli *et al.*, 2016).

## 1.5. Objetivos

### 1.5.1. Objetivo General

El objetivo de esta tesis fue proporcionar evidencia sobre las principales características biológicas y ecológicas de dos especies de ampuláridos mesopotámicos del género *Pomacea*: *P. americanista* y *P. megastoma*, incluyendo el estudio de una población de caracoles encontrada en un afluente del río Uruguay que posiblemente constituya una tercera especie, tratada aquí como *Pomacea* sp1. La cría bajo idénticas condiciones de laboratorio permitirá contrastar las diferencias interespecíficas observadas en el campo e inferir si guardan un origen fenotípico o genotípico. De esta manera se espera lograr una mejor comprensión de los factores que limitan sus distribuciones y abundancias y los cambios ambientales que podrían amenazarlos, para así poder evaluar su grado de vulnerabilidad, predecir sus tendencias poblacionales y sugerir medidas para su conservación.

## 1.5.2. Objetivos Específicos

- Obtener información sobre los hábitats y la distribución geográfica actual de tres especies de ampuláridos en los cursos de agua de la Mesopotamia Argentina, a través de un muestreo exhaustivo y de la revisión de colecciones malacológicas de museos (Capítulo 2).
- Conocer y comprender diferentes características de los ciclos de vida de estas tres especies bajo condiciones controladas de laboratorio, tales como su crecimiento, madurez sexual, actividad reproductiva y supervivencia, analizando a su vez el grado de dimorfismo sexual en estos aspectos. Se pretende también determinar la fecundidad de las hembras, la viabilidad de sus masas de huevos y la duración del desarrollo embrionario, así como calcular la duración de las cópulas en el laboratorio (Capítulo 3).
- Estimar los parámetros de crecimiento corporal de los individuos de cada especie de acuerdo al modelo de von Bertalanffy, confeccionar sus tablas de vida y estimar sus principales parámetros demográficos (Capítulo 4).
- Comparar las características morfológicas de sus conchillas, opérculos, neonatos, huevos, masas de huevos y vainas del pene de las tres especies en estudio, como potenciales caracteres diagnósticos a nivel de especie, así como analizar, para cada una, el grado de dimorfismo sexual en la forma de sus conchillas y opérculos (Capítulo 5).
- Elaborar, a partir del cumplimiento de los objetivos anteriores, conclusiones generales acerca de estas especies, que permitan comprender mejor el estado actual de conservación de sus poblaciones y hacer una aproximación acerca del estatus específico de *Pomacea* sp1 (Capítulo 6).

Si bien parte de los resultados obtenidos en los capítulos 3 y 5 de esta tesis ya se encuentran publicados<sup>1,2</sup>, a lo largo de la misma se omitirá hacer referencia a dichos trabajos.

<sup>1</sup> GUROVICH F.M., BURELA S. & MARTÍN P.R. (2017). First description of egg masses, oviposition and copulation of a neglected apple snail endemic to the Iguazú and Alto Paraná Rivers. *Molluscan Research*. 37: 242-251.

<sup>2</sup> GUROVICH F.M., BURELA S. & MARTÍN P.R. (2018). Life cycle of *Pomacea americanista*, a poorly known apple snail endemic to the Iguazú and Alto Paraná Rivers, southern South America. *Journal of Molluscan Studies*. 84: 62-68.

## Capítulo 2: DISTRIBUCIÓN GEOGRÁFICA Y HÁBITATS

### 2.1. Introducción

*Pomacea americanista* y *Pomacea megastoma*, tradicionalmente incluidas dentro del género *Pomella*, poseen conchillas con una forma particular dentro de la familia Ampullariidae, ya que su espira es casi inexistente y su último anfracto es más expandido que los anteriores, terminando en una abertura claramente más amplia. Esta forma neritoide suele asociarse con ambientes de aguas rápidas y fondos duros, sin embargo, en la actualidad no hay información suficiente sobre su distribución, de manera que su asociación real con dichos ambientes se basa solo en datos circunstanciales (Clavijo *et al.*, 2008; Hylton Scott, 1958). Tampoco se han realizado estudios específicos para determinar su distribución geográfica actual en la Argentina.

El rango geográfico conocido para *P. americanista* se limita a un corto tramo a lo largo de los ríos Alto Paraná e Iguazú (Ihering, 1919; Hylton Scott, 1958). Su localidad tipo son las Cataratas del Iguazú, ubicadas en el límite entre Argentina y Brasil, un ambiente particular a nivel mundial debido al desnivel del cauce del río, que da origen a grandes y complejos saltos. Esta especie fue considerada como el único ampulárido endémico de la Argentina (Rumi *et al.*, 2008), sobre la base de que solo ha sido registrada sobre la margen argentina de los ríos Alto Paraná e Iguazú; sin embargo, conchillas de la especie fueron colectadas sobre la margen opuesta del río Paraná, en la localidad de Encarnación, Paraguay (Ihering, 1919), y no se descarta que también podría estar presente en territorio brasilero.

La información acerca de la distribución geográfica de *P. megastoma* en la Argentina también es escasa. Solo ha sido estudiada en profundidad en territorio uruguayo, sobre la

margen izquierda del río Uruguay (Doello-Jurado, 1915; Clavijo *et al.*, 2008; Röhrdanz Rosa, 2017), y los datos sobre su presencia en nuestro país son anecdóticos (por ejemplo, Martín & Negrete, 2007; Chatellenaz, 2007; Damborenea & Brusa, 2008) o datan de decenas de años atrás (Hylton Scott 1943, 1958). Al igual que ocurre con *P. americanista*, si bien *P. megastoma* está presente en tres países (Argentina, Uruguay y Brasil), su área de distribución estaría restringida a una sola cuenca hidrográfica: la del Río de la Plata (Hylton Scott, 1958; Clavijo *et al.*, 2008; Rumi *et al.*, 2008).

En este capítulo, además de la distribución geográfica de *P. americanista* y *P. megastoma*, se incluirá la de una población aislada hallada en la cabecera de un afluente del río Uruguay, que posee conchillas morfológicamente similares a las de *P. megastoma* pero con ciertas diferencias constantes, que pudieron ser confirmadas luego de criar ambas especies bajo condiciones homogéneas controladas, tales como el tamaño y la forma de su conchilla, su ciclo de vida y rasgos anatómicos como las características de su vaina del pene (Capítulos 3, 4 y 5). Estas singularidades permiten presumir que se trata de una especie diferente y por lo tanto será tratada como *Pomacea* sp1. Si bien su estatus específico no está confirmado, conocer su área de distribución ayudará a develar la identidad de esta población incógnita y, en caso de ser confirmada como una nueva especie, permitirá corregir errores en la bibliografía y en las colecciones malacológicas.

La presencia de represas hidroeléctricas en la cuenca del Río de la Plata y los proyectos de nuevas construcciones constituyen una fuerte amenaza para las poblaciones de estas especies; a su vez, factores antrópicos como la deforestación y la intensificación del uso del suelo están modificando las comunidades acuáticas mediante el aporte fluctuante de sedimentos y materia orgánica. Por otra parte, algunas especies de macrófitas, plantas ribereñas, mejillones, cangrejos, caracoles, peces y otros vertebrados alteran la estructura del ambiente y por lo tanto son llamados ingenieros ecosistémicos. Un ejemplo lo constituye el mejillón dorado *Limnoperna fortunei*, que representa una importante amenaza para los ampuláridos de fondos duros (Scarabino, 2004; Clavijo *et al.*, 2008;

Boltovskoy *et al.*, 2009; Clavijo & Scarabino, 2013), que se ven afectados por las densas capas que los mejillones forman sobre los sustratos, y que hasta pueden crecer adheridos a sus conchillas (Darrigran & Damborenea, 2006).

Conocer la distribución geográfica de estos ampuláridos es de primordial importancia para evaluar la disponibilidad de hábitats, la potencial reducción de los mismos como consecuencia de la dispersión de invasores o la presencia de represas, y evaluar su estado de conservación. El rango de distribución aparentemente estrecho de *P. americanista* y *P. megastoma* (Hylton Scott, 1958), las haría especialmente vulnerables ante estas amenazas, por lo que estudiar su distribución geográfica actual constituye uno de los primeros pasos para proteger a sus poblaciones.

Las colecciones de museos constituyen una herramienta de gran utilidad para obtener información acerca de la distribución geográfica original de las especies, permitiendo apreciar cambios recientes en su rango geográfico. Con el mismo objetivo también es útil recopilar información de la literatura, aunque no es infrecuente que las identificaciones originales sean incorrectas o dudosas, sobre todo en una familia como Ampullariidae, cuya taxonomía se ha basado fundamentalmente en una conchilla con gran plasticidad fenotípica (Cowie *et al.*, 2006; Estebenet *et al.*, 2006).

El objetivo de este capítulo es describir los hábitats y la distribución geográfica actual de estas tres especies de ampuláridos, mediante la búsqueda de poblaciones en ríos y arroyos de la Mesopotamia Argentina, y la revisión de colecciones malacológicas de museos.

## 2.2. Materiales y Métodos

### 2.2.1. Muestreos de campo

Con el fin de evaluar la distribución geográfica actual de *Pomacea megastoma*, *Pomacea americanista* y *Pomacea* sp1 en la Mesopotamia Argentina se realizaron tres campañas de muestreo. La campaña principal se llevó a cabo durante el mes de diciembre de 2015 y se visitaron 70 sitios en total a lo largo de las costas argentinas de los ríos Paraná, Uruguay, Iguazú y varios de sus afluentes. A esta información se incorporaron visitas anteriores, realizadas entre los años 2012 y 2014, a otras localidades pertenecientes al área de estudio general, e incluso se agregaron algunos puntos de interés por fuera de la Mesopotamia Argentina, alcanzando un total de 101 sitios.

En cada punto de muestreo se registró la posición geográfica con un GPS Garmin S70 y se buscaron indicios de la presencia de poblaciones de ampuláridos, tales como caracoles vivos, masas de huevos, opérculos y conchillas vacías, registrando también los tipos de sustrato presentes. Siempre que fue posible acceder al agua, dos o tres operarios buscaron caracoles a mano siguiendo la metodología utilizada por Martín *et al.* (2001), tanteando los sustratos sumergidos y la vegetación, levantando hojas, tallos y piedras. El material flotante o varado en las orillas también fue examinado.

También se tomaron fotografías digitales de las masas de huevos aéreas de estas especies, registrando el tipo de sustrato emergente sobre el que se encontraban: ramas y troncos, laderas rocosas, piedras de la orilla y estructuras de origen antrópico, como muelles, puentes y cascos de embarcaciones. Previamente al muestreo principal, a partir de masas de huevos colectadas en el campo e incubadas en el laboratorio, se obtuvieron ejemplares de las tres especies objeto de esta tesis, cuyas características externas fueron iguales que en los encontrados en el estudio a campo, junto a los huevos (Capítulo 3). Estas observaciones preliminares ayudaron a identificar las masas de huevos encontradas en el campo, por el tamaño y el color de sus huevos (Capítulo 5) y discriminarlas de las de

otras especies de *Pomacea* presentes en el área, tales como *Pomacea maculata*, *Pomacea canaliculata* y *Pomacea scalaris*.

Se utilizó el programa informático DIVA-GIS v. 7.5 para georreferenciar los sitios visitados y elaborar el mapa de distribución geográfica actual de cada una de las tres especies. En cada mapa se señalaron los sitios en que se encontró cada especie, los sitios en que se registraron ampuláridos de otras especies, y aquellos en que no se registró ampulárido alguno.

### **2.2.2. Revisión de material de museos**

Para completar la información acerca de la distribución geográfica de las especies se visitaron las dos principales colecciones malacológicas de Argentina: el Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia (MACN) y la Facultad de Ciencias Naturales y Museo de la Universidad Nacional de La Plata (MLP).

En ambos museos, se seleccionaron para su revisión aquellos lotes que contenían alguna de las especies de interés o cuyos especímenes habían sido colectados en la Mesopotamia Argentina. Se prestó especial atención a aquellos lotes cuya localización no concordaba con la distribución geográfica conocida, mencionada en la introducción. Las conchillas y los opérculos de cada lote fueron examinados y fotografiados para confirmar, o no, la identificación original. También se registraron aquellos casos en que la identificación fue dudosa, debido a que sus ejemplares tenían forma anómala, producto de patrones irregulares de crecimiento, o eran demasiado pequeños y jóvenes para ser identificados.

Se revisó un total de 86 lotes, pero en la presente tesis solo se analizaron aquellos que guardaban relación con las especies de interés, omitiendo aquellos de otras especies de ampuláridos confirmadas como tales. Por lo tanto, se analizaron los datos de 63 lotes, 16 pertenecientes al MACN y 47 al MLP.

El material fue georreferenciado y mapeado a través del programa DIVA-GIS v. 7.5. Debido a que la mayoría de los lotes no contaban con coordenadas geográficas precisas, se localizó la ubicación a través de la aplicación de acceso libre Google Earth. Para cada una de las tres especies se confeccionó un mapa, señalando las identificaciones correctas, las dudosas y las erróneas de acuerdo a la revisión del material. En estas últimas, se distinguieron los casos en que el material pertenecía a la especie de interés, pero estaba identificado como una especie diferente, de los casos en que estaba etiquetado como la especie de interés, pero pertenecía a otra especie.

## 2.3. Resultados

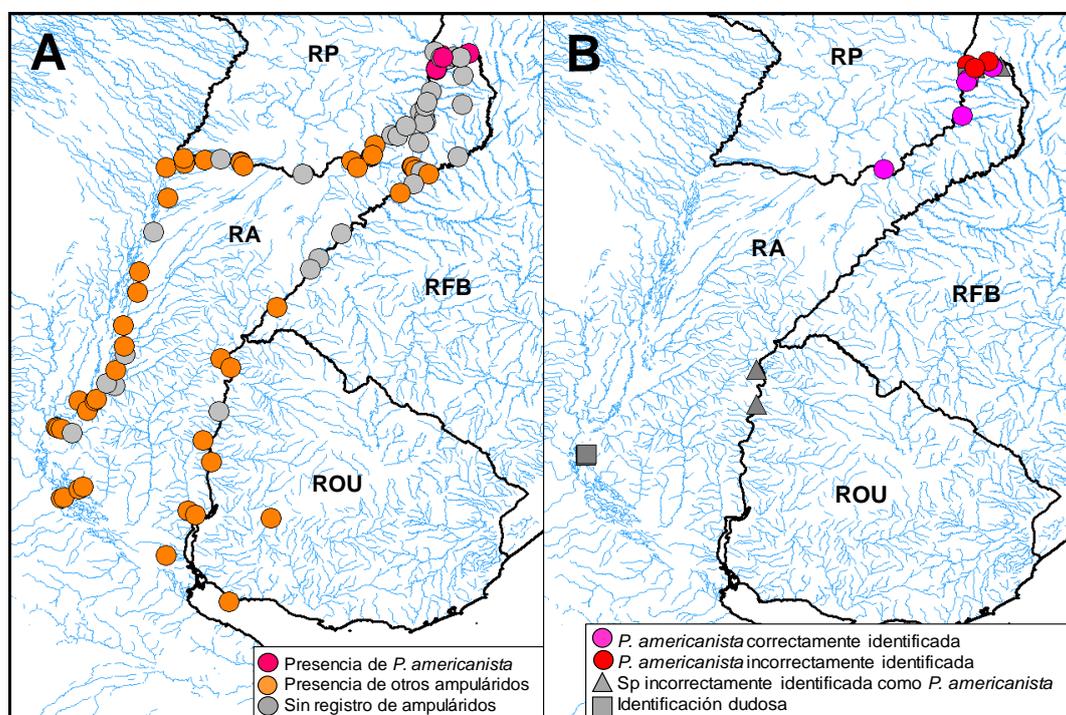
Se visitaron 101 sitios de la cuenca inferior del Río de la Plata para determinar la distribución geográfica actual de *Pomacea americanista* (sección 2.3.1), *Pomacea megastoma* (sección 2.3.2) y *Pomacea* sp1 (sección 2.3.3). Los ampuláridos estuvieron ausentes en 43 de estos sitios, pero en los 58 sitios restantes se hallaron poblaciones de *Pomacea canaliculata* (en diez sitios), *Pomacea maculata* (en 26 sitios), *Pomacea scalaris* (en cinco sitios), *Marisa planogyra* (en un sitio), *Felipponea* sp. (en siete sitios), *Asolene platae* (en doce sitios) y *Asolene spixi* (en un sitio).

### 2.3.1. Distribución de *Pomacea americanista*

*Pomacea americanista* fue encontrada en once de los 101 sitios muestreados (Figura 2.1 A), todos ellos en la provincia de Misiones, ocho de los cuales estaban sobre el río Iguazú, dentro del área del Parque Nacional Iguazú; otro registro se dio sobre el arroyo San Francisco, que desemboca en el río Iguazú 83 km aguas arriba de las Cataratas del Iguazú, y los dos sitios restantes se encontraban sobre un afluente del Alto Paraná, en el embalse Urugua-í. Seis de los once sitios se encontraban en zonas cercanas a saltos de agua, por lo que la velocidad de la corriente era relativamente alta, mientras que en los cinco sitios restantes la corriente era de moderada a lenta.

En la mayoría de los sitios donde *P. americanista* estuvo presente, se encontraron tanto masas de huevos como individuos vivos, aunque estos últimos no fueron abundantes; en general fue imposible encontrar más de tres individuos en un mismo punto de muestreo, con excepción de un sitio, el arroyo San Francisco, donde pudieron hallarse decenas de ejemplares de la especie. En sólo dos de los sitios, ambos dentro del Parque Nacional Iguazú, *P. americanista* fue hallada junto a otra especie de ampulárido, *Felipponea* sp. Los ejemplares vivos de *P. americanista* fueron encontrados sobre diversos sustratos duros

presentes en los sitios, tales como grandes rocas, ramas y troncos sumergidos y las bases de hormigón de las pasarelas peatonales del Parque Nacional Iguazú.



**Figura 2.1. A.** Sitios muestreados durante las campañas (2012-2015) en busca de ampuláridos. Círculos fucsias: presencia de *P. americanista*; círculos naranjas: presencia de ampuláridos distintos de *P. americanista*; círculos grises: sin registro de ampuláridos. **B.** Registros de *P. americanista* en colecciones malacológicas de museos. Círculos: presencia de *P. americanista* de acuerdo a nuestra revisión del material. Círculos rosas: identificados como *P. americanista* y confirmados en este trabajo; círculos rojos: identificados como otra especie, pero pertenecientes a *P. americanista*; triángulos grises: identificados como *P. americanista* pero pertenecientes a otra especie; cuadrados grises: identificados como *P. americanista* pero de identidad dudosa. RA: República Argentina, ROU: República Oriental del Uruguay, RP: República del Paraguay, RFB: República Federativa de Brasil.

Todas las masas de huevos de *P. americanista* observadas en el campo (ver Figura 5.9 B, Capítulo 5) fueron encontradas sobre superficies prácticamente verticales que emergían directamente del agua. De las 46 masas de huevos fotografiadas, 39 se encontraron sobre rocas basálticas o sobre los pilares de hormigón de las pasarelas, mientras que siete habían sido depositadas sobre troncos o ramas de árboles, dos de los cuales eran tallos leñosos de menos de 1 cm de diámetro; en estos casos se observaron las masas de huevos

envolviendo parcialmente las ramas. Solo siete de las 46 masas de huevos se encontraron sobre superficies cubiertas por musgos o algas, mientras que la mayoría estaban sobre sustrato desnudo.

Se examinaron 28 lotes de museo con el fin de analizar la distribución geográfica de *P. americanista* (Tabla 2.1). La identificación de ocho registros de la especie sobre el río Iguazú o afluentes del mismo, y ocho sobre el Alto Paraná o afluentes fue confirmada bajo los criterios morfológicos de este trabajo, basados en la descripción original y la de Hylton Scott (1958) (Figura 2.1 B); uno de los registros del río Iguazú no pudo ser señalado en el mapa, dada la imprecisión de la localización indicada en la etiqueta, que abarcaba un área demasiado amplia. Otros seis registros de la especie se encontraron sobre dichos ríos, uno en un afluente del río Paraná, y cinco sobre el río Iguazú, aunque todos estos lotes habían sido erróneamente identificados por sus colectores como *P. megastoma*. El caso opuesto de identificaciones incorrectas, es decir, ejemplares erróneamente identificados como *P. americanista*, se evidenció en tres lotes de museo. Uno de ellos correspondía a una especie de *Felipponea* y fue registrado sobre el río Iguazú, en las cataratas del mismo nombre; los otros dos lotes fueron registrados sobre el río Uruguay: uno sobre un afluente del mismo, el río Mocoretá, en la provincia de Corrientes, que correspondía a una especie de *Asolene*, y el otro sobre el embalse Salto Grande, provincia de Entre Ríos, en cuyo caso no pudo definirse si los ejemplares correspondían a la especie *P. canaliculata* o *P. maculata*. Por último, tres lotes identificados originalmente como *P. americanista*, registrados sobre el río Paraná o en afluentes del mismo, fueron señalados como de identificación dudosa.

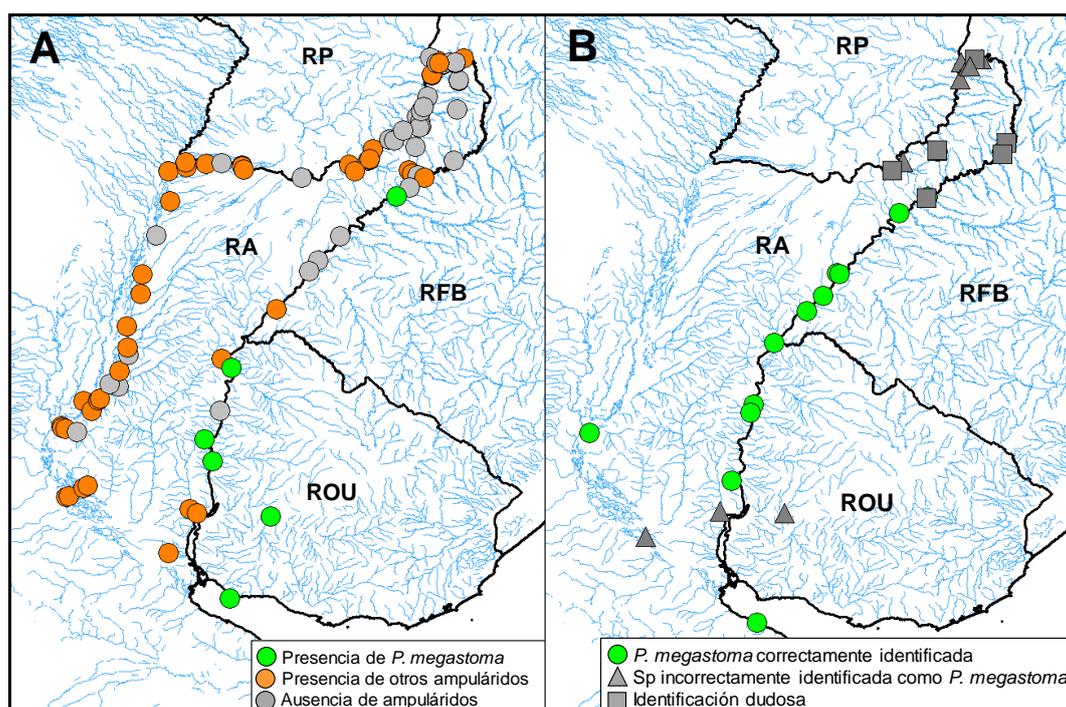
**Tabla 2.1.** Material de museo examinado para confirmar su correcta identificación como *P. americanista*, *P. megastoma* o *Pomacea* sp1, señalando el museo al cual pertenecen y el número de lote. MACN: Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia; MLP: Museo de la Universidad Nacional de La Plata.

Material de museo	<i>P. americanista</i>		<i>P. megastoma</i>		<i>Pomacea</i> sp1
Correctamente identificado	MACN 8776	MLP 7625	MACN 17099	MLP 7082-2	
	MACN 17101	MLP 7627	MACN11557	MLP 5688	
	MACN 9000	MLP 12870	MACN 21259	MLP 12198	
	MACN 26728	MLP 7631	MACN 6526/3	MLP 7002-3	—
	MACN 35279	MLP 12874	MLP 7091	MLP 5687	
	MACN 35639	MLP 368	MLP 26217	MLP 6446	
	MLP 7280	MLP 13796	MLP 26216	MLP 6700	
	MLP 7624		MLP 13924	MLP 7637	
Incorrectamente identificado como otra especie	MACN 9814			MLP 12840	MLP 13661
	MACN 37118			MLP 12763	MLP 13924
	MACN 36461		—	MLP 7633	MLP 7082-2
	MLP 6702-2			MLP 12524	MLP 12839
	MLP 12853			MLP 12448	MLP 1187
	MLP 6445			MLP 5510	
Incorrectamente identificado como la especie de interés	MACN 25825		MACN 9814	MLP 379	
	MLP 7279		MACN 9378-26	MLP 26143	
	MLP 13987		MACN 9251-8	MLP 12853	
			MACN 37118	MLP 13207	—
			MACN 36461	MLP 6445	
			MLP 6996-2	MLP 12863	
Identificación dudosa	MLP 13670		MLP 12840	MLP 5510	
	MLP 13668		MLP 12763	MLP 13661	
	MLP 7101		MLP 7633	MLP 12839	—
			MLP 6703	MLP 7634	
			MLP 12524	MLP 1187	
			MLP 12448		
Localización imprecisa	MLP 35279		MLP 26217		—
			MLP 12198		
			MLP 327/8/9		

### 2.3.2. Distribución de *Pomacea megastoma*

*Pomacea megastoma* fue encontrada en solo seis de los 101 sitios visitados en la cuenca inferior del Río de la Plata (Figura 2.2 A), uno de ellos ubicado sobre la margen izquierda del Río de la Plata, en la costa de la ciudad uruguaya Colonia del Sacramento

donde, además de *P. megastoma*, se observaron ejemplares de *Asolene platae*. Cuatro de los sitios donde la especie estuvo presente se ubican sobre el curso principal del río Uruguay: el puerto de la ciudad de Colón, la localidad de San Javier, el Parque Nacional El Palmar, y la Prefectura de Mocoetá. El sitio restante, ubicado en la República Oriental del Uruguay, se localiza sobre el río Negro, un afluente del río Uruguay que se embalsa formando el lago Paso del Palmar. En este último sitio, se observaron individuos de *P. megastoma* compartiendo estrechamente el hábitat con ejemplares de *P. canaliculata*. Solo dos de los seis sitios donde *P. megastoma* fue encontrada presentaban aguas con alta velocidad de corriente, los restantes sitios poseían corrientes relativamente lentas, e incluso en uno de ellos la corriente era prácticamente nula.



**Figura 2.2.** A. Sitios muestreados durante las campañas (2012-2015) en busca de ampuláridos. Círculos verdes: presencia de *P. megastoma*; círculos naranjas: presencia de ampuláridos distintos de *P. megastoma*; círculos grises: sin registro de ampuláridos. B. Registros de *P. megastoma* en colecciones malacológicas de museos. Círculos verdes: identificados como *P. megastoma* y confirmados en este trabajo; triángulos grises: identificados como *P. megastoma* pero pertenecientes a otra especie; cuadrados grises: identificados como *P. megastoma* pero de identidad dudosa. RA: República Argentina, ROU: República Oriental del Uruguay, RP: República del Paraguay, RFB: República Federativa de Brasil.

Los individuos vivos de *P. megastoma* fueron encontrados siempre sobre diversos sustratos duros, como rocas, troncos sumergidos y paredes de hormigón pertenecientes a los muelles del puerto de Colón. Todas las masas de huevos (ver Figura 5.9 C, Capítulo 5) fueron encontradas sobre sustratos emergentes prácticamente verticales. Las 15 masas de huevos halladas en el puerto de Colón fueron encontradas sobre paredes de hormigón o piedras de los muelles, a pesar de la presencia de árboles y arbustos cercanos, mientras que las 17 masas de huevos halladas en Mocoretá, donde no había rocas emergentes disponibles al momento del muestreo, se encontraron sobre troncos y ramas de arbustos ribereños, cuyo diámetro promedio fue de 1,7 cm (rango: 1,15 - 3,86 cm). Siempre que las ramas fueron de pequeño diámetro, las masas de huevos fueron observadas envolviéndolas parcialmente.

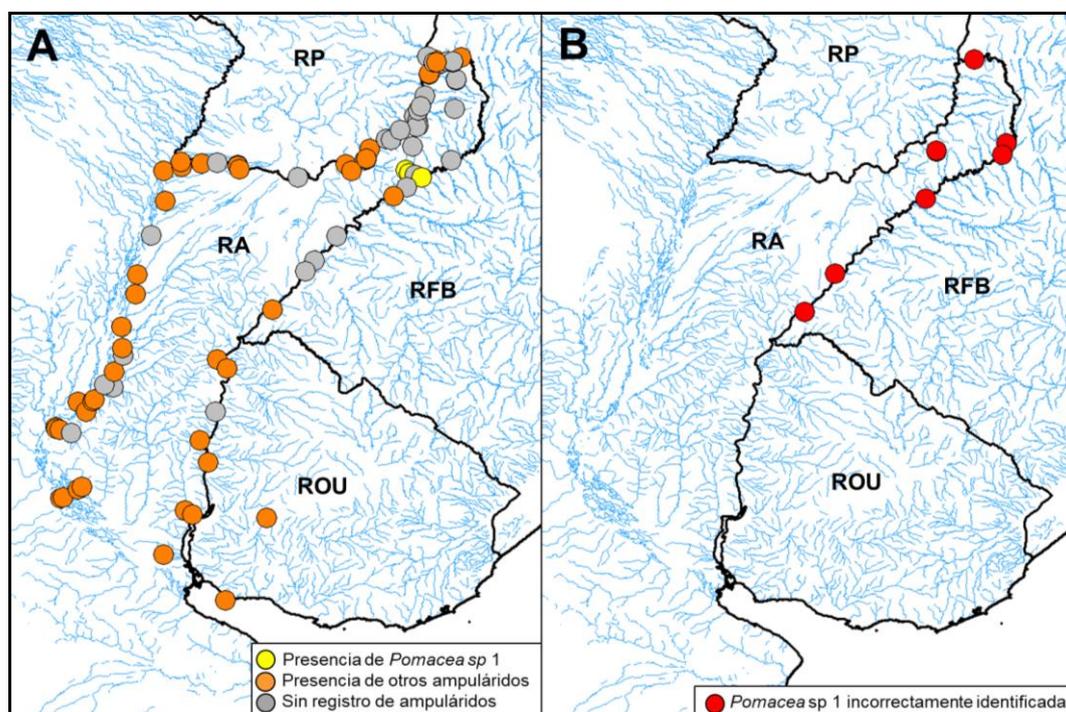
Para analizar la distribución geográfica de *P. megastoma* se revisaron un total de 43 lotes de las colecciones malacológicas (Tabla 2.1). La identificación de *P. megastoma* fue confirmada en 16 registros, y solo tres de ellos ocurrieron fuera del río Uruguay y la margen izquierda del Río de la Plata (Figura 2.2 B): uno sobre el río Paraná, en la ciudad de Santa Fe, otro sobre el arroyo Cuñapirú, un afluente del río Paraná, en la localidad de Aristóbulo del Valle, y el tercero en el canal Santiago, sobre la margen derecha del Río de la Plata, en la ciudad de Ensenada. Otros once presuntos registros de *P. megastoma* sobre los ríos Alto Paraná e Iguazú se confirmó que pertenecían a otras especies de ampuláridos, principalmente a *P. americanista*, pero también a *P. maculata* y a *Felipponea* sp. En la cuenca del río Uruguay, se encontraron dos registros incorrectamente asignados a *P. megastoma* y pertenecientes a *P. maculata*.

Fueron once los lotes de identificación dudosa, asignados originalmente a *P. megastoma* pero en los que no se logró identificar el material; cinco de ellos sobre el río Uruguay superior, dos sobre el Iguazú y cuatro sobre el Alto Paraná. Además de las 16 identificaciones correctas ya nombradas, *P. megastoma* fue confirmada en tres lotes más, no señalados en el mapa debido a la imprecisión de su localización. No se encontró ningún

lote en que el material perteneciera a *P. megastoma* pero estuviese etiquetado como otra especie.

### 2.3.3. Distribución de *Pomacea* sp1

Durante los muestreos realizados en la cuenca inferior del Río de la Plata, solo fue posible evidenciar la presencia de *Pomacea* sp1 en cuatro de los 101 sitios visitados (Figura 2.3 A). En todos ellos, y compartiendo los mismos microhábitats, se la observó acompañada de *Felipponea neritiformis*.



**Figura 2.3. A.** Sitios muestreados durante las campañas (2012-2015) en busca de ampuláridos. Círculos amarillos: presencia de *Pomacea* sp1; círculos naranjas: presencia de ampuláridos distintos de *Pomacea* sp1; círculos grises: sin registro de ampuláridos. **B.** Registros de *Pomacea* sp1 en colecciones malacológicas de museos. Los círculos rojos indican registros identificados como otra especie, pero pertenecientes a *Pomacea* sp1. RA: República Argentina, ROU: República Oriental del Uruguay, RP: República del Paraguay, RFB: República Federativa de Brasil.

Tres de los cuatro registros se dieron en un mismo afluente del río Uruguay: dos sitios sobre el arroyo Bonito y uno sobre el arroyo Acaraguá, cerca de su confluencia con el Bonito. El sitio restante se ubicó sobre el cauce principal del río Uruguay, en el camping Las Correderas de la localidad misionera de Alba Posse, aproximadamente 30 km aguas arriba del punto donde desembocan los arroyos antes nombrados, aunque aquí sólo se encontró un opérculo grande y los restos de una conchilla. La velocidad de la corriente fue moderada a alta en todos los sitios en los que *Pomacea* sp1 fue encontrada, a excepción del sitio ubicado en las inmediaciones del camping Las Correderas, donde la corriente era lenta.

Los individuos vivos, abundantes en los tres sitios del afluente del río Uruguay, fueron hallados sobre el fondo y las orillas rocosas de origen basáltico del arroyo, mientras que las masas de huevos (ver Figura 5.9 C, Capítulo 5) fueron halladas en su totalidad sobre superficies emergentes, prácticamente verticales. De las 21 masas de huevos de *Pomacea* sp1 fotografiadas 15 se hallaban sobre troncos o ramas, cuyo diámetro promedio fue de 1,50 cm (rango: 0,39-4,51 cm), mientras que las seis masas de huevos restantes habían sido depositadas sobre rocas basálticas desnudas. Cuando las ramas fueron de pequeño diámetro, las masas de huevos se observaron envolviéndolas parcialmente.

Once de los lotes de museo examinados contenían ejemplares compatibles con *Pomacea* sp1, similares a los hallados en los arroyos Bonito y Acaraguá (Tabla 2.1). En todos los lotes el material había sido erróneamente identificado como *P. megastoma* (Figura 2.3 B): seis de ellos fueron registrados sobre el río Uruguay o en afluentes del mismo, dos sobre el río Iguazú, en la corredera Tacuara del Parque Nacional Iguazú, y los tres restantes en un afluente del río Paraná, el arroyo Cuñapirú.

## 2.4. Discusión

Si bien la búsqueda de caracoles y masas de huevos de ampuláridos durante la campaña principal (diciembre de 2015) se realizó de manera exhaustiva, tuvo lugar durante un período atípico de grandes crecidas de los ríos Iguazú, Paraná y Uruguay ([www.prefectura naval.gov.ar](http://www.prefectura naval.gov.ar)), causadas por las intensas lluvias registradas durante las semanas previas en el sur de Brasil y el nordeste argentino. La altura del agua por encima de los niveles de alerta y el elevado caudal pueden haber llevado a subestimar el número de caracoles o masas de huevos encontrados (Capítulo 5), e incluso la presencia de alguna de las especies en estudio pudo no haber sido detectada en algún sitio.

Los muestreos de campo realizados y las revisiones de colecciones de museos apoyan la hipótesis de que el área de distribución de *Pomacea americanista* es muy limitada (Ihering, 1919; Hylton Scott, 1958), restringiéndose a un corto trayecto de los ríos Alto Paraná e Iguazú, y siendo las Cataratas del Iguazú su localidad tipo. Algunos registros de museo señalan una distribución más amplia sobre el río Paraná que la confirmada en los muestreos de campo (Figura 2.1 B), llegando a ser encontrada en la costa de la ciudad de Posadas en el año 1935, sitio cuyas aguas se encuentran actualmente embalsadas por el complejo Yacyretá (ver más abajo). Este registro malacológico coincide con su hallazgo sobre la margen opuesta del río justo frente a Posadas, en la ciudad de Encarnación (Ihering, 1919).

Del mismo modo, la distribución geográfica conocida de *Pomacea megastoma* también se vio apoyada por las campañas de muestreo y los registros malacológicos de ambos museos. Por otra parte, si bien la distribución de *P. megastoma* está limitada al río Uruguay y a la margen izquierda del Río de la Plata, se detectaron algunos reportes dispersos por fuera de esta área, que sugieren un rango de distribución más amplio en el pasado: en la ciudad de Santa Fe, sobre el río Paraná, en Aristóbulo del Valle, sobre un afluente del río Paraná, y en la ciudad de Ensenada, sobre un canal de la margen derecha del Río de la

Plata (Figura 2.2 B). Por otra parte, Hylton Scott (1958) determinó como *P. megastoma* material registrado en la playa de Quilmes, Buenos Aires. Todos estos ejemplares fueron colectados hace más de 80 años, lo que sugiere que la distribución de *P. megastoma*, al igual que la de *P. americanista*, sufrió una reducción durante el siglo XX.

En la orilla uruguaya del río Uruguay, la distribución geográfica de *P. megastoma* ha sido bien estudiada, sobre todo en los últimos años (Clavijo *et al.*, 2008; Röhrdanz Rosa, 2017). Hylton Scott (1958) ya había nombrado registros de la especie en la localidad de Salto, sobre el río Uruguay, en Soriano, sobre el río Negro, un afluente del río Uruguay, y en islas frente a la ciudad de Colonia, sobre la margen derecha del Río de la Plata. Recientemente Röhrdanz Rosa (2017) obtuvo 72 registros de *P. megastoma* en 49 localidades de Uruguay, la mayoría ubicadas sobre el río Uruguay y el bajo río Negro, y un único registro para el río Negro medio. Esta mayor abundancia de la especie sobre la margen izquierda del río Uruguay coincide con los registros mencionados por Hylton Scott (1943, 1958), quien lo atribuye a una mayor cantidad de sustratos basálticos en dicha margen.

Dado que el estatus específico de *Pomacea* sp1 aún no está confirmado, no sorprende que en las colecciones de museos haya sido identificada como una especie diferente, y en la totalidad de los casos esta especie fue *P. megastoma*. Más allá de las notables diferencias en el ciclo de vida y demografía (Capítulos 3 y 4), las conchillas de ambas especies son morfológicamente muy similares y las principales diferencias radican en el menor tamaño de las conchillas de *Pomacea* sp1, fácilmente confundibles con las de ejemplares jóvenes de *P. megastoma*, y en la forma del hombro de la conchilla, más redondeado en *Pomacea* sp1 y con un ángulo más marcado en *P. megastoma* (Capítulo 5). Los ejemplares de museos correspondientes con la morfología de *Pomacea* sp1, fueron registrados tanto en el río Uruguay o afluentes del mismo, como sobre el río Iguazú y sobre un afluente del Paraná; sin embargo, durante los muestreos de campo solo fueron encontrados en un afluente del río Uruguay y sobre el cauce principal del río, 30 km aguas

arriba del punto de desembocadura de dicho afluente. Por lo tanto, aunque existe la posibilidad de que el área de distribución de *Pomacea* sp1 haya sufrido una fuerte disminución, es necesario confirmar si la forma redondeada del hombro de sus conchillas puede ser considerado un carácter diagnóstico o sólo corresponde a una de las tantas variaciones fenotípicas que presentan los ampuláridos (Estebenet & Martín, 2003).

Si bien aquí se confirma la asociación de estas especies con sustratos duros, su vínculo con aguas de corrientes rápidas no parece ser tan necesario, ya que las tres especies también fueron observadas en ambientes naturales con corrientes relativamente lentas, y fue posible criarlas en laboratorio en acuarios sin corriente ni aireación (Capítulo 3). Las observaciones sugieren que el hábitat preferido por estas especies es un sustrato firme y libre de sedimentos, lo que limita su distribución espacial a pequeña escala. Su asociación con ambientes de aguas rápidas podría deberse a que la presencia de sustratos libres de sedimentos en ambientes naturales solo se da cuando el agua posee una velocidad de corriente relativamente alta. Esta preferencia no coincide con los hábitats de las otras especies de *Pomacea*, que habitualmente se encuentran en aguas tranquilas y sustratos blandos, como barro o macrófitas acuáticas (Hayes *et al.*, 2015).

Otro factor limitante es la necesidad de sustratos emergentes cercanos y accesibles para la oviposición, tales como plantas, que deben ser lo suficientemente fuertes como para soportar el peso de una hembra madura fuera del agua (Turner, 1996; Kyle *et al.*, 2011). Esto coincide con lo observado en el campo durante los muestreos, ya que no se observaron masas de huevos sobre plantas herbáceas. Los sustratos adecuados para la oviposición de las pesadas hembras de *P. americanista* y *P. megastoma* (34 a 68 g y 55 a 117 g, respectivamente; observaciones personales) se limitan mayormente a rocas, troncos y superficies planas como pilares de puentes y paredes de hormigón, mientras que otras especies más pequeñas y livianas como *P. paludosa* (Turner, 1996), *P. canaliculata* (18 a 23 g; Cadierno *et al.*, 2018) y la propia *Pomacea* sp1 (13 a 27 g; observación personal) sí son capaces de utilizar plantas herbáceas para depositar sus masas de huevos, aunque en

el caso de *Pomacea* sp1 las mismas estuvieron ausentes en los ambientes muestreados, y sus masas de huevos se encontraron preferentemente sobre ramas leñosas.

Los requerimientos de hábitat aparentemente estrechos y el rango geográfico restringido pueden hacer a estas especies particularmente vulnerables a impactos o estresores ambientales (Martín *et al.*, 2013), incluyendo las represas hidroeléctricas que se encuentran aguas arriba de sus rangos de distribución o que están en proyecto, como la represa Yacyretá (Capítulo 1), sobre el río Paraná, que abarca el tramo más austral del rango de distribución de *P. americanista*. Lo mismo ocurre sobre el cauce del río Uruguay, cuyas aguas se encuentran embalsadas por grandes represas como la uruguayo-argentina Salto Grande y las brasileñas Itá, Machadinho y Foz de Chapecó, además de proyectos como Garabí (Capítulo 1). Las represas alteran los ciclos hidrológicos de los ríos, especialmente en Brasil (Agostinho *et al.*, 2005) causando cambios importantes en los hábitats y en los ecosistemas que albergan. Por ejemplo, los Saltos del Guairá, situados entre Paraguay y Brasil, cuyo ambiente y topografía coinciden con los habitados por *P. americanista* y donde la especie bien podría haber estado presente, también quedaron sumergidos por la represa de Itaipú, el segundo mayor proyecto hidroeléctrico del mundo, que embalsó 200 km del río Alto Paraná aguas arriba de la confluencia con el río Iguazú.

El estudio sobre la distribución de estas tres especies confirma su asociación con ambientes de fondos duros (Clavijo *et al.*, 2008; Hylton Scott, 1958), sin embargo, es necesario complementar con estudios experimentales que clarifiquen los mecanismos subyacentes, ya que estas especies podrían no preferir estas condiciones sino sólo estar mejor adaptadas que otros ampuláridos para soportarlas, o verse restringidas a ellas por depredadores o competidores, por ejemplo otros ampuláridos más generalistas.

Los ambientes dulceacuícolas altamente oxigenados, como los rápidos y las cascadas, son los ambientes continentales más vulnerables a nivel mundial y el hábitat de muchas especies, incluidos los gasterópodos, con requisitos de hábitat limitados (Strong *et al.*, 2008; Gutiérrez Gregoric & de Lucía, 2016; Vogler *et al.*, 2019). La presencia de saltos o

correderas aisladas en los cursos de agua de la Mesopotamia Argentina probablemente favorezca la diferenciación y especiación, posibilitando la aparición de especies endémicas (por ejemplo, Gutiérrez Gregoric & de Lucía, 2016; Vogler *et al.*, 2019), como sería el caso de *P. americanista* (Rumi *et al.*, 2008) y tal vez de *Pomacea* sp1 y otras entidades aún por describir. Estas especies vulnerables, y sobre todo las endémicas, deben ser tenidas en cuenta por las agencias gubernamentales al momento de planificar la construcción de represas que modifiquen dichos ambientes y para el desarrollo de estrategias de conservación (Gutiérrez Gregoric & de Lucía, 2016; Vogler *et al.*, 2019).

## Capítulo 3: CICLOS DE VIDA

### 3.1. Introducción

El estudio de poblaciones criadas completamente en laboratorio constituye una herramienta muy útil para conocer y comprender el ciclo de vida de una especie. Dentro de la familia Ampullariidae, se han realizado varios estudios sobre aspectos de la historia natural de algunas especies, principalmente sobre la invasora *Pomacea canaliculata* (Estebenet & Cazzaniga, 1992, 1993; Estebenet & Martín, 2002; Martín & Estebenet, 2002; Tamburi & Martín, 2009), pero también sobre *Asolene platae* (Tiecher *et al.*, 2014, 2016), *Pila globosa* (Swainson 1822) (Jahan *et al.*, 2001), *Marisa cornuarietis* (Aufderheide *et al.*, 2006; Demian & Ibrahim, 1971, 1972; Demian & Yousif, 1973), *Pomacea bridgesii* (Reeve 1856) (probablemente *Pomacea diffusa* (Blume 1957), Coelho *et al.*, 2012) y *Pomacea maculata* (Barnes *et al.*, 2008). Los ciclos de vida de los ampuláridos presentan gran diversidad (Hayes *et al.*, 2015), aunque para las especies sudamericanas solo los de *P. canaliculata* y *A. platae* han sido estudiados en profundidad.

Dada la gran diversidad que presenta la familia Ampullariidae, conocer los aspectos ecológicos y comportamentales de las especies que lo componen proporciona conocimientos de gran utilidad para comprender el proceso evolutivo que dio origen a dicha diversificación (Hayes *et al.*, 2009b). Además, el estudio de los ciclos de vida bajo condiciones controladas y estandarizadas permite deducir cómo se comportan las especies en su ambiente natural y evaluar su potencial para establecerse en nuevas áreas, en el caso de las especies invasoras (Cowie *et al.*, 2009), o su grado de vulnerabilidad, en el caso de las no invasoras (Martín *et al.*, 2013).

A diferencia de otros estudios previos sobre ciclos de vida de ampuláridos, donde los caracoles fueron criados en acuarios grupales o en parejas, Tiecher *et al.* (2016) recrearon condiciones óptimas de alimentación, temperatura y apiñamiento para la cría exitosa de *A.*

*platae*, permitiendo a su vez un seguimiento individualizado del crecimiento y de la actividad reproductiva de cada caracol. Estas condiciones de cría servirían como estándares para criar otras especies de ampuláridos y obtener resultados comparables, ya que en *P. canaliculata* se demostró que tanto las características de la conchilla como las estrategias vitales muestran un componente de variación fenotípica mayor que el componente genético (Estebenet & Martín, 2003; Martín & Estebenet, 2002; Tamburi & Martín, 2009, 2012, 2013). Hasta el momento se desconoce si la gran plasticidad fenotípica que presentan las poblaciones de *P. canaliculata*, y que tanto complica su estudio, también está presente en otras especies de *Pomacea*, y en caso de estarlo se reforzaría la necesidad de criarlos bajo las mismas condiciones.

*Pomacea americanista* es una especie particularmente poco estudiada, ya que no se ha publicado información sobre su anatomía ni su historia natural. Es llamativo que, transcurrido un siglo desde su descripción, esta especie no haya recibido atención, teniendo en cuenta la gran talla de sus ejemplares, la facilidad de detectar sus masas de huevos aéreas (Capítulo 5) y el hecho de que su localidad tipo (Cataratas del Iguazú; Hylton Scott, 1958) esté ubicada dentro de un Parque Nacional tan visitado y estudiado desde su creación en 1934. Otro ejemplo de especies escasamente estudiadas lo representa *Pomacea megastoma*, el ampulárido más grande de Argentina y Uruguay, cuya distribución abarca la cuenca del río Uruguay y el Río de la Plata (Capítulo 2). *Pomacea megastoma* está incluida dentro de la Lista Roja de Especies Amenazadas de la UICN como de “Preocupación Menor” (UICN 2021; Pastorino & Darrigran, 2011), y en la República Oriental del Uruguay es considerada una especie de conservación prioritaria, debido principalmente a su limitada área de distribución (Clavijo & Scarabino, 2013). A la fecha no existe información publicada acerca de su historia natural y sólo existen referencias vagas sobre el detalle de sus masas de huevos y neonatos (por ejemplo, Hayes *et al.*, 2009b; Kyle *et al.*, 2013).

