



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA



**Distribución geográfica y divergencia fenotípica del
caracol de agua dulce *Pectinidens diaphanus*
(Lymnaeidae), potencial hospedador de *Fasciola
hepatica* en el sur de la Patagonia**



ESTUDIANTE: ABAFATORI, MATÍAS

DIRECTORA: ALDA, PILAR

Bahía Blanca, Noviembre 2025



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA



**Distribución geográfica y divergencia fenotípica del
caracol de agua dulce *Pectinidens diaphanus*
(Lymnaeidae), potencial hospedador de *Fasciola
hepatica* en el sur de la Patagonia**

TESIS PARA OPTAR AL GRADO DE LICENCIADO EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

Matías Abafatori
Tesisista

Pilar Alda
Directora de Tesis

Título abreviado: Distribución geográfica y divergencia fenotípica de *Pectinidens diaphanus*



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR
DEPARTAMENTO DE BIOLOGÍA, BIOQUÍMICA Y FARMACIA



**Geographic distribution and phenotypic divergence
in the freshwater snail *Pectinidens diaphanus*
(Lymnaeidae), a potential host of *Fasciola hepatica*
in southern Patagonia**

BACHELOR'S THESIS IN BIOLOGICAL SCIENCES

Short title: Geographic distribution and phenotypic divergence of *Pectinidens diaphanus*

AGRADECIMIENTOS

A mis directores y compañeros del laboratorio de *Genética y Ecología Evolutiva* del CERZOS, Pili, Nico, Juli, Meli y Mica, quienes me abrieron las puertas de su laboratorio y desde el primer día me hicieron sentir parte. Por enseñarme lo que es el mundo de la investigación, por brindarme tantas herramientas, por incentivar y apoyarme en cada decisión, y por su tiempo. Aprendí y me llevo muchísimo de ustedes.

A Ceci Gauna, Fundasur y el CERZOS, por facilitar la infraestructura y los recursos necesarios para la cría de caracoles en laboratorio y el desarrollo de los análisis moleculares.

A Emilia Seuffert y Nicolas Tamburi, por su valioso asesoramiento y acompañamiento en el desarrollo de los análisis de morfometría geométrica.

A profes como Lalo, Nati Bulnes, Michi y Hugo, por acompañarme a lo largo de este proceso no solo desde lo académico, sino también desde lo humano, haciendo de este camino un espacio mucho más ameno y disfrutable.

A mi familia, papá, mamá y Anto, por darme la oportunidad de estudiar lo que me gusta y bancarme todo este tiempo. Por siempre creer en mí, acompañándome y apoyándome en cada paso festejando cada logro como si fuera de ustedes (y claro que lo es). Los quiero mucho.

Al trío galleta, Cuba y Abel, mis amigos de Bahía que se volvieron hermanos. Aparecieron para hacer la carrera mucho más linda, por aguantarme todos los días, por cada risa que nunca faltó y por su confianza.

A mis amigos de la uni, Vicky, Nati, Josce, Juan, Fer, Mica, Mechi, y Biolgues, quienes hicieron la carrera mucho más linda. Juntarse a estudiar con ustedes hacía todo más llevadero, por esas tardes de sala y recreos de mates interminables, por cada juntada y risas infinitas que nunca faltaron. Fueron lo mejor de la carrera.

A mis amigos de Carhué, Nacho, Beto y Joaco, quienes fueron parte de esto desde el día 1. Gracias por acompañarme en el proceso, por apoyarme en cada paso, por las risas que tampoco faltaron, y por festejar cada logro conmigo, gracias por su incondicionalidad.

Sin ustedes, nada de esto hubiera sido posible, es por eso, que parte de este logro también es de ustedes.

Y por último, a la Universidad Nacional del Sur, por brindarme el espacio para crecer tanto personal como profesionalmente, y por darme la oportunidad de conocer gente maravillosa.