Sobre los fondos basálticos de la cabecera de un afluente del río Uruguay (Capítulo 2), fue hallada una población aislada de caracoles con conchillas similares a las de *P. megastoma*, pero con ciertas particularidades anatómicas (Capítulo 5), principalmente una menor talla máxima, que hacen sospechar de su identidad. Aunque en ese ambiente se observaron masas de huevos recientes, indicando presencia de individuos maduros dentro de la población, no fue posible encontrar ningún caracol de tamaño similar a los individuos adultos de *P. megastoma*. Este hecho incitó a iniciar una cohorte de esta población bajo condiciones homogéneas de laboratorio, con el fin de determinar el tamaño máximo alcanzado, su edad y su talla a la madurez y otros aspectos de su ciclo de vida. En este capítulo, al igual que en el resto de la tesis, dicha población será tratada como *Pomacea* sp1. El objetivo de este capítulo fue caracterizar el ciclo de vida de *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 a través del estudio del crecimiento, la supervivencia, la actividad reproductiva y la edad y talla a la cual los individuos alcanzan la madurez sexual, de cohortes criadas en condiciones controladas y estandarizadas de laboratorio. También se pretende, investigar el grado de dimorfismo sexual de estos rasgos, determinar la fecundidad de las hembras, la viabilidad de sus masas de huevos y la duración del desarrollo embrionario. A su vez, este estudio de laboratorio ayudará a esclarecer si la diferencia de talla de *Pomacea* sp1 respecto a *P. americanista* y *P. megastoma* tiene un origen ecofenotípico o si podría tratarse de una especie aún no descrita.

## 3.2. Materiales y Métodos

### 3.2.1. Origen de los caracoles

En enero de 2014 dos masas de huevos de cada una de las tres especies en estudio fueron colectadas para dar origen a las cohortes de laboratorio.

#### 3.2.1.1. *Pomacea americanista*

Las masas de huevos de *Pomacea americanista* fueron colectadas en el arroyo San Francisco (municipio de Comandante Andresito, provincia de Misiones, Argentina, 25° 36' 42" S, 54° 2' 4" O), un pequeño curso de agua de 12-15 m de ancho y menos de 50 cm de profundidad que desemboca en el río Iguazú, 83 km aguas arriba de las Cataratas del Iguazú. Esta área pertenece al extremo sur de la ecorregión de la Selva Paranaense (Di Bitetti *et al.*, 2003). El clima local es subtropical húmedo con 1755 mm de precipitación anual y sin estación seca; la temperatura media anual es de 20,2 °C con medias mensuales entre 24,8 °C en enero y 14,8 °C en julio (Climate-Data.org, 2018).

#### 3.2.1.2. *Pomacea megastoma*

Los individuos experimentales de *Pomacea megastoma*, se originaron a partir de masas de huevos colectadas sobre la margen derecha del río Uruguay, en el puerto de la ciudad de Colón (32° 12' 54" S, 58° 8' 59" O, provincia de Entre Ríos, Argentina). El clima de esta zona es templado y cálido, con precipitaciones durante todo el año de aproximadamente 1174 mm totales; la temperatura media anual es 18,4 °C, con medias mensuales de entre 25,5 °C en enero y 12,0 °C en julio (Climate-Data.org, 2018).

### 3.2.1.3. *Pomacea* sp1

Las masas de huevos de *Pomacea* sp1 fueron colectadas en el arroyo Bonito (27° 26' 39" S, 54° 56' 9" O), un afluente del río Uruguay. El sitio de colecta, ubicado en plena selva misionera argentina, se encuentra dentro del Centro de Investigaciones "Antonia Ramos" (CIAR, municipio de Campo Ramón, departamento de Oberá, provincia de Misiones). El clima local es cálido y templado, con precipitaciones de aproximadamente 1737 mm al año, ocurriendo las mayores durante el mes de octubre; la temperatura media anual es de 19,7 °C, con medias mensuales de entre 24,6 °C en enero y 14,7 °C en junio (Climate-Data.org, 2018).

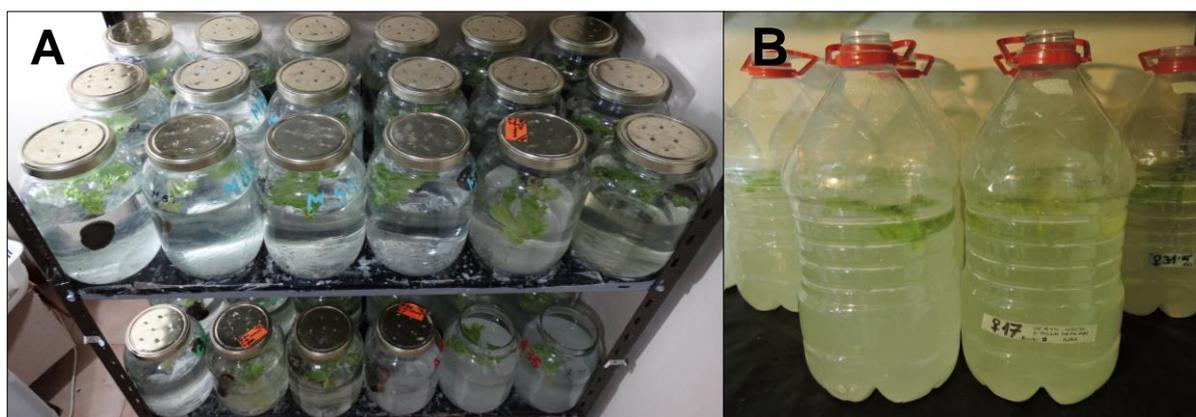
### 3.2.2. Mantenimiento y cría de los caracoles

Las masas de huevos colectadas fueron llevadas al laboratorio, e incubadas a  $26 \pm 1$  °C, bajo un fotoperíodo artificial de 14 horas. Una vez ocurrida la eclosión, los neonatos cayeron dentro de una bandeja plástica (25 cm de largo, 17 cm de ancho y 4 cm de profundidad) con 1700 cm<sup>3</sup> de agua corriente, sobre la que había sido suspendida cada masa de huevos. En estas bandejas fueron criados durante dos semanas y alimentados con alimento en escamas para peces (VitaFish Premium®).

Transcurrido ese período, 50 neonatos de cada especie fueron seleccionados al azar como individuos experimentales y transferidos a potes plásticos individuales (7 cm de diámetro y 5,2 cm de profundidad) con 200 cm<sup>3</sup> de agua corriente saturada de CaCO<sub>3</sub>. Cada pote fue identificado a través de un número y se les colocó una tapa plástica perforada para evitar el escape de los neonatos. A partir de entonces y durante toda su vida, cada caracol fue alimentado con lechuga fresca *ad libitum*.

A las 11 semanas de vida se los transfirió a acuarios individuales de vidrio de mayor tamaño (14 cm de diámetro y 15 cm de profundidad), con 2300 cm<sup>3</sup> de agua corriente saturada con CaCO<sub>3</sub>, previamente identificados con los mismos números que los potes

plásticos (Figura 3.1 A). Durante toda su vida los caracoles fueron mantenidos en una sala de cría, bajo las mismas condiciones controladas en que fueron incubadas las masas de huevos. Una vez por semana se limpiaron sus acuarios y se renovó el agua para eliminar heces y restos de lechuga. En la 16<sup>o</sup> semana, cuando la talla de las conchillas fue suficientemente grande, el número que identificaba a cada caracol fue pintado con esmalte sobre su conchilla. Por ser caracoles de mayor talla, a las 117 semanas de vida los ejemplares de *P. megastoma* fueron transferidos de los acuarios de vidrio (2300 cm<sup>3</sup> de agua) a acuarios plásticos de mayor volumen (4550 cm<sup>3</sup> de agua; Figura 3.1 B). Los 50 caracoles de cada especie fueron estudiados hasta su muerte natural.

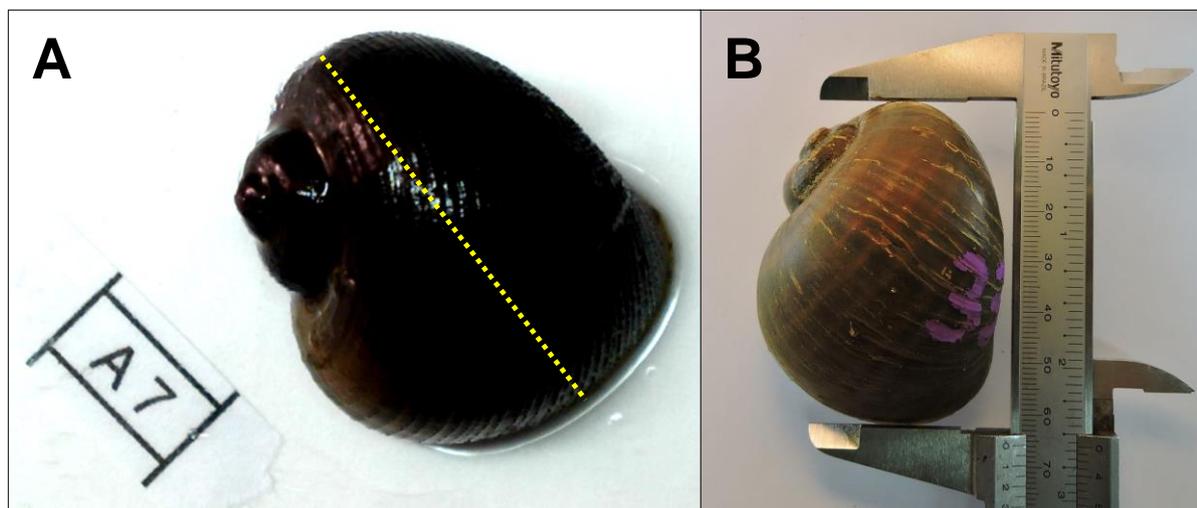


**Figura 3.1.** **A.** Acuarios de vidrio donde cada individuo experimental fue criado de manera individual a partir de las 11 semanas de vida. **B.** Acuarios plásticos donde los ejemplares de *P. megastoma* fueron criados individualmente a partir de las 117 semanas de vida.

### 3.2.3. Registro de la talla y determinación del sexo

A partir de la segunda semana de vida y hasta su muerte natural, se midió semanalmente la conchilla de cada caracol. Dado que con anterioridad se había observado en el campo que el ápice de las conchillas de los adultos solía estar muy erosionado en estas especies, se decidió utilizar como medida de la talla del caracol el ancho de la conchilla, es decir, la distancia tomada en mm desde el borde de la abertura hasta el punto más alejado (Figura 3.2 A y B). Se midió también la longitud de la conchilla utilizada por

Estebenet & Martín (2003), para comprobar que las tallas aquí observadas fuesen comparables con las publicadas previamente para otros ampuláridos, obteniéndose una alta correlación entre estas dos medidas ( $r= 0,98$ ).



**Figura 3.2.** **A.** Medición de un ejemplar joven (13 semanas de vida) de *P. americanista* a través de una foto escalada. **B.** Medición de un ejemplar adulto de *P. americanista* con calibre.

Para evitar daños debidos a la manipulación de los caracoles durante las primeras semanas de vida, dada la fragilidad de sus conchillas, cada caracol fue fotografiado semanalmente en vista dorsal mientras reptaba sobre el fondo del acuario plástico, utilizando como escala de referencia una barra de 1 cm colocada junto al ejemplar (Figura 3.2 A). Una vez transferidos a los acuarios de vidrio, los caracoles fueron medidos con un calibre manual Mitutoyo de 0,05 mm de precisión (Figura 3.2 B). La tasa de crecimiento específico (TCE) fue estimada para cada edad:  $TCE = (T_2 - T_1) / (T_1 \cdot (e_2 - e_1))$ , donde  $T_1$  y  $T_2$  son la talla inicial y final, respectivamente, para cada semana de vida, y  $e_1$  y  $e_2$  la edad inicial y final, respectivamente, medida en semanas.

Una vez por semana se buscó determinar el sexo de cada individuo a través de la observación de caracteres secundarios externos ya utilizados en *P. canaliculata*. Los individuos que mostraron un opérculo de forma convexa (Estebenet *et al.*, 2006; ver Figura 5.5, Capítulo 5), una vaina del pene en la cavidad del manto (Capítulo 5) o un testículo de

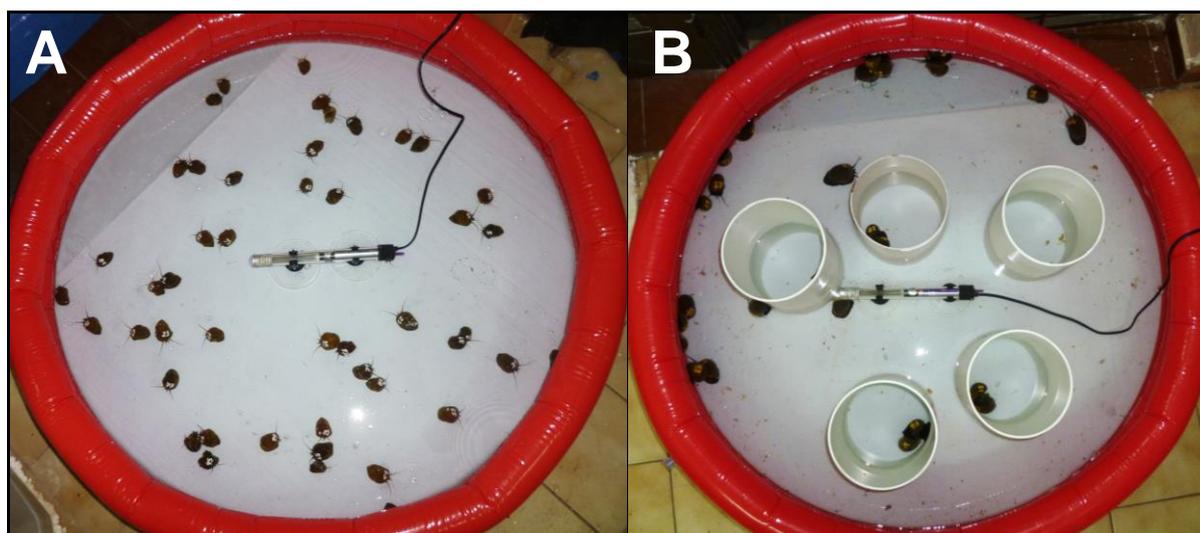
color blanquecino, visible a través de la conchilla translúcida de los caracoles jóvenes, fueron identificados como machos (Burela & Martín, 2007, 2009), mientras que los caracoles carentes de estos rasgos fueron considerados hembras. Posteriormente, el sexo fue confirmado por la oviposición de las hembras y por la examinación *post mortem* de las partes blandas de todos los individuos. La proporción sexual esperada (1:1) fue evaluada mediante un test  $\chi^2$ .

### 3.2.4. Determinación de la madurez, la actividad sexual y la supervivencia

A partir de la 17<sup>o</sup> semana de vida, y luego de la medición de cada ejemplar, los 50 caracoles de cada especie fueron reunidos una vez por semana, durante siete horas consecutivas (de 9 a 16 h) en un acuario colectivo circular de 90 cm de diámetro, con una profundidad de 14 cm de agua, de manera que los caracoles pudieran encontrarse y aparearse (Figura 3.3). Estas sesiones de cópula, durante las cuales la temperatura del agua fue mantenida a  $26 \pm 1$  °C con un calentador eléctrico con termostato, se realizaron para cada especie mientras permaneciera vivo al menos un individuo de cada sexo, totalizando 113 sesiones de cópula para *P. americanista*, 189 para *P. megastoma* y 53 para *Pomacea* sp1.

Durante cada sesión, los caracoles fueron revisados cada 20 minutos para registrar el comportamiento precopulatorio y copulatorio (Burela & Martín, 2009), que fueron categorizados como: intentos de cópula (monta de un macho sobre la conchilla de otro caracol, sin intromisión de la vaina del pene), cópulas cortas (intromisión de la vaina del pene en la cavidad paleal de la hembra durante menos de 2 h), cópulas largas (intromisión de la vaina del pene en la cavidad paleal de la hembra durante más de 2 h). El límite de tiempo para que una cópula sea catalogada como larga se estableció en 2 h debido a que éste es el tiempo mínimo que debe transcurrir en *P. canaliculata* para que ocurra la

inseminación (Burela & Martín, 2011). Cuando una pareja fue observada en cópula durante dos revisiones seguidas, fue aislada con un cilindro plástico de 16 cm de diámetro sin fondo ni tapa, con el fin de evitar la interferencia por parte de otros caracoles del acuario, pero posibilitando la continuidad de la observación.



**Figura 3.3.** Acuario colectivo donde se realizaron las sesiones de cópula para cada especie. **A.** sesión de cópula de *P. megastoma* a las 18 semanas de vida. **B.** sesión de cópula de *Pomacea* sp1 a las 48 semanas de vida, con cinco parejas aisladas mediante cilindros plásticos.

Al finalizar cada sesión, los caracoles que no se encontraban en cópula fueron devueltos a sus acuarios individuales, mientras que el comportamiento de aquellas parejas que permanecían en cópula continuó siendo registrado a través de cámaras infrarrojas y una video grabadora digital NISUTA H.264 Standalone DVR. Dado que el equipo de filmación fue adquirido con posterioridad al inicio de las sesiones de cópula de *P. americanista* y de *Pomacea* sp1, la duración de las primeras cópulas no pudo ser registrada con precisión, sino que se calculó como un rango de tiempo comprendido entre la última observación de un día y la primera del día siguiente. En el caso de *P. megastoma* ya se contaba con dicho equipo al momento en que los individuos comenzaron a copular, por lo que la duración de sus cópulas fue registrada con exactitud. Cuando fue posible, los

eventos de oviposición también fueron observados y, en el caso de *P. americanista*, grabados en video.

A todos los machos se les permitió participar de todas las sesiones de cópula hasta su muerte natural, mientras que las hembras, con el fin de estudiar su patrón de oviposición y su capacidad de almacenar esperma fértil (sección 3.2.6), fueron asignadas a uno de dos tratamientos: hembras de cópula no restringida (CNR) a las que se les permitió participar libremente de todas las sesiones de cópula, y hembras de cópula única (CU) a las cuales se les restringió completamente su participación en las sesiones luego de su primera cópula seguida de oviposición. En el caso de *P. americanista* se contó con 15 hembras CNR y 10 hembras CU, en el de *P. megastoma* con 7 hembras CNR y 4 hembras CU, mientras que para *Pomacea* sp1 se contó con 13 hembras para cada tratamiento.

Los acuarios de las hembras fueron revisados dos veces al día (a las 9 y a las 18 h) en busca de masas de huevos depositadas sobre sus paredes. Las hembras que, transcurrida una semana desde su primera cópula larga, no depositaron ninguna masa de huevos, no fueron colocadas en el acuario colectivo durante la sesión siguiente, con el fin de asegurar que durante la cópula no haya ocurrido transferencia espermática. Transcurrida una semana más sin oviposición, a estas hembras se les permitió regresar al acuario colectivo, pero fueron excluidas del tratamiento CU y automáticamente asignadas al tratamiento CNR.

La edad de madurez de cada macho fue identificada como aquella semana en la cual se observó su primer intento de cópula. La edad a la que las hembras participaron de una cópula corta o de una cópula larga sin posterior oviposición fueron consideradas etapas previas a la madurez sexual; se las consideró completamente maduras a partir de la semana en que depositaron su primera masa de huevos. La edad y la talla a la muerte fueron aquellas de la última semana en la cual un caracol fue medido y observado con vida, lo que fue confirmado por la ausencia de movimientos musculares y ciliares de su pie, y por la falta de reacción al tocarlo. Para evaluar posibles diferencias entre los sexos en la edad y la talla a la madurez y a la muerte, se realizaron test *t* para varianzas iguales o desiguales,

luego de probar la homocedasticidad con el test de Levene. Además, para estas variables se calcularon los coeficientes de variación (CV %):  $CV \% = (DE / media) \cdot 100$ .

La actividad sexual de los machos fue estimada en cada sesión de cópula como el porcentaje de machos que mostraron algún comportamiento copulatorio o precopulatorio en relación al número total de machos maduros, es decir, aquellos que ya habían mostrado alguno de estos comportamientos en las semanas previas. Para las hembras, la actividad sexual fue estimada como el porcentaje de hembras que depositaron una masa de huevos en una semana dada con respecto al número total de hembras maduras, es decir, aquellas que ya habían puesto al menos una masa de huevos en las semanas anteriores. Además, una vez finalizado el experimento, se calculó la proporción sexual terciaria, definida como la proporción de machos maduros en relación con el total de individuos maduros de la cohorte.

### **3.2.5. Determinación de la fecundidad, el número de huevos por masa de huevos, la duración del desarrollo embrionario y la viabilidad**

Las masas de huevos de cada hembra fueron despegadas cuidadosamente de las paredes de los acuarios mientras el moco que mantiene unidos a los huevos aún estaba fresco. Aprovechando dicho moco, cada masa de huevos fue inmediatamente pegada sobre la parte inferior de la tapa de un pote plástico con agua en el fondo (Figura 3.4) e incubadas hasta su eclosión, identificando la hembra y la fecha de oviposición. En observaciones preliminares se advirtió que, si las masas de huevos de *P. americanista* no eran humedecidas regularmente, los huevos no eclosionaban a pesar de que los embriones estuvieran completamente desarrollados; por lo tanto, las masas de huevos de esta especie fueron ligeramente rociadas con agua cada dos días para optimizar la eclosión. Dicha práctica no fue llevada a cabo para *P. megastoma* ni para *Pomacea* sp1, ya que en pruebas preliminares se observó que la humectación de las masas de huevos no era necesaria y a

veces incluso potencialmente perjudicial, ya que se observó el desarrollo de hifas fúngicas sobre su superficie.



**Figura 3.4.** Potes plásticos donde las masas de huevos de cada especie fueron incubadas hasta su eclosión; en la imagen, masa de huevos de *P. megastoma*.

La eclosión de cada masa de huevos y la caída de neonatos al agua fue verificada diariamente. Luego de una semana sin nuevas eclosiones en una masa de huevos dada, se registró el número total de neonatos, de huevos embrionados (no eclosionados, pero con un embrión en su interior parcialmente desarrollado, desprovisto de conchilla), y de huevos no embrionados (no eclosionados, sin un embrión reconocible en su interior). Las masas con huevos sin eclosionar fueron monitoreadas durante 45 días, y luego los huevos fueron disecados en busca de embriones que no hubieran podido romper la cáscara y caer al agua. La fecundidad fue estimada como el número total de masas de huevos, de huevos y de neonatos que produjo cada hembra a lo largo de su vida. Con el fin de evaluar si el número de cópulas tenía efecto sobre la fecundidad de las hembras, estas variables fueron calculadas por separado para hembras que participaron en más de una cópula y para aquellas que copularon una sola vez, ya sea de manera impuesta (hembras CU) como natural (hembras CNR que no participaron de más cópulas a pesar de haber tenido la oportunidad). Las posibles diferencias fueron evaluadas a través de un test *t* para varianzas iguales y desiguales, luego de probar la homocedasticidad con el test de Levene.

Con el fin de estimar la duración del desarrollo embrionario y la viabilidad a  $26 \pm 1$  °C, dos masas de huevos, de entre las primeras cinco de cada hembra, fueron incubadas a dicha temperatura en la misma sala de cría que los caracoles adultos. La duración del desarrollo embrionario fue calculada como los días transcurridos desde la fecha de oviposición hasta el día en que se registraron al menos diez neonatos. La viabilidad de cada masa de huevos fue calculada como el número de neonatos en relación al número total de huevos (eclosionados, embrionados y no embrionados).

El número de huevos por masa de huevos, la duración del desarrollo embrionario y la viabilidad de las masas de huevos fueron correlacionados entre sí. La duración del desarrollo embrionario también fue analizada en relación con el diámetro promedio de los huevos (Capítulo 5).

### **3.2.6. Determinación de la capacidad para almacenar esperma fértil**

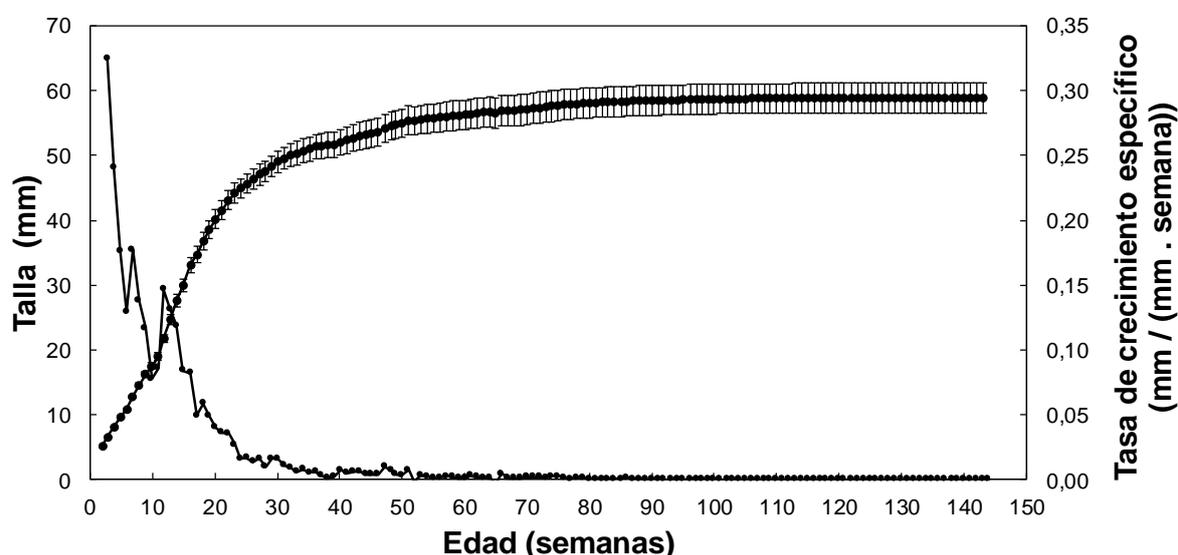
Por último, se estudió la capacidad de las hembras de cada especie para almacenar esperma fértil luego de una única cópula (hembras CU y hembras CNR que solo copularon una vez), que fue estimada como el tiempo transcurrido, en días, entre la cópula y la deposición de la última masa de huevos viable, es decir, aquella en la que eclosionó al menos un huevo.

### 3.3. Resultados

#### 3.3.1. *Pomacea americanista*

##### 3.3.1.1. Crecimiento

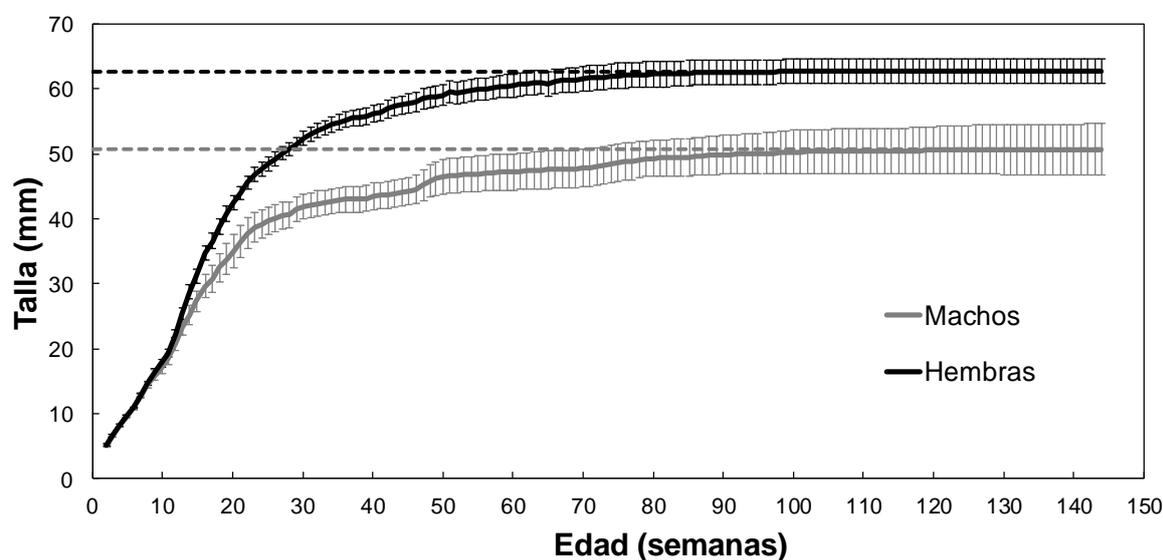
Para los 50 individuos en conjunto, el aumento en la talla de la conchilla fue casi lineal hasta la vigésima semana de vida (Figura 3.5), y a partir de entonces la tasa de crecimiento específico disminuyó suavemente y se volvió casi imperceptible luego de 70 semanas.



**Figura 3.5.** Crecimiento de la conchilla y tasa de crecimiento específico para *P. americanista*, sin distinción entre machos y hembras. Las barras de error de la curva de crecimiento señalan intervalos de confianza al 95 % (media  $\pm$  IC 95 %).

Desde el nacimiento hasta las 11 semanas de vida, los patrones de crecimiento fueron similares para ambos sexos (Figura 3.6), y a partir de allí las curvas de crecimiento mostraron dimorfismo sexual en sus tallas; las pruebas estadísticas realizadas semana a semana mostraron que a las 11 semanas de vida la talla promedio de la conchilla no difirió significativamente entre los sexos, pero sí lo hizo en la semana 12 ( $t_{48} = 1,711$ ;  $P = 0,093$  y  $t_{48} = 2,529$ ;  $P = 0,015$ , respectivamente). Las hembras crecieron más rápido y alcanzaron

tallas mayores que los machos. Las hembras y los machos alcanzaron el 95 % de sus tallas máximas a las 53 y a las 73 semanas, respectivamente.

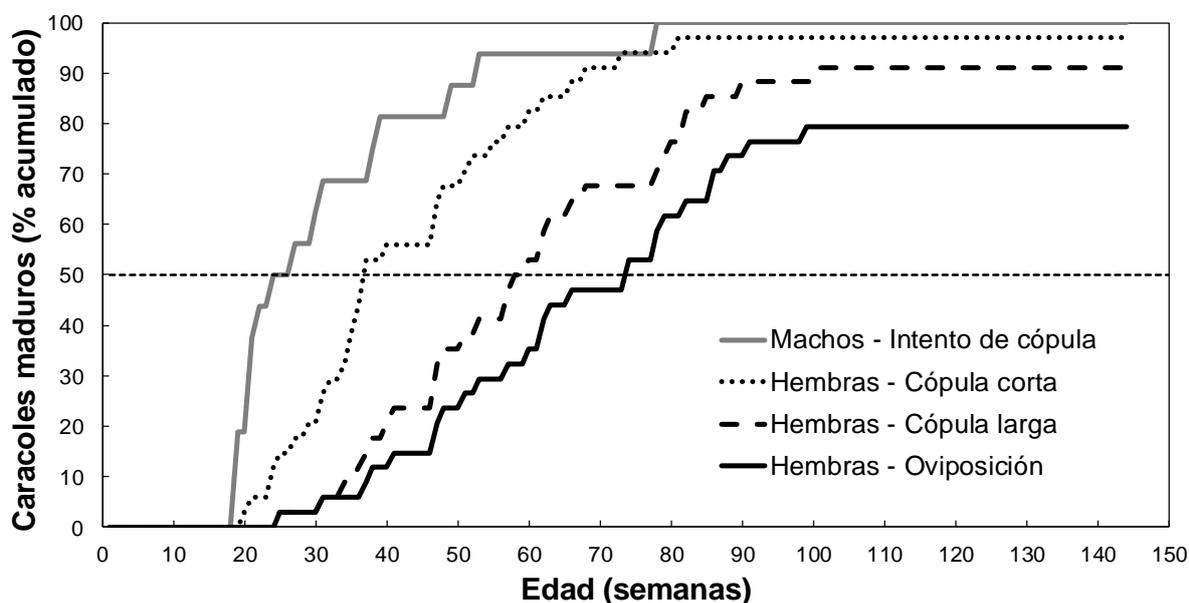


**Figura 3.6.** Crecimiento de los caracoles machos y hembras de *P. americanista*. Las líneas punteadas horizontales indican las tallas máximas promedio para cada sexo. Las barras de la curva de crecimiento señalan los intervalos de confianza al 95 %.

### 3.3.1.2. Madurez, actividad sexual y supervivencia

La maduración sexual mostró un patrón sexualmente dimórfico (Figura 3.7). Los machos intentaron copular antes que las hembras, a partir de la semana 19, y el porcentaje de machos maduros aumentó rápidamente con el correr de las semanas, alcanzando el 50 % en la semana 24 y el 100 % en la semana 78. En muchos casos los intentos de cópula no progresaron, debido a que las hembras sacudían activamente la conchilla, dificultando el posicionamiento de los machos; en algunos casos se observó a los machos abandonar sus intentos de copular, pese a no evidenciarse ningún comportamiento de rechazo por parte de la hembra. Las hembras comenzaron a permitir la intromisión de la vaina del pene solo una semana más tarde, aunque estas cópulas fueron de corta duración. A partir de la semana 25 se observaron cópulas largas, y el porcentaje de hembras que participaron en ellas

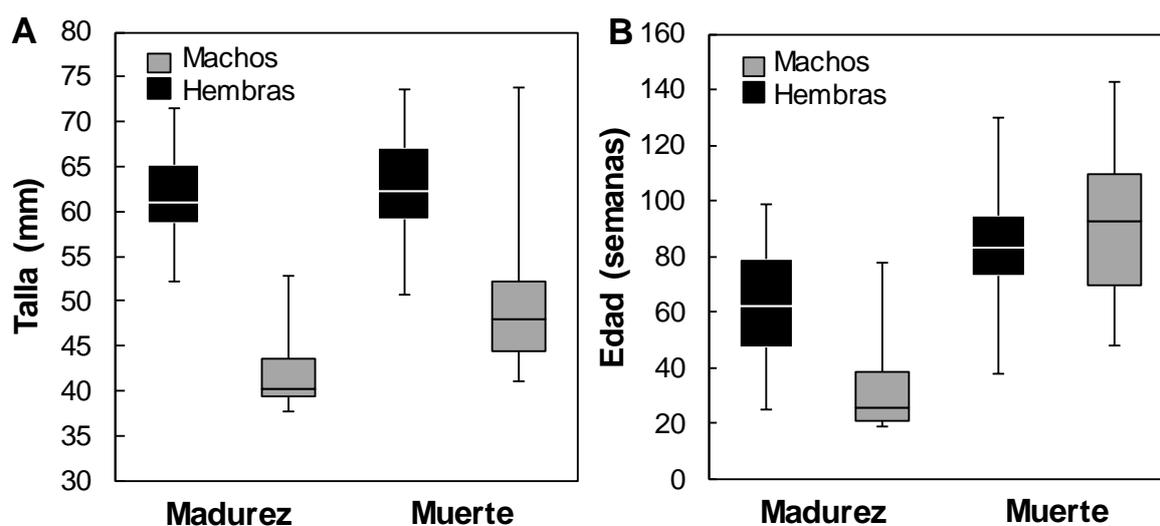
aumentó de manera lenta pero constante. En esta misma semana, a lo sumo cinco días después de su primera cópula larga, las hembras comenzaron a depositar masas de huevos. La mitad de las hembras maduraron antes de las 74 semanas de edad, pero solo el 79,4 % del total alcanzaron ese estado antes de morir. La proporción sexual terciaria fue de 2,13 hembras por cada macho, desviándose significativamente del valor 1:1 ( $\chi^2= 6,48$ ;  $P= 0,011$ ;  $N= 50$ ).



**Figura 3.7.** Porcentaje acumulado de individuos maduros de *P. americanista*: machos que mostraron intentos de cópula, hembras que participaron de cópulas cortas y largas, y hembras que ovipusieron. La línea horizontal señala el 50 % acumulado de individuos maduros.

Tanto la edad como la talla a la madurez fueron significativamente mayores para las hembras que para los machos ( $t_{41}= 5,274$ ;  $P< 0,001$  y  $t_{41}= 13,469$ ;  $P< 0,001$ ; Figura 3.8 A y B). Las hembras comenzaron a ovipositar a las  $63,07 \pm 19,96$  semanas (media  $\pm$  DE) y a una talla de  $61,21 \pm 4,85$  mm, mientras que los machos comenzaron a intentar copular a las  $31,94 \pm 16,32$  semanas, con una talla de  $41,73 \pm 4,08$  mm. Las tallas a la muerte alcanzadas por cada sexo fueron significativamente diferentes ( $t_{48}= 6,14$ ;  $P< 0,001$ ; Figura 3.8 A), siendo  $62,72 \pm 5,63$  mm para las hembras y  $50,71 \pm 7,96$  mm para los machos.

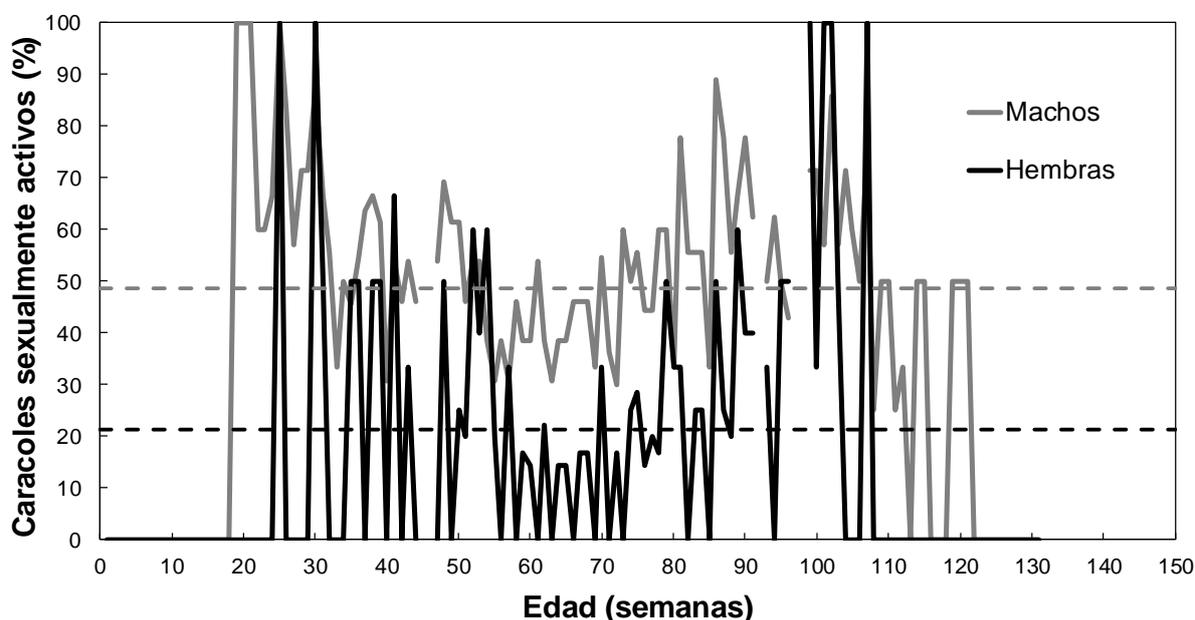
Para ambos sexos, los coeficientes de variación de la edad a la madurez y a la muerte (31,7 % y 22,9 % para las hembras, y 51,1 % y 29,2 % para los machos, respectivamente) fueron mayores que los de talla a la madurez y a la muerte (7,9 % y 9,0 % para las hembras, y 9,8 % y 16,4 % para los machos, respectivamente). Además, los coeficientes de variación de todos estos rasgos fueron mayores para los machos que para las hembras.



**Figura 3.8.** Diagramas de caja para la talla a la madurez sexual y a la muerte **(A)** y para la edad a la madurez sexual y a la muerte **(B)** de machos y hembras de *P. americanista* criados en el laboratorio. La caja representa el rango intercuartil, la línea horizontal de cada caja indica la mediana, y las barras verticales los valores extremos para cada rasgo. Se omiten los valores atípicos y los extremos (aquellos que se encuentran por fuera de la caja hasta tres veces y a más de tres veces el rango intercuartil, respectivamente).

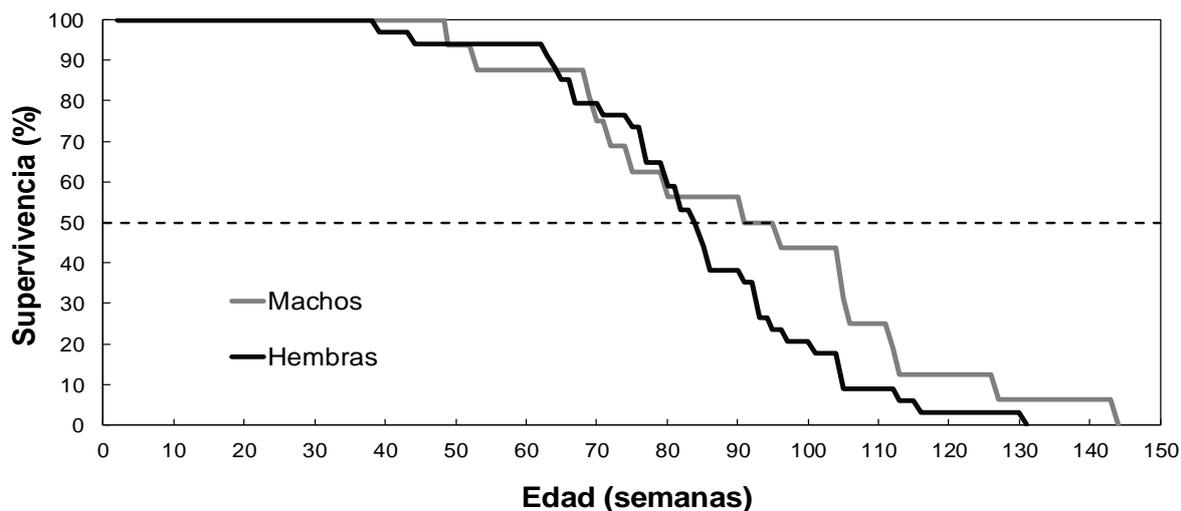
El porcentaje de caracoles sexualmente activos durante una semana dada con respecto al número total de machos o hembras maduros, no mostró un patrón claro durante el experimento (Figura 3.9). En una semana determinada, el 21,25 % de las hembras depositaron al menos una masa de huevos, mientras que el 46,43 % de los machos intentó copular al menos una vez; en el 10,6 % de estos intentos de cópula, los machos intentaron copular con otro macho. Una vez que la actividad reproductiva comenzó, fue generalmente continua hasta la muerte natural del caracol, especialmente en los machos. Tres de las 13

hembras que copularon y desovaron más de una vez cesaron los eventos de oviposición durante más de un mes y luego reanudaron los mismos.



**Figura 3.9.** Actividad sexual de machos (% machos que mostraron comportamientos copulatorios o precopulatorios) y de hembras (% hembras que ovipusieron) de *P. americanista*. Las líneas horizontales indican la media para cada sexo. Durante las semanas 45, 46, 92, 97 y 98 no se realizaron las sesiones de cópula.

La primera muerte se produjo en la semana 38 y a partir de ese momento la disminución en el número de sobrevivientes fue casi lineal y similar para ambos sexos (Figura 3.10). La máxima diferencia entre las curvas de supervivencia se observó entre las semanas 101 y 103, cuando el 43,75 % de los machos y solo el 17,65 % de las hembras estaban vivos. La mitad de los machos sobrevivieron hasta la semana 91, mientras que la mitad de las hembras lo hicieron hasta la semana 84, y las longevidades máximas fueron de 143 y 130 semanas, respectivamente. Sin embargo, la edad a la muerte no fue significativamente diferente entre los sexos ( $t_{48} = 1,097$ ;  $P = 0,27$ ; Figura 3.8 B).



**Figura 3.10.** Curvas de supervivencia para machos y hembras de *P. americanista*. La línea horizontal indica el 50 % de supervivencia.

### 3.3.1.3. Comportamientos de cópula y de oviposición

Todas las cópulas observadas en el laboratorio fueron subacuáticas. En una cópula típica, el macho se acercó a la hembra, montó su conchilla, reptó sobre ella hasta posicionarse sobre el lado derecho de su último anfracto e introdujo la vaina del pene en la cavidad del manto de la hembra (Figura 3.11). Posteriormente, ambos permanecieron prácticamente inmóviles por largos períodos de tiempo; por momentos, y mientras los consortes continuaban en cópula, la hembra reptó sobre el sustrato o desprendió su cefalopodio del mismo y lo retrajo parcialmente. Durante la cópula, los caracoles ocasionalmente alcanzaron la superficie del agua con sus sifones respiratorios y realizaron movimientos de ventilación mediante la retracción repetida del cefalopodio.

La duración de las cópulas fue de  $16,13 \pm 5,48$  horas ( $n= 18$ ), con un máximo registrado de 27,5 h. En hembras que aún no habían depositado huevos, la duración mínima para que ocurra un evento de oviposición fue de 9,17 h. Luego de alcanzar la madurez (primera cópula seguida de oviposición), las hembras copularon en el  $43,15 \pm 24,22$  % de las oportunidades; en el caso de los machos intentaron copular en el  $53,5 \pm 29,55$  % de las oportunidades luego de su primer intento de cópula. El número máximo de

cópulas seguidas de oviposición que se observó entre las hembras fue de 17, mientras que el mayor número de intentos de cópula observado entre los machos fue de 84.



**Figura 3.11.** Cópula entre dos ejemplares de *P. americanista* durante las sesiones semanales realizadas en el laboratorio. El macho está identificado con el número 20 y la hembra con el número 63. La flecha señala la vaina del pene.

Algunas hembras fueron observadas o grabadas por las videocámaras mientras ponían huevos en las paredes de vidrio de los acuarios o de los cilindros plásticos utilizados en las sesiones de cópula. Antes de comenzar un evento típico de oviposición, la hembra reptó hacia la superficie del agua hasta que su conchilla quedó completamente fuera de la misma. Luego de varios minutos sin actividad aparente, sobre el lado derecho del cefalopodio comenzaron a observarse los huevos saliendo uno por uno a través del gonoporo (Figura 3.12). Los huevos aparecieron a intervalos de 29 a 40 segundos y avanzaron continuamente a través de un surco temporario del cefalopodio de la hembra hasta cerca del borde del mismo, donde se iban agregando en varias capas mientras tomaban contacto con el sustrato. Se observaron hasta siete huevos en hilera sobre el surco, a veces en contacto unos con otros como se observa en la figura 3.12. Prácticamente todas las masas de huevos (260 de 263) fueron encontradas durante la inspección matutina de los acuarios.

Dos hembras que no habían participado previamente de ninguna cópula depositaron masas de huevos pequeños, sin embrión en su interior.



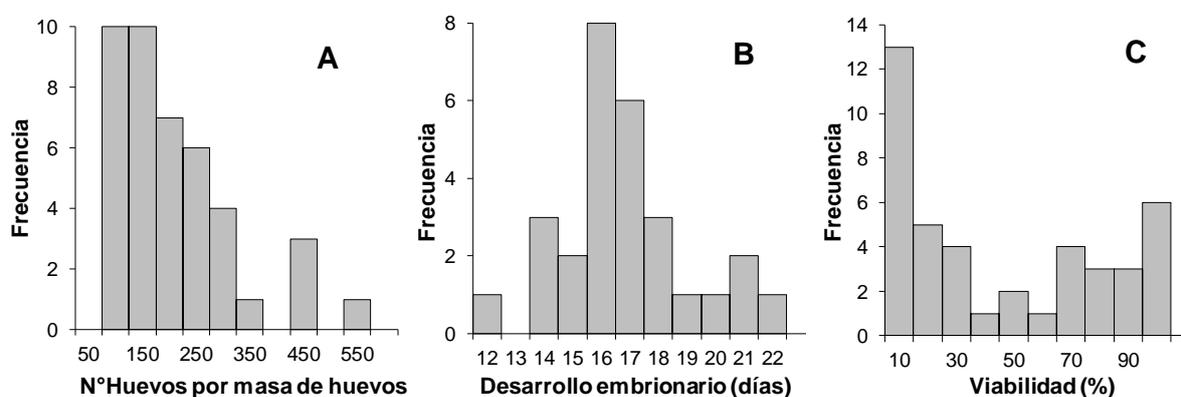
Figura 3.12. Hembra de *P. americanista* oviponiendo en el laboratorio. Barra= 10 mm.

#### 3.3.1.4. Fecundidad, número de huevos por masa de huevos, duración del desarrollo embrionario y viabilidad

El número total de masas de huevos depositadas por las 11 hembras que copularon más de una vez ( $16,91 \pm 14,02$ ) fue significativamente mayor que para las 14 hembras que copularon una única vez ( $5,50 \pm 3,59$ ) ( $t_{11,03} = 2,631$ ;  $P = 0,023$ ). El número total de huevos y de neonatos por hembra también fue mayor para aquellas que copularon en más de una oportunidad ( $1856,18 \pm 1672,92$  huevos y  $714,82 \pm 790,19$  neonatos) con respecto a las que solo participaron de una cópula ( $862,29 \pm 609,06$  huevos y  $377,43 \pm 490,79$  neonatos), aunque en ninguno de estos rasgos la diferencia fue significativa ( $t_{12,09} = 1,875$ ;  $P = 0,085$  y  $t_{23} = 1,312$ ;  $P = 0,203$ , respectivamente). El caso más extremo, incluido en los datos, fue el

de una hembra que copuló en 17 oportunidades y depositó 53 masas de huevos, totalizando 6101 huevos y 2599 neonatos.

Las masas de huevos depositadas en el laboratorio contuvieron  $186,12$  huevos  $\pm 111,03$  ( $n= 42$ ; Figura 3.13 A), aunque este número fue muy variable, observándose masas de huevos de 54 a 522 huevos. La duración del desarrollo embrionario a  $26 \pm 1$  °C fue de  $16,82 \pm 2,28$  días hasta la eclosión de los primeros 10 huevos, pero algunas masas de huevos tomaron hasta 22 días ( $n= 28$ ; Figura 3.13 B). La mayoría de los huevos de una misma masa de huevos eclosionaron dentro de un lapso de tres días, sin un patrón de eclosión definido. En promedio, la viabilidad de las masas de huevos incubadas en el laboratorio fue del  $39 \pm 36$  %; el 33,3 % de las masas de huevos falló por completo, es decir que su porcentaje de eclosión fue nulo, y solo seis de las 42 masas de huevos exhibieron viabilidades superiores al 90 % (Figura 3.13 C). El número de huevos con embriones parcialmente desarrollados, desprovistos de conchilla, fue muy bajo, no siendo más de tres por masa de huevos.

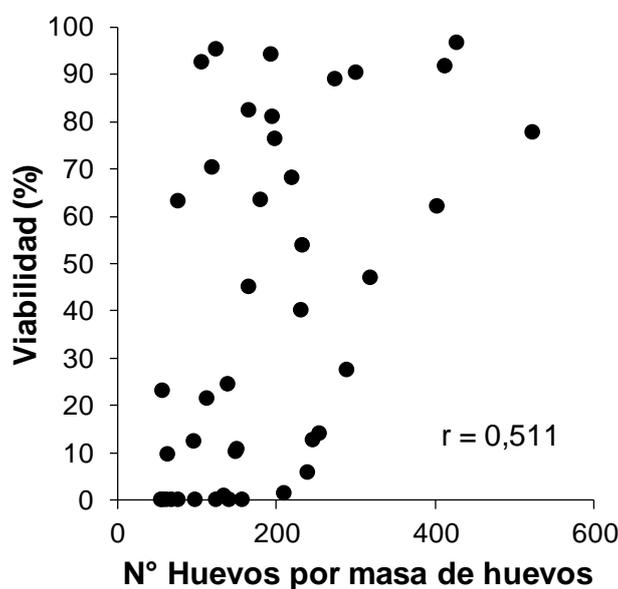


**Figura 3.13.** Histogramas de frecuencias absolutas de tres variables de las masas de huevos de *P. americanista* depositadas e incubadas en el laboratorio. **A.** Número de huevos por masa de huevos. **B.** Duración del desarrollo embrionario (días). **C.** Porcentaje de viabilidad de las masas de huevos.

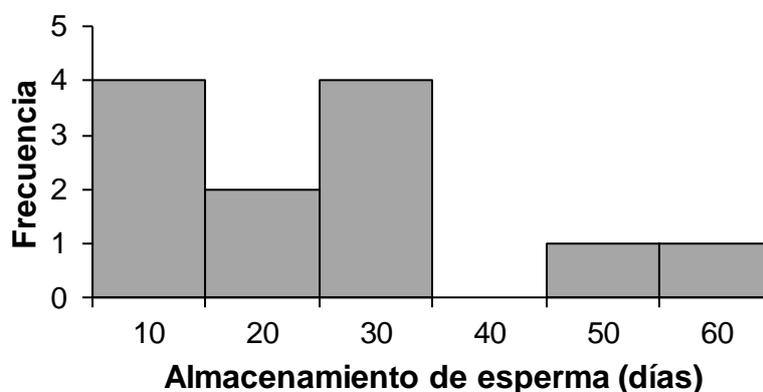
Pocas horas después de eclosionar y tomar contacto con el agua, los neonatos de *P. americanista* fueron capaces de alimentarse por sí mismos, y la mayoría de ellos ya

contaban con una burbuja de aire en el pulmón, observable por transparencia a través de sus finas conchillas (ver Figura 5.6 B, Capítulo 5).

La viabilidad estuvo correlacionada positivamente con el número de huevos de la masa de huevos ( $r = 0,511$ ;  $P < 0,001$ ;  $n = 42$ ; Figura 3.14). La duración del desarrollo embrionario no estuvo relacionada de manera significativa con el número de huevos de la masa de huevos ( $r = 0,065$ ;  $P = 0,742$ ;  $n = 28$ ) ni con la viabilidad ( $r = -0,112$ ;  $P = 0,570$ ;  $n = 28$ ); así como tampoco fue significativa su correlación con el diámetro promedio de los huevos (Capítulo 5) ( $r = -0,067$ ;  $P = 0,779$ ;  $n = 20$ ).



tardaron en morir luego de haber depositado la última masa de huevos viable fue variable, de entre 10 y 256 días (media:  $113,5 \pm 92,07$  días).



**Figura 3.15.** Histograma de frecuencias absolutas mostrando el tiempo máximo (días) durante el cual las hembras de *P. americanista* almacenaron esperma fértil en el laboratorio.

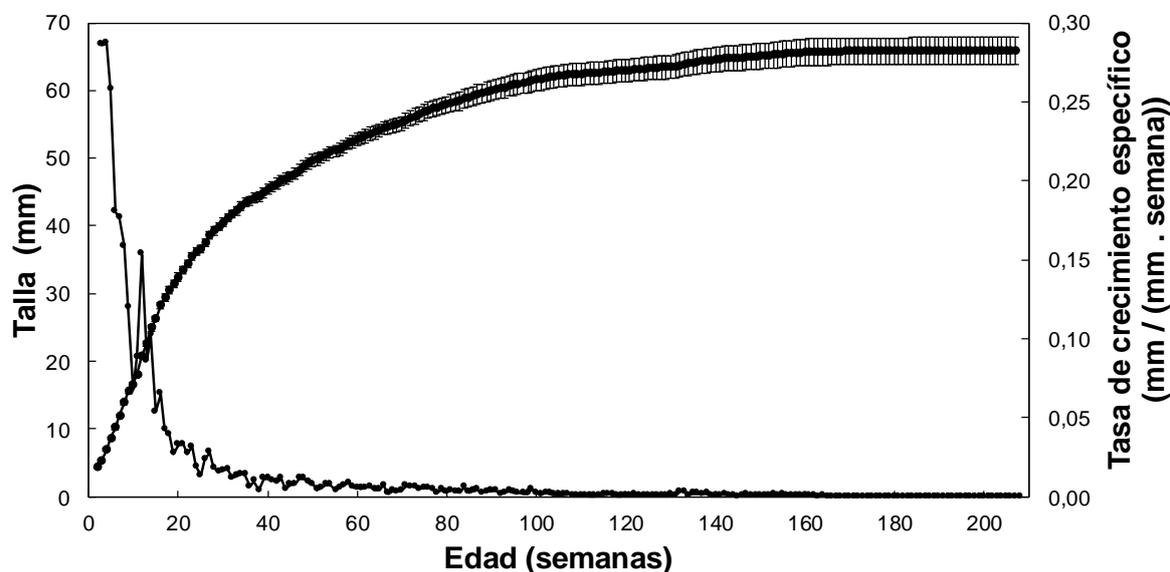
### 3.3.2. *Pomacea megastoma*

#### 3.3.2.1. Crecimiento

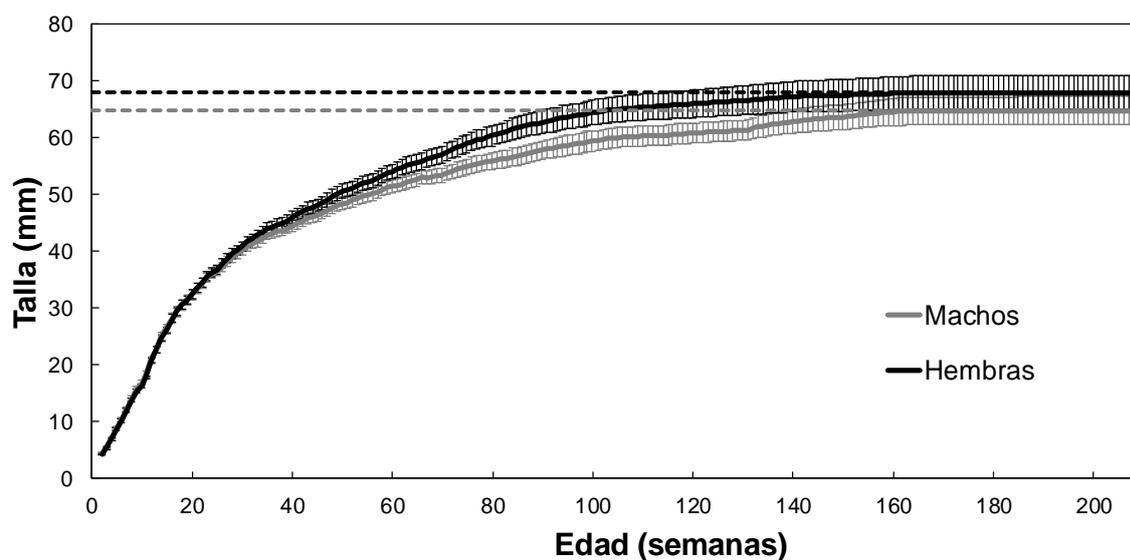
La talla de la conchilla para los 50 individuos en conjunto aumentó linealmente durante las primeras 16 semanas de vida (Figura 3.16), pero la tasa de crecimiento disminuyó paulatinamente a partir de entonces, hasta volverse casi imperceptible a partir de las 100 semanas de vida. El crecimiento prácticamente cesó luego de 164 semanas, ya que no se registró crecimiento en ocho de los 19 caracoles que sobrevivieron a esta edad, y los que sí lo hicieron crecieron menos de un milímetro.

Si bien las hembras crecieron más rápido y alcanzaron tallas mayores que los machos, los patrones de crecimiento de ambos sexos fueron muy similares hasta la semana 59; a partir de allí las curvas de crecimiento mostraron dimorfismo sexual, observándose la mayor diferencia a las 128 semanas de vida (66,4 mm de talla promedio para las hembras y 61,2 mm para los machos; Figura 3.17). Las pruebas estadísticas realizadas revelaron que la talla promedio de la conchilla no difirió significativamente entre los sexos a las 39 semanas de vida, pero sí a partir de la semana 40 ( $t_{46} = 1,748$ ;  $P = 0,087$  y  $t_{46} = 2,009$ ;  $P = 0,050$ ,

respectivamente); sin embargo, el dimorfismo volvió a perder significancia a partir de la semana 156 ( $t_{17} = 1,846$ ;  $P = 0,082$ ). Las hembras y los machos alcanzaron el 95 % de sus tallas máximas promedio a las 111 y a las 132 semanas, respectivamente.



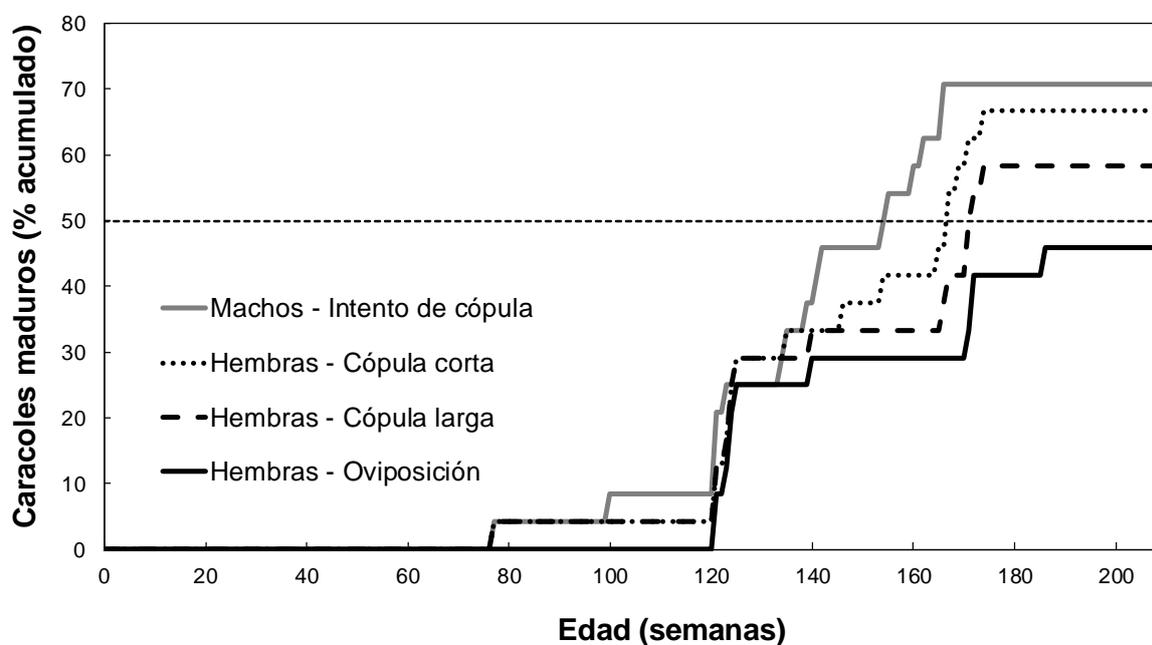
**Figura 3.16.** Crecimiento de la conchilla y tasa de crecimiento específico para *P. megastoma*, sin distinción entre machos y hembras. Las barras de error de la curva de crecimiento señalan intervalos de confianza al 95 % (media  $\pm$  IC 95 %).



**Figura 3.17.** Crecimiento de los caracoles machos y hembras de *P. megastoma*. Las líneas punteadas horizontales indican las tallas máximas promedio para cada sexo. Las barras de la curva de crecimiento señalan los intervalos de confianza al 95 %.

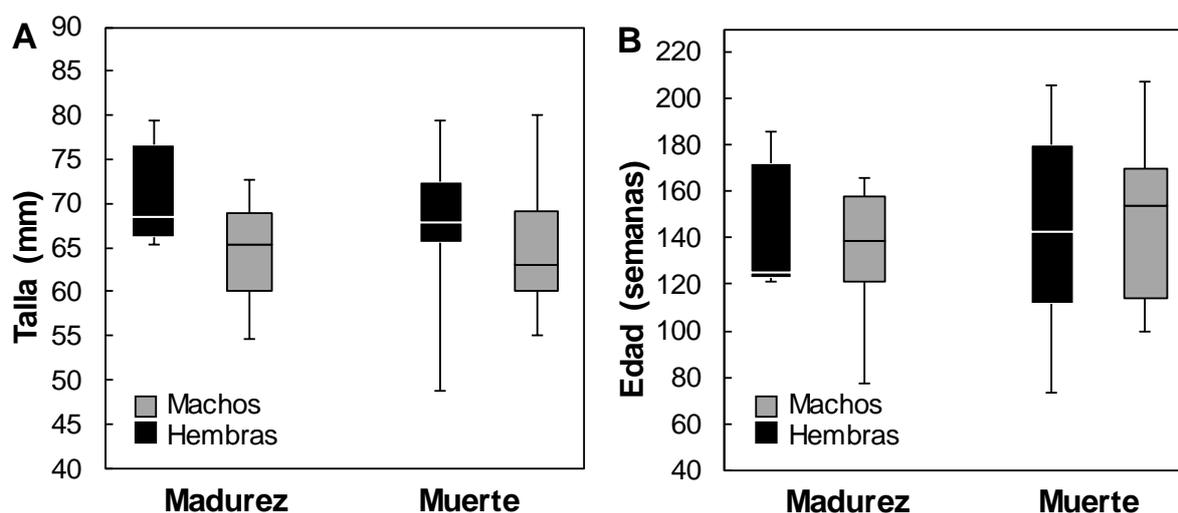
### 3.3.2.2. Madurez, actividad sexual y supervivencia

Dos individuos de la cohorte murieron antes de diferenciarse sexualmente. Las curvas de madurez sexual (Figura 3.18) no mostraron diferencias claras entre los sexos, ya que el primer intento de cópula por parte de un macho fue exitoso, por lo que el primer comportamiento de cópula observado en la cohorte, a las 77 semanas de vida, fue una cópula de larga duración. Sin embargo, el siguiente intento de cópula no ocurrió sino hasta 18 semanas más tarde, y las primeras masas de huevos fueron depositadas recién a las 121 semanas de vida. El porcentaje de machos maduros aumentó muy lentamente al principio, pero la velocidad se incrementó a partir de las 120 semanas de vida, alcanzando el 50 % en la semana 154 y llegando a un 70,8 % de machos maduros en la semana 166. Por su parte, el porcentaje de hembras que maduró antes de morir alcanzó un 45,8 %. La proporción sexual terciaria no mostró ninguna desviación del valor 1:1 (24 hembras y 24 machos).



**Figura 3.18.** Porcentaje acumulado de individuos maduros de *P. megastoma*: machos que mostraron intentos de cópula, hembras que participaron de cópulas cortas y largas, y hembras que ovipusieron. La línea horizontal señala el 50 % acumulado de individuos maduros.

La talla a la madurez fue, en promedio, significativamente mayor en las hembras que en los machos ( $t_{26}= 2,966$ ;  $P= 0,006$ ; Figura 3.19 A), ya que las hembras comenzaron a oviponer con una talla de  $70,42 \pm 5,06$  mm, mientras que la de los machos fue de  $64,32 \pm 5,46$  mm cuando realizaron sus primeros intentos de cópula. Sin embargo, la edad a la madurez no mostró diferencias significativas entre los sexos ( $t_{26}= 0,752$ ;  $P= 0,459$ ; Figura 3.19 B), que fue de  $143,55 \pm 25,95$  semanas para las hembras y de  $136,29 \pm 24,28$  semanas para los machos. Tampoco se hallaron diferencias significativas en la talla a la muerte, que fue de  $67,89 \pm 7,46$  mm y  $64,70 \pm 6,20$  mm, para hembras y machos respectivamente ( $t_{46}= 1,616$ ;  $P= 0,113$ ; Figura 3.19 A).

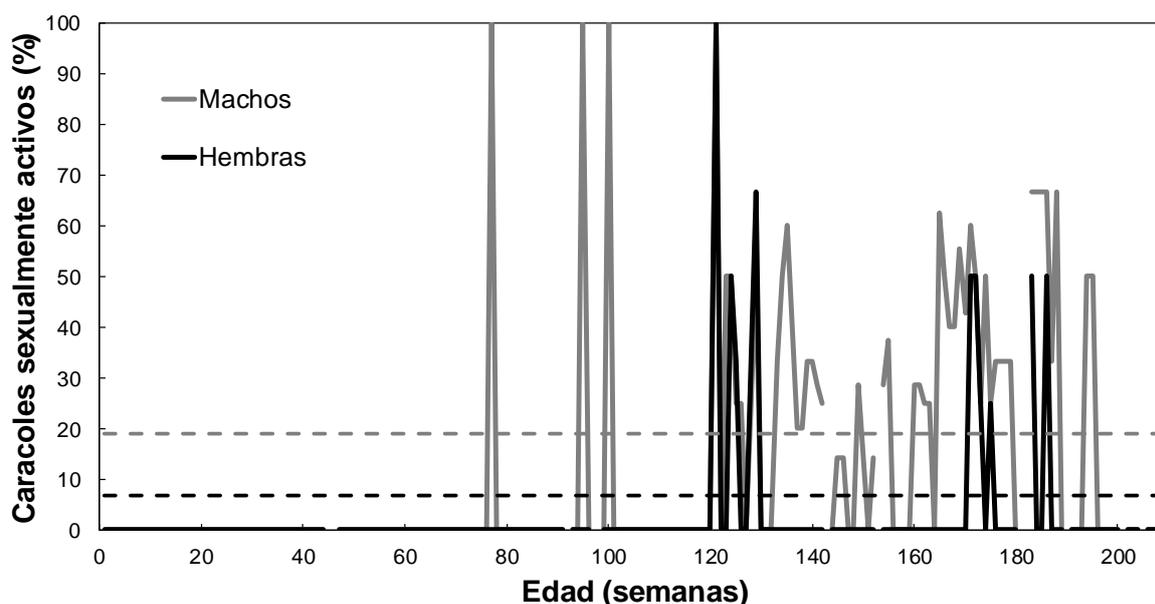


**Figura 3.19.** Diagramas de caja para la talla a la madurez sexual y a la muerte (A) y para la edad a la madurez sexual y a la muerte (B) de machos y hembras de *P. megastoma* criados en el laboratorio. La caja representa el rango intercuartil, la línea horizontal de cada caja indica la mediana, y las barras verticales los valores extremos para cada rasgo. Se omiten los valores atípicos y los extremos (aquellos que se encuentran por fuera de la caja hasta tres veces y a más de tres veces el rango intercuartil, respectivamente).

Para ambos sexos, los coeficientes de variación de la talla a la madurez y a la muerte (7,2 % y 11 % para las hembras, y 8,5 % y 9,6 % para los machos, respectivamente) fueron menores que los de la edad a la madurez y a la muerte (18,1 % y 29,1 % para las hembras, y 17,8 % y 21,8 % para los machos, respectivamente). Además, estos fueron mayores para

las hembras que para los machos, a excepción del coeficiente de variación de la talla a la madurez.

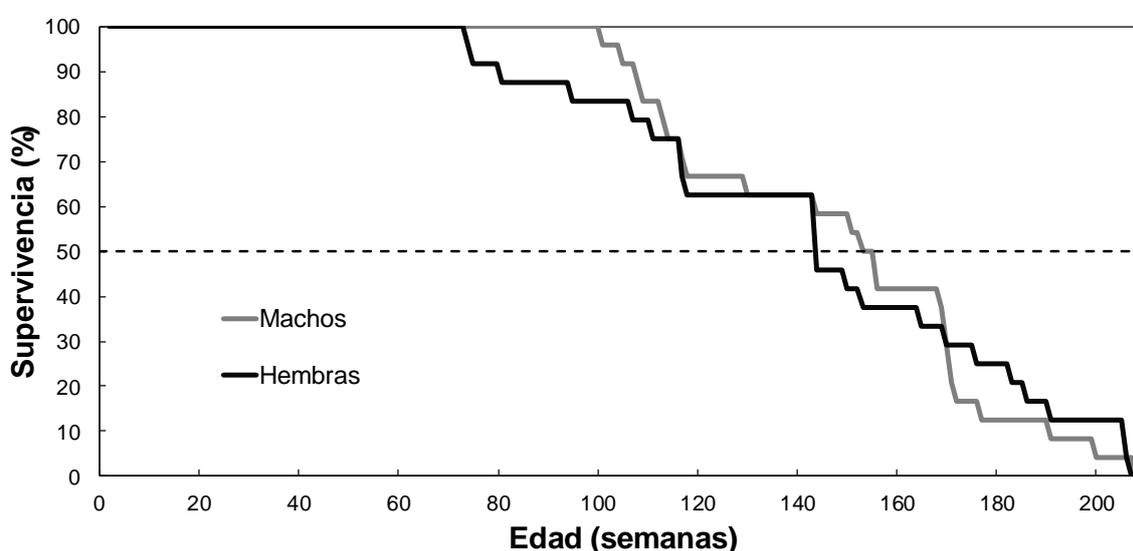
Los porcentajes de caracoles que sexualmente activos en una semana dada con respecto al número total de machos o hembras maduros, no revelaron un patrón claro durante el experimento (Figura 3.20). La actividad sexual fue bastante escasa durante todo el ciclo de vida: en una determinada semana solo el 6,75 % de las hembras maduras depositó al menos una masa de huevos y el 18,93 % de los machos intentó copular al menos una vez. Fue habitual que los individuos de ambos sexos, una vez maduros, no mostraran ningún tipo de actividad sexual durante varias semanas; solo cuatro de los 17 machos maduros copularon en semanas sucesivas. Ocasionalmente se observaron intentos de cópula entre machos.



**Figura 3.20.** Actividad sexual de machos (% machos que mostraron comportamientos copulatorios o precopulatorios) y de hembras (% hembras que ovipusieron) de *P. megastoma*. Las líneas horizontales indican la media para cada sexo. Durante las semanas 45, 46, 92, 97, 98, 143, 153, 181, 182, 190, 201 y 205 no se realizaron las sesiones de cópula.

En la semana 51 murieron los primeros dos individuos de la cohorte, que aún no se habían diferenciado sexualmente. Para el momento en que murió el primer macho, a las

100 semanas de vida, ya se había producido la muerte de cuatro hembras; sin embargo, de allí en adelante las curvas de supervivencia fueron similares y prácticamente lineales para ambos sexos (Figura 3.21). La mitad de las hembras sobrevivieron hasta la semana 144, mientras que la mitad de los machos lo hicieron hasta la semana 153. Las máximas longevidades observadas fueron de 206 semanas para las hembras y de 207 para los machos, mientras que las edades medias a la muerte fueron, respectivamente,  $143,33 \pm 41,72$  y  $147,92 \pm 32,26$  semanas, sin mostrar diferencias significativas entre los sexos ( $t_{46} = 1,426$ ;  $P = 0,672$ ; Figura 3.19 B).

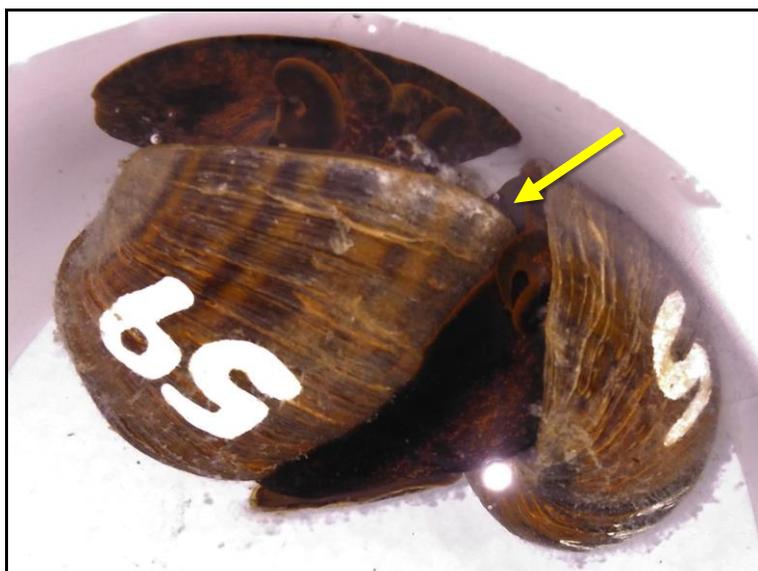


**Figura 3.21.** Curvas de supervivencia para machos y hembras de *P. megastoma*. La línea horizontal indica el 50 % de supervivencia.

### 3.3.2.3. Comportamientos de cópula y de oviposición

El comportamiento de machos y de hembras durante una cópula típica (Figura 3.22) fue igual al detallado para *P. americanista* (sección 3.3.1.3). La duración media de una cópula fue de  $33,19 \pm 14,82$  horas ( $n = 10$ ), con un máximo registrado de 52 h. En las grabaciones de video pudo observarse que, en algunos casos, los machos retiraron la vaina del pene de la cavidad de la conchilla de las hembras durante un corto período de tiempo y luego

volvieron a introducirla reanudando la cópula; en estos cinco casos en que la cópula ocurrió en dos etapas pudo registrarse una duración máxima de 66,3 h. La duración mínima de una cópula seguida de un evento de oviposición, en hembras que aún no habían depositado huevos, fue de 11,25 h.



**Figura 3.22.** Cópula entre dos ejemplares de *P. megastoma* durante las sesiones semanales realizadas en el laboratorio. El macho está identificado con el número 5 y la hembra con el número 59. La flecha señala la vaina del pene.

Una vez alcanzada la madurez sexual, los machos intentaron copular, en promedio, en el  $35,43 \pm 26,29$  % de las oportunidades que tuvieron, mientras que las hembras maduras copularon en el  $22,35 \pm 21,97$  %. Además, solo cuatro de las siete hembras a las que se les permitió copular repetidamente lo hicieron, mientras que las tres restantes no volvieron a copular pese a haber tenido numerosas oportunidades. El máximo número de cópulas seguidas de oviposición en las que participó una hembra fue de tres, mientras que 23 fue el máximo número de intentos de cópula observado en un macho. En promedio, los machos maduros intentaron copular  $6,12 \pm 5,65$  veces a lo largo de su vida, mientras que las hembras maduras a las que se les permitió copular libremente participaron en  $2,8 \pm 1,87$  cópulas.

Luego de una cópula, las hembras depositaron sus masas de huevos con intervalos de tres semanas como máximo, pero dos de las nueve hembras que desovaron más de una vez depositaron una nueva masa de huevos casi tres meses después de su último evento de oviposición. Prácticamente todas las masas de huevos se hallaron durante la revisión matutina de los acuarios, pero la ocasional observación de eventos de oviposición en el laboratorio reveló que el comportamiento es similar al observado en *P. americanista* (sección 3.3.1.3), aunque la frecuencia y velocidad con que los huevos individuales fueron depositados no fue registrado. Cuatro hembras que aún no habían participado de ninguna cópula depositaron masas de huevos pequeños, en los que se comprobó la ausencia de embrión.

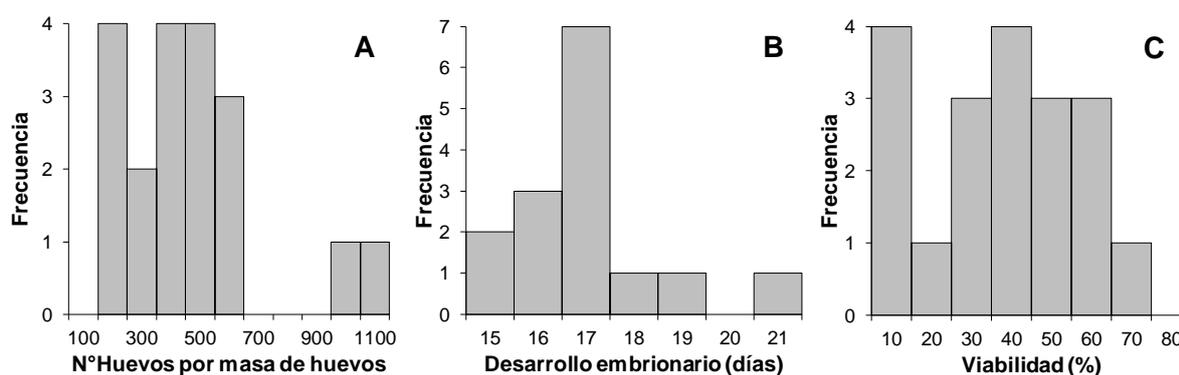
#### **3.3.2.4. Fecundidad, número de huevos por masa de huevos, duración del desarrollo embrionario y viabilidad**

Las hembras que copularon una única vez ( $n= 7$ ) depositaron, en promedio, un total de  $7,57 \pm 5,88$  masas de huevos, mientras que aquellas que participaron en más de una cópula ( $n= 4$ ) depositaron  $8,0 \pm 5,6$  masas de huevos. Si bien el número total de huevos y de neonatos producidos por hembras que copularon una sola vez ( $2107,14 \pm 1965,55$  huevos y  $788,14 \pm 1063,39$  neonatos) fue mayor que para aquellas que copularon en más de una oportunidad ( $1803 \pm 1165,77$  huevos y  $365,25 \pm 322,52$  neonatos), las diferencias entre ellas no fueron significativas ( $t_9= 0,279$ ;  $P= 0,787$  y  $t_9= 0,760$ ;  $P= 0,467$ , respectivamente), así como tampoco lo fue la del número de masas de huevos ( $t_9= 0,118$ ;  $P= 0,909$ ).

Las masas de huevos depositadas e incubadas en el laboratorio contuvieron, en promedio,  $420,68 \pm 241,74$  huevos ( $n= 19$ ; Figura 3.23 A), abarcando un rango muy amplio, de entre 163 y 1075 huevos. A  $26 \pm 1$  °C, el primer embrión de cada puesta tardó  $17,0 \pm 1,51$  días en desarrollarse y eclosionar, observándose un máximo de 21 días y un mínimo de 15 días ( $n= 15$ ; Figura 3.23 B). La eclosión de los neonatos de una misma masa de

huevos ocurrió sin mostrar un patrón definido, y frecuentemente de manera asincrónica, pudiendo demorar más de una semana la eclosión total. La viabilidad de las masas de huevos incubadas en el laboratorio fue baja y variable:  $32,74 \pm 20,01$  %, con extremos de 0 % y 68 % (Figura 3.23 C), aunque solo dos de las 19 masas de huevos fallaron por completo. Durante la disección de las masas de huevos frecuentemente se hallaron huevos con embriones parcialmente desarrollados, es decir, desprovistos de conchilla, aunque su número fue siempre bajo en relación al total de huevos de la masa.

Los neonatos de *P. megastoma* fueron capaces de alimentarse por sí mismos pocas horas después de la eclosión, y la mayoría de ellos ya contaban con una burbuja de aire en el pulmón, observable por transparencia a través de sus finas conchillas (ver Figura 5.6 C, Capítulo 5).



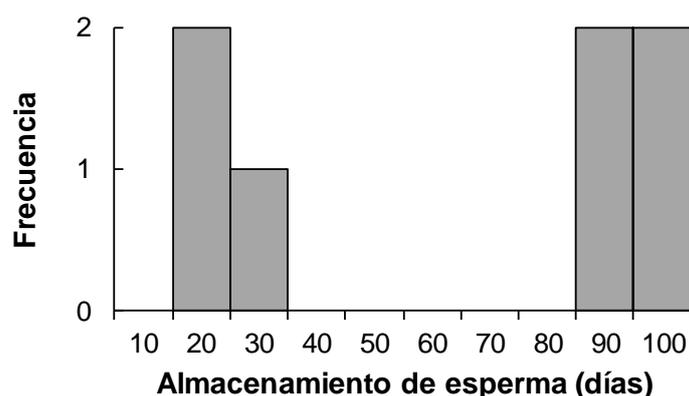
**Figura 3.23.** Histogramas de frecuencias absolutas de tres variables estudiadas en las masas de huevos de *P. megastoma* depositadas e incubadas en el laboratorio. **A.** Número de huevos por masa de huevos. **B.** Duración del desarrollo embrionario (días). **C.** Porcentaje de viabilidad de las masas de huevos.

La viabilidad no estuvo correlacionada con el número de huevos de la masa de huevos ( $r= 0,232$ ;  $P= 0,340$ ;  $n= 19$ ) ni con la duración del desarrollo embrionario ( $r= -0,329$ ;  $P= 0,231$ ;  $n= 15$ ), así como tampoco se encontró una correlación significativa entre esta última y el número de huevos de la masa de huevos ( $r= 0,025$ ;  $P= 0,930$ ;  $n= 15$ ). Por su parte, la

duración del desarrollo embrionario y el diámetro promedio de los huevos (Capítulo 5) tampoco estuvieron relacionadas de manera significativa ( $r = -0,597$ ;  $P = 0,068$ ;  $n = 10$ ).

### 3.3.2.5. Capacidad de almacenamiento de espermatozoides fértiles

Las hembras de *P. megastoma* demostraron tener la capacidad de almacenar espermatozoides fértiles durante un período de hasta 99 días luego de una única cópula. En promedio, las hembras ( $n = 7$ ) almacenaron espermatozoides fértiles durante  $60,29 \pm 37,62$  días (Figura 3.24). Luego de haber depositado la última masa viable de huevos, las hembras vivieron  $77,71 \pm 63,46$  días, abarcando un amplio rango, de entre 9 y 188 días.

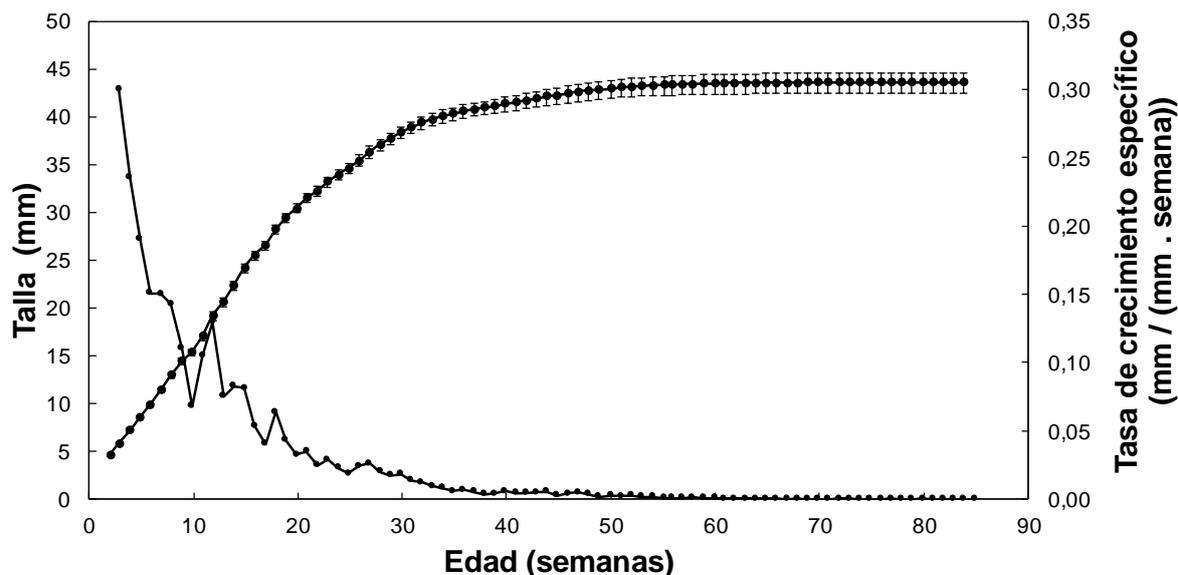


**Figura 3.24.** Histograma de frecuencias absolutas mostrando el tiempo máximo (días) durante el cual las hembras de *P. megastoma* almacenaron espermatozoides fértiles en el laboratorio.

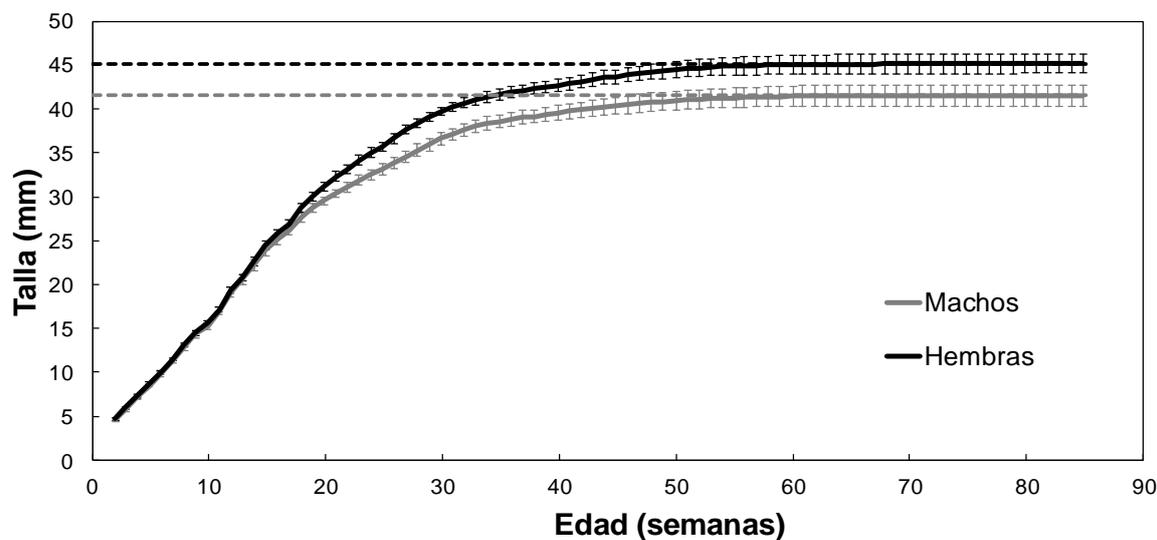
### 3.3.3. *Pomacea* sp1

#### 3.3.3.1. Crecimiento

Los 50 individuos de *Pomacea* sp1 crecieron en forma prácticamente lineal durante las primeras 18 semanas de vida (Figura 3.25); a partir de entonces la tasa de crecimiento específico disminuyó suavemente, volviéndose casi imperceptible alrededor de las 50 semanas de vida.



**Figura 3.25.** Crecimiento de la conchilla y tasa de crecimiento específico para *Pomacea* sp1, sin distinción entre machos y hembras. Las barras de error de la curva de crecimiento señalan intervalos de confianza al 95 % (media  $\pm$  IC 95 %).



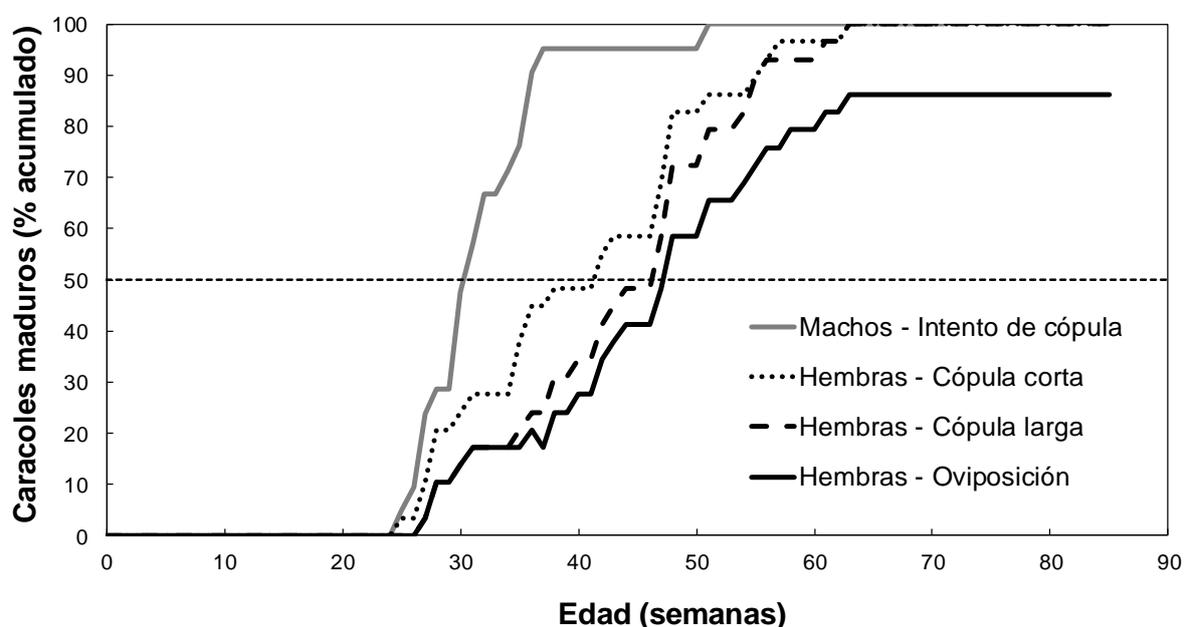
**Figura 3.26.** Crecimiento de los caracoles machos y hembras de *Pomacea* sp1. Las líneas punteadas horizontales indican las tallas máximas promedio para cada sexo. Las barras de la curva de crecimiento señalan los intervalos de confianza al 95 %.

Los patrones de crecimiento fueron similares para ambos sexos desde el nacimiento, pero a partir de las 18 semanas de vida las curvas de crecimiento mostraron dimorfismo sexual en la talla de las conchillas (Figura 3.26), creciendo las hembras a una tasa algo

mayor que los machos y alcanzando mayores tallas. La máxima diferencia se observó en las últimas dos semanas de vida, cuando la media de las tallas alcanzadas por las hembras fue de 45,17 mm y la de los machos de 41,51 mm. Los test  $t$  realizados revelaron que a las 17 semanas de vida la talla promedio de la conchilla no difirió significativamente entre los sexos, pero sí lo hizo en la semana 18 ( $t_{48} = 1,982$ ;  $P = 0,053$  y  $t_{48} = 2,805$ ;  $P = 0,007$ , respectivamente). Las hembras y los machos alcanzaron el 95 % de sus tallas máximas promedio a las 50 y a las 40 semanas, respectivamente.

### 3.3.3.2. Madurez, actividad sexual y supervivencia

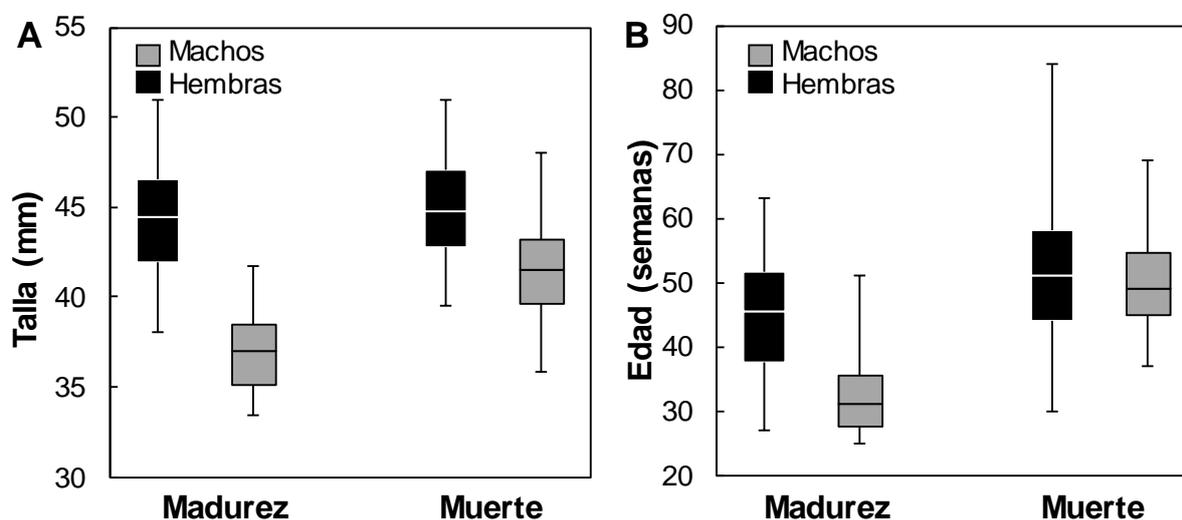
Los individuos de *Pomacea* sp1 mostraron dimorfismo sexual en los patrones de maduración sexual (Figura 3.27). La primera cópula ocurrió en la semana 25, pero tuvo una duración menor a dos horas; dos semanas después se comenzaron a observar cópulas largas y las primeras masas de huevos, generalmente depositadas dentro de los cuatro días posteriores a la cópula.



**Figura 3.27.** Porcentaje acumulado de individuos maduros de *Pomacea* sp1: machos que mostraron intentos de cópula, hembras que participaron de cópulas cortas y largas, y hembras que ovipusieron. La línea horizontal señala el 50 % acumulado de individuos maduros.