RESUMEN

Pectinidens diaphanus es un caracol limneido endémico de la Patagonia austral cuya identificación taxonómica y distribución han sido históricamente inciertas. Dado su potencial rol como hospedador de *Fasciola hepatica* su correcta delimitación reviste importancia epidemiológica. A partir de 198 sitios de muestreos en el sur de Argentina y Chile, combinados con diagnósticos morfológicos y moleculares, confirmamos la presencia de *P. diaphanus* en 41 localidades, donde fue la única especie de Lymnaeidae. Su rango es más amplio de lo previamente documentado e incluye lagos, ríos, arroyos y charcas. Los análisis morfoanatómicos no detectaron diferencias significativas en las estructuras reproductivas entre poblaciones de hábitats contrastantes, reforzando el valor diagnóstico de estos caracteres internos. En cambio, la morfometría geométrica reveló una marcada divergencia en la forma de la concha según el tipo de ambiente: conchas más globosas en hábitats estables y más alargadas en ambientes temporales e inestables. Estas diferencias persistieron en la generación F₂ criada bajo condiciones controladas, indicando un componente genético heredable además de la plasticidad fenotípica. Este patrón destaca a *P. diaphanus* como modelo para estudiar la plasticidad y la diferenciación morfológica, y subraya la necesidad de enfoques integrativos para comprender su variación y relevancia epidemiológica en la Patagonia austral.

Palabras claves: Rango de Distribución, Morfometría, Heterogeneidad Ambiental.

ABSTRACT

Pectinidens diaphanus is a limneid snail endemic to southern Patagonia whose taxonomic identification and distribution have historically been uncertain. Given its potential role as a host of *Fasciola hepatica*, its accurate delimitation is of epidemiological relevance. Based on 198 sampling sites in southern Argentina and Chile, combined with morphological and molecular diagnostics, we confirmed the presence of *P. diaphanus* in 41 localities, where it was the only Lymnaeidae species detected. Its range is broader than previously documented and includes lakes, rivers, streams, and temporary pools. Morphoanatomical analyses revealed no significant differences in reproductive structures among populations from contrasting habitats, reinforcing the diagnostic value of these internal characters. In contrast, geometric morphometrics showed marked divergence in shell shape across environments: more globose shells in stable habitats and more elongated shells in temporary and unstable environments. These differences persisted in the F₂ generation reared under controlled conditions, indicating a heritable genetic component in addition to phenotypic plasticity. This pattern highlights *P. diaphanus* as a model for studying plasticity and morphological differentiation, and underscores the need for integrative approaches to understand its variation and epidemiological relevance in southern Patagonia.

Key words: Range Distribution, Morphometrics, Habitat Heterogeneity.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	2
2. MATERIALES Y MÉTODOS	6
2.1 Muestreo a campo y preservación de ejemplares	6
2.2. Identificación de limneidos y delimitación geográfica	6
2.3 Efecto de la heterogeneidad ambiental en la variación morfo-anatómica de poblaciones naturales	7
2.4 Análisis transgeneracional de la variación morfológica de la concha	9
3. RESULTADOS	10
3.1 Identificación de limneidos y delimitación geográfica	10
3.2 Efecto de la heterogeneidad ambiental en la variación morfoanatómica de poblaciones naturales	11
3.3 Análisis transgeneracional de la variación morfológica de la concha	13
4. DISCUSIÓN	14
5. CONCLUSIONES	18
6. BIBLIOGRAFÍA	19

1. INTRODUCCIÓN

La variación fenotípica entre individuos de una misma especie constituye un patrón recurrente en la naturaleza y surge de diferencias genéticas, influencias ambientales o de la interacción entre ambas (Albert et al., 2010; Walser & Haag, 2012). Entre los mecanismos que la generan, se destacan la plasticidad fenotípica —la capacidad de un mismo genotipo para producir múltiples fenotipos bajo distintas condiciones ambientales—, la adaptación local de base genética o interacciones más complejas entre genotipo y ambiente (DeWitt, 1998; Schneider, 2022). En otras palabras, la plasticidad permite que las poblaciones exhiban respuestas adaptativas rápidas frente a cambios ambientales, mientras que, si los rasgos están bajo fuerte selección y presentan alta heredabilidad, las poblaciones pueden experimentar adaptación local de base genética (Ehrenreich & Pfennig, 2016; Ghalambor et al., 2007). Diferenciar entre estos mecanismos requiere, por ejemplo, experimentos de cría controlada, como los diseños de “jardín común”, que permiten separar explícitamente los componentes ambientales y genéticos de la variación fenotípica (Kawecki & Ebert, 2004). Distinguir las fuentes genéticas y ambientales de la variación constituye un objetivo central de la ecología evolutiva, especialmente en ambientes heterogéneos o sujetos a cambios rápidos, donde las presiones selectivas fluctúan a lo largo del tiempo (Fox et al., 2019).