El porcentaje de machos maduros aumentó muy rápidamente con el correr de las semanas, alcanzando el 50 % en la semana 31 y el 100 % en la semana 51, mientras que el de las hembras aumentó un poco más lento, pero también de forma constante: la mitad de las hembras estaban sexualmente maduras a las 48 semanas de vida, y el porcentaje de hembras que maduraron antes de morir fue de 86 %, alcanzado a las 63 semanas de vida. Dado que 29 individuos de la cohorte fueron confirmados como hembras y 21 como machos, la proporción sexual terciaria fue de 1,38 hembras por cada macho, sin mostrar una desviación significativa del valor 1:1 ( $\chi^2 = 1,28$ ;  $P = 0,258$ ;  $N = 50$ ).

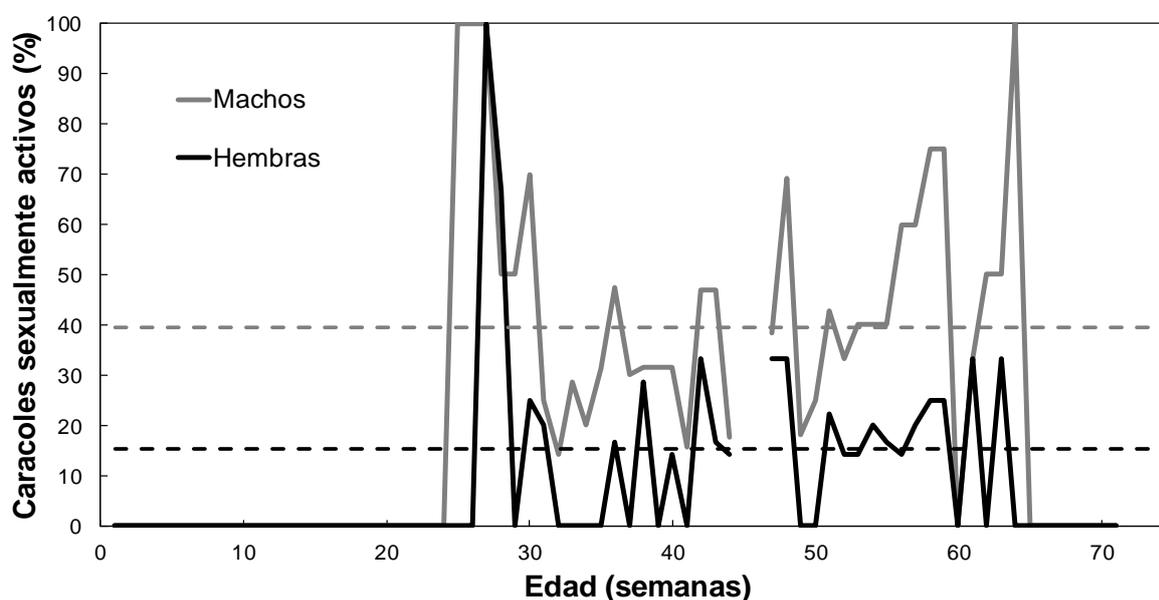
Tanto la edad como la talla a la cual maduraron los individuos de *Pomacea* sp1 fueron significativamente mayores para las hembras que para los machos ( $t_{40,003} = 5,218$ ;  $P < 0,001$  y  $t_{45} = 7,613$ ;  $P < 0,001$ ; Figura 3.28 A y B). En promedio, las hembras depositaron sus primeras masas de huevos a las  $44,38 \pm 10,39$  semanas y a una talla de  $44,32 \pm 3,64$  mm, mientras que los machos realizaron sus primeros intentos de cópula a las  $31,95 \pm 5,66$  semanas de vida, con una talla de  $37,28 \pm 2,41$  mm.



**Figura 3.28.** Diagramas de caja para la talla a la madurez sexual y a la muerte (A) y para la edad a la madurez sexual y a la muerte (B) de machos y hembras de *Pomacea* sp1 criados en el laboratorio. La caja representa el rango intercuartil, la línea horizontal de cada caja indica la mediana, y las barras verticales los valores extremos para cada rasgo. Se omiten los valores atípicos y los extremos (aquellos que se encuentran por fuera de la caja hasta tres veces y a más de tres veces el rango intercuartil, respectivamente).

Las tallas máximas alcanzadas por cada sexo fueron significativamente diferentes ( $t_{48}=4,366$ ;  $P < 0,0001$ ; Figura 3.28 A), siendo  $45,18 \pm 3,07$  mm para las hembras y  $41,51 \pm 2,72$  mm para los machos. Para ambos sexos, los coeficientes de variación de la edad a la madurez y a la muerte (23,4 % y 22,0 % para las hembras, y 17,7 % y 15,8 % para los machos, respectivamente) fueron mayores que los de talla a la madurez y a la muerte (8,2 % y 6,8 % para las hembras, y 6,5 % y 6,6 % para los machos, respectivamente). Además, los coeficientes de variación de todos estos rasgos fueron mayores para las hembras que para los machos.

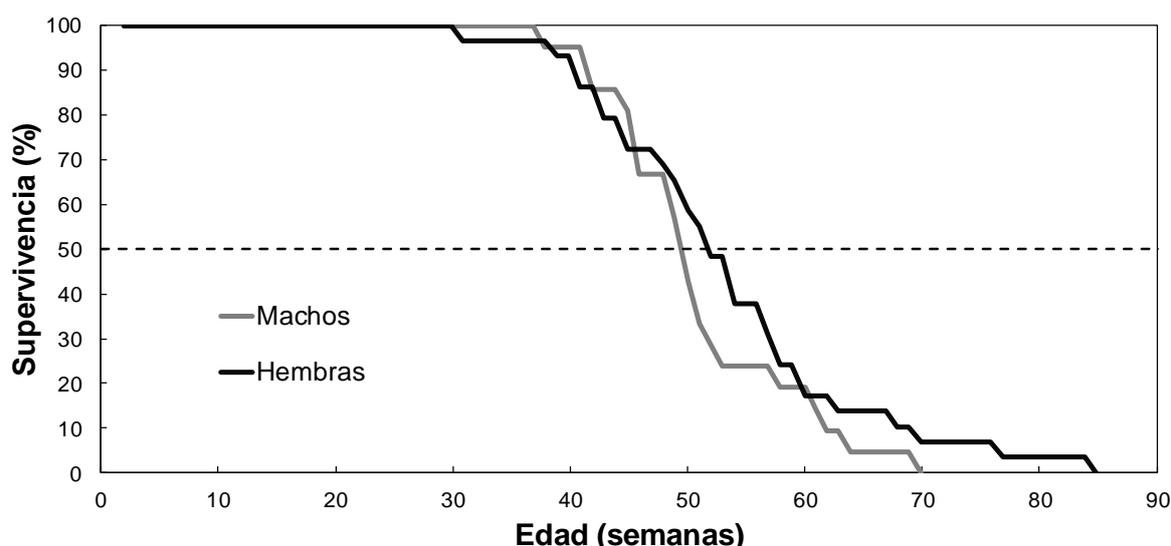
Durante el experimento no se observó un patrón claro en el porcentaje de caracoles que mostraron actividad sexual (Figura 3.29). En promedio, el 15,25 % de las hembras depositaron al menos una masa de huevos en una semana determinada, mientras que el 39,53 % de los machos intentó copular al menos una vez.



**Figura 3.29.** Actividad sexual de machos (% machos que mostraron comportamientos copulatorios o precopulatorios) y de hembras (% hembras que ovipusieron) de *Pomacea* sp1. Las líneas horizontales indican la media para cada sexo. Durante las semanas 45 y 46 no se realizaron las sesiones de cópula.

Si bien hubo un alto porcentaje de individuos maduros y la actividad sexual de la cohorte en conjunto fue constante durante toda la etapa reproductiva, la actividad sexual individual fue escasa, siendo infrecuente que un caracol mostrara comportamientos copulatorios en semanas sucesivas, especialmente las hembras. Ocasionalmente se observaron intentos de cópula entre machos.

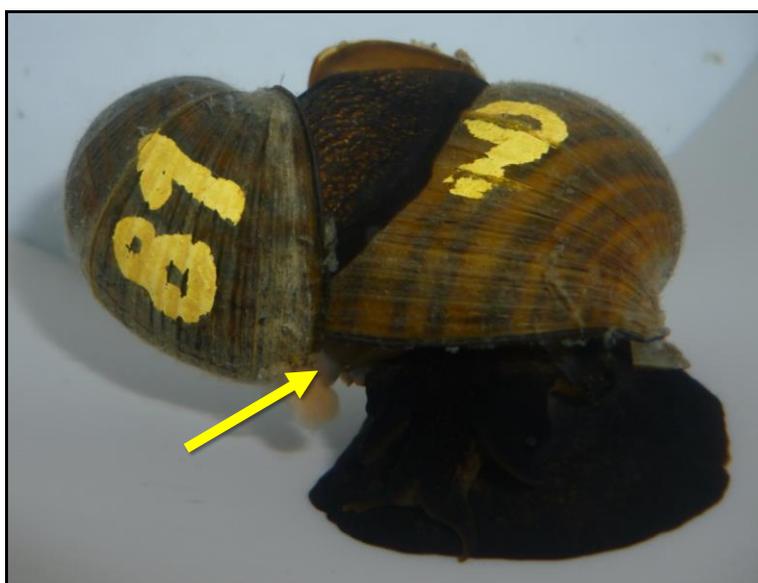
El primer individuo que murió en la cohorte fue una hembra, en la semana 29, y el primer macho lo hizo en la semana 39; a partir de ese momento la disminución en el número de sobrevivientes fue bastante abrupta, similar para ambos sexos y prácticamente lineal (Figura 3.30). La máxima divergencia entre las curvas de supervivencia se observó en la semana 53, cuando el 48,28 % de las hembras y solo el 23,81 % de los machos estaban vivos. La mitad de las hembras y de los machos sobrevivieron hasta la semana 52 y 50, respectivamente, mientras que las máximas longevidades observadas fueron, respectivamente, de 84 y 69 semanas. Sin embargo, en promedio, las hembras vivieron  $52,62 \pm 11,57$  semanas y los machos  $50,19 \pm 7,93$  semanas, no encontrándose diferencias significativas entre los sexos en la edad a la muerte ( $t_{48} = 0,831$ ;  $P = 0,410$ ; Figura 3.28 B).



**Figura 3.30.** Curvas de supervivencia para machos y hembras de *Pomacea* sp1. La línea horizontal indica el 50 % de supervivencia.

### 3.3.3.3. Comportamientos de cópula y de oviposición

El comportamiento de machos y de hembras de *Pomacea* sp1 durante una cópula típica (Figura 3.31) fue igual al detallado para *P. americanista* (sección 3.3.1.3). Si bien la duración de las cópulas no pudo ser registrada con exactitud y se calculó a partir de un bajo número de observaciones (n=4), se obtuvo una media 23,57 horas.



**Figura 3.31.** Cópula entre dos ejemplares de *Pomacea* sp1 durante las sesiones semanales realizadas en el laboratorio. El macho está identificado con el número 81 y la hembra con el número 9. La flecha señala la vaina del pene.

Las hembras copularon, en promedio, en el  $59,22 \pm 35,91$  % de las oportunidades que tuvieron luego de alcanzar la madurez, mientras que los machos maduros intentaron copular en el  $38,66 \pm 14,39$  % de sus oportunidades. Once de las 13 hembras a las que se les dio la oportunidad de copular de manera repetida, copularon una única vez, mientras que solo dos de ellas participaron de más de una cópula. En las hembras, el número máximo de cópulas seguidas de oviposición fue de solo tres, mientras que el mayor número de intentos de cópula observado entre los machos fue 13. En promedio, los machos maduros intentaron copular  $6,57 \pm 3,07$  veces a lo largo de su vida, mientras que las

hembras maduras a las que se les permitió copular libremente participaron en  $1,69 \pm 0,87$  cópulas.

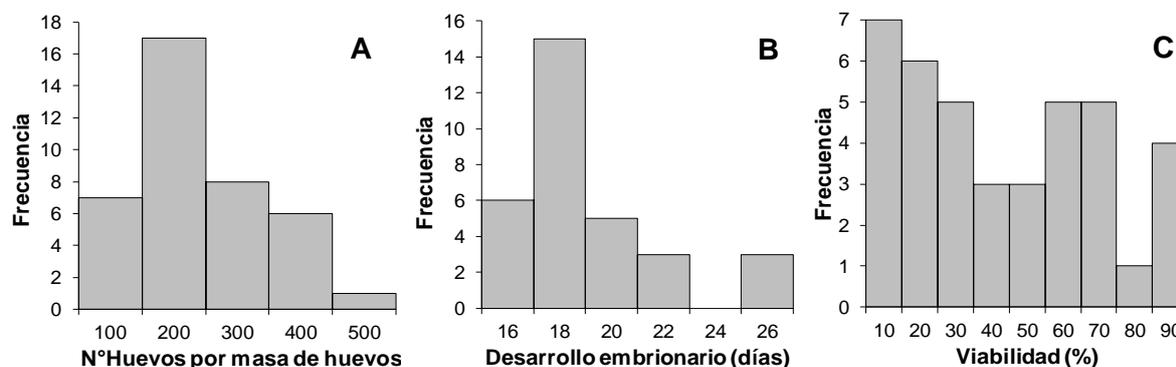
Las hembras depositaron sus masas de huevos con intervalos generalmente menores a dos semanas. La ocasional observación de eventos de oviposición en el laboratorio reveló que el comportamiento es similar al comentado para *P. americanista* (sección 3.3.1.3) y *P. megastoma*, pero al igual que en esta última, no se registró la frecuencia y la velocidad con que los huevos individuales fueron depositados.

### **3.3.3.4. Fecundidad, número de huevos por masa de huevos, duración del desarrollo embrionario y viabilidad**

Tanto el número total de masas de huevos, como el de huevos y el de neonatos totales, fueron mayores en las dos hembras que copularon más de una vez ( $14,5 \pm 13,44$  masas de huevos,  $1633,00 \pm 1353,40$  huevos y  $312,50 \pm 99,7$  neonatos) que en las 24 hembras que copularon una única vez ( $3,83 \pm 3,00$  masas de huevos,  $538,13 \pm 385,55$  huevos y  $170,79 \pm 162,42$  neonatos). Dado el bajo número de hembras que copularon en más de una oportunidad con respecto a aquellas que lo hicieron una única vez, no se hallaron diferencias significativas que permitieran afirmar si el número de cópulas influye o no en la fecundidad de las hembras ( $t_{1,008} = 1,120$ ;  $P = 0,463$ ,  $t_{1,014} = 1,140$ ;  $P = 0,456$  y  $t_{24} = 1,201$ ;  $P = 0,241$ , respectivamente).

El número de huevos que contenían las masas de huevos depositadas en el laboratorio fue muy variable, de 62 a 427 huevos, y en promedio contuvieron  $197,74 \pm 95,44$  huevos ( $n = 39$ ; Figura 3.32 A). La duración del desarrollo embrionario a  $26 \pm 1$  °C fue de  $18,59 \pm 2,76$  días, contabilizados hasta la eclosión de los primeros 10 huevos, aunque en algunas masas de huevos demoró hasta 26 días ( $n = 32$ ; Figura 3.32 B). La eclosión de los neonatos de una misma masa de huevos no mostró un patrón definido, y la mayoría de los neonatos nacieron dentro de un período de tres días. Los neonatos de *Pomacea* sp1 fueron capaces

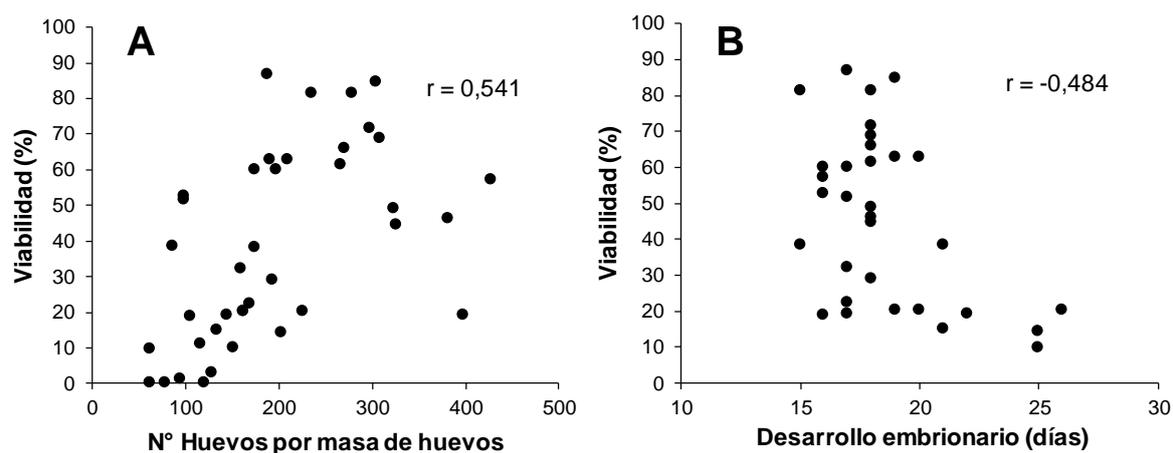
de alimentarse por sí mismos pocas horas después de la eclosión y de tomar contacto con el agua; en la mayoría de ellos ya se podía observar una burbuja de aire en el pulmón, a través de sus finas conchillas (ver Figura 5.6 A, Capítulo 5).



**Figura 3.32.** Histogramas de frecuencias absolutas de tres variables de las masas de huevos de *Pomacea* sp1 depositadas e incubadas en el laboratorio. **A.** Número de huevos por masa de huevos. **B.** Duración del desarrollo embrionario (días). **C.** Porcentaje de viabilidad de las masas de huevos.

La viabilidad de las masas de huevos incubadas en el laboratorio fue muy variable, siendo el promedio del  $38,21 \pm 26,93$  %; sólo tres de las 39 masas de huevos tuvieron un porcentaje de eclosión nulo, y la máxima viabilidad observada fue de 86,7 % (Figura 3.32 C). El número de huevos con embriones desprovistos de conchilla, es decir, parcialmente desarrollados, fue muy bajo, y solo en una de las 39 masas de huevos alcanzó el 10 % de los huevos totales.

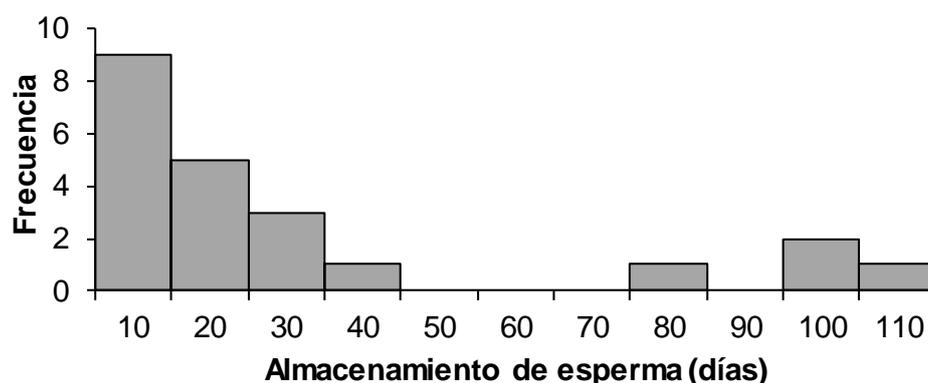
La viabilidad estuvo correlacionada positivamente con el número de huevos de la masa de huevos ( $r= 0,541$ ;  $P< 0,001$ ;  $n= 39$ ) y negativamente con la duración del desarrollo embrionario ( $r= -0,484$ ;  $P= 0,005$ ;  $n= 32$ ) (Figura 3.33 A y B). Por su parte, la duración del desarrollo embrionario y el número de huevos de la masa de huevos no estuvieron relacionados de manera significativa ( $r= -0,181$ ;  $P= 0,321$ ;  $n= 32$ ).



**Figura 3.33.** Diagramas de dispersión de *Pomacea* sp1 mostrando la correlación positiva entre el porcentaje de viabilidad y el número de huevos por masa de huevos (A), y la correlación negativa entre este porcentaje de viabilidad y la duración del desarrollo embrionario (B).

### 3.3.3.5. Capacidad de almacenamiento de espermia fértil

Luego de una única cópula, las hembras de *Pomacea* sp1 depositaron masas de huevos viables durante períodos de hasta 104 días; en promedio, las hembras ( $n= 22$ ) almacenaron espermia fértil durante  $27,45 \pm 33,07$  días (Figura 3.34). El tiempo que estas hembras vivieron luego de haber depositado su última masa de huevos viable tuvo un rango muy amplio (2 - 280 días), y una media de  $28,05 \pm 66,73$  días.



**Figura 3.34.** Histograma de frecuencias absolutas mostrando el tiempo (días) durante el cual las hembras de *Pomacea* sp1 almacenaron espermia fértil en el laboratorio.

### 3.4. Discusión

Los neonatos de *Pomacea americanista*, *Pomacea megastoma* y *Pomacea* sp1 nacidos en el laboratorio a partir de masas de huevos colectadas en el campo, mostraron una buena adaptación a las condiciones de cría, ya que la mortalidad fue nula en los acuarios individuales y pronto comenzaron a crecer. Estos neonatos demostraron ser precociales, es decir, independientes desde su nacimiento, tanto para alimentarse de fuentes externas como para respirar aire. Esto se asemeja a lo observado en neonatos de *P. canaliculata*, que llenan sus pulmones de aire dentro de las tres horas siguientes a la eclosión (Seuffert & Martín, 2009), y comienzan a comer lechuga fresca a los dos o tres días de vida (Tiecher *et al.*, 2014), e incluso son capaces de alimentarse de ésta cuando se los extrae prematuramente del huevo (Koch *et al.*, 2009). Probablemente, al igual que ocurre en *P. canaliculata* (Koch *et al.* 2009), las tres especies en estudio también utilizarían durante los primeros días de vida los restos del fluido perivitelino almacenado intracelularmente en la glándula del intestino medio. Los neonatos de *Asolene platae*, por el contrario, permanecen alimentándose sobre las masas de huevos subacuáticas durante las dos primeras semanas y recién en su tercera semana de vida comienzan a comer lechuga, mientras que la burbuja de aire en el pulmón se observa de ocho a diez semanas después de la eclosión (Tiecher *et al.*, 2014).

Este experimento permitió demostrar que, cuando son criados de forma individual bajo condiciones controladas, los individuos de *P. americanista* son capaces de vivir 143 semanas, sin mortalidad hasta la semana 38 y con todos los machos y el 89,3 % de las hembras sexualmente maduros, mientras que los de *P. megastoma* pueden vivir hasta 207 semanas, sin mortalidad durante las primeras 51 semanas y alcanzando la madurez sexual el 70,8 % de los machos y el 45,8 % de las hembras. Por su parte, *Pomacea* sp1 fue capaz de sobrevivir hasta 84 semanas, sin mortalidad durante las primeras 29 semanas, y

alcanzando un alto porcentaje de madurez sexual (100 % de los machos y casi 90 % de las hembras).

La longevidad máxima de *Pomacea* sp1 se encuentra dentro del amplio rango reportado para cuatro cohortes de *Pomacea canaliculata* a 25 °C (45 a 107 semanas, Martín & Estebenet, 2002; Seuffert & Martín, 2017), mientras que *P. americanista* muestra una longevidad mayor a la máxima observada en *P. canaliculata*, y menor a la mínima reportada para *Asolene platae* (184 a más de 200 semanas, Tiecher *et al.*, 2016) y *P. megastoma*. El patrón de mortalidad que exhiben las tres especies, donde la tasa de supervivencia es muy alta durante las primeras semanas de vida, fue similar al encontrado en varios estudios de *P. canaliculata* (Martín & Estebenet, 2002; Seuffert & Martín, 2017) y *Marisa cornuarietis* (Arsuffi *et al.*, 1993) y casi inverso al patrón de *A. platae*, que exhibe la mortalidad más alta en las primeras ocho semanas de vida (Tiecher *et al.*, 2016).

Al igual que ocurre en la mayoría de los ampuláridos (Estebenet *et al.*, 2006; Hayes *et al.*, 2015), el crecimiento de *P. americanista*, *Pomacea* sp1 y *P. megastoma* es sexualmente dimórfico, sin embargo, las tres especies exhibieron diferentes grados de dimorfismo sexual. En *P. megastoma* fue poco acentuado, siendo las hembras solo un 4,94 % más grandes que los machos, en promedio, mientras que en las especies estudiadas previamente se reportaron grados de dimorfismo de 8 % (*A. platae*, Tiecher *et al.*, 2016) y de 6,2 a 9,5 % (*P. canaliculata*, Estebenet & Cazzaniga, 1998; Estebenet & Martín, 2003); estos valores son similares a los obtenidos para *Pomacea* sp1, donde las hembras son un 8,84 % más grandes que los machos. El dimorfismo sexual que mostró *P. americanista* en el crecimiento de sus conchillas fue mucho más marcado: las hembras son, en promedio, 24 % más grandes que los machos, un valor que solo había sido observado en una población de *P. canaliculata* (23 %; Estebenet & Martín, 2003), cuyo dimorfismo sexual en la talla es muy variable.

La edad a la cual el dimorfismo en la talla se vuelve significativo fue similar en *P. americanista* (12 semanas) y *P. canaliculata* (10,7 a 17,6 semanas; Estebenet & Martín,

2003), mostrando ambas especies este dimorfismo sexual durante aproximadamente el 90 % de sus vidas. En *Pomacea* sp1 ocurrió un poco más tarde, a las 18 semanas de vida, y representó solo un 65 % de la vida de los caracoles. La diferencia de tallas entre los sexos de *P. megastoma* fue significativa durante aproximadamente el 80 % de su vida (semanas 40 a 156), pero no se vio reflejada en la talla final de los caracoles (hembras 67,9 mm y machos 64,7 mm, en promedio). Este dimorfismo se observó de manera tardía en comparación con *P. americanista*, *P. canaliculata* y *Pomacea* sp1, pero al igual que las dos primeras, abarcó gran parte de sus vidas. Un caso extremo lo representa *A. platae*, donde se reportó un dimorfismo sexual de talla aún más tardío (a las 134 semanas y solo en una de las tres cohortes estudiadas; Tiecher *et al.*, 2017), que representó menos de la mitad de su vida.

Los patrones de crecimiento de *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 demostraron ser similares a los de otros ampuláridos estudiados bajo condiciones comparables y controladas de laboratorio. La tasa de crecimiento específica en términos del modelo de von Bertalanffy de *P. megastoma* es baja (Capítulo 4), acorde a las grandes tallas que alcanzan sus individuos (hasta 79,4 mm), mientras que la de *P. americanista* es relativamente alta para un caracol de gran talla (hasta 62,72 mm): a los 65 días de vida *P. megastoma* mide 16,06 mm, *P. americanista* promedia los 16,87 mm y la invasora *P. canaliculata*, a pesar de haber sido criada a densidades mayores, muestra una alta tasa de crecimiento, alcanzando los 23,63 mm a esa misma edad (Martín & Estebenet, 2002). Por su parte, a esa edad *Pomacea* sp1 solo mide 14,94 mm, pero esta talla representa una mayor proporción de su talla final con respecto a las otras especies y, por lo tanto, una tasa de crecimiento también alta.

Considerando los datos de los ampuláridos estudiados con anterioridad bajo condiciones similares, la edad promedio a la que maduran las hembras de *Pomacea* sp1 (44,4 semanas) se considera intermedia entre dos grupos: no ocurre de manera tan tardía como se observó en *P. americanista* (63,1 semanas), en *A. platae* (85 semanas; Tiecher *et*

al., 2016) y en *P. megastoma* (143,6 semanas), ni tan temprana como en la invasora *P. canaliculata* (15,6 semanas; Tamburi & Martín, 2009), en *M. cornuarietis* (18-21 semanas; Aufderheide et al., 2006) y en *Pomacea bridgesii* (probablemente *P. diffusa*; 27 semanas; Coelho et al., 2012), aunque estas últimas fueron criadas en condiciones de hacinamiento. Una madurez tardía determina, en parte, el tiempo generacional de una población y, por lo tanto, su tasa de crecimiento potencial (Tiecher et al., 2017).

La edad a la madurez, obtenida independientemente para machos y hembras, solo se conocía para dos especies de ampuláridos, *P. canaliculata* y *A. platae*, cuyas hembras maduran 30 % y 54 %, respectivamente, más tarde que los machos (Tamburi & Martín, 2009; Tiecher et al., 2016). Las hembras de *Pomacea* sp1 maduran un 39 % más tarde que los machos, mientras que las de *P. americanista* maduran un 97 % después, mostrando esta última especie un dimorfismo sexual muy marcado en este rasgo. Dichos datos sugieren que el dimorfismo sexual en la edad a la madurez es común entre los ampuláridos; sin embargo, en *P. megastoma* no se encontró una diferencia significativa, madurando las hembras sólo un 5 % más tarde que los machos. Es probable que el dimorfismo sexual en la edad a la madurez de las especies en estudio sea aún mayor en condiciones naturales que las observadas en el laboratorio. Tal como fue planteado para poblaciones de *P. canaliculata* bajo un régimen de clima estacional y baja disponibilidad de alimento (Tamburi & Martín, 2009), los machos y las hembras podrían madurar en estaciones reproductivas distintas, cruzándose las hembras con los machos que maduraron en la estación previa o incluso anteriores.

Con respecto a la talla a la madurez, las tres especies en estudio mostraron una diferencia significativa entre los sexos, siendo siempre mayor la talla de las hembras que la de los machos (44,3 mm vs. 37,3 mm en *Pomacea* sp1, 61,2 mm vs. 41,7 mm en *P. americanista* y 70,4 mm vs. 64,3 mm en *P. megastoma*). El dimorfismo sexual en rasgos secundarios, como la talla y la edad a la cual maduran, puede reflejar divergencia en los

roles reproductivos o en los nichos ecológicos de ambos sexos, lo que tiene importantes consecuencias en su desempeño ecológico (Fairbairn *et al.*, 2007).

Durante la fase precopulatoria de las tres especies en estudio, cuando un macho montó la conchilla de una hembra, se observaron con frecuencia movimientos de sacudida hacia uno y otro lado por parte de la hembra involucrada, que dificultaba el correcto posicionamiento del macho para copular. Este comportamiento de balanceo o “swinging” fue observado en *P. canaliculata* (Burela & Martín, 2009) y conduce en general al rechazo de la pareja.

Los comportamientos de cópula de *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 siguen el mismo patrón que otras especies del género, siendo sus cópulas subacuáticas y de larga duración (Burela & Martín, 2011; Tiecher *et al.*, 2014). Además, tanto los machos como las hembras suelen ser promiscuos, copulando reiteradamente en condiciones de laboratorio (Estebenet & Martín, 2002; Burela & Martín, 2007, 2009, 2011), lo que también pudo ser observado en *P. americanista*. Sin embargo, tanto en *Pomacea* sp1 como en *P. megastoma*, ninguna de las hembras copuló más de tres veces e incluso muchas solo lo hicieron una vez, a pesar de la disponibilidad de consortes y de las numerosas oportunidades que tuvieron para copular. Estas dos especies, a su vez, fueron las que registraron cópulas de mayor duración, lo que permite inferir que las especies cuyas hembras participan de un bajo número de cópulas lo hacen durante un tiempo más prolongado que aquellas especies que participan de cópulas múltiples.

Si bien en *P. megastoma* el tiempo mínimo necesario para una transferencia de esperma y una oviposición exitosas fue de 11,25 horas, la duración promedio de una cópula fue de 31,7 horas. Este valor es el más alto reportado para un ampulárido, superando la duración observada en *Pomacea* sp1 (23,6 horas), *P. americanista* (16,1 horas) y *P. canaliculata* (12,8 horas; Burela & Martín, 2011), y distanciándose por mucho de los géneros que depositan masas de huevos gelatinosas bajo el agua, como *Felipponea*,

*Marisa* y *Asolene*, cuyas cópulas duran menos de seis horas (Burela & Martín 2011; Tiecher *et al.*, 2014).

En el laboratorio, las masas de huevos de *P. americanista*, a diferencia de *P. megastoma* y *Pomacea* sp1, debieron ser humedecidas periódicamente para que los huevos eclosionen normalmente, por lo que se cree que en condiciones de campo es necesario cierto grado de humedad dada por la lluvia, el rocío o las salpicaduras de las cascadas que habitan (Capítulo 2). Sin embargo, otras especies de *Pomacea*, como *P. paludosa* y *P. canaliculata*, ven afectada negativamente la viabilidad de sus masas de huevos cuando éstas son humedecidas, probablemente debido a la alteración de la cáscara del huevo (Turner, 1998; Pizani *et al.*, 2005) o al crecimiento fúngico, como ocurrió en nuestro laboratorio con *P. megastoma*. La región que habita *P. americanista* es muy lluviosa en comparación con las de estas especies, superando los 150 mm por mes durante el verano, lo que explicaría su tolerancia o necesidad de humedecimiento.

La fecundidad de las hembras de *P. megastoma* en cuanto al número de masas de huevos depositado por hembra (media general 7,8) fue muy baja con respecto a otros ampuláridos criados bajo similares condiciones, siendo incluso inferior que en *Pomacea* sp1 (9,2 masas de huevos) y *P. americanista* (11,2 masas de huevos), y estando muy por debajo de los valores reportados para *A. platae* (20,6 masas de huevos; Tiecher *et al.*, 2016) y para *P. canaliculata* (23,2 masas de huevos; Martín & Estebenet, 2002). Con respecto al número total de huevos por hembra, *Pomacea* sp1 exhibe la menor fecundidad estudiada hasta el momento, ya que depositó 1085,6 huevos, mientras que *P. americanista* produjo 1359,2 huevos y *P. megastoma* 1955,1. Estos valores son cercanos a los reportados para *A. platae* (1430 huevos por hembra; Tiecher *et al.*, 2016), pero mucho menores que los de la invasora *P. canaliculata* (4534 huevos por hembra; Martín & Estebenet, 2002). Sin embargo, como los huevos de *A. platae* son gelatinosos y más pequeños que los de las tres especies en estudio (Capítulo 5), el esfuerzo reproductivo de

éstas probablemente sea mayor, aunque menor que en *P. canaliculata*, cuyos huevos son similares en tamaño y estructura (Estebenet & Cazzaniga, 1993).

Las hembras de *P. americanista* son capaces de almacenar esperma fértil por hasta 60 días, período similar al de la especie no invasora *A. platae* (hasta 82 días; Tiecher *et al.*, 2014). *Pomacea* sp1 almacena esperma fértil por hasta 104 días y *P. megastoma* hasta 99 días, estos valores son algo mayores que los de *P. americanista* y *A. platae*, pero inferiores que el de la invasora *P. canaliculata* (hasta 140 días; Estebenet & Martín, 2002). En esta última especie, dicha capacidad permitió que las hembras produjeran un promedio de 1488,5 neonatos después de una única cópula (Burela & Martín, 2011) mientras que las hembras de *P. megastoma* produjeron 788,1 neonatos, las de *P. americanista* 377,4 neonatos y las de *Pomacea* sp1 solo 170,8 neonatos. En *P. canaliculata*, la capacidad de almacenar esperma fértil ha sido considerada un rasgo responsable de su capacidad invasora, ya que le permite superar los efectos Allee reproductivos que provocan el fracaso de muchos posibles invasores (Jerde *et al.*, 2009).

El efecto del número de cópulas sobre la fecundidad solo mostró ser significativo en el número de masas de huevos que depositaron las hembras de *P. americanista*, siendo el de las que copularon una única vez un 32,5 % del de aquellas que lo hicieron más de una vez. Sin embargo, ninguna de las tres especies mostró diferencias significativas entre los tratamientos en el número total de huevos ni de neonatos, y exhibieron siempre una gran variabilidad. Tanto en *P. americanista* como en *Pomacea* sp1, las hembras que copularon más de una vez dejaron un mayor número de huevos y de neonatos que aquellas que copularon una sola vez, mientras que en *P. megastoma* ocurrió lo contrario. Si bien en *Pomacea* sp1 la madurez sexual fue alcanzada por una gran cantidad de hembras, a diferencia de lo que ocurrió en *P. megastoma*, el bajo número de ellas que copuló más de una vez (2 de 26) no permite descartar que exista influencia del número de cópulas sobre la fecundidad.

Los datos obtenidos en *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 coinciden con lo sugerido previamente para *P. canaliculata* (Estebenet & Pizani, 1999; Burela & Martín, 2009), donde una hembra es capaz de fertilizar todos sus ovocitos hasta el final de su ciclo reproductivo con el esperma recibido en una única cópula. A pesar de esto, tanto *P. americanista* como *P. canaliculata*, muestran un comportamiento de cópulas múltiples en condiciones de laboratorio (Estebenet & Martín, 2002), mientras que en *P. megastoma* y *Pomacea* sp1, por el contrario, es más frecuente que las hembras copulen una única vez.

La viabilidad de las masas de huevos de *P. americanista* mostró una distribución fuertemente bimodal, con muchas masas de huevos fallando por completo y un número similar que mostró una capacidad de eclosión superior al 70 %. En el caso de *Pomacea* sp1, menos del 10 % de las masas de huevos fallaron completamente y ninguna mostró una capacidad de eclosión total, mientras que *P. megastoma* no mostró un patrón definido. Las viabilidades de las masas de huevos incubadas en condiciones de laboratorio de las tres especies en estudio fueron muy variables y bajas en promedio. En todos los casos, transcurrido cierto tiempo sin nuevas eclosiones en una masa de huevos dada, todos los huevos sin eclosionar fueron disecados para verificar la presencia de embriones, por lo que se descarta que la baja viabilidad se deba a la incapacidad de los embriones para romper la cáscara. La relación encontrada en *P. americanista* y en *Pomacea* sp1 entre el número de huevos de una masa de huevos y su viabilidad podría deberse a la existencia de un efecto borde, por el cual los huevos más expuestos son más propensos a fallar en etapas tempranas del desarrollo. En condiciones de laboratorio, por ejemplo, la menor humedad relativa del aire respecto a las condiciones de campo puede causar desecación extrema en estos huevos, disminuyendo su viabilidad.

Basándose en los datos obtenidos para *P. americanista* en el laboratorio sobre el número de huevos por masa de huevos y la tasa de oviposición, calculada en base al número de huevos que se hacen visibles por minuto sobre el surco del pie, una hembra tardaría, en promedio, 75 minutos para depositar una masa de huevos. Teniendo en cuenta

que las masas de huevos son de mayor tamaño en el campo (Capítulo 5), ese tiempo sería 3,6 veces mayor (es decir, 4,5 horas), cercano al tiempo estimado para *P. canaliculata* (hasta 5 horas; Estebenet & Martín, 2002). La mayoría de las masas de huevos depositados en el laboratorio por *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 parecían haber sido depositadas entre el atardecer y el amanecer; este comportamiento nocturno de la oviposición es similar al observado en otras especies de *Pomacea* y puede estar relacionado con la evitación de depredadores terrestres o voladores, del estrés térmico, y de la desecación durante sus prolongados eventos de oviposición (Estebenet & Martín 2002; Heiler *et al.*, 2008).

La duración del desarrollo embrionario de los ampuláridos se ve fuertemente afectada por la temperatura del ambiente, tanto en las especies que depositan masas de huevos aéreas como acuáticas (Seuffert *et al.*, 2012; Tiecher *et al.*, 2015). A 26 °C, el desarrollo embrionario de *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 tiene una duración muy similar (16,8 días, 17 días y 18,6 días, respectivamente) y un poco más prolongados que el de *P. canaliculata* a la misma temperatura (13 días; Seuffert *et al.*, 2012). Estos datos se condicen con lo sugerido por Wu *et al.* (2011) para huevos aéreos con cáscaras calcáreas, donde una mayor duración del desarrollo embrionario fue asociada con un mayor tamaño del huevo (Capítulo 5), probablemente porque se necesita más tiempo para que el neonato alcance una talla suficiente para romper la cáscara del huevo ejerciendo presión desde adentro.

En condiciones de campo, el ciclo de vida de los ampuláridos puede cambiar de seméparo a iteróparo (más de un período reproductivo a lo largo de la vida) cuando la temperatura del agua fluctúa estacionalmente, como fue demostrado para *P. canaliculata* (Estebenet & Cazzaniga, 1992). En esta especie, la ocurrencia de estaciones frías que duran varios meses, durante las cuales la temperatura del agua desciende a niveles que vuelven inactivos a los caracoles (<15 °C; Seuffert *et al.*, 2010), alarga el ciclo de vida de 14 meses a casi cuatro años (Estebenet & Cazzaniga, 1992). Suponiendo un efecto similar de

las bajas temperaturas del agua en invierno para *P. americanista*, *Pomacea* sp1 y *P. megastoma*, los ciclos de vida de estos caracoles en condiciones de campo probablemente se extenderían con respecto a los observados en el laboratorio; además, la actividad de los caracoles se vería interrumpida por este descenso estacional de la temperatura, por lo que es probable que los ciclos sean plurianuales, ocurriendo dos o más estaciones reproductivas.

Los ciclos de vida propuestos aquí para *P. americanista*, *Pomacea* sp1 y *P. megastoma* en sus rangos nativos son iteróparos y plurianuales. Para las dos primeras especies, esto se corresponde con la categoría de ciclo de vida “G” de Dillon (2000) para caracoles de agua dulce, definida como “poblaciones que maduran en 12-23 meses y se reproducen de manera iterópara”. Para *P. megastoma*, debido a su mayor período pre-reproductivo, se correspondería con la categoría “Hi”: “poblaciones que maduran en 24-35 meses y se reproducen de manera iterópara”, o incluso con la categoría Ti, teniendo en cuenta que en el campo las tasas de crecimiento serían menores, y la edad a la madurez probablemente sea aún mayor: “poblaciones que maduran en 36-47 meses y se reproducen de manera iterópara”, para la cual hay muy pocos ejemplos. Los ciclos de vida plurianuales e iteróparos no son frecuentes entre los caracoles de agua dulce en general (Dillon, 2000), pero prevalecen entre las familias de caracoles de gran talla, como los ampuláridos (Hayes *et al.*, 2015; Tiecher *et al.*, 2016).

La madurez tardía y, por lo tanto, el retraso en la producción de progenie, especialmente si ésta es baja, son responsables de las bajas tasas intrínsecas de aumento de la población de caracoles de agua dulce (Tiecher *et al.*, 2017). Tanto en *P. americanista* como en *P. megastoma* y *Pomacea* sp1, la combinación de los rasgos de sus ciclos de vida, en general, es indicativa de un lento crecimiento poblacional (Capítulo 4) y una baja resiliencia, dos factores que pueden hacer a los caracoles de agua dulce propensos a la extinción (Strong *et al.*, 2008).

La cría de *Pomacea* sp1 bajo idénticas condiciones de laboratorio que *P. americanista* y *P. megastoma* permitió confirmar las menores tallas alcanzadas por estos caracoles, observadas previamente en el campo, lo que corrobora que estas diferencias no tienen un origen ecofenotípico. A su vez, las diferencias cuantitativas halladas en rasgos de sus ciclos de vida permiten presumir que se trata de una especie diferente. Si bien el estatus específico de *Pomacea* sp1 no está confirmado aún, los datos de este capítulo, junto a los de su área de distribución (Capítulo 2), su tabla de vida y parámetros demográficos (Capítulo 4), y las diferencias morfológicas (Capítulo 5), aportan gran información para develar la identidad de esta población incógnita.

## Capítulo 4: CRECIMIENTO CORPORAL Y POBLACIONAL

### 4.1. Introducción

Cowie *et al.* (2009) evaluaron el riesgo potencial que representan las especies de gasterópodos para dañar los ecosistemas naturales, la agricultura, la salud humana o el comercio basándose en 12 características, siete de las cuales son variables biológicas tales como el tamaño de los adultos y de los huevos, el potencial reproductivo y la estrategia reproductiva (semélpara o iterópara). Dentro de los tres géneros de ampuláridos que evaluaron (*Pomacea*, *Pila* y *Marisa*), *Pomacea* es el que presentó un mayor potencial como plaga; sin embargo, esta afirmación se basa principalmente en *Pomacea canaliculata*, una especie mundialmente conocida por su alta capacidad invasora (Lowe *et al.*, 2000). La fecundidad total (4500 huevos por hembra; Martín & Estebenet, 2002) y su capacidad de oviponer por meses luego de una única cópula (Estebenet & Martín, 2002) han sido fundamentales para desarrollar modelos que permitan comprender y predecir la probabilidad de establecimiento de la especie (Jerde *et al.*, 2009) y su riesgo de invasión. El estudio de dichos aspectos del ciclo de vida en otras especies de *Pomacea* permitirá determinar su carácter invasivo o no, así como evaluar, para aquellas especies no invasoras, su estado de conservación y su respuesta poblacional a posibles impactos ambientales (Martín *et al.*, 2013).

La utilización de modelos cuantitativos, tales como el modelo de von Bertalanffy y las tablas de vida, resulta una herramienta muy útil en el estudio del crecimiento corporal y demográfico de los caracoles, ya que permite comprender la dinámica de sus poblaciones y predecir el crecimiento de las mismas. Dada la gran influencia que ejercen las condiciones ambientales sobre el crecimiento de los caracoles (Martín *et al.*, 2001; Estebenet *et al.*,

2006), resulta de gran utilidad aplicar dichos modelos a cohortes criadas bajo condiciones estandarizadas y a una temperatura controlada, ya que permite obtener resultados comparables con los de otras especies criadas en condiciones similares.

El modelo de crecimiento corporal de von Bertalanffy (Renner-Martin *et al.*, 2018) ha demostrado ser ajustable al crecimiento observado en la mayoría de las especies de peces (por ejemplo, Sendra & Freyre, 1978, 1981; Colautti, 1997), y por lo tanto es ampliamente utilizado en la evaluación de recursos pesqueros. Sin embargo, su uso también se ha extendido al crecimiento de algunas especies de crustáceos y moluscos (por ejemplo, Naranjo Madrigal, 2011; Arrighetti *et al.*, 2011; Spaccesi, 2013), e incluso ha sido aplicado a especies de ampuláridos, como *Pomacea flagellata* (Ocaña *et al.*, 2015) y *Asolene plataea* (Tiecher *et al.*, 2016). Las tablas de vida, por su parte, se han usado con frecuencia en el estudio de especies de caracoles de agua dulce conocidas como invasoras u hospedadoras intermediarias de diversos parásitos (por ejemplo, De Kock & Joubert 1991; Pointier *et al.*, 1991; Saha *et al.*, 2017), mientras que no ha sido común su aplicación sobre ampuláridos y otros cenogasterópodos dulceacuícolas de gran tamaño (Dillon, 2000), posiblemente debido a la ardua tarea que demanda el seguimiento de sus extendidos ciclos de vida (Estebenet & Cazzaniga 1992; Pointier *et al.*, 1992; Seuffert & Martín, 2017; Tiecher *et al.*, 2017).

El objetivo de este capítulo fue estimar los parámetros de crecimiento corporal de cohortes criadas en laboratorio de *Pomacea americanista*, *Pomacea megastoma* y *Pomacea* sp1 de acuerdo al modelo de von Bertalanffy. Asimismo, se pretende confeccionar sus tablas de vida y estimar los principales parámetros demográficos de estas tres especies bajo condiciones homogéneas.

## 4.2. Materiales y Métodos

### 4.2.1. Origen y cría de los caracoles

Los ejemplares utilizados para este experimento y la metodología empleada para obtener su talla, su supervivencia y la fecundidad de las hembras fueron los mismos que los utilizados para el estudio del ciclo de vida de *Pomacea americanista*, *Pomacea megastoma* y *Pomacea* sp1 (Capítulo 3).

Se utilizaron 50 caracoles de cada especie (34 hembras y 16 machos de *P. americanista*, 24 hembras, 24 machos y dos individuos indiferenciados de *P. megastoma*, y 29 hembras y 21 machos de *Pomacea* sp1). La muerte de cada caracol fue confirmada por la ausencia de movimientos musculares y ciliares de su pie, y por la falta de reacción al tocarlo; la curva de supervivencia de cada especie, que incluye a los machos y a las hembras en conjunto, se estimó de acuerdo a la última semana en la que cada caracol fue observado vivo.

### 4.2.2. Modelo de crecimiento corporal de von Bertalanffy

Para cada especie, las medias de las tallas de la conchilla alcanzadas por machos y por hembras en cada semana de vida se ajustaron al modelo de von Bertalanffy:

$$T_t = T_\infty \cdot (1 - e^{-K \cdot (t - t_0)})$$

Los parámetros de este modelo,  $T_\infty$  (talla asintótica de la conchilla, en mm),  $K$  (tasa específica de crecimiento, en semanas<sup>-1</sup>) y  $t_0$  (parámetro de condición inicial, en semanas), fueron estimados independientemente para cada sexo utilizando el método de máxima verosimilitud (Aubone & Wöhler, 2000). Además, se calculó la correlación de Pearson ( $r_P$ ) entre los valores observados y los predichos por el modelo.

### 4.2.3. Tablas de vida y parámetros demográficos

Para la cohorte de cada una de las tres especies y siguiendo las principales referencias sobre demografía de ampuláridos (Estebenet & Cazzaniga, 1992; Seuffert & Martín, 2017; Tiecher *et al.*, 2017), se calcularon los parámetros específicos por edad, la supervivencia ( $l_x$ ) y la fecundidad ( $m_x$ ), comprendiendo cada clase de edad un período de cuatro semanas (mes), para facilitar las comparaciones:

- $l_x = N_x/N_0$ , donde  $N_x$  es el número de caracoles vivos en cada edad ( $x$ ) y  $N_0$  es el número inicial de caracoles;

- $m_x$  = número de huevos depositados por caracol vivo de cada edad ( $x$ ); la fecundidad  $m_x$  también fue estimada en función del número de neonatos.

Con estos datos, se confeccionaron las tablas de vida de *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1, que permitieron la estimación, tanto en función del número de neonatos como de huevos, de los siguientes parámetros demográficos:

- Tasa reproductiva bruta (huevos o neonatos.individuo<sup>-1</sup>):

$$RRR = \sum_{x=0}^k m_x$$

- Tasa reproductiva neta (huevos o neonatos . individuo<sup>-1</sup>):

$$R_0 = \sum_{x=0}^k l_x \cdot m_x$$

- Tiempo generacional medio (meses):

$$GT = \frac{\sum_{x=0}^k x \cdot l_x \cdot m_x}{\sum_{x=0}^k l_x \cdot m_x}$$

- Tasa intrínseca de crecimiento (individuos.individuo<sup>-1</sup>.mes<sup>-1</sup>):  $r$ , calculada mediante la iteración de la ecuación de Euler-Lotka (Stearns, 1992):

$$\sum_{x=0}^k l_x \cdot m_x \cdot e^{-r \cdot x} = 1$$

## 4.3. Resultados

### 4.3.1. Modelo de von Bertalanffy

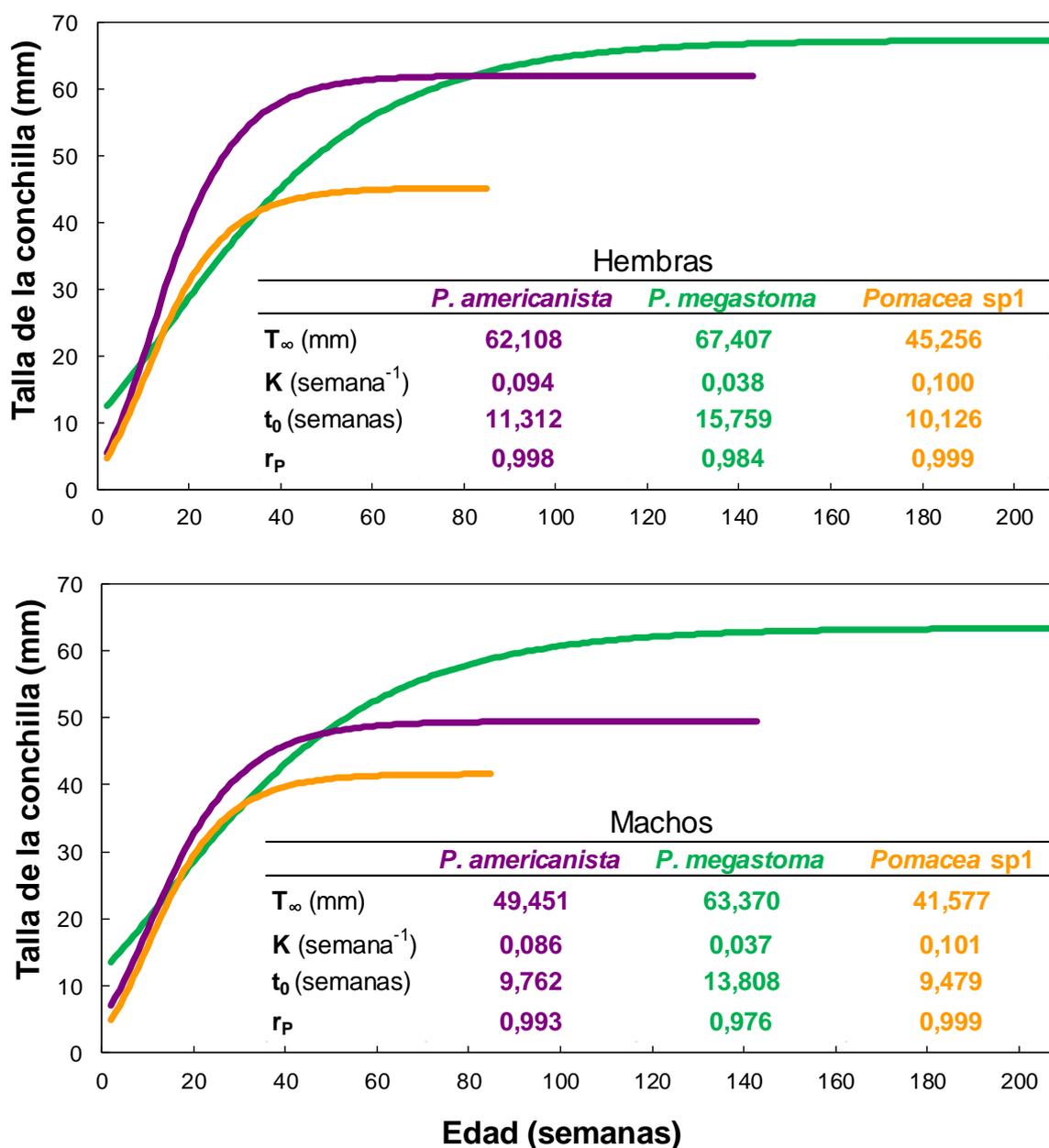
Los parámetros del modelo de von Bertalanffy reflejaron las diferencias entre las curvas de crecimiento corporal de *Pomacea americanista*, *Pomacea megastoma* y *Pomacea* sp1, tanto de las hembras (Figura 4.1 A) como de los machos (Figura 4.1 B). En las tres especies, los parámetros de crecimiento de las hembras fueron mayores que los de los machos, con la única excepción del valor de **K** en *Pomacea* sp1, que fue solo un 0,001 mayor para los machos que para las hembras.

### 4.3.2. Tablas de vida y parámetros demográficos

Las tablas de vida de cada especie (Tabla 4.1) permitieron estimar sus parámetros demográficos sobre una base mensual (cuatro semanas). En las tres especies, los valores mensuales de fecundidad fueron más bajos cuando ésta fue calculada en base al número de neonatos que cuando se basó en el número de huevos, siendo entre un 14 y un 78 % menor para *P. americanista*, entre 0 y 60 % menor para *P. megastoma*, y entre 6 y 46 % menor para *Pomacea* sp1.

El período reproductivo de *P. americanista* fue el más extenso, abarcando 22 meses en total, desde los siete hasta los 28 meses de vida (Figura 4.2 A); *Pomacea* sp1 también comenzó a depositar huevos al séptimo mes de vida, pero este comportamiento solo se extendió hasta los 18 meses de vida, comprendiendo un total de 12 meses reproductivos (Figura 4.2 C). Por su parte, la curva de fecundidad de *P. megastoma* comenzó a aumentar tardíamente, a partir de los 30 meses de vida, y se extendió durante 19 meses (Figura 4.2 B). Además, mientras que las curvas de fecundidad de *P. americanista* y de *Pomacea* sp1 mostraron un único período reproductivo, más fluctuante en la primera que en la segunda especie, en la curva de *P. megastoma* se evidenciaron dos picos reproductivos, con un

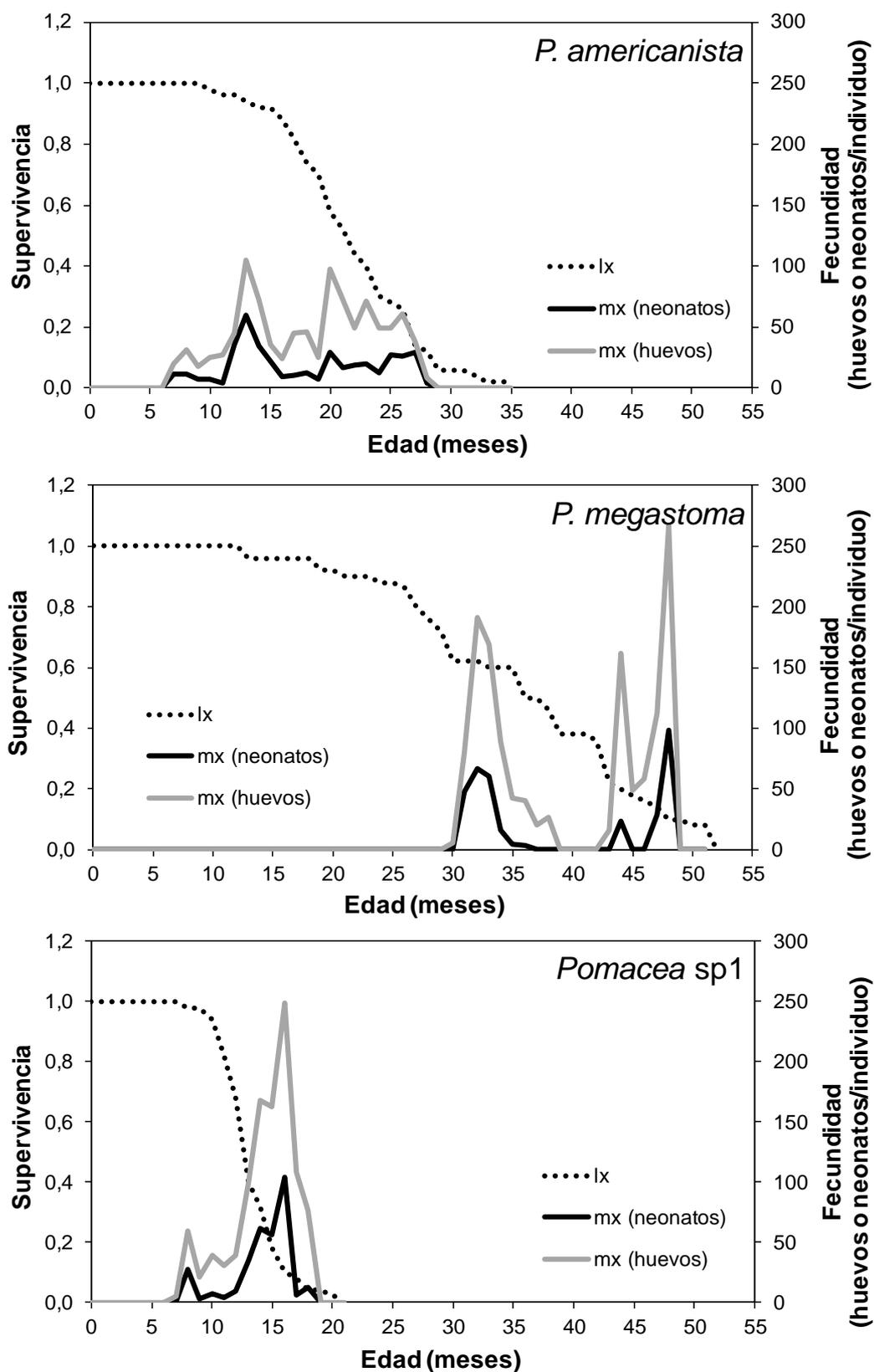
período intermedio de inactividad de aproximadamente cuatro meses, que fue aún mayor cuando la fecundidad estuvo basada en el número de neonatos (Tabla 4.1). Sin embargo, diez de las once hembras maduras de *P. megastoma*, participaron en solo uno de los períodos reproductivos.



**Figura 4.1.** Curvas de crecimiento corporal de *P. americanista* (violeta), *P. megastoma* (verde) y *Pomacea sp1* (naranja), según el modelo de von Bertalanffy, para hembras y para machos por separado. Ambos gráficos incluyen una tabla con las estimaciones de los parámetros de crecimiento y el valor de correlación  $r_P$ .  $T_{\infty}$ : talla asintótica de la conchilla;  $K$ : tasa específica de crecimiento;  $t_0$ : parámetro de condición inicial.

**Tabla 4.1.** Tablas de vida para *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 criadas bajo condiciones controladas. **x:** edad, **lx:** supervivencia, **mx:** fecundidad, calculada tanto sobre la base de huevos como de neonatos.

x (meses)	<i>P. americanista</i>			<i>P. megastoma</i>			<i>Pomacea</i> sp1		
	lx	mx (huevos/caracol)	mx (neonatos/caracol)	lx	mx (huevos/caracol)	mx (neonatos/caracol)	lx	mx (huevos/caracol)	mx (neonatos/caracol)
0	1,00	0	0	1,00	0	0	1,00	0	0
1	1,00	0	0	1,00	0	0	1,00	0	0
2	1,00	0	0	1,00	0	0	1,00	0	0
3	1,00	0	0	1,00	0	0	1,00	0	0
4	1,00	0	0	1,00	0	0	1,00	0	0
5	1,00	0	0	1,00	0	0	1,00	0	0
6	1,00	0	0	1,00	0	0	1,00	0	0
7	1,00	20,30	11,12	1,00	0	0	1,00	5,14	0,92
8	1,00	31,28	11,66	1,00	0	0	0,98	59,84	27,67
9	1,00	17,30	7,06	1,00	0	0	0,98	20,78	3,29
10	0,98	24,78	6,65	1,00	0	0	0,94	39,51	7,45
11	0,96	27,10	3,79	1,00	0	0	0,82	30,85	4,39
12	0,96	45,13	35,02	1,00	0	0	0,68	38,91	9,79
13	0,94	105,23	59,51	0,96	0	0	0,40	100,00	35,10
14	0,92	71,87	34,02	0,96	0	0	0,32	168,13	61,25
15	0,92	35,02	21,96	0,96	0	0	0,18	162,67	56,11
16	0,88	23,93	9,70	0,96	0	0	0,10	249,20	104,00
17	0,82	44,93	10,80	0,96	0	0	0,08	108,00	6,50
18	0,74	46,16	12,89	0,96	0	0	0,04	76,50	12,50
19	0,70	24,86	7,60	0,92	0	0	0,04	0	0
20	0,58	97,45	29,17	0,92	0	0	0,02	0	0
21	0,52	72,19	16,92	0,90	0	0	0,02	0	0
22	0,44	49,64	19,18	0,90	0	0	-	-	-
23	0,40	71,05	20,20	0,90	0	0	-	-	-
24	0,30	49,33	12,13	0,88	0	0	-	-	-
25	0,28	49,21	27,00	0,88	0	0	-	-	-
26	0,26	60,31	26,54	0,86	0	0	-	-	-
27	0,14	37,86	28,71	0,80	0	0	-	-	-
28	0,12	8,33	4,00	0,76	0	0	-	-	-
29	0,06	0	0	0,72	0	0	-	-	-
30	0,06	0	0	0,62	5,13	0	-	-	-
31	0,06	0	0	0,62	80,52	47,97	-	-	-
32	0,04	0	0	0,62	191,61	66,90	-	-	-
33	0,02	0	0	0,60	169,30	60,13	-	-	-
34	0,02	0	0	0,60	89,20	15,60	-	-	-
35	0,02	0	0	0,60	42,00	4,50	-	-	-
36	-	-	-	0,50	40,68	3,28	-	-	-
37	-	-	-	0,50	20,36	0	-	-	-
38	-	-	-	0,46	26,78	0	-	-	-
39	-	-	-	0,38	0	0	-	-	-
40	-	-	-	0,38	0	0	-	-	-
41	-	-	-	0,38	0	0	-	-	-
42	-	-	-	0,36	0	0	-	-	-
43	-	-	-	0,22	16,55	0	-	-	-
44	-	-	-	0,20	161,90	23,00	-	-	-
45	-	-	-	0,18	48,33	0	-	-	-
46	-	-	-	0,16	58,00	0	-	-	-
47	-	-	-	0,14	112,43	29,14	-	-	-
48	-	-	-	0,10	267,20	98,80	-	-	-
49	-	-	-	0,10	0	0	-	-	-
50	-	-	-	0,08	0	0	-	-	-
51	-	-	-	0,08	0	0	-	-	-



**Figura 4.2.** Cambios temporales en la supervivencia (**lx**) y en la fecundidad (**mx**) de *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea sp1*. Las curvas de fecundidad fueron calculadas tanto en base a los huevos como a los neonatos producidos por mes por individuo.

La cantidad de neonatos que un individuo promedio de *P. americanista* produciría si sobreviviera hasta la edad máxima (**RRR**) fue de 415,66 mientras que un individuo de *P. megastoma* produciría 349,33 y uno de *Pomacea* sp1 328,97 neonatos. Sin embargo, teniendo en cuenta las mortalidades específicas por edad, el número de neonatos por cada individuo inicial de la cohorte (**R<sub>0</sub>**) se reduce a 278,16, 139,56 y 103,68, respectivamente (Tabla 4.2). Estos valores fueron menores que los calculados con una estimación de fecundidad basada en el número total de huevos, constituyendo el 41 % en el caso de *P. americanista*, el 31 % en el de *Pomacea* sp1 y el 26 y 28 %, para **RRR** y **R<sub>0</sub>** respectivamente, en el caso *P. megastoma*.

**Tabla 4.2.** Resumen de los parámetros demográficos estimados para *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 criadas bajo condiciones controladas. Los valores de **RRR** (tasa reproductiva bruta), **R<sub>0</sub>** (tasa reproductiva neta), **r** (tasa intrínseca de crecimiento) y **GT** (tiempo generacional medio) fueron calculados en base a los huevos y a los neonatos.

Especies	<i>P. americanista</i>		<i>P. megastoma</i>		<i>Pomacea</i> sp1	
	huevos	neonatos	huevos	neonatos	huevos	neonatos
<b>RRR</b> (huevos o neonatos.ind <sup>-1</sup> )	1013,26	415,66	1329,99	349,33	1059,52	328,97
<b>R<sub>0</sub></b> (huevos o neonatos.ind <sup>-1</sup> )	664,1	278,16	491,5	139,56	332,74	103,68
<b>r</b> (ind.ind <sup>-1</sup> .mes <sup>-1</sup> )	0,5786	0,4886	0,1827	0,1493	0,5789	0,4572
<b>GT</b> (meses)	15,86	15,26	35,59	34,25	11,93	11,91

La cantidad de huevos producidos mensualmente por individuo (**r**) se estimó en 0,579, tanto para *P. americanista* como para *Pomacea* sp1, constituyendo más del triple que lo estimado para *P. megastoma*. Este parámetro fue menor cuando se calculó en base al número de neonatos, reduciéndose en un 15 % en el caso de *P. americanista*, 21 % en el de *Pomacea* sp1 y 18 % en *P. megastoma*. El mayor tiempo generacional (**GT**), es decir, la edad promedio a la que los individuos produjeron sus huevos, lo mostró *P. megastoma* (35,6 meses), mientras que los **GT** de *P. americanista* y de *Pomacea* sp1 fueron, respectivamente, un 55 % y un 66 % menores. En las tres especies, este parámetro difirió en menos del 4 % cuando fue estimado en base a los neonatos.

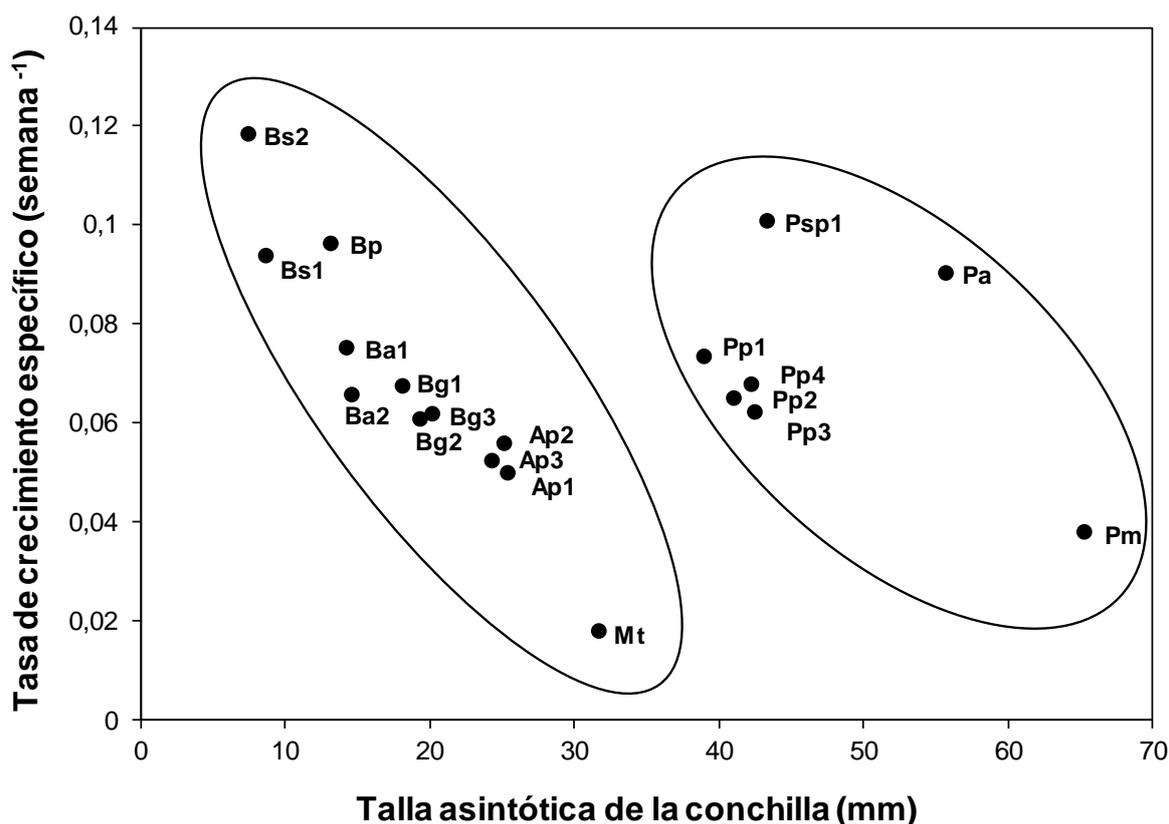
#### 4.4. Discusión

Los modelos cuantitativos aquí aplicados a las cohortes de laboratorio de *Pomacea americanista*, *Pomacea megastoma* y *Pomacea* sp1 detectaron diferencias entre las especies, tanto en el crecimiento corporal de las hembras y de los machos, como en su crecimiento poblacional.

Los parámetros obtenidos del modelo de von Bertalanffy permiten confirmar que tanto las hembras como los machos de *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 presentan diferencias en su crecimiento corporal. Las mayores tallas asintóticas ( $T_{\infty}$ ) se encontraron en los individuos de *P. megastoma* (67,41 y 63,37 mm para hembras y machos, respectivamente), y las menores en *Pomacea* sp1 (45,26 y 41,58 mm, respectivamente). Las tres especies presentaron tallas asintóticas superiores a las reportadas para *Asolene platae* (25,87 mm para las hembras y 24,25 mm para los machos, en promedio; Tiecher *et al.*, 2016), y las hembras siempre mostraron mayores valores que los machos.

Por el contrario, pero de manera análoga a la talla asintótica, *Pomacea* sp1 y *P. americanista* presentan altas tasas de crecimiento ( $K= 0,100-0,101$  y  $0,086-0,094 \text{ sem}^{-1}$ , respectivamente), siendo prácticamente el doble que las obtenidas para *P. megastoma* ( $0,037-0,038 \text{ sem}^{-1}$ ), y las reportadas previamente para *A. platae* ( $0,050-0,055 \text{ sem}^{-1}$ ; Tiecher *et al.*, 2016), pero solo levemente más altas que las de *Pomacea patula* Baker 1922 ( $0,062-0,073 \text{ sem}^{-1}$ ; Espinosa-Chávez & Martínez-Jerónimo, 2005). Las tasas de crecimiento corporal de *P. americanista* y *Pomacea* sp1 caen dentro del rango de 0,06 a  $0,118 \text{ sem}^{-1}$  estimado a 25 °C para pequeñas especies de pulmonados acuáticos (7,6 a 20,3 mm de talla asintótica; Pointier *et al.*, 1991), pero son muy superiores al valor de  $0,017 \text{ sem}^{-1}$  estimado para el cenogasterópodo de tamaño mediano *Melanoides tuberculata* (31,8 mm; Pointier *et al.*, 1991), que a su vez es cercano al calculado para *P. megastoma*. En la figura 4.3 se pone de manifiesto la relación inversa existente entre  $K$  y  $T_{\infty}$ , donde puede observarse para las especies del género *Pomacea*, un patrón similar al que presentan las

especies de pulmonados junto a *M. tuberculata* y *A. platae*, aunque con valores superiores de  $K$  y de  $T_{\infty}$ . *Pomacea americanista* y *Pomacea* sp1 presentan un crecimiento corporal notablemente rápido para su tamaño, mientras que el crecimiento de *P. megastoma* es más lento, acorde a su gran talla.



**Figura 4.3.** Diagrama de dispersión mostrando la relación entre la tasa de crecimiento específico ( $K$ ) y la talla asintótica de la conchilla ( $T_{\infty}$ ) para 19 cohortes de diez especies de caracoles dulceacuícolas, criadas a temperatura constante de 24-26 °C. *Biomphalaria glabrata*: Bg1, Bg2, Bg3; *Biomphalaria alexandrina*: Ba1, Ba2; *Biomphalaria straminea*: Bs1, Bs2; *Biomphalaria pfeifferi*: Bp; *Melanoides tuberculata*: Mt (Pointier *et al.*, 1991); *Asolene platae*: Ap1, Ap2, Ap3 (Tiecher *et al.*, 2016); *Pomacea patula*: Pp1, Pp2, Pp3, Pp4 (Espinosa-Chávez & Martínez-Jerónimo, 2005); *Pomacea americanista*: Pa; *Pomacea megastoma*: Pm; *Pomacea* sp1: Psp1. Las elipses rodean a los caracoles del género *Pomacea* (derecha) y al resto de los caracoles de agua dulce (izquierda).

A temperatura constante de 26 °C, y al igual que ocurre en *P. canaliculata* a 25 °C, las tres especies manifiestan un rápido crecimiento corporal durante el período pre-reproductivo, y luego una desaceleración constante del mismo, que continúa hasta la

muerte (también en Capítulo 3). Durante la reproducción, naturalmente ocurre una reducción en las tasas de crecimiento, probablemente causada porque gran parte de la energía debe invertirse en la cópula y en la oviposición (Seuffert & Martín, 2017; Estebenet & Cazzaniga, 1992, 1998; Estebenet & Martín, 2002; Tamburi & Martín, 2011). Además, tal como es esperable para cohortes criadas bajo condiciones controladas, ninguna de las especies mostró oscilaciones estacionales del crecimiento, lo que concuerda con lo observado previamente en *P. canaliculata* (Estebenet & Cazzaniga, 1992).

Las cohortes de *P. americanista* y *Pomacea* sp1 mostraron un único período reproductivo, mientras que la curva de fecundidad de *P. megastoma* mostró dos. Sin embargo, dado que el 91 % de las hembras de esta última especie participaron en solo uno de los períodos reproductivos, es posible afirmar que las cohortes de las tres especies aquí estudiadas mostraron un patrón reproductivo semélparo. Este hecho concuerda con lo reportado para otras cohortes de ampuláridos criadas bajo condiciones controladas, que suelen tener un patrón semélparo, con un único período reproductivo a lo largo de la vida (Martín & Estebenet, 2002; Tiecher *et al.*, 2016; Seuffert & Martín, 2017), y con lo observado para *P. canaliculata* (Estebenet & Cazzaniga, 1992), donde aquellos individuos criados a temperatura ambiente mostraron iteroparidad, mientras que los criados a temperatura constante presentaron un patrón reproductivo semélparo.

Las fecundidades para estimar los parámetros de la tabla de vida pueden estar basadas en el número total de huevos o de neonatos, y los parámetros obtenidos pueden diferir fuertemente, dependiendo de la viabilidad (Seuffert & Martín, 2017). Las tasas reproductivas netas de *P. americanista* (278,16 neonatos.ind<sup>-1</sup>) y *P. megastoma* (139,56 neonatos.ind<sup>-1</sup>) criadas a 26 °C muestran valores relativamente cercanos a los reportados a 25 °C para *P. canaliculata* (214,25 neonatos.ind<sup>-1</sup>; Seuffert & Martín, 2017), mientras que *Pomacea* sp1 mostró un valor inferior (103,68 neonatos.ind<sup>-1</sup>), sin llegar a ser tan bajo como el reportado para *A. platae* (55,86 neonatos.ind<sup>-1</sup>, en promedio; Tiecher *et al.*, 2017).

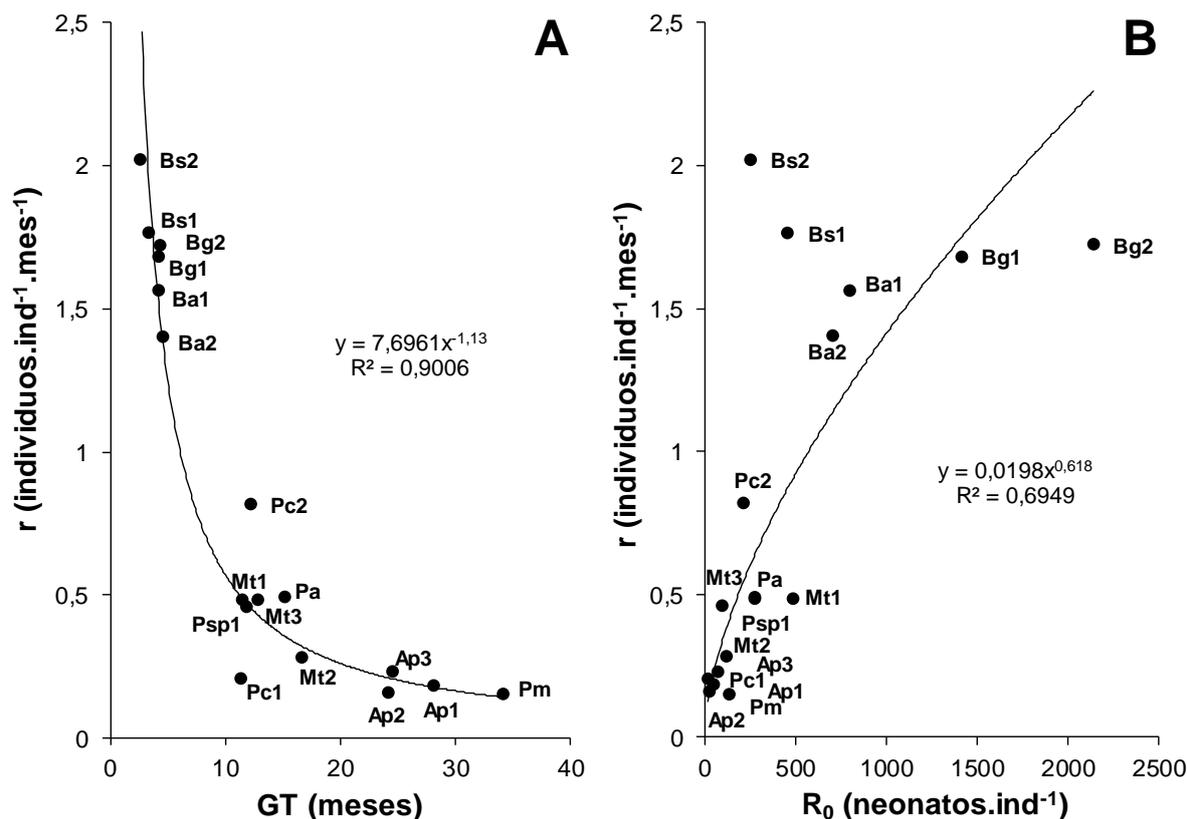
La tasa intrínseca de crecimiento ( $r$ ) es un parámetro demográfico que indica la capacidad de una población para crecer bajo ciertas condiciones cuando los recursos no son limitantes, y por lo tanto es posible utilizarla como indicadora del grado de resiliencia de la población, es decir, de su capacidad para recuperarse luego de una perturbación en el ambiente (Holling, 1973; Lake, 2000, 2013; Bogan *et al.*, 2015). El valor de  $r$  obtenido para *P. megastoma* ( $0,149 \text{ ind.ind}^{-1}.\text{mes}^{-1}$ ) es, hasta el momento, el más bajo reportado para un caracol de agua dulce criado entre  $24$  y  $26$  °C, siendo aún menor que los valores obtenidos para *A. platae* a  $25 \pm 2$  °C ( $0,155\text{-}0,227 \text{ ind.ind}^{-1}.\text{mes}^{-1}$ ; Tiecher *et al.*, 2017). Por su parte, las tasas intrínsecas de crecimiento de *P. americanista* y *Pomacea* sp1 ( $0,489$  y  $0,457 \text{ ind.ind}^{-1}.\text{mes}^{-1}$ , respectivamente), fueron tan altas como las máximas reportadas para la especie invasora *Melanoides tuberculata* ( $0,28$  a  $0,48 \text{ ind.ind}^{-1}.\text{mes}^{-1}$ ; Pointier *et al.*, 1991, 1992), aunque sin llegar a evidenciar los sobresalientes valores obtenidos para *P. canaliculata* ( $0,815 \text{ ind.ind}^{-1}.\text{mes}^{-1}$ ; Seuffert & Martín, 2017), a pesar de haber sido criada en acuarios grupales. Si bien para esta última especie previamente se estimó un valor de  $r$  de  $0,203 \text{ ind.ind}^{-1}.\text{mes}^{-1}$  (Estebenet & Cazzaniga, 1992) los ejemplares utilizados habían sido criados en condiciones de mayor hacinamiento. En ambos casos, dichas condiciones de cría probablemente redujeron la supervivencia, el crecimiento y la fecundidad de las cohortes (Cazzaniga & Estebenet, 1988; Estebenet & Martín, 2002), por lo que su cría en acuarios individuales arrojaría valores más elevados.

De modo análogo, *P. megastoma* evidenció el tiempo generacional más alto reportado para un ampulárido (34,25 meses), algo mayor a lo informado para *A. platae* (24,25-28,22 meses; Tiecher *et al.*, 2017), mientras que *P. americanista* y *Pomacea* sp1 mostraron valores mucho más bajos (15,67 y 12,28 meses, respectivamente), cercanos a los de *P. canaliculata* (11,5 y 12,28 meses; Estebenet & Cazzaniga, 1992; Seuffert & Martín, 2017) y *Melanoides tuberculata* (12,5 a 16,8 meses; Pointier *et al.*, 1992). Todos los parámetros demográficos estimados para las cohortes de *P. americanista*, *Pomacea* sp1 y *P. megastoma* fueron más bajos cuando la fecundidad estuvo basada en el número de

neonatos que cuando ésta se basó en el número de huevos, siendo las tasas reproductivas brutas y netas las que más se vieron afectadas. Esta fuerte reducción concuerda con la reportada para *P. canaliculata* (Seuffert & Martín, 2017) y para *A. platae* (Tiecher *et al.*, 2017).

Las hembras de *P. canaliculata* necesitan alcanzar un tamaño mínimo antes de madurar (Tamburi & Martín, 2009), por lo que es posible asociar el rápido crecimiento corporal observado en *P. americanista* y en *Pomacea* sp1 con una temprana madurez sexual (Capítulo 3) y, por consiguiente, una temprana reproducción, al menos en las hembras. Por el contrario, el lento crecimiento y gran tamaño de *P. megastoma* coincide con una madurez tardía de las hembras (Capítulo 3) y, por lo tanto, con un tiempo generacional extendido.

A 24-26 °C, los tiempos generacionales medios de las especies aquí estudiadas, al igual que *P. canaliculata* (Estebenet & Cazzaniga, 1992; Seuffert & Martín, 2017), *A. platae* (Tiecher *et al.*, 2017) y *M. tuberculata* (Pointier *et al.*, 1991, 1992) son superiores a los de varias especies de caracoles pulmonados (Pointier *et al.*, 1991) (Figura 4.4). Esta diferencia, tal como afirman Tiecher *et al.* (2017) está dada por la menor longevidad (menos de un año; Pointier *et al.*, 1991) que alcanzan las especies de caracoles pulmonados a la misma temperatura. Algo similar ocurre en cuanto a la tasa intrínseca de crecimiento, donde los ampuláridos y *M. tuberculata* exhiben valores muy inferiores a los de los pulmonados dulceacuícolas (Figura 4.4). La gran variación existente entre las especies de caracoles de agua dulce se relaciona más fuertemente con la variación en los tiempos generacionales que con la tasa reproductiva bruta; por lo tanto, una alta tasa intrínseca de crecimiento estaría dada por una madurez sexual temprana y una pronta inversión en la reproducción, más que por una combinación de alta fecundidad y alta supervivencia (Tiecher *et al.*, 2017).



**Figura 4.4.** Diagramas de dispersión mostrando la relación existente entre: **A.** la tasa intrínseca de crecimiento ( $r$ ) y el tiempo generacional medio ( $GT$ ); **B.** la tasa intrínseca de crecimiento y la tasa reproductiva neta ( $R_0$ ), para 15 cohortes pertenecientes a nueve especies de caracoles dulceacuícolas, criadas en laboratorio a temperatura constante de 24-26 °C. *Biomphalaria glabrata*: Bg1, Bg2; *Biomphalaria alexandrina*: Ba1, Ba2; *Biomphalaria straminea*: Bs1, Bs2 (Pointier *et al.*, 1991); *Melanoides tuberculata*: Mt1, Mt2, Mt3 (Pointier *et al.*, 1992); *Asolene platae*: Ap1, Ap2, Ap3 (Tiecher *et al.*, 2017); *Pomacea canaliculata*: Pc1 (Estebenet & Cazzaniga, 1992), Pc2 (Seuffert & Martín, 2017); *Pomacea americanista*: Pa; *Pomacea megastoma*: Pm; *Pomacea* sp1: Psp1. Se indican las ecuaciones de regresión basadas en el modelo potencial ( $y = a \cdot x^b$ ) y el coeficiente de determinación ( $R^2$ ).

Los parámetros demográficos de *P. megastoma* sugieren un bajo potencial biótico y una baja capacidad para recuperarse rápidamente ante un disturbio, mientras que los de *P. americanista* y *Pomacea* sp1 indican un potencial biótico algo mayor, pero sin alcanzar los altos valores de las especies invasoras. De todos modos, cabe recordar que las tres especies aquí estudiadas, al igual que *A. platae* (Tiecher *et al.*, 2017) pero a diferencia de la mayoría de las especies comparadas, fueron criadas bajo condiciones ideales, es decir, con

libre disponibilidad de un alimento nutritivo y palatable para los ampuláridos como es la lechuga fresca (Estebenet, 1995; Estebenet & Cazzaniga, 1992), con el agua de cría a una temperatura óptima, y en acuarios individuales, sin hacinamiento. En condiciones naturales, por lo tanto, se esperarían menores tasas de fecundidad, supervivencia y crecimiento, lo que llevaría a obtener parámetros demográficos que indiquen resiliencias aun menores.

## Capítulo 5: COMPARACIONES MORFOLÓGICAS

### 5.1. Introducción

Al igual que ocurre con otros moluscos, donde existen aproximadamente seis sinónimos por cada nombre válido (Bouchet, 1997), la taxonomía de *Pomacea* se ha basado en principio en caracteres de la conchilla y del opérculo (Pain, 1972). Las conchillas pueden exhibir gran variabilidad intraespecífica, por ejemplo, en *P. canaliculata* se demostró que poseen un componente de variación fenotípica muy importante con respecto al genético (Estebenet & Martín, 2003; Tamburi & Martín, 2012, 2013); y a su vez, algunos ampuláridos presentan un claro dimorfismo sexual en el tamaño y la forma de la conchilla y el opérculo (Estebenet *et al.*, 2006; Tamburi & Martín, 2012, 2013; Tamburi *et al.*, en prensa). Debido a la variabilidad en tamaño y color que presentan las conchillas de los integrantes de este género, la sistemática basada únicamente en la conquiología resulta insuficiente (Ampuero León, 2013). Si bien la información de la conchilla aporta información de gran utilidad y constituye el paso inicial en la discriminación de las especies, no debe ser la única herramienta utilizada para su determinación, sino que debe complementarse con información de su anatomía interna, y particularmente dentro del género *Pomacea*, en caracteres de la vaina del pene (Thiengo *et al.*, 1993; Cowie *et al.*, 2006; Hayes *et al.*, 2012).

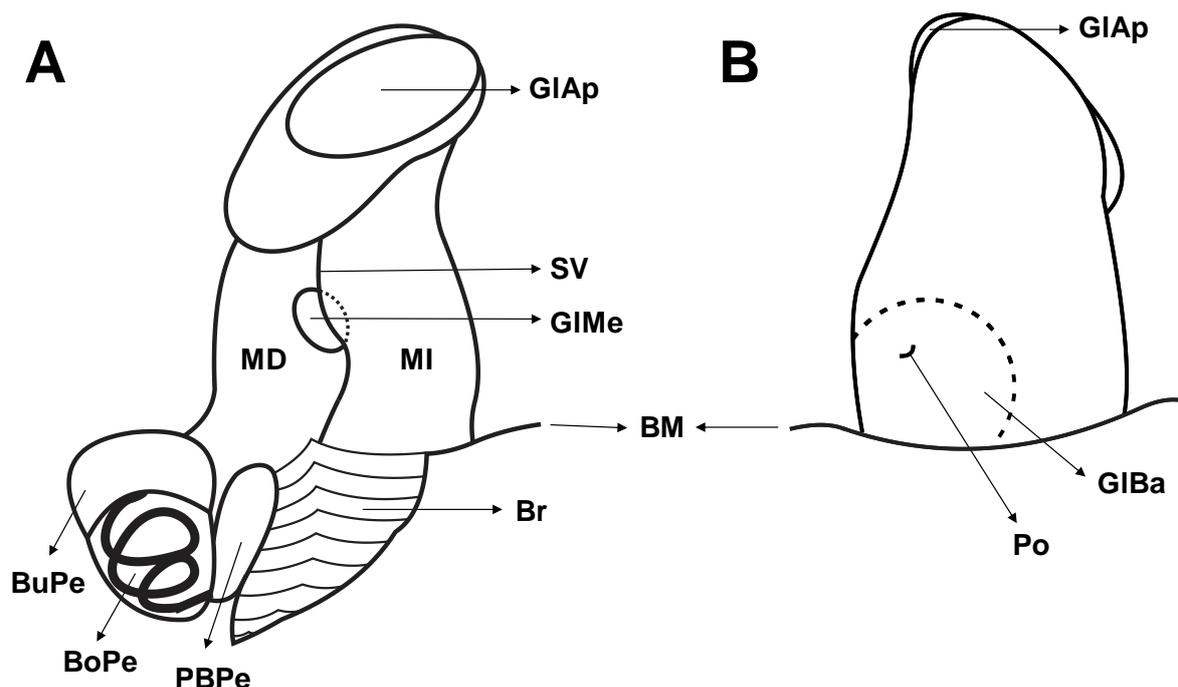
Otro carácter importante para la diagnosis de los ampuláridos lo constituyen sus masas de huevos, que pueden pertenecer a uno de dos tipos: subacuáticas y gelatinosas, como ocurre en los géneros *Asolene*, *Marisa*, *Felipponea* y *Lanistes*, o aéreas, depositadas por encima de la superficie del agua, y con huevos de cáscara calcárea, como sucede en los géneros *Pomacea* y *Pila* (Berthold, 1989; Cowie, 2002; Hayes *et al.*, 2009b). A su vez, en este último tipo los huevos pueden ser depositados de manera laxa, manteniendo su forma esférica, o de manera apretada, adoptando los huevos individuales forma poliédrica y en

conjunto un aspecto de panal de abejas (Hayes *et al.*, 2009b). Además de la forma, el número de huevos que contienen las masas de huevos y el tamaño de los mismos puede permitir la diferenciación de especies, como ocurre en el caso de *Pomacea maculata* y *Pomacea canaliculata* (Hayes *et al.*, 2012; Kyle *et al.*, 2013).

Basándose en caracoles y masas de huevos recolectados en el río Uruguay por otro naturalista, Ihering (1919) sugirió erróneamente que las masas de huevos de *Pomacea megastoma* eran gelatinosas y subacuáticas, pero Hayes *et al.* (2009b) informaron que esta especie deposita sus masas de huevos de cáscara calcárea por encima de la superficie del agua. Sin embargo, el tipo de masas de huevos y la estrategia de oviposición de *Pomacea americanista* han permanecido inexplorados hasta el momento, al igual que ocurre con *Pomacea* sp1, probablemente una nueva especie.

Ciertas características externas de los neonatos, tales como la talla a la eclosión y el número de vueltas de sus conchillas también pueden ser utilizadas como caracteres diagnósticos, como ha sido posible al comparar los neonatos de *P. canaliculata* con los de *P. maculata* (Hayes *et al.*, 2012). Sin embargo, al igual que ocurre con las conchillas de los adultos, los ampuláridos pueden presentar gran variabilidad en la talla de sus neonatos de acuerdo a las condiciones de cría de las hembras que le dieron origen (Martín & Estebenet, 2002).

Si bien el conocimiento de la anatomía reproductiva de los ampuláridos ha tenido grandes avances en los últimos tiempos (Berthold, 1989, 1991; Schulte-Oehlmann *et al.*, 1994; Catalán *et al.*, 2002; Gamarra-Luques *et al.*, 2006; Giraud-Billoud *et al.*, 2013), la información disponible sobre el aparato copulatorio es escasa para *P. megastoma* (Hylton Scott, 1958, 1943; Simone, 2004) e inexistente para *P. americanista* y *Pomacea* sp1. El aparato copulatorio de los ampuláridos machos es muy complejo, y está constituido por una vaina del pene con sus glándulas anexas, distinguibles macroscópicamente, y un complejo peneano compuesto por el bulbo del pene y el pene (Gamarra-Luques *et al.*, 2006; Giraud-Billoud *et al.*, 2013) (Figura 5.1).



**Figura 5.1.** Esquema del aparato copulatorio de un caracol del género *Pomacea* basado en un ejemplar de *P. americanista*, en vista ventral (A) y dorsal (B), señalando las glándulas anexas. BM: borde del manto; BoPe: bolsillo del pene, con el pene enrollado en su interior; Br: branquia; BuPe: bulbo del pene; GIAp: glándula apical o distal; GIBa: glándula basal o externa; GIMe: glándula medial o proximal; MD: margen derecho de la vaina del pene; MI: margen izquierdo de la vaina del pene; PBPe: prolongación del bolsillo del pene; Po: poro de la glándula basal; SV: surco de la vaina del pene.

Cuando la vaina del pene está en reposo, se encuentra plegada dentro de la cavidad del manto del caracol, ocupando gran parte de la misma (Andrews, 1964; Berthold, 1989, 1991). La vaina del pene de los ampuláridos neotropicales posee tres glándulas, aunque una de ellas puede estar ausente en algunas especies. La más conspicua es la glándula basal o externa, que se encuentra sobre el lado izquierdo de la cara dorsal de la vaina, embebida en el tejido de la base de la misma, y posee un poro o hendidura hacia el exterior (Figura 5.1 B). Sobre la cara ventral de la vaina del pene se encuentran la glándula medial o proximal, en la parte media, sobre el margen derecho de la vaina, y la glándula apical o distal, ubicada en la punta de la vaina (Andrews, 1964; Berthold, 1989, 1991; Simone, 2004; Gamarra-Luques *et al.*, 2006) (Figura 5.1 A). En el género *Pomacea*, el pene es largo y

cilíndrico y se encuentra enrollado dentro de un saco membranoso transparente, el bolsillo del pene, ubicado ventralmente en la base de la vaina del pene (Andrews, 1964; Martín, 1980) (Figura 5.1 A). Durante la cópula, el pene se vuelve turgente, emerge del bolsillo y se desliza a través de un surco o canal que recorre longitudinalmente la vaina del pene para ingresar en la cavidad paleal de la hembra (Andrews, 1964; Albrecht *et al.*, 1996; Burela & Martín, 2009).