La Patagonia austral está caracterizada por un mosaico de hábitats acuáticos, que van desde lagos y ríos estables hasta arroyos y charcas inestables y temporales. Las condiciones abióticas generadas por períodos variables —ciclos de sequía e inundación— actúan como fuertes filtros de selección que moldean la fisiología y morfología de los organismos acuáticos (Williams, 2008). Los hábitats inestables imponen presiones ambientales severas, como el riesgo de desecación y las fluctuaciones extremas de temperatura, que requieren que los organismos acuáticos desarrollen o expresen rasgos adaptativos especializados para sobrevivir. Estos marcados gradientes selectivos pueden promover divergencia morfológica asociada al hábitat (Laurila et al., 2002). Si bien la variabilidad intraespecífica es el motor del cambio evolutivo, altos niveles de variación fenotípica dentro de las especies suelen complicar la sistemática y la taxonomía, dificultando la delimitación y el reconocimiento preciso de los límites entre especies (Fusco & Minelli, 2010).

Los gasterópodos de agua dulce constituyen un ejemplo clásico de cómo una amplia variación intraespecífica puede difuminar los límites entre especies y generar importantes desafíos taxonómicos. La concha de estos organismos cumple un papel ambivalente en la taxonomía: resulta clave para la identificación de especies, pero su alta variabilidad puede inducir errores de clasificación. Históricamente, la morfología de la concha ha sido un carácter central en la sistemática del grupo, aunque su variación refleja una compleja interacción entre factores genéticos y plasticidad inducida por el ambiente (e.g., Bonel et al., 2021; Bourdeau et al., 2015). Dado que los rasgos de la concha son altamente sensibles a variables ecológicas como la hidrodinámica, el tipo de sustrato o el riesgo de desecación, presiones selectivas similares pueden dar lugar a la aparición de morfologías convergentes en especies no emparentadas (Trussell, 2000; Whelan, 2021). Para superar las limitaciones de una clasificación basada

únicamente en la concha, los enfoques taxonómicos modernos adoptan estrategias integrativas que combinan datos morfológicos, moleculares, anatómicos y ecológicos, con el fin de lograr una identificación de especies más robusta (Dillon et al., 2013).

Dentro de estas estrategias integrativas, las estructuras reproductivas internas —particularmente los elementos del sistema reproductor— tienden a conservarse más que la concha a lo largo del tiempo evolutivo y, por lo tanto, proporcionan evidencia clave para confirmar la identidad específica en ambientes variables (Correa et al., 2011). Además, los análisis morfométricos contribuyen al cuantificar la variación de la concha de manera estandarizada, capturando diferencias de forma independientemente del tamaño, la rotación y la posición, lo que permite evaluar rigurosamente la divergencia morfológica intra- e interpoblacional (Mitteroecker & Gunz, 2009). Esta combinación de perspectivas morfológicas y moleculares resulta esencial para distinguir la variación inducida por el ambiente de la diferenciación genética subyacente, y garantizar que la diversidad fenotípica observada refleje plasticidad intraespecífica y no la presencia de taxones crípticos.

La delimitación precisa de las especies de caracoles es, por ejemplo, fundamental para garantizar una vigilancia epidemiológica y un control efectivo de las enfermedades transmitidas por estos organismos (Vázquez et al., 2023). Confiar exclusivamente en los caracteres de la concha suele conducir a errores de identificación, lo que puede provocar que especies de importancia sanitaria pasen inadvertidas o sean clasificadas erróneamente. Este problema es particularmente relevante en la familia Lymnaeidae, compuesta por caracoles de agua dulce que actúan como hospedadores intermediarios del trematodo *Fasciola hepatica* (Fig. 1A). Este parásito utiliza a los mamíferos como hospedadores definitivos y causa fasciolosis, una enfermedad zoonótica de gran impacto económico en la ganadería —especialmente en ovejas y bovinos (Fugassa, 2015; Vázquez et al., 2019). Además, constituye un problema emergente de salud pública que afecta a más de 2,4 millones de personas en más de 70 países del mundo (Engels & Savioli, 2006). Dentro de los limneidos, algunas especies morfológicamente similares difieren en su susceptibilidad a *Fasciola hepatica* (Alba et al., 2021; Ngcamphalala et al., 2025). Por ejemplo, *Galba truncatula* y *Galba schirazensis* son prácticamente indistinguibles en base a la morfología de la concha y la anatomía reproductiva (Lounnas et al., 2018). Sin embargo, solo *G. truncatula* es un hospedador competente para *F. hepatica*, mientras que *G. schirazensis* presenta un riesgo de infección mucho menor y un potencial vectorial limitado (Bargues et al., 2011; Celi-Erao et al., 2020; Vázquez et al., 2019). En Europa, la coexistencia y la similitud morfológica entre ambas especies han generado frecuentes errores de identificación, complicando las evaluaciones epidemiológicas del riesgo de fasciolosis.