El objetivo de este capítulo es comparar morfológicamente las conchillas, los opérculos, los neonatos, los huevos, las masas de huevos, las vainas del pene y los complejos peneanos de cohortes de *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1, criadas bajo condiciones controladas homogéneas con el fin de evitar el posible efecto de la variación ambiental. También se pretende analizar la presencia de dimorfismo sexual en la forma de las conchillas y de los opérculos de cada una de las especies en estudio. Por último, se buscará determinar si existe variación en la talla de los neonatos y de los huevos entre las hembras de una misma especie, y en la talla de los huevos entre las puestas de una misma hembra. Este estudio permitirá ampliar el conocimiento general sobre el género y definir qué caracteres pueden ser utilizados como diagnósticos para dichas especies.

## 5.2. Materiales y Métodos

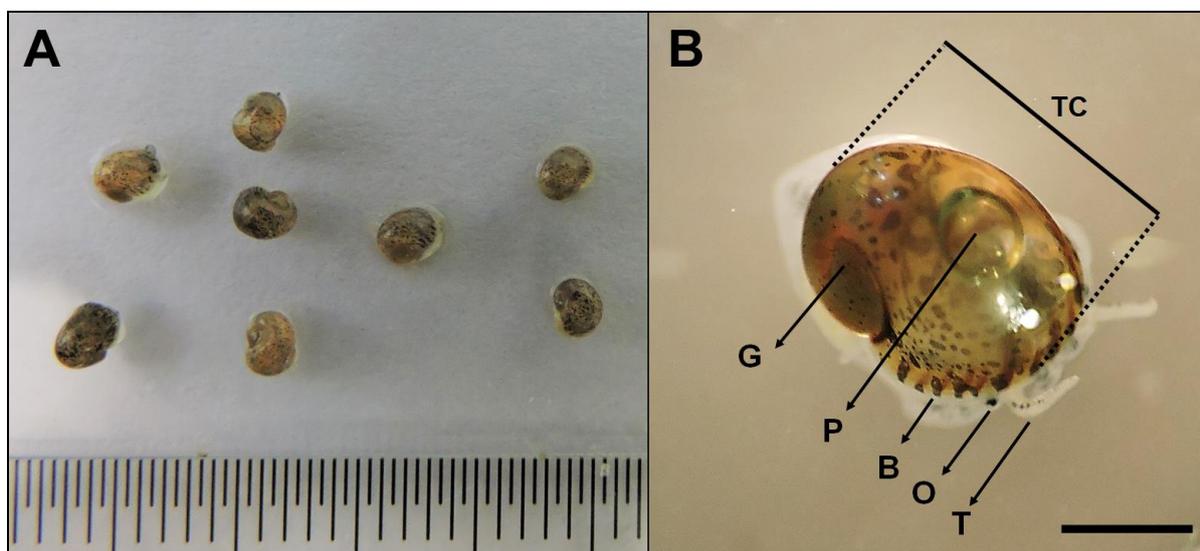
### 5.2.1. Conchillas y opérculos

Con el fin de detectar diferencias anatómicas intersexuales e interespecíficas en las conchillas y los opérculos de *Pomacea americanista*, *Pomacea megastoma* y *Pomacea* sp1, los 50 ejemplares de cada especie utilizados en el capítulo 3 fueron observados semanalmente desde su eclosión hasta su muerte natural, prestando atención a características tales como el tamaño, la forma y la coloración de la conchilla y el opérculo, la altura de la espira, la amplitud de la abertura de la conchilla y la curvatura del opérculo. La conchilla y el opérculo de una hembra y un macho de cada especie fueron fotografiados una vez que murieron, teniendo en cuenta que fueran especímenes maduros, de edad avanzada y cuyas características externas fuesen representativas de la mayoría de los caracoles de cada cohorte.

### 5.2.2. Neonatos

Para las tres especies en estudio, se tomó una fotografía digital escalada en vista dorsal de diez neonatos de un día de vida de una masa de huevos de cada hembra de laboratorio estudiada en el capítulo 3 (Figura 5.2 A), y a través del programa CorelDRAW X7 se calculó la talla de los neonatos, a la vez que se observaron características tales como pigmentación del cuerpo y de la conchilla y presencia de aire en el pulmón (Figura 5.2 B). Por otro lado, se tomaron microfotografías de neonatos de nueve días de vida, obtenidos en el laboratorio, de cada una de las tres especies. Para ello, fueron inicialmente fijados en etanol 96° y luego montados sobre talones de aluminio, limpiados por sonicación y bañados con oro para su escaneo y observación en microscopio electrónico de barrido. El equipamiento (SEM LEO, 40 EVO-XVP) y la prestación del servicio de microscopía electrónica estuvo a cargo del Centro Científico Tecnológico Bahía Blanca.

La talla de la conchilla de los neonatos obtenidos en el laboratorio fue analizada a través de ANOVA anidado, con las especies como factor fijo y las hembras como factor anidado; la homogeneidad de las varianzas fue verificada mediante pruebas de Levene.



**Figura 5.2.** Medición de los neonatos. **A.** Fotografía escalada de neonatos de *P. americanista* de un día de vida en vista dorsal (división menor= 1 mm). **B.** Detalle de un neonato de *P. americanista* de un día de vida, señalando cómo fue medida la talla de la conchilla (TC). G: glándula del intestino medio; P: pulmón con una burbuja de aire; B: banda espiral; O: ojo; T: tentáculo cefálico. Barra= 2 mm.

### 5.2.3. Huevos y masas de huevos

Con el fin de conocer las características de los huevos y las masas de huevos de *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 depositadas en el campo, se buscó su presencia sobre sustratos aéreos durante las campañas realizadas en 2014 y 2015 en la Mesopotamia Argentina (Capítulo 2). Las masas de huevos de *P. americanista* fueron observadas en dos sitios ubicados en la cuenca del río Iguazú, y fueron estudiadas en conjunto: el salto Dos Hermanas (25° 41' 1" S, 54° 26' 43" O; Parque Nacional Iguazú, provincia de Misiones) y el arroyo San Francisco (25° 36' 42" S, 54° 2' 4" O; municipio de Comandante Andresito, provincia de Misiones). Las masas de huevos de *P. megastoma* se

observaron sobre el río Uruguay, en proximidades de la ciudad de Mocoretá (30° 41' 25" S, 57° 49' 15" O; provincia de Corrientes) y las de *Pomacea* sp1 en el arroyo Bonito y su confluencia con el arroyo Acaraguá, afluentes del río Uruguay (27° 26' 39" S, 54° 56' 9" O; municipio de Campo Ramón, provincia de Misiones).

A cada masa de huevos encontrada completa en el campo, es decir, sin huevos eclosionados, se le tomó una fotografía digital escalada, que permitió calcular su longitud y anchura a través del *software* CorelDRAW X7 y registrar su coloración; del mismo modo, se calculó el diámetro de diez huevos individuales de cada masa de huevos. Para estudiar las características de los huevos y de las masas de huevos de laboratorio se utilizó el mismo método con masas de huevos depositadas por las hembras experimentales del Capítulo 3. Además, pequeños grupos de huevos de *P. americanista* y *P. megastoma* obtenidos en el laboratorio fueron acondicionados para su posterior observación y toma de microfotografías en el microscopio electrónico de barrido (SEM LEO, 40 EVO-XVP).

El largo y el ancho de las masas de huevos de las tres especies, tanto en el campo como en el laboratorio, fueron analizados a través de ANOVAs simples. Estas medidas de las masas de huevos también fueron correlacionadas con el número de huevos que cada una contenía. Los diámetros de los huevos fueron analizados a través de ANOVAs anidados, con las especies como factor fijo, y las hembras o puestas, para laboratorio y campo respectivamente, como factor anidado. En el caso de los huevos de laboratorio también se anidaron las puestas dentro de cada hembra; mediante pruebas de Levene se verificó la homogeneidad de las varianzas.

#### **5.2.4. Aparato copulatorio**

Para el estudio anatómico del aparato copulatorio (vaina del pene con sus glándulas anexas, y complejo peneano) se utilizaron cinco machos adultos maduros de cada una de las tres especies en estudio que, una vez muertos por causas naturales, fueron mantenidos

a -18 °C hasta el momento de su disección. Luego de ser descongelados a 25 °C, las partes blandas de cada caracol fueron extraídas de su conchilla, cortando previamente el músculo columelar con un bisturí. A continuación, el borde del manto fue levantado y cortado cuidadosamente con tijera para descubrir y observar el aparato copulatorio. Además, se disecó la bolsa del pene para extender el pene y medir su longitud total.

Las vainas del pene fueron fotografiadas en fresco con una cámara digital, tanto en vista dorsal como ventral; las caras de la vaina se definieron de acuerdo a la posición que toma la misma durante la cópula, al extenderse fuera de la cavidad del manto del caracol. Luego, las vainas fueron preservadas en etanol 96°, junto al resto de las partes blandas de cada caracol, para su conservación y posible utilización futura. Al describir sus partes, se aplicó la terminología utilizada por Simone (2004).

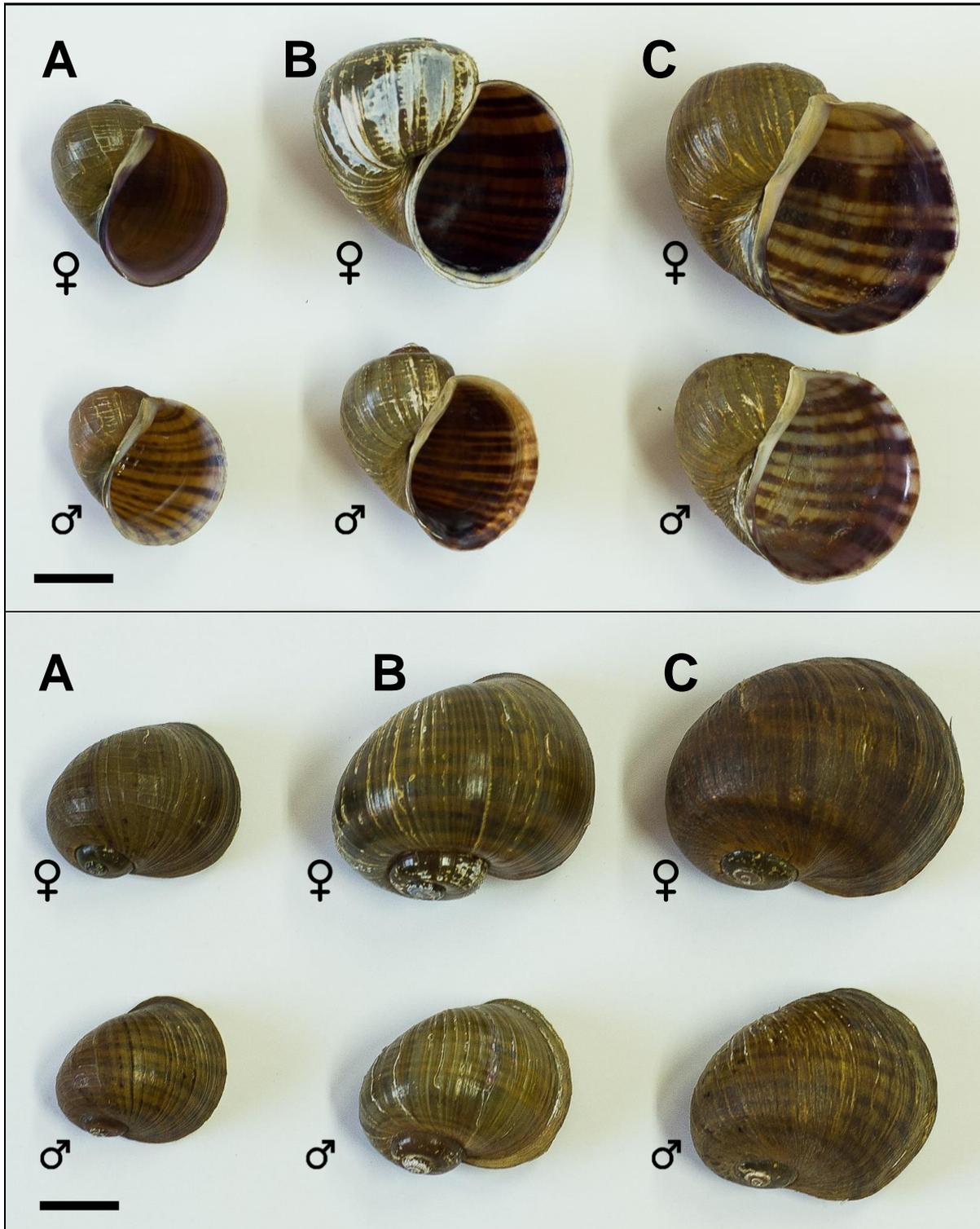
## 5.3. Resultados

### 5.3.1. Conchillas y opérculos

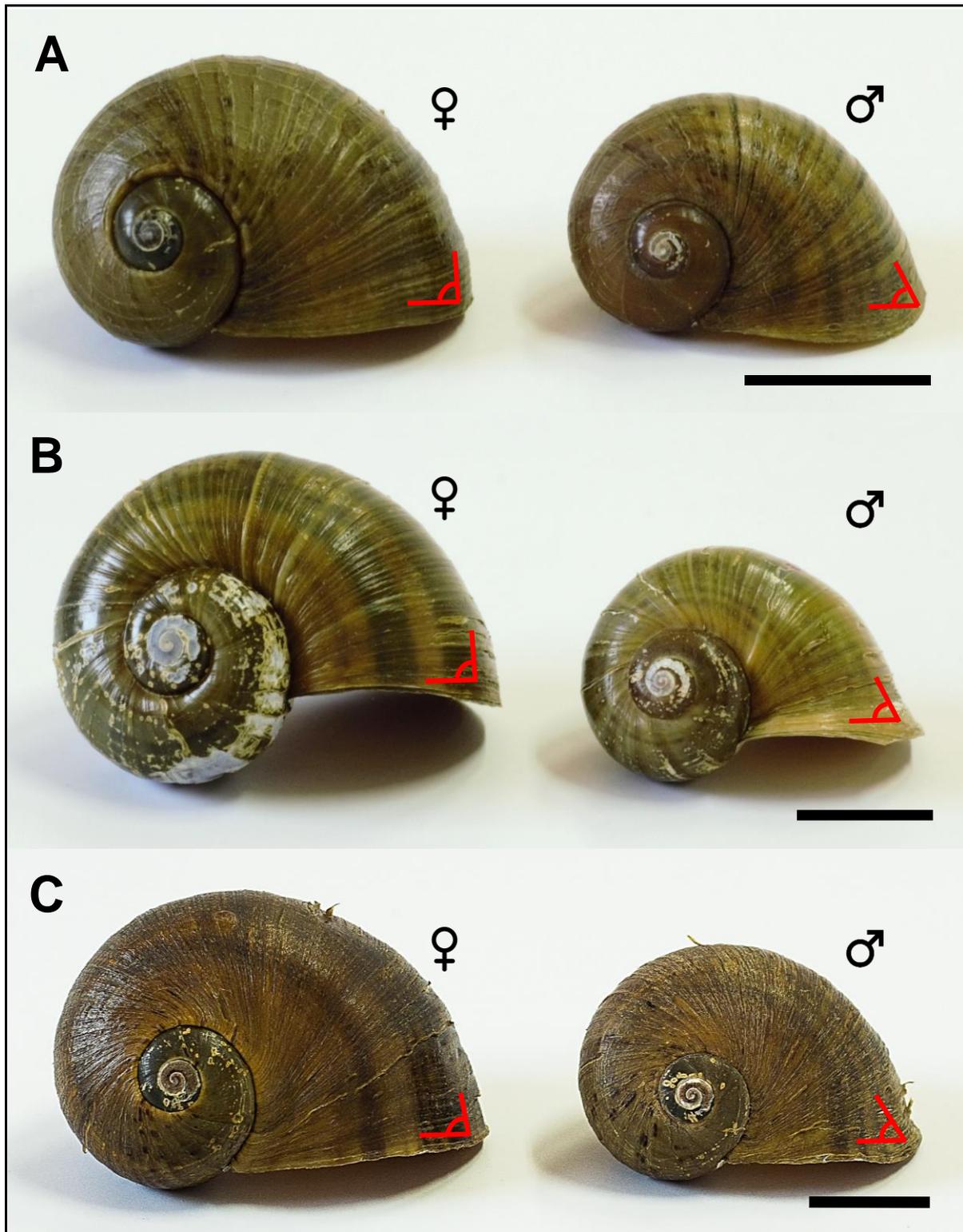
*Pomacea americanista*, *Pomacea megastoma* y *Pomacea* sp1 se caracterizaron por poseer conchillas con una gran abertura y un ápice poco prominente (Figura 5.3), características que son aún más evidentes en *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 que en *P. americanista*. Las tres especies mostraron dimorfismo sexual en la forma de la conchilla: en vista lateral se observó que el borde anterior de la conchilla de las hembras creció prácticamente perpendicular a la superficie del sustrato, mientras que en los machos este borde tendió a formar un ángulo menor con ella, tanto hacia el frente (Figura 5.4) como hacia los laterales (Figura 5.3).

Respecto a la forma general de la conchilla, los individuos de *P. americanista* mostraron una inserción inferior del último anfracto respecto a los anteriores, mientras que en *Pomacea* sp1 y *P. megastoma* el último anfracto se formó casi al mismo nivel que el anterior (Figura 5.3). Además, estas dos últimas especies mostraron una leve diferencia en la forma de ese último anfracto, ya que en *P. megastoma* se observó un hombro ligeramente más recto que en *Pomacea* sp1. Mientras que *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 no presentaron una sutura acanalada entre los anfractos adyacentes de sus conchillas, ésta si fue observada en *P. americanista*, especialmente en los individuos de gran tamaño.

El ombligo de la conchilla fue muy estrecho y profundo en *P. megastoma* y *Pomacea* sp1, aunque muchas veces fue cerrado, especialmente en individuos de pequeña talla; en *P. americanista*, por el contrario, estuvo siempre presente y fue algo más amplio. Se observó que, tanto al reptar sobre las paredes del acuario como sobre el sustrato del campo, el plano de la abertura de la conchilla de las tres especies permaneció paralelo al plano del sustrato, apenas asomando los tentáculos cefálicos; esto fue particularmente notable en *Pomacea* sp1 y en *P. megastoma* (Figura 5.4).



**Figura 5.3.** Conchillas en vista apertural (panel superior) y dorsal (panel inferior) de hembras y machos adultos de las tres especies en estudio. **A.** *Pomacea sp1*. **B.** *Pomacea americanista*. **C.** *Pomacea megastoma*. Barras= 20 mm.



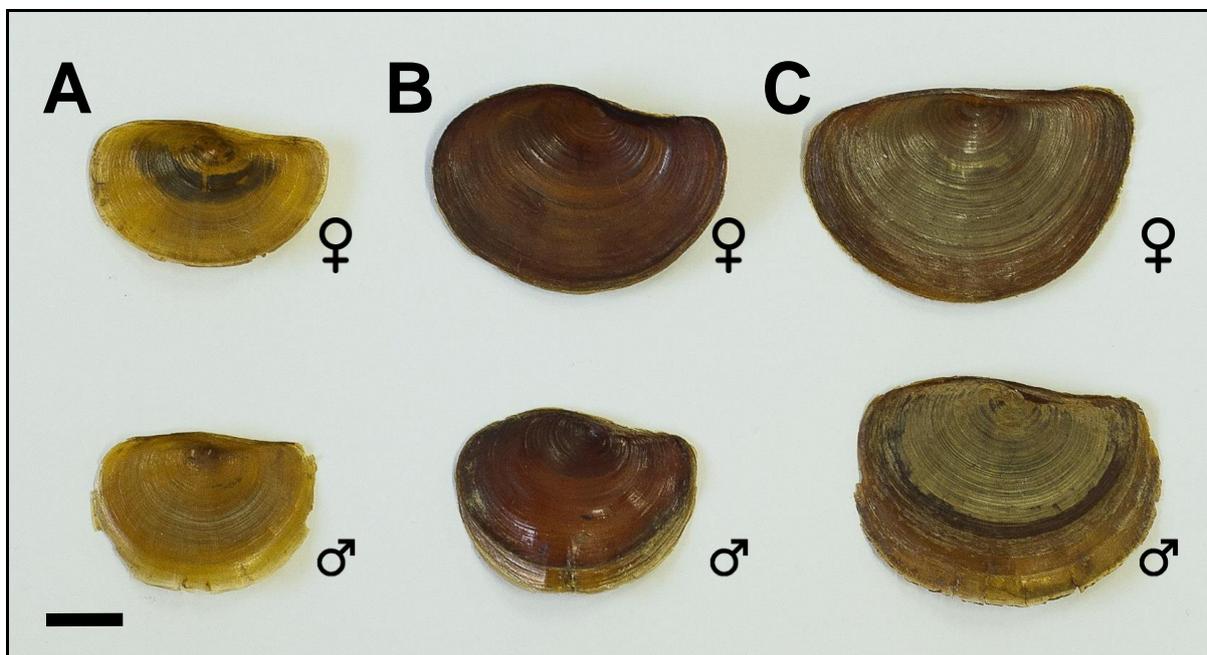
**Figura 5.4.** Conchillas en vista lateral de hembras (izquierda) y machos (derecha) adultos de las tres especies en estudio. **A.** *Pomacea* sp1. **B.** *Pomacea americanista*. **C.** *Pomacea megastoma*; en color rojo se señala el ángulo que forma el borde anterior de la conchilla con el sustrato. Barras= 20 mm.

Si bien la coloración de la conchilla fue similar en las tres especies, mostraron algunas diferencias: en *P. americanista* el color varió del marrón claro verdoso al marrón oscuro, generalmente con bandas oscuras de disposición espiral de grosor variable; solo dos hembras de los 50 individuos de la cohorte de laboratorio no presentaron estas bandas. En *P. megastoma* el color también varió del marrón claro verdoso al marrón oscuro, pero la coloración marrón clara fue más común que en *P. americanista* y con un tinte verdoso menos evidente; el patrón de bandas estuvo ausente o solo se presentó de manera tenue. Los individuos de *Pomacea* sp1 mostraron un patrón de bandas casi siempre presente y evidente como los de *P. americanista*, pero con una coloración de la conchilla predominantemente marrón claro como la de *P. megastoma*.

El interior de la conchilla y la columela de las tres especies presentó una superficie lisa y brillante, sobre la que se hicieron más evidentes las bandas espirales. En *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 esta superficie interna fue de color blanco nacarado, y algunos individuos presentaron una coloración violácea iridiscente, mientras que la de *P. americanista* fue de un color pardo anaranjado. La superficie externa de la conchilla de *P. megastoma* se notó áspera al tacto, mientras que las de *Pomacea* sp1 y *P. americanista* fueron más lisas y lustrosas. El grosor de las conchillas estuvo relacionado con el tamaño general de cada especie, siendo *Pomacea* sp1 la única que mostró una apariencia frágil en laboratorio. Los individuos hallados en sus ambientes naturales durante las campañas (Capítulo 2) mostraron conchillas notablemente más gruesas y pesadas para las tres especies estudiadas. Además, en el campo se observó que las conchillas grandes de *P. megastoma* y *P. americanista* presentaban los ápices bastante erosionados.

El grosor de los opérculos también estuvo relacionado con el tamaño de los individuos (Figura 5.5), siendo muy fino, frágil y de color claro amarillento en *Pomacea* sp1, de espesor medio, aspecto córneo y color que varió del pardo-rojizo al negro en *P. americanista*, y de grosor algo mayor, aspecto aún más córneo y opaco, y color marrón a negro, con un tinte verdoso en *P. megastoma*. Las superficies internas siempre fueron lisas, a excepción de la

inserción del músculo columelar, y las externas mostraron finas líneas concéntricas de crecimiento. Por otro lado, los opérculos de *P. americanista* tuvieron una forma arriñonada, con el núcleo apenas excéntrico, por encima del centro de la conchilla, mientras que los de *Pomacea* sp1 y *P. megastoma* mostraron una forma semicircular, debido a que el núcleo estaba ubicado en posición más central y el borde del opérculo adyacente a la columela fue más recto (Figura 5.5). En las tres especies, el opérculo fue de menor tamaño que la abertura, sin cubrirla por completo ante la retracción de los caracoles dentro de la conchilla.

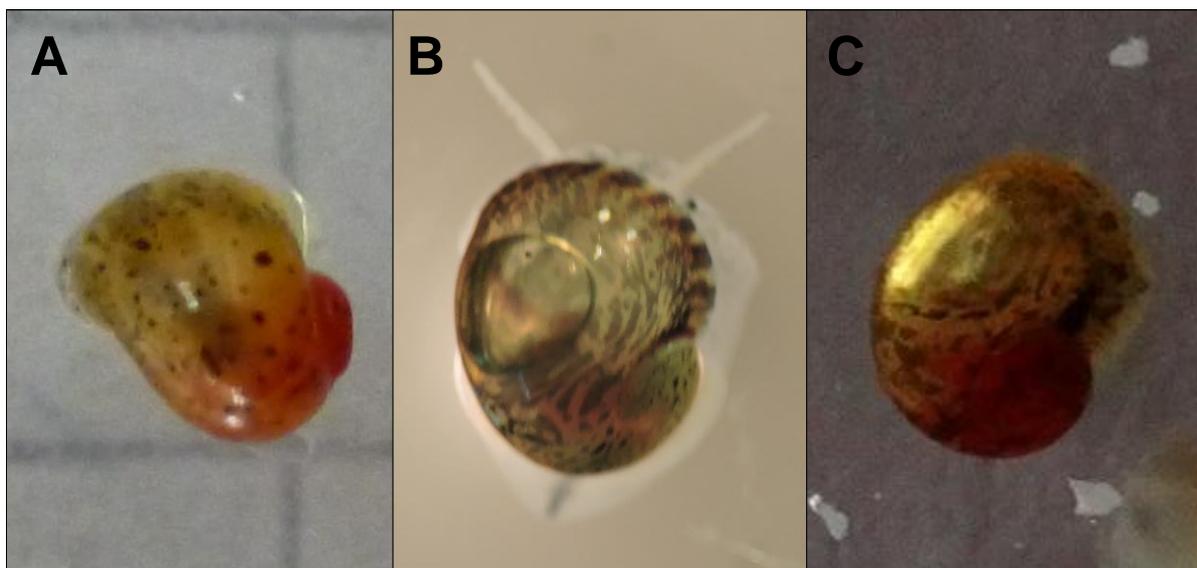


**Figura 5.5.** Opérculos de hembras (arriba) y machos (abajo) adultos de las tres especies en estudio, exponiendo su superficie externa. **A.** *Pomacea* sp1. **B.** *Pomacea americanista*. **C.** *Pomacea megastoma*. Barra= 20 mm.

El dimorfismo sexual en la forma de los opérculos fue evidente para las tres especies, siendo, en las hembras, cóncavos en vista externa en toda su superficie, mientras que en los machos presentaron una curvatura convexa a lo largo de todo el borde externo (Figura 5.5). Los opérculos de los machos de *P. americanista* comenzaron a distinguirse de los de las hembras a las 15 semanas de edad, en *Pomacea* sp1 ocurrió desde la semana 20 y en el caso de *P. megastoma* las diferencias se observaron recién a partir de la semana 59.

### 5.3.2. Neonatos

Los neonatos de *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 obtenidos en el laboratorio (Figura 5.6) exhibieron una conchilla, opérculo, cefalopodio, ojos y tentáculos cefálicos y labiales bien desarrollados. *Pomacea americanista* presentó un cefalopodio de color gris claro con una línea pigmentada en su parte posterior, que en *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 fue más conspicua y sobre un cefalopodio más blanquecino. Si bien la pigmentación del manto fue variable entre los individuos de una misma especie, los de *P. americanista* mostraron en general un patrón de manchas oscuras, redondeadas a alargadas sobre un fondo casi incoloro, mientras que las de *Pomacea* sp1 fueron mucho más pequeñas y aisladas, en forma de puntos, y las de *P. megastoma* fueron frecuentemente de forma irregular y unidas entre sí.



**Figura 5.6.** Neonatos de un día de vida de las tres especies en estudio. **A.** *Pomacea* sp1. **B.** *Pomacea americanista*. **C.** *Pomacea megastoma*.

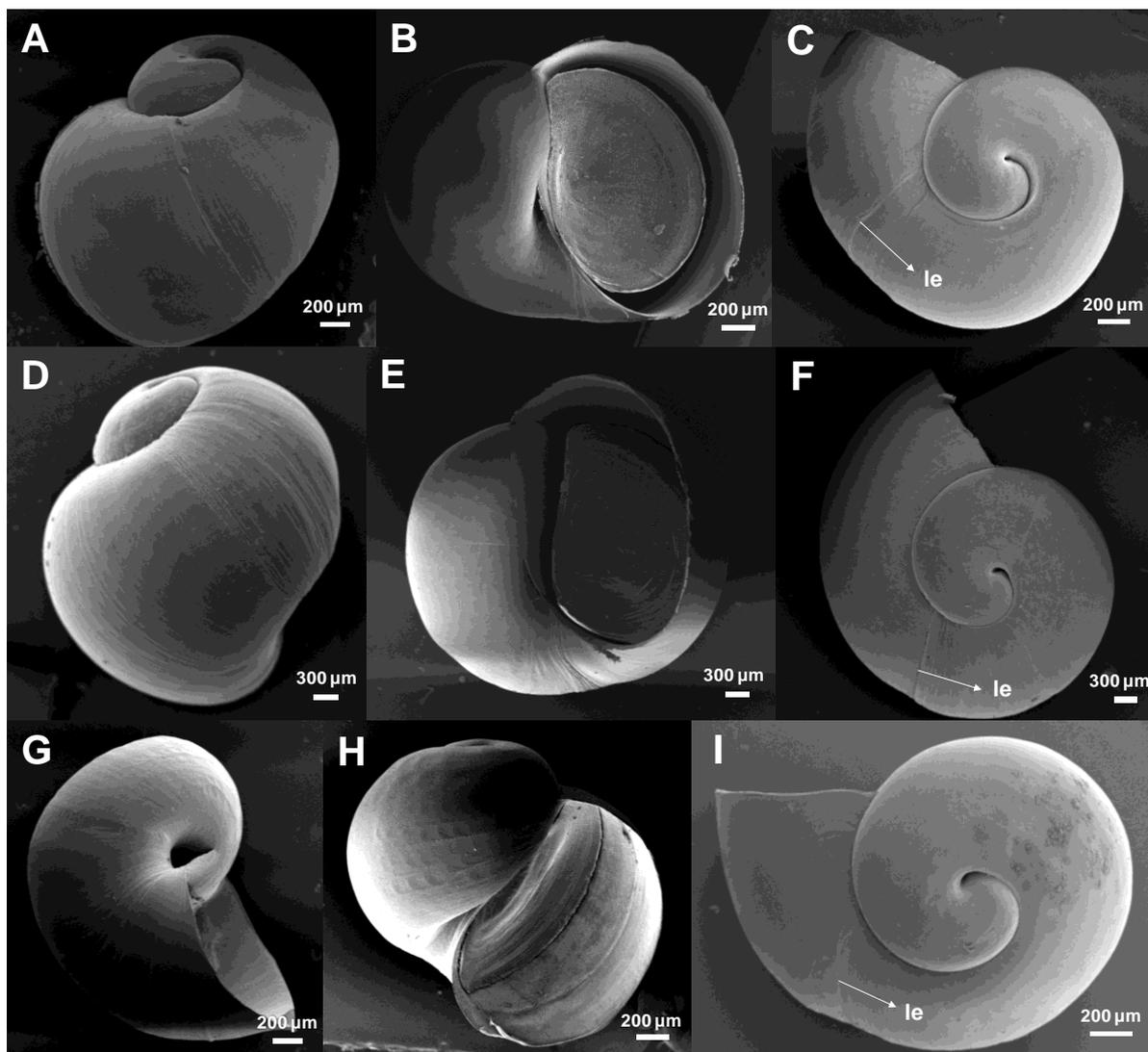
No se observaron rasgos de pigmentación en la conchilla pre-eclosión de *P. americanista*, pero inmediatamente después de la eclosión la mayoría de los neonatos presentó de seis a diez bandas espirales marrones sobre el borde de crecimiento de la

conchilla (Figura 5.6 B), que en *Pomacea* sp1 y *P. megastoma* no se observaron hasta varias semanas después (Figura 5.6 A y C). Durante los primeros días posteriores a la eclosión, el color de la glándula del intestino medio de *P. americanista* fue de color rojo-parduzco. Por su parte, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 exhibieron glándulas intestinales de color rojo intenso, carentes del tinte pardo.

Los neonatos de nueve días de vida observados en el microscopio electrónico de barrido (MEB) (Figura 5.7) presentaron una serie de líneas microscópicas transversales conformando la línea de eclosión, que divide la teleoconcha previa a la eclosión de aquella posterior a la misma. Teniendo en cuenta esta línea, se observó que las conchillas de *P. americanista* exhibieron  $1\frac{1}{8}$  de vuelta al momento de la eclosión, mientras que las de *Pomacea* sp1 eclosionaron con  $1\frac{1}{6}$  y las de *P. megastoma* con  $1\frac{1}{4}$  de vuelta. En ninguna de las tres especies fue posible distinguir la protoconcha de la teleoconcha pre-eclosión.

Los neonatos de las tres especies presentaron el ombligo abierto y el opérculo levemente cóncavo, de tamaño y forma similar al de la abertura de sus conchillas, encajando perfectamente cuando el animal se retrae (Figura 5.7 B, E, G y H). No se observaron pelos periostracales en los neonatos de un día de vida de ninguna de las especies, ni en los de nueve días de vida observados en el MEB; sin embargo, tres semanas después de la eclosión, comenzaron a observarse a simple vista hileras espirales de pelos en la conchilla de los individuos de *P. americanista*, mientras que en *P. megastoma* y *Pomacea* sp1, éstos fueron visibles a partir de la cuarta semana de vida.

El promedio general del ancho máximo de la conchilla a la eclosión fue de  $2,814 \pm 0,157$  mm para *Pomacea* sp1,  $2,613 \pm 0,229$  mm para *P. americanista* y  $2,525 \pm 0,252$  mm para *P. megastoma*. El ANOVA realizado encontró diferencias altamente significativas entre las especies ( $F_{3;34} = 2263,9$ ;  $P < 0,001$ ) que superaban la variación también altamente significativa entre las hembras de la misma especie ( $F_{34;333} = 15,797$ ;  $P < 0,001$ ), aunque en este caso los niveles de rechazo podrían ser menores debido a la falta de homocedasticidad.

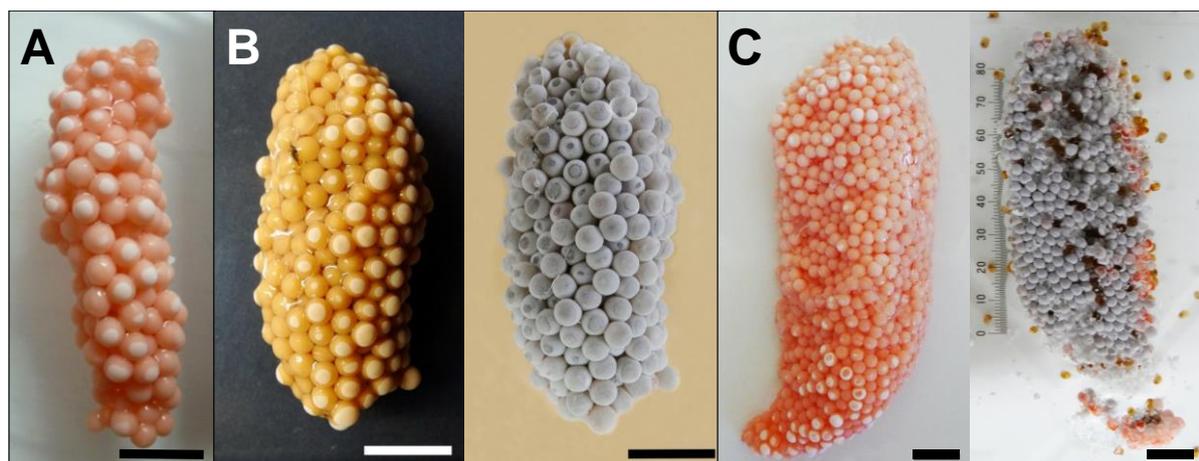


**Figura 5.7.** Microfotografías del MEB de neonatos de nueve días de vida de las tres especies en estudio. **A, B y C.** *Pomacea* sp1. **D, E y F.** *Pomacea americanista*. **G, H e I.** *Pomacea megastoma*; en vista dorsal (**A y D**), apertural (**B, E y H**), apical (**C, F e I**) y umbilical (**G**); le: línea de eclosión.

### 5.3.3. Huevos y masas de huevos

El color que presentaron las masas de huevos de *P. americanista* frescas, es decir, inmediatamente después de ser depositadas por las hembras en el laboratorio, varió desde rosa pálido a rosa con un tinte anaranjado (Figura 5.8 B, izquierda). Las de *P. megastoma* fueron en su mayoría rosadas con un leve tinte anaranjado, pero un 18 % de ellas fueron claramente rojas (Figura 5.8 C, izquierda). Por su parte, la mayor parte de las masas de huevos de *Pomacea* sp1 fueron de color rosa, con cierto grado de variación en la intensidad

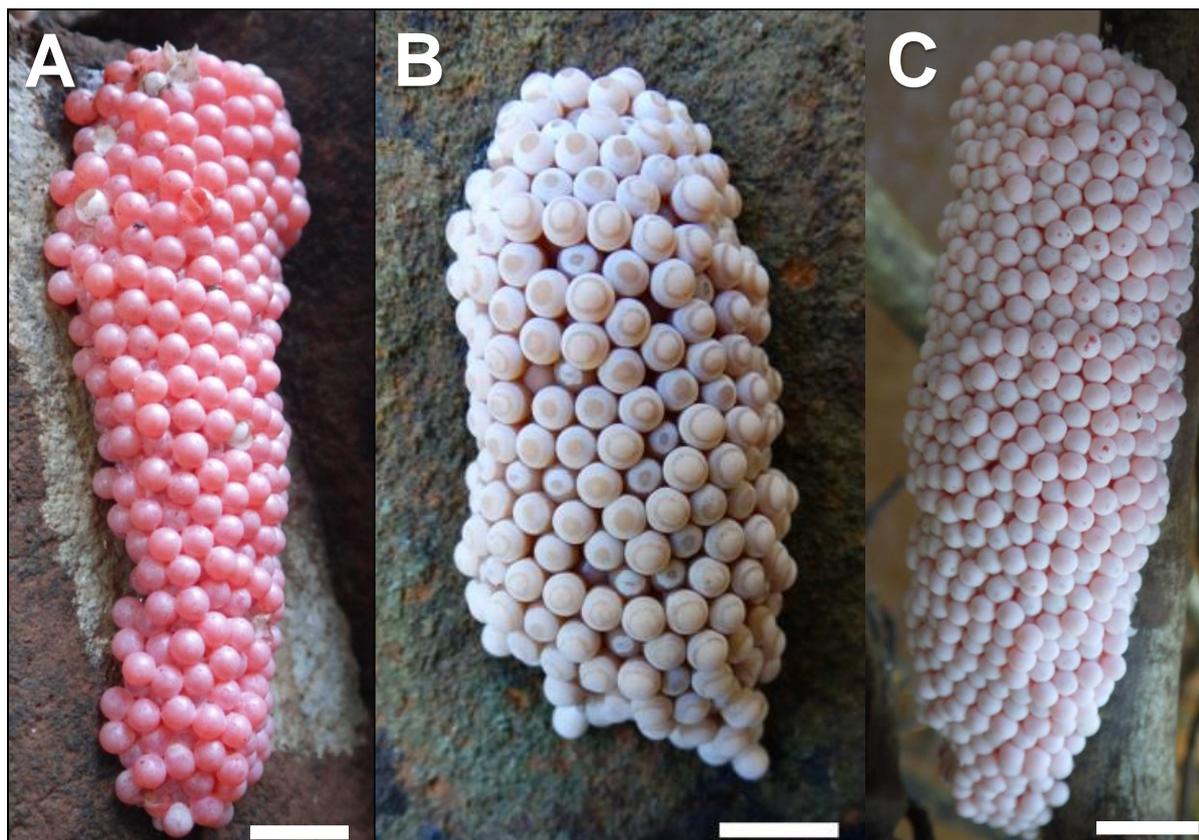
del color, pero sin el tinte anaranjado que ocasionalmente tenían las de *P. americanista* y las de *P. megastoma* (Figura 5.8 A). Al secarse, las cáscaras de los huevos de las tres especies adquirieron un color externo más pálido y blanquecino, pero mantuvieron visible el tono rosado interno del fluido perivitelino.



**Figura 5.8.** Masas de huevos frescos de las tres especies en estudio depositadas en el laboratorio. **A.** *Pomacea* sp1. **B.** *Pomacea americanista*. **C.** *Pomacea megastoma*. Las imágenes de la derecha de las figuras B y C pertenecen a las mismas masas de huevos que las imágenes de la izquierda, de *P. americanista* y de *P. megastoma*, respectivamente, pero fueron tomadas en el momento de la eclosión. La imagen C, derecha, corresponde a una vista inferior, fotografiada a través del vidrio del acuario. Barras= 10 mm.

El color pálido y blanquecino fue el más frecuentemente encontrado en el campo (Figura 5.9), para las tres especies. A menudo se observó una serie de círculos concéntricos de diferentes tonos alrededor del punto más expuesto de cada huevo de la masa de huevos. Estas áreas concéntricas se observaron en las tres especies, tanto en las masas de huevos de campo como de laboratorio, pero fueron más frecuentes en *P. americanista* que en *P. megastoma* y en *Pomacea* sp1. En el caso de *P. americanista* fueron generalmente más visibles y complejas, en tonalidad y en tamaño del área, en las masas de huevos de campo que en las de laboratorio; mientras que en *P. megastoma* ocurrió lo contrario, mostrando las de laboratorio áreas concéntricas más complejas que las de campo (Figuras 5.8 B, izquierda y 5.9 B). Durante los últimos días de su desarrollo, al

acercarse el momento de la eclosión, el color de los huevos se volvió grisáceo o amarronado en el caso de *P. americanista* (Figura 5.8 B, derecha) y algo más blanquecino en *P. megastoma* (Figura 5.8 C, derecha) y en *Pomacea* sp1. Los huevos disecados que no completaron su desarrollo en el laboratorio mostraron que el fluido perivitelino remanente mantenía el color rosado original de cada masa de huevos.



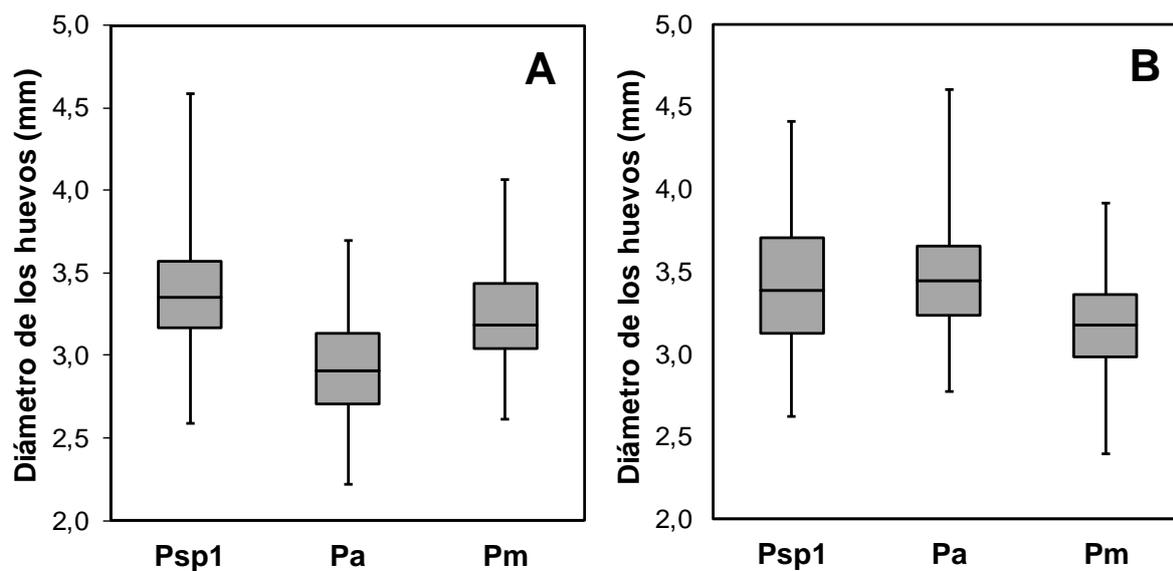
**Figura 5.9.** Masas de huevos de las tres especies en estudio depositadas en el campo. **A.** *Pomacea* sp1. **B.** *Pomacea americanista*. **C.** *Pomacea megastoma*. Barras= 10 mm.

La cantidad máxima de capas de huevos que tuvieron las masas de huevos de *P. americanista* fue de tres en el laboratorio y de seis en el campo, mientras que las de *Pomacea* sp1 tuvieron cuatro y cinco respectivamente, y las de *P. megastoma* tuvieron una altura máxima de ocho capas de huevos en ambos casos. Tanto en el campo como en el laboratorio, se hallaron diferencias significativas en el ancho de las masas de huevos de las tres especies en estudio ( $F_{2,54} = 8,325$ ;  $P = 0,001$  y  $F_{2,54} = 8,269$ ;  $P = 0,001$ , respectivamente),

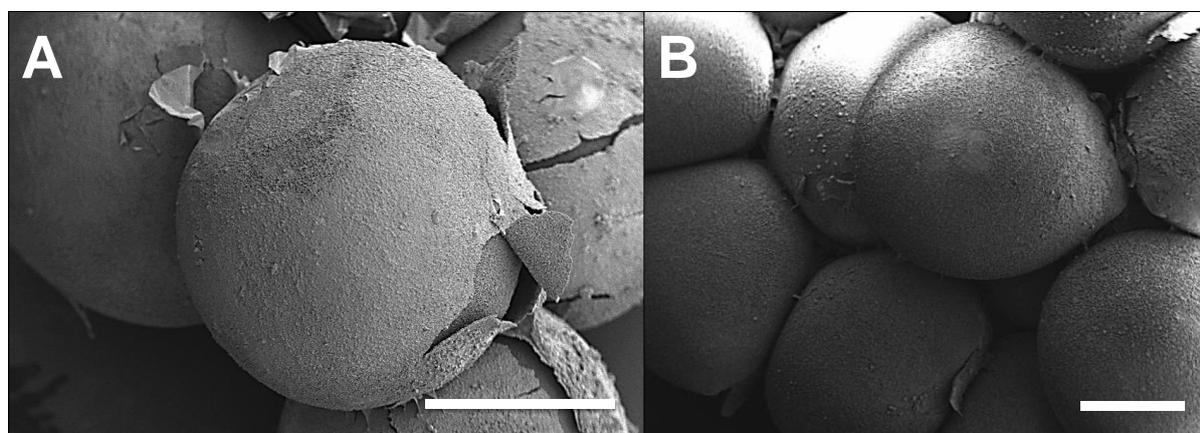
pero no en el largo de las mismas ( $F_{2;54} = 2,380$ ;  $P = 0,102$  y  $F_{2;54} = 0,036$ ;  $P = 0,965$ , respectivamente). En *Pomacea* sp1 el número de huevos por masa de huevos (Capítulo 3) estuvo altamente correlacionado tanto con el largo ( $r = 0,671$ ;  $n = 21$ ;  $P = 0,001$ ) como con el ancho ( $r = 0,660$ ;  $n = 21$ ;  $P = 0,001$ ) de la misma. En cambio, en *P. americanista* sólo estuvo relacionado con el ancho ( $r = 0,661$ ;  $n = 24$ ;  $P < 0,001$ ) y en *P. megastoma* sólo estuvo relacionado con el largo ( $r = 0,727$ ;  $n = 12$ ,  $P = 0,007$ ).

El diámetro de los huevos depositados en el laboratorio fue significativamente diferente entre las especies ( $F_{3;56,203} = 3448,812$ ;  $P < 0,001$ ), siendo  $3,386 \pm 0,284$  mm en *Pomacea* sp1,  $2,912 \pm 0,2917$  mm en *P. americanista* y  $3,242 \pm 0,269$  mm en *P. megastoma* (Figura 5.10 A), superando la variación de los diámetros de los huevos entre las hembras de cada especie ( $F_{56;50} = 2,466$ ;  $P < 0,001$ ) y entre las dos puestas de cada hembra ( $F_{50;981} = 17,130$ ;  $P < 0,001$ ). Lo mismo ocurrió con los huevos hallados en el campo, cuyo diámetro fue de  $3,434 \pm 0,375$  mm en *Pomacea* sp1,  $3,461 \pm 0,311$  mm en *P. americanista* y  $3,170 \pm 0,286$  mm en *P. megastoma*, encontrándose diferencias altamente significativas entre las especies ( $F_{3;61} = 2163,171$ ;  $P < 0,001$ ) (Figura 5.10 B) que superaban la variación hallada entre las puestas de cada especie ( $F_{61;576} = 72,339$ ;  $P < 0,001$ ).

Los huevos individuales de las tres especies en estudio fueron prácticamente esféricos, tanto en el campo como en el laboratorio, aunque en general las áreas de contacto entre ellos se observaron levemente aplanadas (Figuras 5.8, 5.9 y 5.11). La cáscara de los huevos presentó una superficie macroscópicamente lisa, pero al ser examinadas en el MEB se observó que, al menos en *P. americanista* y *P. megastoma*, ésta era algo porosa (Figura 5.11 A y B). Además, se pudo observar que la mayoría de los huevos presentaban un polo más prominente y de superficie más lisa que el resto (Figura 5.11 B).



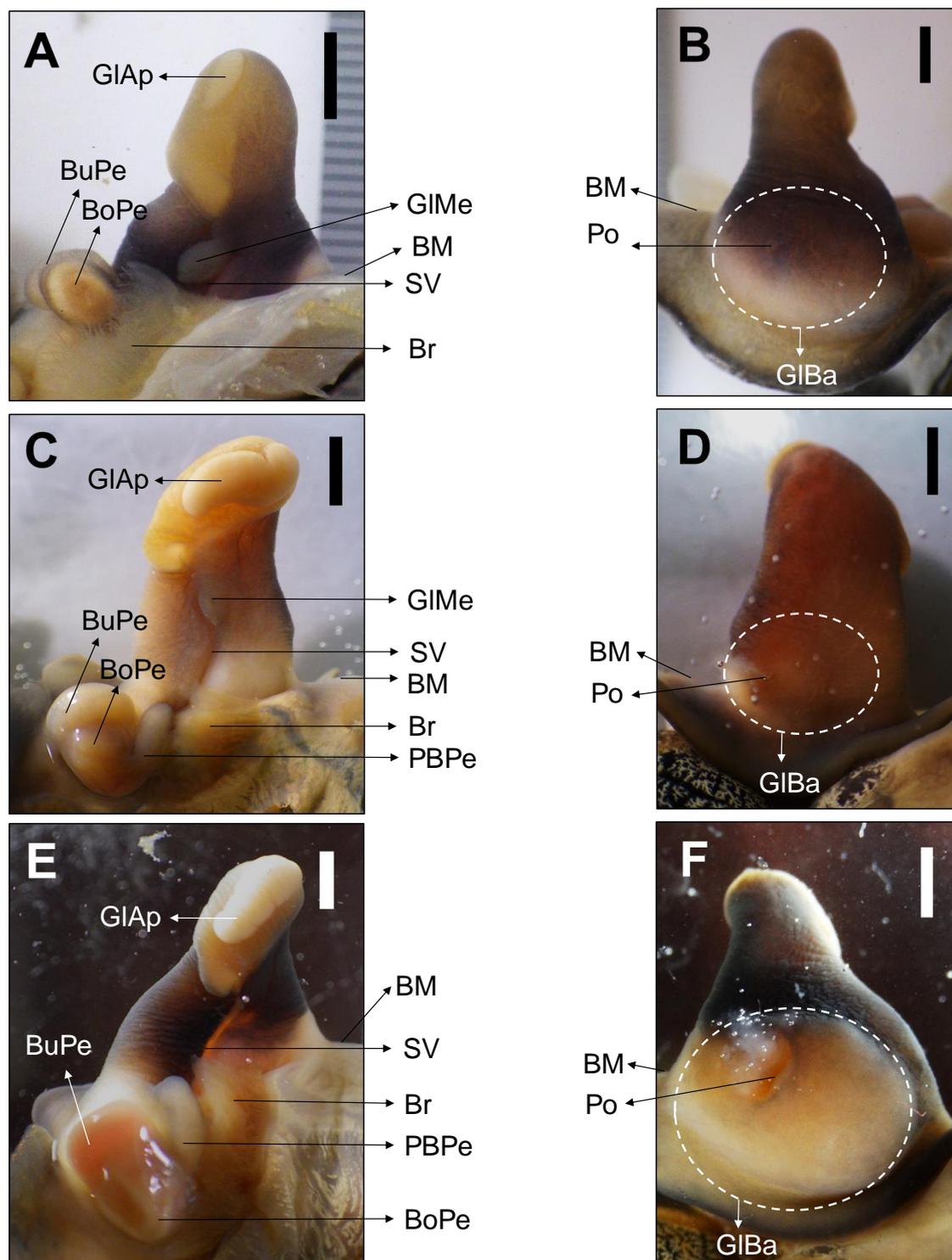
**Figura 5.10.** Diagramas de caja para el diámetro de los huevos de *Pomacea* sp1 (Psp1), *P. americanista* (Pa) y *P. megastoma* (Pm). **A.** Diámetro de los huevos depositados en el laboratorio. **B.** Diámetro de los huevos hallados en el campo. La caja representa el rango intercuartil, la línea horizontal de cada caja indica la mediana, y las barras verticales los valores extremos para cada especie.



**Figura 5.11.** Microfotografías obtenidas con el MEB. **A.** Detalle de un huevo de *P. megastoma* obtenido en el laboratorio. **B.** Parte de una masa de huevos de *P. americanista* obtenida en el laboratorio. Barras= 1 mm.

### 5.3.4. Aparato copulatorio

La forma general de la vaina del pene de *P. americanista* fue alargada y con poca variación de grosor en toda su longitud (Figura 5.12 C y D), mientras que en *Pomacea* sp1 y



**Figura 5.12.** Vainas del pene y glándulas anexas de machos maduros de las tres especies en estudio. **A y B.** *Pomacea* sp1. **C y D.** *Pomacea americanista*. **E y F.** *Pomacea megastoma*; en vista ventral (**A, C y E**) y dorsal (**B, D y F**). Barras= 5 mm. BM: borde del manto; BoPe: bolsillo del pene; Br: branquia; BuPe: bulbo del pene; GIAp: glándula apical o distal; GIBa: glándula basal o externa (la línea punteada indica la extensión estimada a partir del abultamiento observado en la base de la vaina); GIMe: glándula medial o proximal; PBPe: prolongación del bolsillo del pene; Po: poro de la glándula basal; SV: surco de la vaina del pene.

*P. megastoma* se observaron vainas con una base mucho más ancha y abultada que su zona distal; esto fue aún más notorio en *P. megastoma*, cuya base fue casi tan ancha como la longitud total de la vaina (Figura 5.12 E y F). El color del tegumento de la vaina varió entre las tres especies, siendo gris oscuro en *P. megastoma*, gris claro en *Pomacea* sp1 y gris rosado o anaranjado en *P. americanista*.

Con respecto a la posición de la vaina en reposo dentro de la cavidad paleal, tanto en *Pomacea* sp1 como en *P. megastoma*, el borde izquierdo de la vaina coincidió con el tentáculo derecho del caracol o con la línea media de la cabeza, en cambio en *P. americanista* la posición de la vaina fue más central, ya que su borde izquierdo coincidió con el tentáculo izquierdo, quedando la vaina del pene prácticamente sobre la cabeza del caracol.

Las tres especies presentaron, sobre la cara ventral de la vaina del pene, una glándula apical (GIAp) diferenciada en dos zonas (Figura 5.12 A, C y E): una central de forma elíptica, lisa y prominente, y una periférica de aspecto más rugoso. Ésta última zona fue de color marrón claro en *P. megastoma* y marrón anaranjado en *P. americanista*, y en ambas especies la zona central fue más clara y blanquecina, mientras que *Pomacea* sp1 presentó menor variación de color entre las dos zonas. Además, se observó que la zona central de esta última especie se encontraba más desplazada hacia la punta de la vaina, y que su borde inferior no solía estar tan diferenciado de la zona periférica. La parte inferior de la zona periférica apical de las tres especies, presentó un pliegue que originaba una especie de muesca, a través de la cual se observó el pene emergiendo del surco de la vaina en un ejemplar de *Pomacea* sp1.

La glándula medial (GIMe) fue siempre evidente a simple vista sobre el margen derecho de la cara ventral de la vaina en los ejemplares disecados de *Pomacea* sp1 (Figura 5.12 A), con forma circular u ovalada, y prácticamente del mismo color que la vaina. En *P. americanista*, esta glándula estuvo ausente en dos de los cinco ejemplares disecados, mientras que en los tres ejemplares restantes fue de tamaño pequeño a mediano y se

encontraba total o parcialmente cubierta por el margen izquierdo de la vaina (Figuras 5.1 A y 5.12 C). En ninguno de los cinco ejemplares de *P. megastoma* se encontró esta glándula, pero uno de ellos presentó una pequeña zona decolorada de tejido, sin aspecto glandular, en una posición equivalente.

La glándula basal (GIBa) estuvo presente en las tres especies en estudio, embebida en el tejido de la cara dorsal de la base de la vaina (Figura 5.12 B, D y F). La principal diferencia entre las especies radicó en la forma y el tamaño de su poro (Po), que fue notorio y en forma de "C" en *P. megastoma*, muy pequeño y circular en *Pomacea* sp1, y con forma de hendidura diagonal en los ejemplares de *P. americanista*.

En *P. megastoma* y en *Pomacea* sp1 el surco de la vaina (SV) fue relativamente recto en algunos ejemplares y acodado hacia la izquierda en su parte medial en otros (Figura 5.12 A y E), mientras que en *P. americanista* se observaron surcos siempre acodados en los ejemplares que no presentaban glándula medial, pero con leve forma de "S" en aquellos que sí la poseían (Figura 5.12 C). No se observaron diferencias consistentes entre las especies en la posición de la branquia (Br) con respecto a la vaina del pene, ya que fue algo variable, incluso entre ejemplares de una misma especie. En general, la branquia llegó solo hasta la base de la vaina sin invadirla, pero ocasionalmente se observó el extremo de la branquia adherido a ella; en algunos ejemplares este extremo fue ancho y romo, mientras que en otros fue fino, aguzado y curvado hacia la izquierda, llegando en ocasiones hasta el borde izquierdo de la vaina del pene.

En *P. megastoma* el complejo peneano fue alargado, de forma ovalada. El bulbo del pene (BuPe), que contiene a la base del mismo, fue de color fuertemente rosa en algunos ejemplares y marrón claro en otros, y ocupó aproximadamente un tercio del bolsillo del pene (BoPe), el cual contenía el pene enrollado en su interior, que extendido midió de 5 a 5,5 cm de largo en ejemplares de 64,5 mm de talla promedio. Además, en esta especie la prolongación del bolsillo (PBPe), por donde el pene emerge hacia la vaina, fue gruesa y evidente. Los complejos peneanos de *Pomacea* sp1 y de *P. americanista* tuvieron forma

más esférica que el de *P. megastoma*, y los bulbos del pene ocuparon aproximadamente la mitad del bolsillo del pene. El pene extendido de *P. americanista* midió aproximadamente 5 cm de largo en ejemplares de 50,4 mm de talla promedio, y la prolongación del bolsillo fue casi tan evidente como en *P. megastoma*, mientras que el pene de *Pomacea* sp1, cuyos ejemplares tuvieron una talla promedio de 43,2 mm, midió aproximadamente 40 mm de largo, y en solo un ejemplar se logró observar la prolongación del bolsillo.

## 5.4. Discusión

La comparación de las conchillas, los opérculos, los neonatos, los huevos, las masas de huevos y las vainas del pene de cohortes de *Pomacea americanista*, *Pomacea megastoma* y *Pomacea* sp1 criadas bajo condiciones controladas homogéneas, permitió encontrar importantes similitudes y diferencias entre las especies. La mayor similitud que pudo observarse fue en la forma general de la conchilla y del opérculo de *P. megastoma* y *Pomacea* sp1, aunque la talla máxima de esta última fue mucho menor (Capítulo 3).

Las conchillas de los ejemplares de laboratorio de *P. americanista*, *Pomacea* sp1 y *P. megastoma* utilizadas en este capítulo fueron comparadas con conchillas de las colecciones de museos y también con las de individuos hallados en el campo durante las campañas (Capítulo 2). Los ejemplares de distintos orígenes presentaron gran similitud de forma y coloración dentro de una misma especie, aunque en algunas ocasiones las conchillas recolectadas en el campo fueron de mayor grosor, característica que fue más evidente en *P. megastoma*. Esto coincide con la experiencia de Estebenet y Cazzaniga (1992), cuyos ejemplares de *Pomacea canaliculata* criados a 25 °C poseían conchillas más delgadas, ligeras y quebradizas que las de los caracoles criados a temperatura ambiente, al igual que observó Souza Lopes (1955) en *Pomacea haustum* (Reeve 1856). Esto probablemente se deba a que la temperatura alta y constante de los laboratorios produce una aceleración en la tasa metabólica de los caracoles, lo que conlleva un crecimiento continuo desde el borde del manto que no da lugar al aumento en grosor de las conchillas (Estebenet & Martín, 2003).

Las características generales de las conchillas y los opérculos de *P. americanista* y *P. megastoma* coincidieron mayormente con las descripciones de Ihering (1919) y Hylton Scott (1943, 1958), mientras que la información obtenida para *Pomacea* sp1, por tratarse de una especie no descrita hasta el momento, es totalmente nueva. Estas tres especies comparten una forma característica de la conchilla, diferente al resto de las especies del género

*Pomacea* de la Argentina, dada por una abertura amplia y un ápice de poca altura, lo que hasta hace poco les valía a *P. americanista* y *P. megastoma* integrar un género aparte (Hayes *et al.*, 2012). *Pomacea americanista* posee una sutura acanalada entre los anfractos adyacentes de su conchilla, aunque éste no es tan pronunciado como el que le da su nombre a *P. canaliculata*; *Pomacea* sp1 y *P. megastoma*, por su parte, no lo poseen. Esta sutura acanalada es característica del llamado “grupo canaliculata”, conformado por muchas especies del género *Pomacea*, aunque sin utilidad para la determinación de especies o grupos monofiléticos (Rawlings *et al.*, 2007).

Las tres especies presentaron un claro dimorfismo sexual en la forma de sus conchillas y de sus opérculos, similar al observado en *P. canaliculata* (Estebenet *et al.*, 2006), ya que las conchillas de los machos presentan un borde anterior reflejo, con el plano de la abertura más paralelo a la superficie del sustrato que el de las hembras, y los opérculos masculinos, a diferencia de los femeninos, son convexos a lo largo de su borde externo. Burela *et al.* (2014), teniendo presente este dimorfismo sexual en *P. canaliculata*, observaron comportamientos agonísticos entre machos en el campo, que utilizaban este ángulo agudo del borde de sus conchillas para competir por el acceso a las hembras. A su vez, la forma convexa de sus opérculos, al adaptarse mejor a la forma de la conchilla de las hembras durante la cópula, otorgaría una ventaja competitiva a la hora de ser embestidos por machos competidores.

Al momento de la eclosión, las conchillas de *P. americanista*, *Pomacea* sp1 y *P. megastoma* exhibieron  $1\frac{1}{8}$ ,  $1\frac{1}{6}$  y  $1\frac{1}{4}$  de vuelta, respectivamente. Ésta última tuvo el mismo número de vueltas que *Pomacea maculata*, y todas tuvieron menos que *P. canaliculata*, que muestra  $1\frac{3}{4}$  de vuelta, según lo medido sobre micrografías de Hayes *et al.* (2012) tomadas con MEB. Las tres especies en estudio presentaron una protoconcha y una teleoconcha pre-eclosión desprovistas de pelos periostracales, pero estos empezaron a observarse tres semanas después de la eclosión en *P. americanista*, y una semana más tarde en los individuos de *P. megastoma* y *Pomacea* sp1, mientras que en *P. canaliculata* dichos pelos

ya son visibles pocos días después de la eclosión (Estebenet *et al.*, 2006). Las cohortes de neonatos nacidos en nuestro laboratorio mostraron diferencias de coloración que permiten diferenciar las tres especies entre sí, pero no se logró discriminarlos a través de su observación en el MEB, donde no mostraron diferencias cualitativas relevantes.

Si bien se hallaron diferencias significativas en las tallas a la eclosión de *P. megastoma*, *P. americanista* y *Pomacea* sp1 (2,5; 2,6 y 2,8 mm, respectivamente), éstas se asemejan a las de *P. canaliculata* (2,5 mm; Martín & Estebenet, 2002) y *Pomacea bridgesii* (2,4 mm; Coelho *et al.*, 2012). Las tres especies en estudio muestran neonatos de tallas superiores a *Asolene platae* (1,4; Tiecher *et al.*, 2014) y *P. maculata* (1,2 mm; Hayes *et al.*, 2012) y menores que *Pomacea paludosa* (3,4 mm; Hanning, 1979). El tamaño de los neonatos ha sido considerado un factor que influye en la vulnerabilidad de los ampuláridos frente a depredadores de moluscos y puede ser relevante para su establecimiento en lugares donde estos depredadores están presentes (Dorn & Hafsadi, 2016; Davidson & Dorn, 2017). Los neonatos de las tres especies en estudio parecen estar entre los menos susceptibles a crustáceos depredadores como *Aegla* spp. y *Trichodactylus* spp., que son comunes en la cuenca del Río de la Plata (Domínguez & Fernández, 2009).

Si bien *Pomella megastoma* ya había sido aceptada dentro del género *Pomacea* por Hayes *et al.* (2015), la inclusión de *Pomella americanista* en dicho género no había sido abordada. Las características de sus masas de huevos, presentadas a continuación, apoyan el pasaje de *Pomella* a *Pomacea*, permitiendo la nueva combinación *Pomacea americanista*. Éstas son depositadas sobre sustratos emergentes y están compuestas por decenas a miles de huevos de cáscaras calcáreas, por lo que el modo reproductivo de *P. americanista* es el mismo que el descrito para otras especies de *Pomacea*. La única excepción dentro del género la constituye *Pomacea urceus* (Müller 1774), cuyas hembras incuban sus huevos y neonatos dentro de la conchilla mientras estivan enterradas en el barro (Burky, 1974). Tanto los huevos de *P. americanista* como los de *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 pertenecen al tipo 'suelto y esférico', considerado como el tipo más derivado

dentro de los linajes de *Pomacea* frente al tipo 'apretado y poliédrico', ambos definidos por Hayes *et al.* (2009b).

Las masas de huevos de *P. americanista* exhiben un color rosa pálido característico que permite distinguirlas de las de otras especies de *Pomacea* que habitan en la misma área (*P. maculata* y *P. canaliculata*), en las cuales el color es siempre más rojizo y brillante. En el caso de *P. megastoma* y *Pomacea* sp1, se dificulta la distinción de las masas de huevos a través del color, ya que, si bien fueron en su mayoría rosadas, algunas presentaron mayor intensidad de color llegando incluso a ser rojas. Es probable que el color se deba al carotenoide astaxantina, que ha sido encontrado en otras especies de *Pomacea* y, dependiendo de los carbohidratos conjugados, puede exhibir cierta variación (Heras *et al.*, 2007). El color intenso que presentan las masas de huevos de algunas especies del género ha sido caracterizado como aposemático, y estaría relacionado con las propiedades neurotóxicas y antinutritivas de las proteínas perivitelinas (Dreón *et al.*, 2013). A pesar de que las masas de huevos de las tres especies en estudio no parecen ser tan claramente aposemáticas para el ojo humano, no se observó ninguna evidencia de depredación sobre ellas. El tono grisáceo o amarronado observado en las masas de huevos durante los últimos días de su desarrollo seguramente se deba a la pigmentación de los embriones, visible a través de la fina cáscara, pero también a una disminución del colorido fluido perivitelino, que es consumido por los embriones durante su desarrollo.

Los huevos de *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 mostraron áreas concéntricas de diferentes tonalidades alrededor de su punto más expuesto. Dichas áreas surgen probablemente durante la desecación de los huevos y dependen de la velocidad a la que ésta ocurre, ya que no estaban presentes en las masas de huevos recién depositadas. Además, en el caso de *P. americanista*, fueron más notorias y complejas en el campo (Misiones), donde la temperatura es más alta, y por lo tanto el secado ocurriría a mayor velocidad, mientras que la temperatura a la que se secaron los huevos de *P. megastoma* en el laboratorio fue quizás algo superior a la del campo (Entre Ríos), y por ende las áreas

concéntricas fueron más evidentes aquí. Si bien estos círculos concéntricos no han sido descritos para otras especies de *Pomacea*, algunas publicaciones muestran fotografías con señales del mismo efecto (por ejemplo: Rawlings *et al.*, 2007; Hayes *et al.*, 2009b).

Aunque no mostraron diferencias significativas en el largo de las masas de huevos, *Pomacea* sp1, *P. americanista* y *P. megastoma* difirieron en el ancho de las mismas, tanto en el campo (2,06; 2,36 y 2,70 cm, respectivamente) como en el laboratorio (1,76; 1,50 y 1,95 cm, respectivamente). Esta diferencia podría estar relacionada con el ancho del pie de las hembras, en cuya parte anterior se acumulan los huevos antes de ser depositados sobre el sustrato y, por lo tanto, con el tamaño máximo de las mismas (Capítulo 3).

Tanto en el campo como en el laboratorio, el diámetro de los huevos de *Pomacea* sp1, *P. americanista* y *P. megastoma* fue significativamente diferente. Los diámetros medios de los huevos de las tres especies en estudio están incluidos dentro de un rango de 2,91 a 3,46 mm, valores cercanos a los de *P. canaliculata* (2,24 a 3,47 mm; Estebenet & Cazzaniga, 1993; Wu *et al.*, 2011) y *Pomacea scalaris* (2,69 mm; Wu *et al.*, 2011), pero más grandes que lo publicado para *P. maculata* (1,94 mm; Barnes *et al.*, 2008) y algo más pequeños que los 4,4 mm de *P. paludosa* (Hanning, 1979), que son los huevos de mayor tamaño reportados para especies no incubadoras de *Pomacea*. Las tres especies en estudio caen dentro de la tendencia general propuesta por Hayes *et al.* (2015), donde el número de huevos por masa de huevos (Capítulo 3) en especies no incubadoras de *Pomacea* está inversamente relacionado con el tamaño del huevo, y a su vez éste se relaciona positivamente con el tamaño del neonato. Las observaciones hechas sobre estas dos especies previamente incluidas en el género *Pomella* y sobre *Pomacea* sp1 mostraron que sus huevos y sus masas de huevos no son cualitativamente diferentes de las de otras especies de *Pomacea*.

Con respecto al aparato copulatorio masculino *P. megastoma* y *Pomacea* sp1, tuvieron algunas características en común, diferentes a las de *P. americanista* (Tabla 5.1), tales como una vaina del pene claramente más ancha y abultada en su base que en su punta,

característica que comparten con *P. canaliculata*, *P. lineata* (Spix 1827), *P. maculata* y *P. diffusa* (Thiengo *et al.*, 1993; Simone, 2004), y posicionada más hacia la derecha que en *P. americanista* con respecto a la cabeza del caracol.

**Tabla 5.1.** Cuadro comparativo del aparato copulatorio de *Pomacea* sp1, *P. americanista* y *P. megastoma*.

	<i>Pomacea</i> sp1	<i>P. americanista</i>	<i>P. megastoma</i>
Vaina del pene	Bien desarrollada. Recta. Con fuerte estrechamiento distal. Color gris claro	Bien desarrollada. Recta. Con leve estrechamiento distal. Color gris rosado o anaranjado.	Bien desarrollada. Recta. Con fuerte estrechamiento distal. Color gris oscuro.
Glándula apical	Con dos zonas bien diferenciadas: central blanquecina, periférica marrón claro.	Con dos zonas bien diferenciadas: central blanquecina, periférica marrón anaranjada.	Con dos zonas bien diferenciadas: central blanquecina, periférica marrón claro.
Glándula medial	Siempre presente y visible sobre el margen derecho. Circular u ovalada.	A veces presente, total o parcialmente cubierta por el margen izquierdo. Pequeña.	Nunca presente.
Glándula basal	Presente	Presente	Presente
Poros de la glándula basal	Forma circular, muy pequeño.	Forma de hendidura diagonal.	Forma de "C".
Surco de la vaina del pene	Recto o acodado hacia la izquierda. Margen izquierdo se superpone al derecho solo en la mitad distal de la vaina.	Acodado hacia la derecha (cuando no hay glándula medial) o en forma de "S" (cuando la glándula medial está presente).	Recto o acodado hacia la izquierda. Margen izquierdo se superpone al derecho en toda la longitud del surco.
Muesca en el surco de la vaina	Presente	Presente	Presente
Bolsillo del pene	Ovoide. Base ocupa aproximadamente 1/3 del bolsillo. Prolongación evidente.	Casi esférico. Base ocupa aproximadamente 1/2 del bolsillo. Prolongación evidente.	Casi esférico. Base ocupa aproximadamente 1/2 del bolsillo. Prolongación presente en solo un ejemplar.
Longitud del pene	Aprox. 40 mm (conchilla de 43,2 mm).	Aprox. 50 mm (conchilla de 50,4 mm).	Aprox. 52,5 mm (conchilla de 64,5 mm).

Aunque la vaina del pene de *P. megastoma* fue casi tan ancha como larga, el tamaño general de la misma no fue tan grande como se esperaría para un caracol de su talla. Las tres especies poseen una vaina recta, a diferencia de *P. scalaris*, *P. haustum* y *P. sordida*

(Swainson 1823), en las cuales la vaina se encuentra curvada hacia la derecha (Thiengo, 1989; Souza Lopes, 1955), y también comparten un pliegue sobre el borde inferior de la zona apical, a través del cual parece emerger el pene desde el surco de la vaina durante la cópula. Este pliegue o muesca también fue observado en machos de *P. canaliculata* y se lo denomina surco T, debido a su forma (Andrews, 1964; Albrecht *et al.*, 1996; Burela & Martín, 2009).

La posición del ctenidio con respecto a la vaina del pene tampoco fue diferente entre las especies, ya que su forma y extensión sobre la base de la vaina fue variable, incluso entre ejemplares de la misma especie. La coloración del tegumento externo de la vaina, varió entre las tres especies y fue constante entre individuos de una misma especie, siendo gris oscuro en *P. megastoma*, gris claro en *Pomacea* sp1 y gris anaranjado en *P. americanista*.

El complejo peneano es similar en las tres especies estudiadas y se asemeja a los descritos para *P. canaliculata* (Thiengo *et al.*, 1993), *P. sordida* (Souza Lopes, 1955; Thiengo, 1989) y *P. lineata* (Thiengo, 1987). Lo mismo ocurre con las características del pene y su longitud, que en las especies nombradas corresponde a un 81 a 99 % de la longitud de la conchilla del caracol, a excepción de *P. sordida*, cuyo pene más corto y grueso constituye un 60,5 % del largo. La prolongación del bolsillo del pene, por donde el pene desenrollado se dirige hacia la vaina, es gruesa y evidente en *P. americanista* y más aún en *P. megastoma*, pero no en *Pomacea* sp1, ya que solo fue observada en un ejemplar. La estructura que acompaña al bolsillo del pene dentro del complejo peneano fue nombrada como la base del pene por Simone (2004), mientras que Hylton Scott (1943) se refiere a la misma como una glándula de función desconocida. La disección realizada en el laboratorio sobre los complejos peneanos de *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 revelan que esta estructura blanquecina tiene forma tubular, gruesa y curva, sin aspecto glandular, congruente con la descripción de Simone (2004).

Debido a la variación que existe en la morfología y coloración de las distintas partes de la vaina del pene entre individuos de una misma especie, resulta necesario hacer hincapié en la forma y posición de las glándulas anexas. Las tres especies estudiadas mostraron una glándula apical diferenciada en dos zonas: una periférica rugosa y una central lisa, que en *Pomacea* sp1 está levemente más desplazada hacia la punta de la vaina que en *P. megastoma* y *P. americanista*. Esta glándula ayudaría a la fijación del extremo de la vaina en la cavidad paleal de la hembra (Andrews, 1964); en *P. canaliculata* se reportó que esta adhesión ocurre por encima del poro genital femenino (Gamarra-Luques *et al.*, 2006), por lo que quizás la posición de esta glándula en la vaina del pene de los machos de *Pomacea* sp1 esté asociada con la anatomía reproductiva de sus hembras.

La glándula basal está presente en las tres especies en estudio y, a juzgar por la forma general de la vaina del pene, con una base más ancha y abultada en *P. megastoma* y *Pomacea* sp1, es posible que en estas especies sea de mayor tamaño que en *P. americanista*. La diferencia más clara entre las tres especies estudiadas, fue la forma y el tamaño del poro que abre al exterior, grande y en forma de "C" en *P. megastoma*, muy pequeño y circular en los ejemplares de *Pomacea* sp1 y con forma de hendidura diagonal, en *P. americanista*. Esta última forma se asemeja a las descritas para *P. canaliculata* (Thiengo *et al.*, 1993), *P. sordida* (Thiengo, 1989) y *P. lineata* (Thiengo, 1987). La función de esta glándula no es clara y se han propuesto diferentes hipótesis tales como la producción de repelentes de otros machos (Andrews, 1964), la lubricación del pene (Gamarra-Luques *et al.*, 2006) y la secreción de regalos nupciales durante la cópula (Burela & Martín, 2007). La secreción liberada por la glándula basal durante la cópula también fue observada en el género *Marisa* (Berthold, 1991), por lo que es posible que otras especies de ampuláridos, incluidos *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 tengan un comportamiento similar.

La glándula medial fue la principal diferencia entre las tres especies en estudio, ya que es siempre evidente a simple vista en los ejemplares de *Pomacea* sp1 y nunca está presente en los de *P. megastoma*, confirmando lo publicado por Hylton Scott (1943),

mientras que en los machos de *P. americanista* su presencia es ocasional y, cuando está, es más pequeña que en *Pomacea* sp1 y permanece total o parcialmente cubierta por el margen izquierdo de la vaina. La glándula medial se encuentra presente en otros ampuláridos tales como *P. canaliculata* (Thiengo *et al.*, 1993), *P. haustum* (Souza Lopes, 1955), *P. sordida* (Thiengo, 1989), *P. lineata* (Simone, 2004) y *P. maculata* (Joshi & Sebastian, 2006). Ampuero León (2013), en su descripción sobre *Pomacea guyanensis* (Lamarck 1822), una especie presente en Perú, afirma que esta especie presenta tres glándulas en la cara ventral de la vaina del pene: dos en la región distal, sobre un área rugosa, y una en la proximal, en la parte media de la vaina. Las fotografías publicadas en dicho trabajo demuestran que las dos glándulas de la región distal se corresponden con la apical y medial descritas en esta tesis, mientras que la de la región proximal no fue observada en ninguna de las tres especies estudiadas. Si bien no hay suficiente información publicada sobre la función de la glándula medial, se sugirió que su secreción pegajosa junto con la de la glándula basal colaborarían en la sujeción de las hembras durante la cópula (Andrews, 1964; Gamarra-Luques, 2006).

El hecho de que cada especie posea un patrón propio de glándulas, sugiere que podría existir algún tipo de excitación de las hembras, que permitiría dilatar el gonoporo y facilitar el ingreso del pene, constituyendo así el patrón un mecanismo llave-cerradura (Ampuero León, 2013). Los géneros neotropicales de ampuláridos muestran un grado de diferenciación en el desarrollo de la vaina del pene y en la microanatomía de la glándula basal, que podrían interpretarse como especializaciones para la transferencia eficiente de esperma (Berthold, 1989, 1991; Bieler, 1993).

Los datos aquí obtenidos acerca de las diferencias morfológicas que presenta *Pomacea* sp1 con respecto a *P. americanista* y *P. megastoma*, tanto en la talla y forma de sus conchillas y opérculos, como en las características externas de los huevos, las masas de huevos y las vainas del pene, se suman a las encontradas bajo condiciones homogéneas en diversos rasgos de su ciclo de vida (Capítulo 3) y en sus parámetros demográficos

(Capítulo 4). Esta información permite inferir que las diferencias van más allá de lo ecológico, y apoyan la idea de que *Pomacea* sp1 es una especie diferente de *P. megastoma*.

## Capítulo 6: CONCLUSIONES, CONSIDERACIONES FINALES Y PERSPECTIVAS

Los resultados obtenidos a lo largo de esta tesis proporcionan información nueva sobre la distribución y las principales características biológicas y ecológicas de *Pomacea americanista* y *Pomacea megastoma*, dos especies de ampuláridos que típicamente habitan fondos duros y aguas rápidas de la Mesopotamia Argentina. Asimismo, provee información biológica y ecológica de *Pomacea* sp1, una población de caracoles presente en un afluente del río Uruguay, que probablemente constituya una tercera especie.

### 6.1. Variación morfológica y ecológica interespecífica

La revisión de colecciones malacológicas de los museos permitió evidenciar la escasa información disponible que existe sobre *P. americanista*, ya que la similitud en la forma de sus conchillas la ha llevado a ser frecuentemente confundida con *P. megastoma* (Capítulo 2). Sin embargo, aquí mostramos que *P. americanista* constituye una especie bien distinguible, con una espira más elevada y una sutura acanalada entre los anfractos adyacentes (Capítulo 5), entre otros rasgos morfológicos y ecológicos. En su ambiente natural, se observó que las conchillas de *Pomacea* sp1 poseen características muy similares a las de *Pomacea americanista* y *Pomacea megastoma*, tales como una amplia abertura, un opérculo relativamente pequeño y una espira de poca altura (Capítulo 5), y ocupan hábitats semejantes. Si bien la similitud es aún mayor con *P. megastoma*, presentan sutiles diferencias en la forma del hombro de sus conchillas, más redondeado en *Pomacea* sp1 (Capítulo 5), y una importante diferencia en las tallas máximas, siendo las conchillas de *P. megastoma* notablemente más grandes.

La cría de las tres cohortes bajo condiciones estandarizadas y controladas (Capítulo 3) permite afirmar que la menor talla de *Pomacea* sp1 con respecto a las otras dos especies posee un origen genético, ya que las diferencias observadas en el campo persistieron en los individuos criados en el laboratorio, donde la influencia ambiental fue idéntica. Por lo tanto, es posible descartar el origen ecofenotípico de estas diferencias, y con ello la hipótesis de que *Pomacea* sp1 pudiera ser una población “enanizada” o un ecotipo de *P. megastoma* resultado de condiciones ecológicas diferentes, apoyando la idea de que *Pomacea* sp1 constituye una especie aun no descrita.

La aplicación de modelos cuantitativos a las cohortes de laboratorio permitió detectar diferencias entre las especies estudiadas en el crecimiento corporal de hembras y de machos (Capítulo 4), presentando *P. megastoma* las mayores tallas asintóticas y una baja tasa de crecimiento específico, mientras que *Pomacea* sp1 exhibe las menores tallas asintóticas, y al igual que *P. americanista*, una tasa de crecimiento específico relativamente alta (Capítulo 4).

Las diferencias cuantitativas halladas en los rasgos de su ciclo de vida (Capítulo 3) fueron aún más importantes que las morfológicas, reforzando fuertemente la identidad de *Pomacea* sp1 como una especie distinta. Al ser criados de forma individual y bajo condiciones controladas, *Pomacea* sp1 demostró ser la especie más precoz sexualmente y menos longeva y *P. megastoma* la de mayor longevidad y la que más tardó en madurar sexualmente, mientras que *P. americanista* mostró valores intermedios en ambos rasgos (Capítulo 3).

El comportamiento nocturno de oviposición y el tipo de cópulas (subacuáticas y de larga duración) de las tres especies en estudio demostraron ser similares a otras especies del género *Pomacea* (Capítulo 3). En condiciones de laboratorio, las hembras de *P. americanista*, al igual que las de *P. canaliculata* (Estebenet & Martín, 2002), muestran un comportamiento de cópulas múltiples. *Pomacea megastoma* y *Pomacea* sp1, por el

contrario, participan de una o unas pocas cópulas en su vida, pero de mayor duración, revelando una relación inversa entre el número de cópulas y la duración de las mismas.

El tipo de huevos, de cáscara calcárea, depositados por estas tres especies sobre sustratos aéreos (Capítulo 3) y el desarrollo de neonatos autosuficientes desde el momento de la eclosión, apoyan su inclusión dentro del género *Pomacea*. Si bien Hayes *et al.* (2015) ya habían incluido a *P. megastoma* dentro del género, las masas de huevos de *P. americanista*, y mucho menos las de *Pomacea* sp1 no habían sido estudiadas, y por lo tanto su inclusión en el género había sido omitida. Solo recientemente y gracias a la información obtenida durante este trabajo sobre las características de sus masas de huevos, se propuso la nueva combinación *Pomacea americanista* (Gurovich *et al.*, 2017).

Las tres especies en estudio difieren entre sí tanto en el ancho de las masas de huevos como en el diámetro de los mismos, siendo *P. megastoma* la que presenta las masas de huevos más anchas con los huevos más pequeños. Además, las masas de huevos frescas de *P. americanista* pueden distinguirse de las de otras especies de *Pomacea* a través de su color más pálido (Capítulo 5).

Con respecto a los neonatos nacidos en el laboratorio, las diferencias en la coloración de *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 permiten diferenciar las especies entre sí, al menos entre las cohortes estudiadas; mientras que el número de vueltas de sus conchillas y su talla a la eclosión, aunque mostraron diferencias, no parecen ser útiles para discriminar las especies (Capítulo 5).

Si bien los aparatos copulatorios de *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 comparten algunas características con otros ampuláridos, poseen ciertas diferencias importantes entre sí, que podrían ser utilizadas como caracteres diagnósticos a nivel de especie, tales como la presencia y el tamaño de la glándula medial, una vaina del pene con base más ancha y abultada en *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 que en *P. americanista*, debido a una glándula basal de mayor tamaño cuyo poro también difiere en forma y tamaño entre las tres especies (Capítulo 5). Tanto el color como la forma general de las vainas del

pene fueron diferentes, sin embargo, dada la gran variación que puede existir entre individuos de una misma población, la forma y la posición de las glándulas anexas adquiere mayor utilidad para la identificación.

Las notables diferencias que presenta *Pomacea* sp1 con respecto a *P. americanista* y *P. megastoma*, tanto en características morfológicas como la forma y la talla de sus conchillas y sus opérculos, las características externas de sus huevos y las masas de huevos, y en las características de las vainas del pene (Capítulo 5), se suman a las encontradas en diversos rasgos de su ciclo de vida (Capítulo 3) y en los parámetros demográficos estimados (Capítulo 4). Esta información permite inferir que las diferencias van más allá de lo ecológico, y apoyan la idea de que *Pomacea* sp1 es una especie diferente de *P. megastoma* aunque con algunas características comunes propias, probablemente como resultado de un reciente ancestro en común.

A pesar de que hace un siglo que no se describían nuevas especies en la cuenca del Río de la Plata, el reciente descubrimiento de *Pomacea occulta* (Yang & Yu, 2019) y de otras especies aún no descritas del género *Pomacea* en Sudamérica (Hayes *et al.*, 2012), sumado a la alta tasa de especiación que existe en ambientes de cataratas y rápidos (Gutiérrez Gregoric & de Lucia, 2016), aporta razones suficientes para pensar que una especie como *Pomacea* sp1 persistió en la Mesopotamia Argentina sin ser descrita hasta ahora. Por otra parte, la escasez de estudios de campo que se han realizado hasta el momento en los cuerpos acuáticos de la zona constituye un apoyo adicional para esta hipótesis.

## 6.2. Distribución y hábitats

Los muestreos realizados en los ríos y arroyos de la Mesopotamia Argentina junto a la revisión de las colecciones malacológicas de los museos (Capítulo 2) permitieron realizar una aproximación de la distribución geográfica actual de las tres especies en estudio. Todas

poseen un área de distribución muy limitada, siendo la de *Pomacea americanista* restringida a un corto trayecto de los ríos Alto Paraná e Iguazú, mientras que *Pomacea megastoma* se ve limitada al río Uruguay y a la margen izquierda del Río de la Plata, evidenciando estas especies una distribución alopátrica. *Pomacea* sp1, por su parte, solo fue hallada sobre un afluente del río Uruguay y algunas conchillas cerca de la desembocadura sobre el cauce principal del río, sin embargo, en los museos se hallaron ejemplares compatibles con la morfología de *Pomacea* sp1, identificados como *P. megastoma*, en otras localidades. El contraste de los registros de museos con los muestreos de campo sugiere, para las tres especies, rangos de distribución más amplios en el pasado que pudieron verse reducidos durante el siglo XX, probablemente debido a la deforestación y la intensificación del uso del suelo (Clavijo & Scarabino, 2013), a la dispersión de especies invasoras y a la construcción de grandes represas hidroeléctricas situadas aguas arriba de su área de distribución (Clavijo & Scarabino, 2013; Martín *et al.*, 2013).

Tanto *P. americanista* como *P. megastoma* fueron encontradas sobre cursos de agua de fondos rocosos y corrientes rápidas (Capítulo 2), y muchas de sus características anatómicas, como la forma neritoide con amplia abertura y el gran cefalopodio musculoso (Capítulo 5) junto con su comportamiento al reptar, pueden ser explicadas como adaptaciones para vivir en estos ambientes, ya que minimizan la resistencia al flujo del agua. Sin embargo, las tres especies también fueron encontradas en aguas relativamente lentas (Capítulo 2), y fueron criadas exitosamente en acuarios con aguas quietas (Capítulo 3), lo que indica que la fuerte corriente no es necesaria para su subsistencia, aunque probablemente la toleran y resisten mejor que otros ampuláridos. En los ambientes de aguas rápidas quizás encuentran un nicho libre de competencia con otros ampuláridos, ya que, aunque la resistencia al flujo de agua solo ha sido estudiada para *P. canaliculata* (Seuffert & Martín, 2012), esta capacidad no sería compartida por otros miembros de la familia en la cuenca del Río de la Plata, y podría constituir su principal ventaja en dichos ambientes. Ninguna de las tres especies fue hallada sobre sustratos blandos o móviles

(Capítulo 2), por lo que la presencia de fondos duros en el ambiente sería una condición necesaria para subsistir, probablemente debido a su capacidad para adherirse estrechamente contra el sustrato (*clamping*), al igual que se observa en otros moluscos (por ejemplo: *Cellana tramoserica*; Ellem *et al.*, 2002), logrando una mayor resistencia ante las fuertes corrientes, e incluso ante el ataque de depredadores.

La presencia de sustratos emergentes cercanos y accesibles para depositar sus masas de huevos también parece ser un elemento necesario en los ambientes naturales de estas especies. Los sustratos adecuados para la oviposición se limitan mayormente a rocas, troncos y superficies planas como pilares de puentes y paredes de hormigón, ya que deben ser lo suficientemente fuertes para soportar el peso de las hembras fuera del agua.

### 6.3. Potencial biótico y resiliencia

Los rasgos del ciclo de vida pueden jugar un papel en el éxito invasivo de algunas especies de *Pomacea* (Keller *et al.*, 2007; Seuffert & Martín, 2017), pero también en la vulnerabilidad de otras (Tiecher *et al.*, 2016). Algunos de los rasgos que potencian la invasividad de las especies en estudio (Capítulo 3) en relación con la invasora *Pomacea canaliculata* son la alta supervivencia pre-reproductiva y el rápido crecimiento observados en *Pomacea americanista* y en *Pomacea* sp1, al igual que la gran longevidad que alcanzaron los individuos de *P. americanista* y de *P. megastoma*. Asimismo, la maduración relativamente temprana que presentó *Pomacea* sp1 y la capacidad de las hembras de las tres especies para almacenar esperma fértil podrían exponerlas como especies potencialmente invasoras. Sin embargo, estas especies también presentan rasgos de sus ciclos de vida que demuestran cierta vulnerabilidad: tanto *P. americanista* como *P. megastoma* muestran una maduración tardía de las hembras con respecto a las de la invasora *P. canaliculata*, y a su vez, las tres especies en estudio presentaron una baja fecundidad y baja viabilidad de sus huevos. Además, los individuos de *Pomacea* sp1 mostraron una baja longevidad y los de *P. megastoma* un crecimiento lento. En esta última

especie se suma la baja supervivencia pre-reproductiva de sus hembras, debida probablemente, en parte, a la tardía edad a la que maduran, que es por mucho la más alta reportada para un ampulárido neotropical.

A pesar del gran tamaño que alcanzan los adultos de *P. megastoma* (Capítulo 3) y las grandes masas de huevos que depositan (Capítulo 5), sus parámetros demográficos son indicativos de un bajo potencial biótico y una baja resiliencia (Capítulo 4), por lo que sus poblaciones no serían capaces de aumentar rápidamente ante la disponibilidad de nuevos hábitats ni de recuperarse rápidamente luego de un disturbio en el ambiente. En el caso de *P. americanista* y *Pomacea* sp1, aunque dichos parámetros no indican una resiliencia baja (Capítulo 4), tampoco alcanzan los altos valores de las especies invasoras y, por lo tanto, aunque aparentemente no tengan la capacidad de conquistar y dominar nuevos ambientes, sus poblaciones serían capaces de resistir ciertos cambios ambientales y persistir en sus ambientes nativos.

Dado que todos los individuos de las tres cohortes fueron criados sin hacinamiento y bajo condiciones óptimas de alimentación y temperatura, las tasas de fecundidad, de supervivencia y de crecimiento pueden haber sido mayores de lo que sucede bajo condiciones naturales, donde los parámetros demográficos indicarían resiliencias aun menores.

#### **6.4. Dimorfismo sexual**

*Pomacea americanista*, *Pomacea* sp1 y *Pomacea megastoma* presentan dimorfismo sexual tanto en la forma de sus conchillas y opérculos (Capítulo 5) como en la edad a la que alcanzan la madurez sexual (Capítulo 3) y en el crecimiento de sus conchillas (Capítulos 3 y 4), alcanzando las hembras de las tres especies mayores tallas que los machos.

Si bien el dimorfismo sexual en la forma de la conchilla ha sido observado en la mayoría de los ampuláridos estudiados hasta el momento, no es inherente a todas las

especies y podría ser característico, aunque no exclusivo, del género *Pomacea* (Tamburi *et al.*, en prensa). La forma diferencial de la conchilla y el opérculo de los machos parece tener la misma utilidad que sugieren Burela *et al.* (2014) para *P. canaliculata*, ofreciéndoles una ventaja competitiva frente a otros machos al momento de acceder a las hembras y de permanecer montados sobre las mismas durante la cópula (Capítulo 5), ya que en el laboratorio también fueron observados comportamientos agonísticos entre machos de las tres especies estudiadas aquí. Con respecto al crecimiento, si bien las tres especies presentaron dimorfismo sexual (Capítulo 3), exhibieron diferentes grados del mismo, siendo leve en *P. megastoma* y muy acentuado en *P. americanista*, obteniéndose una diferencia entre hembras y machos que sólo había sido observada en una población de *P. canaliculata* (Estebenet & Martín, 2003).

En *Pomacea* sp1 y de manera muy marcada en *P. americanista*, se registró dimorfismo sexual en la edad a la madurez, donde las hembras maduraron más tarde que los machos. Si bien este dimorfismo sexual parece ser común entre los ampuláridos, en *P. megastoma* no pudo observarse una diferencia significativa entre machos y hembras. Sin embargo, tal como fue propuesto para *P. canaliculata* (Tamburi & Martín, 2009), es probable que el dimorfismo sexual en la edad a la madurez de las especies en estudio sea mayor en condiciones naturales.

## 6.5. Conservación

A diferencia de otras especies de *Pomacea* que son invasoras exitosas, las especies estudiadas en esta tesis podrían ser caracterizadas como vulnerables, ya que poseen una distribución geográfica restringida y sus requerimientos de hábitat son aparentemente estrechos (Capítulo 2). Además, sus hábitats son muy frágiles por encontrarse sometidos a diversos impactos, tales como la presencia de grandes represas hidroeléctricas situadas aguas arriba de su área de distribución y los cambios en el uso de la tierra (Capítulo 1), que

aumentan la sedimentación sobre fondos duros. A esto se suma la diseminación de especies invasoras, especialmente el mejillón dorado *Limnoperna fortunei*, que representa una importante amenaza para los ampuláridos de fondos duros, ya que forman densas capas sobre los sustratos, aumentando su rugosidad y reduciendo la adherencia de los caracoles con cefalopodios anchos y planos, y hasta pueden crecer sobre sus conchillas.