En Sudamérica, varias especies de limneidos son hospedadores intermediarios de *Fasciola hepatica* (Correa et al., 2011). Dentro de este contexto, una especie en particular ha generado especial interés: *Pectinidens diaphanus* (P. P. King 1832; Fig. 1B), un limneido cuyo estatus taxonómico y distribución han sido históricamente difíciles de delimitar. Su identificación en el continente ha sido problemática porque se basó casi exclusivamente en caracteres de la concha, lo que condujo a frecuentes

confusiones con otros limneidos (Correa et al., 2010). Como resultado, los reportes históricos de la especie en países como Brasil, Perú, Uruguay e incluso Estados Unidos se consideran dudosos, ya que derivan únicamente de diagnósticos conquiológicos y probablemente correspondan a otros taxones (Correa et al., 2010). En contraste, los registros confiables de *P. diaphanus* se restringen actualmente a la Patagonia austral (Fig. 1C; Barges et al., 2012; Correa et al., 2010; Duffy et al., 2009; Paraense, 1984).

A escala regional, la Patagonia austral es un área donde la fasciolosis presenta una alta prevalencia y ejerce un impacto considerable en la producción ovina (Kleiman et al., 2007; Prepelitchi et al., 2011). En este escenario, *P. diaphanus* adquiere particular importancia porque, en el extremo sur del continente, parece ser el único representante de la familia Lymnaeidae. La ocurrencia más austral confirmada del hospedador ampliamente distribuido *Galba viator* se encuentra mucho más al norte, en torno a los 42° S en la Provincia de Chubut, Argentina (Rodríguez Quinteros et al., 2024; Soler et al., 2023, 2024). En consecuencia, *P. diaphanus* podría constituir el único hospedador intermediario disponible para *F. hepatica* en esta región, donde infecciones del parásito han sido registradas tanto en ganado como en mamíferos silvestres, incluidos los guanacos (Issia et al., 2009; Kleiman et al., 2007).

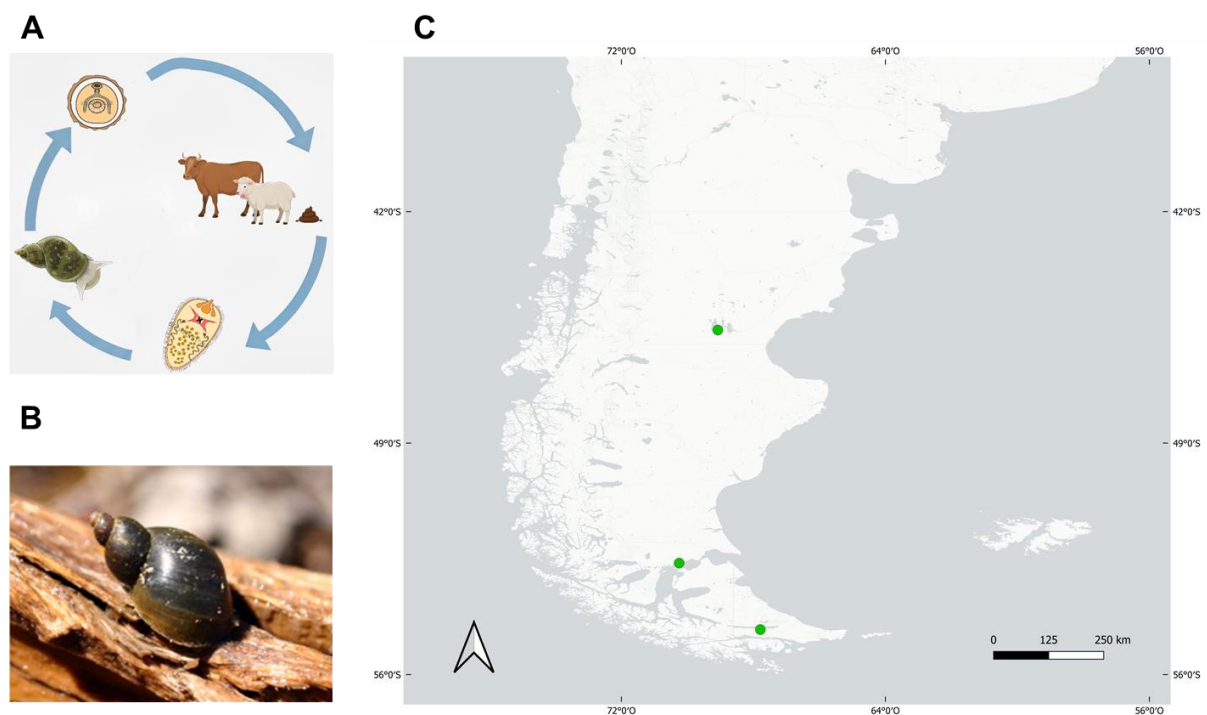


Fig. 1. A) Ciclo de vida *Fasciola hepatica*: los caracoles de agua dulce de la Familia Lymnaeidae actúan como hospedadores intermediarios y los mamíferos como hospedadores definitivos. B) *Pectinidens diaphanus*, caracol limneido de agua dulce. C) Registros de *P. diaphanus* en el sur de Argentina y Chile (Barges et al., 2012; Correa et al., 2011; Duffy et al., 2009; Paraense, 1984).

A pesar de su presunto rol como único hospedador intermediario de *Fasciola hepatica* en la Patagonia austral, *P. diaphanus* continúa siendo una especie poco conocida desde los puntos de vista biogeográfico y evolutivo. Existen dos cuestiones principales que aún limitan una comprensión integral de su historia natural. En primer lugar, su verdadero rango geográfico y su estatus taxonómico en esta

región ambientalmente heterogénea permanecen inciertos, debido a errores históricos de identificación y a la dependencia casi exclusiva de caracteres de la concha, los cuales son susceptibles a una amplia variación plástica. En segundo lugar, el origen de la marcada variación conquiológica observada entre los diferentes tipos de hábitats no ha sido evaluado experimentalmente, por lo que aún se desconoce si dicha divergencia refleja plasticidad inducida por el ambiente o diferencias genéticas heredables.

Para abordar estas cuestiones, adopté un marco integrativo que combina extensos relevamientos de campo, validación molecular y anatómica, morfometría geométrica y experimentos multigeneracionales en condiciones de “jardín común”. Este enfoque me permitió (i) delimitar la distribución geográfica actual de *P. diaphanus* en la Patagonia austral, (ii) cuantificar la variación morfológica de la concha y de las estructuras reproductivas entre poblaciones establecidas en diferentes tipos de hábitats, y (iii) evaluar experimentalmente si dicha variación morfológica se debe a plasticidad fenotípica inducida por el ambiente o a diferencias genéticas heredables entre poblaciones. Al vincular la heterogeneidad ambiental con los patrones morfológicos y genéticos, este estudio aporta información clave para comprender los procesos que generan diversidad fenotípica en gasterópodos dulceacuícolas y proporciona datos esenciales para la identificación y gestión de posibles hospedadores de *F. hepatica* en el sur de Sudamérica.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Muestreo a campo y preservación de ejemplares