*Pomacea* sp1 sólo fue encontrada en un área pequeña, en un afluente del río Uruguay (Capítulo 5), esta distribución tan limitada le otorga una especial vulnerabilidad y la posibilidad de estar amenazada. Esta única población conocida de *Pomacea* sp1 se encuentra en un sitio con cierto grado de protección, el Centro de Investigaciones “Antonia Ramos” (CIAR) que comprende un área de aproximadamente 500 hectáreas en la provincia de Misiones. Dado el alto grado de deforestación que afecta a esta zona de la provincia, el CIAR tal vez cumplió un papel importante en la perpetuación de *Pomacea* sp1, ya que allí se desarrolla un proyecto de restauración de bosque nativo y biodiversidad.

Tanto *P. americanista* como *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 pudieron ser criadas con éxito en el laboratorio, mostrando baja mortalidad durante las primeras semanas de vida y buen crecimiento; los neonatos demostraron ser precociales, es decir, independientes desde su nacimiento, tanto para alimentarse de fuentes externas como para respirar aire (Capítulo 3). Estas características ofrecen la posibilidad de criar estas especies en forma masiva para la posterior liberación y repoblación de sus hábitats naturales, en el caso de que fuera necesario, como se ha propuesto para *Pomacea paludosa* (Posch *et al.*, 2012; Garr *et al.*, 2012).

Además, ambas tienen gran potencial para ser utilizadas como especies paraguas, es decir que su protección ofrecería protección indirecta a otras especies con las que comparten su hábitat, siendo de gran utilidad para la conservación de ecosistemas de agua dulce del Parque Nacional Iguazú, en el caso de *P. americanista*, y del río Uruguay, en el caso de *P. megastoma*. Estas especies poseen atributos favorables para tal fin, como una gran longevidad, una amplia área de distribución dentro del área a proteger, sensibilidad

ante perturbaciones antrópicas y son fácilmente detectables en el campo, gracias a sus grandes tallas y a sus masas de huevos aéreas y conspicuas (Isasi-Catalá, 2011).

Los cursos de agua de la Mesopotamia Argentina poseen saltos y correderas aisladas que favorecen la diferenciación de especies y posibilitan la aparición de especies con alto grado de endemismo, como podría ser el caso de *P. americanista*, de *Pomacea* sp1 y de otras especies aun no descritas. Las represas hidroeléctricas provocan un ciclo artificial de crecidas aguas abajo durante los días laborables, que podrían perjudicar a estas especies al dejar sumergidas sus masas de huevos, reduciendo su viabilidad (Pizani *et al.*, 2005). Las entidades gubernamentales deben ser asesoradas acerca de la existencia de estas especies vulnerables, y sobre todo de las endémicas, al momento de aprobar proyectos que modifiquen sus ambientes naturales y elaborar, junto a los profesionales, estrategias para su conservación (Gutiérrez Gregoric & de Lucía, 2016; Vogler *et al.*, 2019).

## 6.6. Perspectivas

La combinación de los estudios realizados en esta tesis, tanto los morfológicos y los demográficos, como los referentes al crecimiento corporal y a los ciclos de vida de *Pomacea americanista*, *Pomacea megastoma* y *Pomacea* sp1, ha permitido obtener una visión más clara acerca de estas especies y sus ambientes naturales. La información aquí obtenida representa un aporte al conocimiento de la biología de los ampuláridos sudamericanos de fondos duros, que hasta el momento habían sido poco estudiados.

Si bien la evidencia presentada en esta tesis sugiere que *P. americanista*, *P. megastoma* y *Pomacea* sp1 son tres especies diferentes y diferentes en conjunto de otras especies de *Pomacea*, se requieren estudios microanatómicos, morfométricos y sobre todo genéticos para determinar la relación evolutiva de estas especies entre sí y con otros ampuláridos. De este modo se podría poner a prueba la hipótesis de que *P. megastoma* y

*Pomacea* sp1 son especies hermanas, con un origen común, mientras que *P. americanista* conformaría con ellas un caso de convergencia por compartir hábitats similares.

Las diferencias halladas entre estas tres especies en diversos rasgos incentivan la realización de estudios más profundos sobre *Pomacea* sp1, con el fin de confirmar su estatus específico. Se espera que la información aquí presentada, junto a estudios futuros sobre estas y otras especies, contribuya a la generación de nuevo conocimiento malacológico básico, tan necesario para resolver incógnitas taxonómicas, ecológicas, evolutivas y problemas de conservación.

## BIBLIOGRAFÍA

- ABADIE, J.P. (1998). El río y su cuenca. El río Uruguay. Empleo Histórico y Posibilidades Futuras. *Publicaciones de la Comisión Administradora del Río Uruguay*. Capítulo I: 5-27.
- AGOSTINHO, A.A.; THOMAZ, S.M. & GOMES, L.C. (2005). Conservation of the Biodiversity of Brazil's Inland Waters. *Conservation Biology*, 19 (3): 646-652.
- ALBRECHT, E.; CARREÑO, N.B. & CASTRO-VÁZQUEZ, A. (1996). A quantitative study of copulation and spawning in the South American apple-snail *Pomacea canaliculata* Lamarck (Prosobranchia, Ampullariidae). *The Veliger*, 39 (2): 142-147.
- AMPUERO LEÓN, A.A. (2013). Tesis: Diferenciación morfológica de las especies de "Churo" (Mollusca, Caeno Gastropoda: *Pomacea* spp.) comercializadas en Iquitos. Facultad de Ciencias Biológicas, E.A.P de Ciencias Biológicas: Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima, Perú. 138 pp.
- ANDREWS, E.B. (1964). The functional anatomy and histology of the reproductive system of some pilid gastropod molluscs. *Proceedings of the Malacological Society of London*, 36: 121-140.
- ANDREWS, E.B. (1965). The functional anatomy of the mantle cavity, kidney and blood system of some pilid gastropods (Prosobranchia). *Proceedings of the Zoological Society of London*, 146 (1): 70-94.
- ARRIGHETTI, F.; BREY, T.; MACKENSEN, A. & PENCHASZADEH, P.E. (2011). Age, growth and mortality in the giant snail *Adelomelon beckii* (Broderip 1836) on the Argentinean shelf. *Journal of Sea Research*, 65 (2): 219-223.
- ARSUFFI, T.L.; WHITESIDE, B.G.; SKALBERG, M.D. & BADOUGH, M.C. (1993). Ecology of the exotic giant ramshorn snail, *Marisa cornuarietis*, other biological characteristics, and species/ecological review of the literature of the Comal Springs ecosystem of south central Texas. Final Report, Edwards Underground Water District and City of New Braunfels.
- AUBONE, A. & WÖHLER, O.C. (2000). Informe Técnico: Aplicación del método de máxima verosimilitud a la estimación de parámetros y comparación de curvas de crecimiento de von Bertalanffy. *INIDEP* (Vol. 37, pp. 1-21). Mar del Plata. INIDEP.
- AUFDERHEIDE, J.; WARBRITTON, R.; POUNDS, N.; FILE-EMPERADOR, S.; STAPLES, C.; CASPERS, N. & FORBES, V. (2006). Effects of husbandry parameters on the life-history traits of the apple snail, *Marisa cornuarietis*: effects of temperature, photoperiod, and population density. *Invertebrate Biology*, 125 (1): 9-20.

- BARNES, M.A.; FORDHAM, R.K. & BURKS, R.L. (2008). Fecundity of the exotic applesnail, *Pomacea insularum*. *Journal of the North American Benthological Society*, 27 (3): 738-745.
- BERTHOLD, T. (1989). Comparative conchology and functional morphology of the copulatory organ of the Ampullariidae (Gastropoda, Monotocardia) and their bearing upon phylogeny and palaeontology. *Abhandlungen des Naturwissenschaftlichen Vereins in Hamburg (NF)*, 28: 141-164.
- BERTHOLD, T. (1991). Vergleichende Anatomie, Phylogenie und Historische Biogeographie der Ampullariidae (Mollusca: Gastropoda). *Abhandlungen des Naturwissenschaftlichen Vereins in Hamburg (NF)*, 29: 1-256.
- BIELER, R. (1993). Ampullariid phylogeny-Book review and cladistic re-analysis. *The Veliger*, 36: 291-291.
- BOGAN, M.T., BOERSMA, K.S., & LYTLE, D.A. (2015). Resistance and resilience of invertebrate communities to seasonal and suprasonal drought in arid-land headwater streams. *Freshwater Biology*, 60 (12): 2547-2558.
- BOLTOVSKOY, D.; KARATAYEV, A.; BURLAKOVA, L.; CATALDO, D.; KARATAYEV, V.; SYLVESTER, F. & MARINELARENA, A. (2009). Significant ecosystem-wide effects of the swiftly spreading invasive freshwater bivalve *Limnoperna fortunei*. *Hydrobiologia*, 636 (1): 271-284.
- BONETTO, A.A.; NEIFF, J.J. & DI PERSIA, D.H. (1986). The Paraná river system. En: *The ecology of river systems*, pp. 541-598. Springer, Dordrecht.
- BONETTO, A.A.; WAIS, J.R. & CASTELLO, H.P. (1989). The increasing damming of the Paraná basin and its effects on the lower reaches. *Regulated Rivers: Research & Management*, 4 (4): 333-346.
- BOUCHET, P. (1997). Inventorying the molluscan diversity of the world: what is our rate of progress? *The Veliger*, 40 (1): 1-11.
- BRUGNOLI, E.; CLEMENTE, J.; BOCCARDI, L.; BORTHAGARAY, A. & SCARABINO, F. (2005). Golden mussel *Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mytilidae) distribution in the main hydrographical basins of Uruguay: update and predictions. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 77 (2): 235-244.
- BURELA, S. & MARTÍN, P.R. (2007). Nuptial feeding in the freshwater snail *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae). *Malacologia*, 49 (2): 465-470.
- BURELA, S. & MARTÍN, P.R. (2009). Sequential pathways in the mating behavior of the apple snail *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Malacologia*, 51 (1): 157-164.

- BURELA, S. & MARTÍN, P.R. (2011). Evolutionary and functional significance of lengthy copulations in a promiscuous apple snail, *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Journal of Molluscan Studies*, 77 (1): 54-64.
- BURELA, S.; GUROVICH, F.M. & MARTÍN, P.R. (2014). Competencia directa por parejas entre machos de *Pomacea canaliculata* (Gastropoda, Ampullariidae). *Congreso Uruguayo de Zoología III*, Facultad de Ciencias, Universidad de la República. Montevideo, Uruguay (ROU).
- BURKY, A. (1974). Growth and biomass production of an amphibious snail, *Pomacea urceus* (Müller), from the venezuelan savannah. *Proceedings of the Royal Society of London*, 41: 127-143.
- BURLAKOVA, L.E.; KARATAYEV, A.Y.; PADILLA, D.K.; CARTWRIGHT, L.D. & HOLLAS, D.N. (2009). Wetland restoration and invasive species: apple snail (*Pomacea insularum*) feeding on native and invasive aquatic plants. *Restoration Ecology*, 27 (3): 1-8.
- CADIerno, M.P.; SAVEANU, L.; DREON, M.S.; MARTÍN, P.R. & HERAS, H. (2018). Biosynthesis in the albumen gland-capsule gland complex limits reproductive effort in the invasive apple snail *Pomacea canaliculata*. *The Biological Bulletin*, 235 (1): 1-11.
- CARLSSON, N.O.L.; BRÖNMARK, C. & HANSSON, L.A. (2004). Invading herbivory: the golden apple snail alters ecosystem functioning in Asian wetlands. *Ecology*, 85 (6): 1575-1580.
- CASTELLANOS, Z.J. & FERNÁNDEZ, D. (1976). Mollusca Gasteropoda Ampullariidae. *Fauna de Agua Dulce de la República Argentina*. PROFADU (CONICET), Buenos Aires 15: 5-33.
- CATALÁN, N.M.Y.; FERNÁNDEZ, S.N. & WINIK, B.C. (2002). Oviductal structure and provision of eggs envelopes in the apple snail *Pomacea canaliculata* (Gastropoda, Prosobranchia, Ampullariidae). *Biocell*, 26 (1): 91-100.
- CAZZANIGA, N.J. & ESTEBENET, A.L. (1984). Revisión y notas sobre los hábitos alimentarios de los Ampullariidae (Gastropoda). *Historia Natural*, 4 (22): 213-224.
- CAZZANIGA, N.J. & ESTEBENET, A.L. (1988). The effect of crowding on breeding *Pomacea canaliculata* (Gastropoda, Ampullariidae). *Comparative Physiology and Ecology*, 13 (3): 89-96.
- CLAVIJO, C. & SCARABINO, F. (2013). 3. Moluscos. En: *Especies prioritarias para la conservación en Uruguay. Vertebrados, moluscos continentales y plantas vasculares* (Soutullo, A., Clavijo, C. & Martínez-Lanfranco, J.A., Eds.), pp. 222. SNAP/DINAMA/MVOTMA y DICYT/MEC, Montevideo.
- CLAVIJO, C.; CARRANZA, A. & SCARABINO, F. (2008). Distribution of *Pomella megastoma* (Sowerby, 1825) (Gastropoda: Ampullariidae). En: Gallardo, C.S. (Ed.), VII

- Congreso Latinoamericano de Malacología* (pp. 280). Valdivia, Chile. Universidad Austral de Chile.
- CLIMATE-DATA.ORG. (2018). <https://es.climate-data.org/>. Consultada el 14 de agosto de 2021.
- COELHO, A.R.A.; CALADO, G.J.P. & DINIS, M.T. (2012). Freshwater snail *Pomacea bridgesii* (Gastropoda: Ampullariidae), life history traits and aquaculture potential. *AACL Bioflux*, 5 (3): 168-181.
- COLAUTTI, D.C. (1997). Ecología de la carpa *Cyprinus carpio*, en la cuenca del Río Salado, Provincia de Buenos Aires. Tesis Doctoral, Universidad Nacional de La Plata.
- COLOMBO, J.C.; SKORUPKA, C.N.; BILOS, C.; TATONE, L.; CAPPELLETTI, N.; MIGOYA, M.C.; ASTOVIZA, M. & SPERANZA, E. (2015). Seasonal and inter-annual variability of water quality in the Uruguay River, Argentina. *Hydrological Sciences Journal*, 60 (6): 1155-1163.
- COWIE, R.H. (2002). Apple snails (Ampullariidae) as agricultural pests: their biology, impacts and management. En: *Molluscs as crop pests* (Barker, G.M., Ed), pp. 145–192. CABI Publishing, Wallingford, New Zealand. 468 pp.
- COWIE, R.H. & HAYES, K.A. (2019). Ampullariidae Gray 1824. En: *Freshwater Mollusks of the World: A Distribution Atlas* (Lydeard, C. & Cummings, K.S., Eds.), pp. 37-42. JHU Press. 256 pp.
- COWIE, R.H. & THIENGO, S.C. (2003). The apple snails of the Americas (Mollusca: Gastropoda: Ampullariidae: *Asolene*, *Felipponea*, *Marisa*, *Pomacea*, *Pomella*): a nomenclatural and type catalog. *Malacología*, 45 (1): 41-100.
- COWIE, R.H.; HAYES, K.A. & THIENGO, S.C. (2006). What are apple snails? Confused taxonomy and some preliminary resolution. En: *Global Advances in Ecology and Management of Golden Apple Snails* (Ravindra, J.C. & Leocadio, S.S., Eds.), pp. 3-23. Philippine Rice Research Institute, Science City of Muñoz, Nueva Ecija, Phillipines. 600 pp.
- COWIE, R.H.; DILLON JR, R.T.; ROBINSON, D.G. & SMITH, J.W. (2009). Alien non-marine snails and slugs of priority quarantine importance in the United States: A preliminary risk assessment. *American Malacological Bulletin*, 27 (1/2): 113-132.
- COWIE, R.H., REGNIER, C., FONTAINE, B., & BOUCHET, P. (2017). Measuring the Sixth Extinction: what do mollusks tell us?. *The Nautilus*, 131 (1): 3-41.
- CHATELLENAZ, M.L. (2007). Fauna asociada a comunidades de plantas reófilas en el Parque Provincial Moconá (Misiones, Argentina). *Facena*, 23: 41-54.

- DAMBORENEA, C. & BRUSA, F. (2008). A new species of *Temnocephala* (Plathyhelminthes, Temnocephalida) commensal of *Pomella megastoma* (Mollusca, Ampullariidae) from Misiones, Argentina. *Revista Mexicana de Biodiversidad*, 79: 1-7.
- DARBY, P.C.; BENNETTS, R.E. & PERCIVAL, H.F. (2008). Dry down impacts on apple snail (*Pomacea paludosa*) demography: implications for wetland water management. *Wetlands*, 28 (1): 204-214.
- DARBY, P.C.; VALENTINE-DARBY, P.L.; PERCIVAL, H.F. & KITCHENS, W.M. (2004). Florida apple snail (*Pomacea paludosa* Say) responses to lake habitat restoration activity. *Archiv für Hydrobiologie*, 161 (4): 561-575.
- DARRIGRAN, G. & DAMBORENEA, C. (2006). *Bio-invasión del mejillón dorado en el continente americano*. Editorial de la Universidad Nacional de La Plata (EDULP), La Plata. 226 pp.
- DAVIDSON, A.T. & DORN, N.J. (2017). Life history traits determine the differential vulnerability of native and invasive apple snails (*Pomacea* spp.) to a shared juvenile-stage predator. *Aquatic Ecology*, 51 (3): 331-341.
- DE KOCK, K.N. & JOUBERT, P.H. (1991). Life-table experiments with *Helisoma duryi* (Wetherby) and *Biomphalaria pfeifferi* (Krauss) at constant temperatures. *African Zoology*, 26 (4): 149-152.
- DEMIAN, E.S. & IBRAHIM, A.M. (1971). The eggs masses, egg laying and mating behavior of the snail *Marisa cornuarietis* (L.). *Bulletin of the Zoological Society of Egypt*, 23: 1-12.
- DEMIAN, E.S. & IBRAHIM, A.M. (1972). Sexual dimorphism and sex ratio in the snail *Marisa cornuarietis* (L.). *Bulletin of the Zoological Society of Egypt*, 24: 52-63.
- DEMIAN, E.S. & YOUSIF, F. (1973). Embryonic development and organogenesis in the snail *Marisa cornuarietis* (Mesogastropoda: Ampullariidae). I. General outlines of development. *Malacologia*, 12 (1): 123.
- DI BITETTI, M.S.; PLACCI, G. & DIETZ, L.A. (2003). *Una Visión de Biodiversidad para la Ecorregión del Bosque Atlántico del Alto Paraná: Diseño de un Paisaje para la Conservación de la Biodiversidad y prioridades para las acciones de conservación*. World Wildlife Fund, Washington D.C. 154 pp.
- DILLON, R.T.J. (2000). *The ecology of freshwater molluscs*. Cambridge University Press, Cambridge. 509 pp.
- DOELLO-JURADO, M. (1915). Nota sobre el animal de la *Ampullaria megastoma* Sow. *Comunicaciones de la Sociedad Argentina de Ciencias Naturales*, II (9): 39-40.
- DOMÍNGUEZ, E. & FERNÁNDEZ, H.R. (2009). *Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos: sistemática y biología*. Fundación Miguel Lillo, Tucumán. pp.

- DORN, N.J. & HAFSADI, M. (2016). Native crayfish consume more non-native than native apple snails. *Biological Invasions*, 18 (1): 159-167.
- DREÓN, M.S.; FRASSA, M.V.; CEOLÍN, M.; ITUARTE, S.; QIU, J.-W.; SUN, J.; FERNÁNDEZ, P.E. & HERAS, H. (2013). Novel animal defenses against predation: a snail egg neurotoxin combining lectin and pore-forming chains that resembles plant defense and bacteria attack toxins. *PloS one*, 8 (5): e63782.
- EFSA. (2012). Scientific Opinion on the evaluation of the pest risk analysis on *Pomacea insularum*, the island apple snail, prepared by the Spanish Ministry of Environment and Rural and Marine Affairs. *EFSA Journal*, 10: 1-57.
- EFSA. (2014). Scientific opinion on the environmental risk assessment of the apple snail for the EU. *EFSA Journal*, 12 (4): 3641-3697.
- ELLEM, G.K.; FURST, J.E. & ZIMMERMAN, K.D. (2002). Shell clamping behaviour in the limpet *Cellana tramoserica*. *Journal of Experimental Biology*, 205 (4): 539-547.
- ESPINOSA-CHÁVEZ, F. & MARTÍNEZ-JERÓNIMO, F. (2005). Growth and fecundity of *Pomacea patula* (Caenogastropoda: Ampullariidae) when fed on gel diets of *Scenedesmus incrassatulus* (Chlorophyceae). *The Veliger*, 47 (3): 213-217.
- ESTEBENET, A.L. (1995). Food and feeding in *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae). *The Veliger*, 38: 277-283.
- ESTEBENET, A.L. & CAZZANIGA, N.J. (1992). Growth and demography of *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) under laboratory conditions. *Malacological review*, 25: 1-12.
- ESTEBENET, A.L. & CAZZANIGA, N.J. (1993). Egg variability and the reproductive strategy of *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae). *Apex* 8(4): 129-138.
- ESTEBENET, A.L. & CAZZANIGA, N.J. (1998). Sex-related differential growth in *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae). *Journal of Molluscan Studies*, 64: 119-123.
- ESTEBENET, A.L. & MARTÍN, P.R. (2002). *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae): life-history traits and their plasticity. *Biocell*, 26 (1): 83-89.
- ESTEBENET, A.L. & MARTÍN, P.R. (2003). Shell interpopulation variation and its origin in *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) from Southern Pampas, Argentina. *Journal of Molluscan Studies*, 69 (4): 301-310.
- ESTEBENET, A.L. & PIZANI, N.V. (1999). Elección de pareja, cópula y desove en *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae). *IV Congreso Latinoamericano de Malacología*. Coquimbo, Chile.
- ESTEBENET, A.L.; MARTÍN, P.R. & BURELA, S. (2006). Conchological variation in *Pomacea canaliculata* and other South American Ampullariidae (Caenogastropoda, Architaenioglossa). *Biocell*, 30: 329-335.

- FAIRBAIRN, D.J.; BLANCKENHORN, W.U. & SZÉKELY, T. (2007). *Sex, Size & Gender Roles Evolutionary Studies of Sexual Size Dimorphism*. Oxford University Press, Oxford. 266 pp.
- GAMARRA-LUQUES, C.; WINIK, B.C.; VEGA, I.A.; ALBRECHT, E.A.; CATALAN, N.M. & CASTRO-VÁZQUEZ, A. (2006). An integrative view to structure, function, ontogeny and phylogenetical significance of the male genital system in *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda, Ampullariidae). *Biocell*, 30: 345-357.
- GARR, A.L.; POSCH, H.; MCQUILLAN, M. & DAVIS, M. (2012). Development of a captive breeding program for the Florida apple snail, *Pomacea paludosa*: Relaxation and sex ratio recommendations. *Aquaculture*, 370-371: 166-171.
- GASCUE, A.; SCARABINO, F.; BORTOLOTTI, N.; CLAVIJO, C. & CAPDEPONT, I. (2019). El rol de los moluscos en las poblaciones prehispánicas de Uruguay. *Comechingonia*, 23 (1): 115-152.
- GIRAUD-BILLOUD, M.; GAMARRA-LUQUES, C. & CASTRO-VAZQUEZ, A. (2013). Functional anatomy of male copulatory organs of *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda, Ampullariidae). *Zoomorphology*: 1-15.
- GUROVICH, F.M.; BURELA, S. & MARTÍN, P.R. (2017). First description of egg masses, oviposition and copulation of a neglected apple snail endemic to the Iguazú and Alto Paraná Rivers. *Molluscan Research*, 37 (4): 242-251.
- GUTIÉRREZ GREGORIC, D.E. & DE LUCÍA, M. (2016). Freshwater gastropods diversity hotspots: three new species from the Uruguay River (South America). *PeerJ*, 4: e2138.
- GUTIÉRREZ GREGORIC, D.E.; NÚÑEZ, V.; RUMI, A. & ROCHE, M.A. (2006). Freshwater gastropods from del Plata Basin, Argentina. Checklist and new locality records. *Comunicaciones de la Sociedad Malacologica del Uruguay*, 9 (89): 51-60.
- HANNING, G.W. (1979). Aspects of reproduction in *Pomacea paludosa* (Mesogastropoda: Pilidae). Tesis doctoral. Florida State University. 151 pp.
- HAYES, K.A.; COWIE, R.H. & THIENGO, S.C. (2009a). A global phylogeny of apple snails: Gondwanan origin, generic relationships, and the influence of outgroup choice (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 98 (1): 61-76.
- HAYES, K.A.; COWIE, R.H.; THIENGO, S.C. & STRONG, E.E. (2012). Comparing apples with apples: clarifying the identities of two highly invasive Neotropical Ampullariidae (Caenogastropoda). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 166 (4): 723-753.
- HAYES, K.A.; JOSHI, R.C.; THIENGO, S.C. & COWIE, R.H. (2008). Out of South America: multiple origins of non-native apple snails in Asia. *Diversity and Distributions*, 14: 701-712.

- HAYES, K.A.; COWIE, R.H.; JØRGENSEN, A.; SCHULTHEIß, R.; ALBRECHT, C. & THIENGO, S.C. (2009b). Molluscan models in evolutionary biology: apple snails (Gastropoda: Ampullariidae) as a system for addressing fundamental questions. *American Malacological Bulletin*, 27 (1/2): 47-58.
- HAYES, K.A.; BURKS, R.L.; CASTRO-VAZQUEZ, A.; DARBY, P.C.; HERAS, H.; MARTÍN, P.R.; QIU, J.-W.; THIENGO, S.C.; VEGA, I.A.; WADA, T.; YUSA, Y.; BURELA, S.; CADIerno, M.P.; CUETO, J.A.; DELLAGNOLA, F.A.; DREON, M.S.; FRASSA, M.V.; GIRAUD-BILLOUD, M.; GODOY, M.S.; ITUARTE, S.; KOCH, E.; MATSUKURA, K.; PASQUEVICH, M.Y.; RODRIGUEZ, C.; SAVEANU, L.; SEUFFERT, M.E.; STRONG, E.E.; SUN, J.; TAMBURI, N.E.; TIECHER, M.J.; TURNER, R.L.; VALENTINE-DARBY, P.L. & COWIE, R.H. (2015). Insights from an integrated view of the biology of apple snails (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Malacologia*, 58 (1-2): 245-302.
- HEILER, K.C.M.; VON OHEIMB, P.V.; EKSCHMITT, K.E. & ALBRECHT, C. (2008). Studies on the temperature dependence of activity and on the diurnal activity rhythm of invasive *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae). *Mollusca*, 26 (1): 73-81.
- HERAS, H.; DREON, M.S.; ITUARTE, S. & POLLERO, R.J. (2007). Egg carotenoproteins in neotropical Ampullariidae (Gastropoda: Arquitaenioglossa). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 146 (1-2): 158-167.
- HOLLING, C.S. (1973). Resilience and stability of ecological systems. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 4 (1): 1-23.
- HORGAN, F.G.; STUART, A.M. & KUDAVIDANAGE, E.P. (2014). Impact of invasive apple snails on the functioning and services of natural and managed wetlands. *Acta Oecologica*, 54: 90-100.
- HYLTON SCOTT, M.I. (1943). Sobre la organización de *Ampullaria* (*Asolene*) *megastoma* Sowerby. *Notas del Museo de La Plata*, 6 (70): 269-280.
- HYLTON SCOTT, M.I. (1958). Estudio morfológico y taxonómico de los ampuláridos de la República Argentina. *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales "Bernardino Rivadavia"*, 3 (5): 161.
- IHERING, H.v. (1919). Las especies de *Ampullaria* de la Argentina y la historia del Rio de la Plata. *Primera Reunión Nacional de la Sociedad Argentina de Ciencias Naturales*: 329-350.
- ISASI-CATALÁ E. (2011). Los conceptos de especies indicadoras, paraguas, banderas y claves: su uso y abuso en ecología de la conservación. *Interciencia*, 36 (1): 31-38.
- JAHAN, M.S.; AKTER, M.S.; SARKER, M.M.; RAHMAN, M.R. & PRAMANIK, M.N. (2001). Growth ecology of *Pila globosa* (Swainson)(Gastropoda: Pilidae) in simulated habitat. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 4 (5): 581-584.

- JERDE, C.L.; BAMPFYLDE, C.J. & LEWIS, M.A. (2009). Chance establishment for sexual, semelparous species: overcoming the Allee effect. *The American Naturalist*, 173 (6): 734-746.
- JØRGENSEN, A.; KRISTENSEN, T.K. & MADSEN, H. (2008). A molecular phylogeny of apple snails (Gastropoda, Caenogastropoda, Ampullariidae) with an emphasis on African species. *Zoologica Scripta*, 37 (3): 245-252.
- JOSHI, R. & SEBASTIAN, S.S. (2006). *Global advances in ecology and management of Golden Apple Snails*. Philippine Rice Research Institute, Philippines. 600 pp.
- JOSHI, R.C.; COWIE, R.H. & SEBASTIAN, L.S. (2017). *Biology and management of invasive apple snails*. Philippine Rice Research Institute (PhilRice), Maligaya, Science City of Muñoz. 424 pp.
- KAY, E.A. (1995). Hug a slug-save a snail: a status report on molluscan diversity and a framework for action. En: *The Conservation Biology of Molluscs* (Kay, E.A., Ed), pp. 53. The IUCN Species Survival Commission United Kingdom.
- KELLER, R.P.; DRAKE, J.M. & LODGE, D.M. (2007). Fecundity as a basis for risk assessment of nonindigenous freshwater molluscs. *Conservation Biology*, 21 (1): 191-200.
- KOCH, E.; WINIK, B.C. & CASTRO-VÁZQUEZ, A. (2009). Development beyond the gastrula stage and digestive organogenesis in the apple-snail *Pomacea canaliculata* (Architaenioglossa, Ampullariidae). *Biocell*, 33 (1): 49-65.
- KOMALAMISRA, C.; NUAMTANONG, S. & DEKUMYOY, P. (2009). *Pila ampullacea* and *Pomacea canaliculata*, as new paratenic hosts of *Gnathostoma spinigerum*. *Southeast Asian journal of tropical medicine and public health*, 40 (2): 243-246.
- KYLE, C.H.; KROPF, A.W. & BURKS, R.L. (2011). Prime waterfront real estate: apple snails choose wild taro for oviposition sites. *Current zoology*, 57 (5): 630-641.
- KYLE, C.H.; PLANTZ, A.L.; SHELTON, T. & BURKS, R.L. (2013). Count your eggs before they invade: identifying and quantifying egg clutches of two invasive apple snail species (*Pomacea*). *PloS one*, 8 (10): e77736.
- LAKE, P.S. (2000). Disturbance, patchiness, and diversity in streams. *Journal of the North American Benthological Society*, 19 (4): 573-592.
- LAKE, P.S. (2013). Resistance, resilience and restoration. *Ecological Management & Restoration*, 14 (1): 20-24.
- LINDBERG, D.R.; PONDER, W.F. & HASZPRUNAR, G. (2004). The Mollusca: relationships and patterns from their first half-billion years. En: *Assembling the tree of life* (Cacraft, J. & Donoghue, M.J., Eds.), pp. 252-278. Oxford University Press, USA. 591 pp.

- LOWE, S.; BROWNE, M.; BOUDJELAS, S. & DE POORTER, M. (2000). *100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database*. Invasive Species Specialist Group Auckland, New Zealand. 11 pp.
- LV, S.; ZHANG, Y.; LIU, H.-X.; HU, L.; YANG, K.; STEINMANN, P.; CHEN, Z.; WANG, L.-Y.; UTZINGER, J. & ZHOU, X.-N. (2009). Invasive snails and an emerging infectious disease: results from the first national survey on *Angiostrongylus cantonensis* in China. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 3 (2): e368.
- LYDEARD, C.; COWIE, R.H.; PONDER, W.F.; BOGAN, A.E.; BOUCHET, P.; CLARK, S.A.; CUMMINGS, K.S.; FREST, T.J.; GARGOMINY, O. & HERBERT, D.G. (2004). The global decline of nonmarine mollusks. *BioScience*, 54 (4): 321-330.
- MALDONADO, M.A. & MARTÍN, P.R. (2019). Dealing with a hyper-successful neighbor: effects of the invasive apple snail *Pomacea canaliculata* on exotic and native snails in South America. *Current Zoology*, 65 (3): 225-235.
- MARTÍN, P.R. & ESTEBENET, A.L. (2002). Interpopulation variation in life-history traits of *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) in southwestern Buenos Aires Province, Argentina. *Malacologia*, 44 (1): 153-163.
- MARTÍN, P.R.; BURELA, S. & TIECHER, M.J. (2013). Insights into the natural history of ampullariids from the lower Río de La Plata Basin, Argentina. *Tentacle*, 21: 11-13.
- MARTÍN, P.R.; ESTEBENET, A.L. & CAZZANIGA, N.J. (2001). Factors affecting the distribution of *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) along its southernmost natural limit. *Malacologia*, 43 (1/2): 13-23.
- MARTÍN, P.R.; BURELA, S.; SEUFFERT, M.E.; TAMBURI, N.E. & SAVEANU, L. (2019). Invasive *Pomacea* snails: actual and potential environmental impacts and their underlying mechanisms. *CAB Reviews*, 14 (42): 1-11.
- MARTÍN, S.M. (1980). Contribución al estudio histológico del complejo peniano de algunas ampularias argentinas (Mollusca, Ampullariidae). *Neotropica*, 26: 47-52.
- MARTÍN, S.M. & NEGRETE, L.H.L. (2007). Radular ultrastructure of South American Ampullariidae (Gastropoda: Prosobranchia). *Brazilian Journal of Biology*, 67 (4): 721-726.
- MARZOLF, N.; GOLLADAY, S.; MCCORMICK, P.; COVICH, A. & WILDE, S. (2018). Inter- and intra-annual apple snail egg mass dynamics in a large southeastern US reservoir. *Hydrobiologia*, 811: 155–171.
- MORRISON, W.E. & HAY, M.E. (2011). Feeding and growth of native, invasive and non-invasive alien apple snails (Ampullariidae) in the United States: Invasives eat more and grow more. *Biological Invasions*: 1-11.

- NARANJO MADRIGAL, H. (2011). Biología pesquera de la langosta *Panulirus gracilis* en Playa Lagarto, Guanacaste, Costa Rica. *Revista de Biología Tropical*, 59 (2): 619-633.
- NARDELLI, M.S.; BUENO, N.C.; LUDWIG, T.A.V. & GUIMARÃES, A.T.B. (2016). Structure and dynamics of the planktonic diatom community in the Iguassu River, Paraná State, Brazil. *Brazilian Journal of Biology*, 76 (2): 374-386.
- OCAÑA, F.A.; DE JESÚS NAVARRETE, A.; RIVERA, J.J.O.; DE JESÚS CARRILLO, R.M. & ESPÓSITOS, A.A.V. (2015). Population dynamics of the native apple snail *Pomacea flagellata* (Ampullariidae) in a coastal lagoon of the Mexican Caribbean. *Limnetica*, 34 (1): 69-78.
- ORFEO, O. & STEVAUX, J. (2002). Hydraulic and morphological characteristics of middle and upper reaches of the Paraná River (Argentina and Brazil). *Geomorphology*, 44 (3-4): 309-322.
- PAIN, T. (1972). The Ampullariidae, an historical survey. *Journal of Conchology*, 27 (7): 453-462.
- PASTORINO, G. & DARRIGAN, G. (2011). *Pomella megastoma*. *The IUCN Red List of Threatened Species* 2011: e.T189613A8755417. <https://dx.doi.org/10.2305/IUCN.UK.2011-2.RLTS.T189613A8755417.en>. Consultada el 30 de marzo de 2021.
- PIZANI, N.S.; ESTEBENET, A.L. & MARTÍN, P.R. (2005). Effects of submersion and aerial exposure on clutches and hatchlings of *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae). *American Malacological Bulletin*, 20: 55-63.
- POINTIER, J.P.; TOFFART, J.L. & LEFEVRE, M. (1991). Life tables of freshwater snails of the genus *Biomphalaria* (*B. glabrata*, *B. alexandrina*, *B. straminea*) and of one of its competitors *Melanooides tuberculata* under laboratory conditions. *Malacologia*, 33 (1-2): 43-54.
- POINTIER, J.P.; DELAY, B.; TOFFART, J.L.; LEFEVRE, M. & ROMERO-ALVAREZ, R. (1992). Life history traits of three morphs of *Melanooides tuberculata* (Gastropoda: Thiaridae), an invading snail in the French West Indies. *Journal of Molluscan Studies*, 58 (4): 415-423.
- PONDER, W.F.; COLGAN, D.J.; HEALY, J.M.; NÜTZEL, A.; SIMONE, L.R.L. & STRONG, E.E. (2008). Caenogastropoda. En: *Phylogeny and Evolution of the Mollusca* (Ponder, W.F. & Lindberg, D.R., Eds.), pp. 331-383. University of California Press, California. 488 pp.
- POSCH, H.; GARR, A.L.; PIERCE, R. & DAVIS, M. (2012). The effect of stocking density on the reproductive output of hatchery-reared Florida apple snails, *Pomacea paludosa*. *Aquaculture*, 360-361: 37-40.

- PRINGLE, C.M.; FREEMAN, M.C. & FREEMAN, B.J. (2000). Regional effects of hydrologic alterations on riverine macrobiota in the new world: tropical-temperate comparisons. *BioScience*, 50 (9): 807-823.
- RAWLINGS, T.A.; HAYES, K.A.; COWIE, R.H. & COLLINS, T.M. (2007). The identity, distribution, and impacts of non-native apple snails in the continental United States. *BMC Evolutionary Biology*, 7 (97): 1-14.
- RENNER-MARTIN, K.; BRUNNER, N.; KÜHLEITNER, M.; NOWAK, W.G. & SCHEICHER, K. (2018). On the exponent in the Von Bertalanffy growth model. *PeerJ*, 6: e4205.
- RÖHRDANZ ROSA, A.E. (2017). Los caracoles manzana (Ampullariidae; Gastropoda; Mollusca) en Uruguay: revisión y actualización de su distribución. *Centro Universitario Regional Este (CURE)* (Vol. Licenciatura Ciencias Biológicas). Maldonado, República Oriental del Uruguay. Universidad de la República. 43 pp.
- RUMI, A.; GUTIÉRREZ GREGORIC, D.E.; NÚÑEZ, V. & DARRIGRAN, G.A. (2008). Malacología Latinoamericana: Moluscos de agua dulce de Argentina. *Revista de Biología Tropical*, 56 (1): 77-111.
- SAHA, C.; PARVEEN, S.; CHAKRABORTY, J.; PRAMANIK, S. & ADITYA, G. (2017). Life table estimates of the invasive snail *Physa acuta* Draparnaud, 1805, occurring in India. *Ekología (Bratislava)*, 36 (1): 60-69.
- SAVEANU, L. & MARTÍN, P.R. (2013). Pedal surface collecting as an alternative feeding mechanism of the invasive apple snail *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Journal of Molluscan Studies*, 79 (1): 11-18.
- SAVEANU, L. & MARTÍN, P.R. (2015). Neuston: a relevant trophic resource for apple snails? *Limnologica*, 52: 75-82.
- SCARABINO, F. (2004). Conservación de la malacofauna uruguaya. *Comunicaciones de la Sociedad Malacologica del Uruguay*, 8 (82-83): 267-273.
- SCHORK, G. & ZANIBONI-FILHO, E. (2017). Structure dynamics of a fish community over ten years of formation in the reservoir of the hydroelectric power plant in upper Uruguay River. *Brazilian Journal of Biology*, 77 (4): 710-723.
- SCHULTE-OEHLMANN, U.; FIORONI, P.; OEHLMANN, J. & STROBEN, E. (1994). The genital system of *Marisa cornuarietis* (Gastropoda, Ampullariidae): A morphological and histological analysis. *Zoologische Beiträge (Neue Folge)*, 36 (1): 59-81.
- SENDRA, E.D. & FREYRE, L.R. (1978). Dinámica poblacional de *Bryconamericus iheringi* (Pisces: Tetragonopteridae) de la laguna de Chascomús. *Limnobiós*, 1 (8): 299-321.
- SENDRA, E.D. & FREYRE, L.R. (1981). Estudio demográfico de *Cheirodon interruptus interruptus* (Pisces, Tetragonopteridae) de la laguna de Chascomús: I. Crecimiento. *Limnobiós*, 2 (2): 111-126.

- SEUFFERT, M.E. & MARTÍN, P.R. (2009). Influence of temperature, size and sex on aerial respiration of *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) from Southern Pampas, Argentina. *Malacologia*, 51 (1): 191-200.
- SEUFFERT, M.E. & MARTÍN, P.R. (2012). A lentic dweller in lotic habitats: the behavior of the invasive South American apple snail *Pomacea canaliculata* in flowing water. *Aquatic Ecology*, 46: 129-142.
- SEUFFERT, M.E. & MARTÍN, P.R. (2017). Thermal limits for the establishment and growth of populations of the invasive apple snail *Pomacea canaliculata*. *Biological Invasions*, 19 (4): 1169-1180.
- SEUFFERT, M.E.; BURELA, S. & MARTÍN, P.R. (2010). Influence of water temperature on the activity of the freshwater snail *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda: Ampullariidae) at its southernmost limit (Southern Pampas, Argentina). *Journal of Thermal Biology*, 35 (2): 77-84.
- SEUFFERT, M.E.; SAVEANU, L. & MARTÍN, P.R. (2012). Threshold temperatures and degree-day estimates for embryonic development of the invasive apple snail *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Malacologia*, 55 (2): 209-217.
- SIMONE, L.R.L. (2004). Comparative morphology and phylogeny of representatives of the superfamilies of Architaenioglossans and the Annulariidae (Mollusca, Caenogastropoda). *Arquivos do Museu Nacional, Rio de Janeiro*, 62 (4): 387-504.
- SOUZA LOPES, H. (1955). Sobre duas espécies do genero "*Pomacea*" Perry, com um estudo da genitália em ambos os sexos. *Revista Brasileira de Biologia*, 15 (2): 203-210.
- SPACCESI, F. (2013). Abundance, recruitment, and shell growth of the exotic mussel *Limnoperna fortunei* in the Río de la Plata (Argentina). *Zoological Studies*, 52 (1): 1-11.
- STEARNS, S.C. (1992). *The evolution of life histories*. Oxford University Press, Oxford. 249 pp.
- STRONG, E.E.; GARGOMINY, O.; PONDER, W.F. & BOUCHET, P. (2008). Global diversity of gastropods (Gastropoda; Mollusca) in freshwater. *Hydrobiologia*, 595: 149-166.
- TAMBURI, N.E. & MARTÍN, P.R. (2009). Reaction norms of size and age at maturity of *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) under a gradient of food deprivation. *Journal of Molluscan Studies*, 75 (1): 19-26.
- TAMBURI, N.E. & MARTÍN, P.R. (2011). Effects of food availability on reproductive output, offspring quality and reproductive efficiency in the apple snail *Pomacea canaliculata*. *Biological Invasions*, 13 (10): 2351-2360.
- TAMBURI, N.E. & MARTÍN, P.R. (2012). Effect of food availability on morphometric and somatic indices of the apple snail *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda, Ampullariidae). *Malacologia*, 55 (1): 33-41.

- TAMBURI, N.E. & MARTÍN, P.R. (2013). Allometric and trophic effects on shell morphology of *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda, Ampullariidae) from a geometric morphometrics viewpoint. *Molluscan Research*, 33 (4): 223-229.
- TAMBURI, N.E.; TIECHER, M.J.; BURELA, S. & MARTÍN, P.R. (en prensa). Sexual dimorphism in apple snails' shell shape: is *Pomacea canaliculata* an exception or an example? *Anais da Academia Brasileira de Ciências*.
- TANAKA, K.; WATANABE, T.; HIGUCHI, H.; MIYAMOTO, K.; YUSA, Y.; KIYONAGA, T.; KIYOTA, H.; SUZUKI, Y. & WADA, T. (1999). Density-dependent growth and reproduction of the apple snail, *Pomacea canaliculata*: a density manipulation experiment in a paddy field. *Researches on Population Ecology*, 41 (3): 253-262.
- THIENGO, S.C. (1987). Observations on the morphology of *Pomacea lineata* (Spix, 1827)(Mollusca, Ampullariidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 82 (4): 563-570.
- THIENGO, S.C. (1989). On *Pomacea sordida* (Swainson, 1823)(Prosobranchia, Ampullariidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 84 (3): 351-355.
- THIENGO, S.C.; BORDA, C.E. & ARAÚJO, J.L. (1993). On *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822)(Mollusca; Pilidae: Ampullariidae). *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, 88 (1): 67-71.
- TIECHER, M.J.; BURELA, S. & MARTÍN, P.R. (2014). Mating behavior, egg laying, and embryonic development in the South American apple snail *Asolene pulchella* (Ampullariidae, Caenogastropoda). *Invertebrate Reproduction and Development*, 58 (1): 13-22.
- TIECHER, M.J.; BURELA, S. & MARTÍN, P.R. (2016). Life cycle of the South American apple snail *Asolene platae* (Maton, 1811)(Caenogastropoda: Ampullariidae) under laboratory conditions. *Journal of Molluscan Studies*, 82: 432-439.
- TIECHER, M.J., SEUFFERT, M.E. & MARTÍN, P.R. (2015). Thermal biology of the South American apple snail *Asolene platae* (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Malacologia*, 58 (1-2): 233-243.
- TIECHER, M.J.; SEUFFERT, M.E.; BURELA, S. & MARTÍN, P.R. (2017). Life table and demographic parameters of the Neotropical apple snail *Asolene platae* (Caenogastropoda, Ampullariidae). *American Malacological Bulletin*, 35 (2): 119-125.
- TURNER, R.L. (1996). Use of stems of emergent plants for oviposition by the Florida applesnail, *Pomacea paludosa*, and implications for marsh management. *Florida Scientist*, 59 (1): 34-49.
- TURNER, R.L. (1998). Effects of submergence on embryonic survival and developmental rate of the Florida applesnail, *Pomacea paludosa*: implications for egg predation and marsh management. *Florida Scientist*, 61: 118-129.

- UICN (2021). *The IUCN Red List of Threatened Species*. <http://www.iucnredlist.org>. Consultada el 30 de marzo de 2021.
- VOGLER, R.E.; BELTRAMINO, A.A. & RUMI, A. (2014). Threatened gastropods under the evolutionary genetic species concept: redescription and new species of the genus *Aylacostoma* (Gastropoda: Thiariidae) from High Paraná River (Argentina–Paraguay). *Zoological Journal of the Linnean Society*, 172 (3): 501-520.
- VOGLER, R.E.; RUMI, A.; GUZMÁN, L.B.; BELTRAMINO, A.A.; SERNIOTTI, E.N.; FERRARI, W. & PESO, J.G. (2019). Hidden diversity in waterfall environments: The genus *Acrorbis* (Gastropoda: Planorbidae) from the Upper-Paraná Atlantic Forest. *PloS one*, 14 (7): e0220027.
- WU, J.-Y.; WU, Y.-T.; LI, M.-C.; CHIU, Y.-W.; LIU, M.-Y. & LIU, L.-L. (2011). Reproduction and juvenile growth of the invasive apple snails *Pomacea canaliculata* and *P. scalaris* (Gastropoda: Ampullariidae) in Taiwan. *Zoological Studies*, 50 (1): 61-68.
- YANG, Q.-Q. & YU, X.P. (2019). A New Species of Apple Snail in the Genus *Pomacea* (Gastropoda: Caenogastropoda: Ampullariidae). *Zoological Studies*, 58 (13): 1-7.
- YANG, T.-B.; WU, Z.-D. & LUN, Z.-R. (2013). The apple snail *Pomacea canaliculata*, a novel vector of the rat lungworm, *Angiostrongylus cantonensis*: its introduction, spread, and control in China. *Hawaii Journal of Medicine & Public Health*, 72 (6 Suppl 2): 23-25.
- ZHU, G.-L.; TANG, Y.-Y.; LIMPANONT, Y.; WU, Z.-D.; LI, J. & LV, Z.-Y. (2019). Zoonotic parasites carried by invasive alien species in China. *Infectious Diseases of Poverty*, 8 (2): 1-17.