Para delimitar la distribución geográfica actual del caracol de agua dulce *Pectinidens diaphanus*, se realizaron cinco campañas de muestreo entre 2018 y 2025 en la Patagonia, abarcando una variedad de hábitats de agua dulce (lagos, ríos, arroyos y charcas). Estos muestreos fueron realizados por el grupo de trabajo del laboratorio de *Genética y Ecología Evolutiva* del CERZOS, en colaboración con investigadores de Montpellier (Francia). En cada sitio de muestreo, se registraron las coordenadas GPS y se determinó la presencia o ausencia de caracoles limneidos. Estos se diferencian de otros caracoles de la región, como *Physa* y *Chilina*, por su concha de tonalidades pardas o verdosas, de superficie lisa o con finas líneas de crecimiento, y con espira y abertura orientada hacia la derecha. Cuando se encontraron limneidos, los individuos se recolectaron manualmente y mantuvieron en tubos tipo Falcon con un poco de agua del lugar. Luego, se colocaron en agua a 70 °C durante 30–45 segundos. Este procedimiento permite fijar los ejemplares sin que el cuerpo se retraiga dentro de la concha, lo que favorece una rápida penetración del alcohol en los tejidos y, en consecuencia, una adecuada fijación tanto para los análisis morfológicos como moleculares (Alda et al., 2021). Tras la fijación, se retiró cuidadosamente el tejido blando de la concha, y se preservaron ambos en etanol al 70 % para posteriores análisis anatómicos, moleculares y morfométricos.

2.2. Identificación de limneidos y delimitación geográfica

Para identificar con precisión a *P. diaphanus* de otros limneidos, se empleó un enfoque integrador que combina evaluaciones morfoanatómicas detalladas con análisis moleculares (Bargues et al., 2012; Pointier et al., 2009). La identificación morfológica se basó en características anatómicas externas e internas de 10 a 30 individuos por sitio muestreado, con presencia de limneidos. Se examinaron las conchas por su forma, enfocándose particularmente en el periostraco y la forma de las suturas (Pointier & Vázquez, 2020). Para la anatomía interna, se diseccionaron un subconjunto de 10 individuos de cada población muestreada bajo un estereomicroscopio, centrándose en rasgos diagnósticos del sistema reproductivo, incluyendo la forma y disposición del espermiducto, uréter, vaina del pene y próstata, siguiendo criterios taxonómicos establecidos (Pointier & Vázquez, 2020). Estas estructuras se utilizan ampliamente en la taxonomía de limneidos y fueron empleadas aquí para confirmar la identidad de *P. diaphanus* (Pointier et al., 2009). Esta tarea fue realizada con la ayuda del malacólogo, experto en limneidos, Dr. Jean-Pierre Pointier.

Para el análisis molecular, extraje ADN de uno o dos individuos por población identificados morfológicamente como *P. diaphanus*. Disequé un tercio del pie de cada espécimen y eliminé el exceso de etanol presionando el tejido entre toallas de papel estériles. La extracción de ADN la realicé siguiendo el protocolo descrito por Alda et al. (2021) Amplifiqué un fragmento del gen mitocondrial citocromo c oxidasa subunidad I (COI) usando los cebadores y el protocolo de PCR descrito por Alda et al. (2021). Secuencié los amplicones mediante Sanger (Eurofins Genomics, Ebersberg, Alemania). Las secuencias

resultantes se depositarán en GenBank y las comparé con secuencias de referencia de *P. diaphanus* (GenBank: JF909501, Bargues et al., 2012; JN614399 y JN614400, Correa et al., 2011).

Tras la confirmación de la identidad de la especie, compilé los datos de ocurrencia espacial usando las coordenadas de muestreo para producir un mapa de distribución de *P. diaphanus* en toda la Patagonia. El mapeo lo realicé en QGIS (versión 3.30.0), clasificando cada sitio según la presencia de *P. diaphanus*, otros limneidos y ausencia de limneidos.

2.3 Efecto de la heterogeneidad ambiental en la variación morfo-anatómica de poblaciones naturales

Para estudiar el efecto de la heterogeneidad ambiental, seleccioné cinco poblaciones representativas de *P. diaphanus* que abarcaban un gradiente de estabilidad del hábitat, desde ambientes estables (lago, río) hasta inestables (arroyo, charca), susceptibles de secarse en períodos de bajas precipitaciones (Fig. 2).



Figura 2. Tipos de hábitat muestreados para *Pectinidens diaphanus*. Se indica un gradiente de estabilidad del hábitat que abarca desde ambientes estables (lagos y ríos) hasta ambientes temporales (arroyos y charcas), susceptibles de secarse durante períodos de bajas precipitaciones.

Todas las poblaciones que utilicé se ubicaron en latitudes similares en el sur de Santa Cruz, Argentina, para minimizar los posibles efectos de la temperatura (Tabla 1). Los caracoles muestreados en cada uno de estos ambientes se transportaron vivos al laboratorio y se mantuvieron en diferentes acuarios de 1,5 L (para evitar la mezcla entre poblaciones) con agua de surgente, aireación constante, y en condiciones controladas de temperatura (16 ± 1 °C) con un ciclo de luz/oscuridad de 16:8 h y alimento *ad libitum* en forma de lechuga hervida y molida. Estos individuos constituyeron la generación parental (P) de los individuos utilizados para analizar la heredabilidad de la forma de la concha en generaciones posteriores (F_2), tal como se detalla en el punto 2.4.

Tabla 1. Poblaciones seleccionadas para el análisis morfométrico de *Pectinidens diaphanus* en la Patagonia. Todos los sitios se encuentran en el sur de la provincia de Santa Cruz, Argentina.

Ambiente	Sitio	Latitud	Longitud	Individuos fotografiados
Lago	Laguna Azul*	-52,07	-69,58	39
Río	Las Horquetas	-51,41	-70,19	18

Arroyo	Cancha Carrera	-51,14	-71,95	10
Charca	Corpen Aike	-51,38	-70,23	20
	Chorrillo de los Frailes	-51,90	-69,12	20

*Laguna Azul corresponde a dos poblaciones muestreadas en el mismo sitio y durante la misma estación del año, pero en distintos años (noviembre 2018, n = 22; noviembre 2023, n = 17).

Para evaluar la variación morfométrica del sistema reproductivo, se diseccionaron bajo un estereomicroscopio diez caracoles adultos (P) de cada una de las cinco poblaciones seleccionadas. La próstata y el complejo peniano se aislaron cuidadosamente y se ilustraron usando una cámara lúcida. Los dibujos se digitalizaron usando un escáner Apple y los rasgos morfométricos (área y perímetro) de la próstata y del complejo peniano se cuantificaron usando el software *ImageJ* (Schneider et al., 2012). Para evaluar el efecto del hábitat sobre los rasgos morfométricos, realicé un ANOVA en R Studio (v2024.12.1). Para evaluar el efecto de la heterogeneidad ambiental en la variación de la forma de la concha, realicé un análisis de morfometría geométrica en individuos de las mismas cinco poblaciones de *P. diaphanus* seleccionadas previamente para el análisis de morfología reproductiva. Se obtuvieron 107 fotografías de alta resolución de la concha (10–22 imágenes por población) usando un protocolo de posicionamiento estandarizado, es decir, colocando la concha con la abertura hacia abajo y orientada a la cámara (Albarrán-Mélzer et al., 2020). Las imágenes se digitalizaron usando *tpsUtil* (v1.82). La morfometría basada en puntos de referencia (*landmarks*) se realizó en *tpsDig2* (Zelditch et al., 2004), usando 11 *landmarks* homólogos (1-11) y dos *semilandmarks* (12-13) por concha (Fig. 3), siguiendo el enfoque de Tamburi et al. (2018). Cabe aclarar que trabajé con las últimas dos vueltas de la concha, debido a que el ápex y la primera vuelta suelen presentar distintos grados de erosión, lo que impide la correcta colocación de *landmarks* homólogos en todos los individuos. Esta decisión me permitió evitar el error introducido por la erosión en las regiones más antiguas de la concha.

Los datos de la forma se procesaron en *MorphoJ* (v1.08.01; Klingenberg, 2011). Apliqué una superposición de Procrustes para eliminar la variación debida a posición, orientación y escala, permitiendo comparaciones de forma independientes del tamaño. Se extrajo el tamaño del centroide como medida del tamaño general de la concha. Para evaluar la covariación forma–tamaño (alometría), realicé una regresión multivariante de la forma sobre el tamaño del centroide y evalué la significancia estadística mediante pruebas de permutación (Viscosi & Cardini, 2011).

Para visualizar los principales ejes de variación, realicé un Análisis de Componentes Principales (PCA) sobre la matriz de covarianza de las coordenadas alineadas de los *landmarks* (Albarrán-Mélzer et al., 2020). Las diferencias entre grupos se exploraron además mediante un Análisis de Variables Canónicas (CVA), el cual enfatiza los rasgos de forma que, maximizan la varianza entre grupos mientras minimizan la varianza dentro de cada grupo (Campbell & Atchley, 1981).

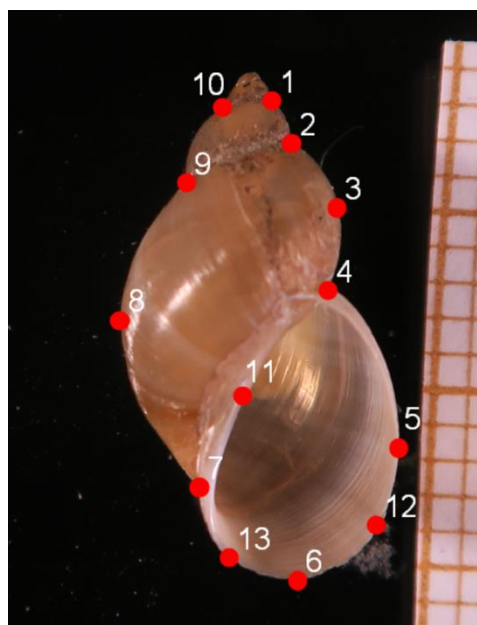


Figura 3. Los puntos rojos indican la configuración de *landmarks* (1-11) y *semilandmarks* (12-13) en la concha del caracol *Pecatinidens diaphanus*.

2.4 Análisis transgeneracional de la variación morfológica de la concha

Para analizar si la variación en la forma de la concha observada en el campo (generación P) tenía una base genética o era primordialmente el resultado de la plasticidad fenotípica inducida por el ambiente directo, se establecieron poblaciones experimentales en el laboratorio. Se criaron caracoles de dos poblaciones que representan los extremos del gradiente de estabilidad ambiental definido previamente (lago y charca) en condiciones estandarizadas de laboratorio. Los individuos recolectados en campo (lago, $n = 21$; charca, $n = 14$) se mantuvieron en las mismas condiciones mencionadas previamente. Los caracoles se criaron hasta la segunda generación (F_2), lo que permite minimizar los efectos maternos y ambientales residuales de los parentales.

El análisis morfométrico de la concha se repitió en los individuos F_2 ($n = 35$), utilizando los mismos procedimientos de imagen, *landmarking* y análisis estadísticos aplicados a la generación P. Dado que una observación preliminar sugiere la posible existencia de divergencia morfológica entre poblaciones en condiciones naturales, el diseño experimental permitió evaluar, si esta variación se mantiene en la generación F_2 criada bajo condiciones ambientales uniformes en el laboratorio.

3. RESULTADOS

3.1 Identificación de limneidos y delimitación geográfica

Se muestrearon 198 sitios del sur de Argentina y Chile, que abarcan una amplia variedad de hábitats de agua dulce. En 116 de estos sitios se registró la presencia de caracoles, y los limneidos estuvieron presentes en 70 de ellos. Los caracoles de la familia Chiliniidae también fueron abundantes en la Patagonia, registrándose en 44 sitios, y coexistieron con limneidos en 16 de estos lugares.

En campo, especímenes de *Galba* resultaron fácilmente distinguibles de otros grupos simpátricos. Sin embargo, la asignación específica de los limneidos australes a *Pectinidens diaphanus* requirió confirmación adicional. Para ello apliqué un enfoque integrado —evaluación conquiológica preliminar, examen anatómico del sistema reproductivo (Fig. 4) y validación mediante secuenciación del gen COI— que permitió confirmar de forma consistente la identidad de *P. diaphanus* en los ejemplares estudiados (coincidencia del 97–99 % con secuencias de referencia).

Con base en estas confirmaciones taxonómicas y en las coordenadas GPS de las localidades muestreadas, se asignaron los limneidos de 29 sitios de la Patagonia (provincias de Buenos Aires, Neuquén, Río Negro, Chubut y Santa Cruz) a *Galba viator*, en concordancia con su distribución conocida (Fig. 5). En contraste, los limneidos recolectados en 41 sitios del sur de la Patagonia (provincias de Chubut, Santa Cruz y Tierra del Fuego) correspondieron a *Pectinidens diaphanus*. En estos sitios australes no se detectaron otras especies de limneidos, siendo *P. diaphanus* la única representante de la familia en la región (Fig. 5).

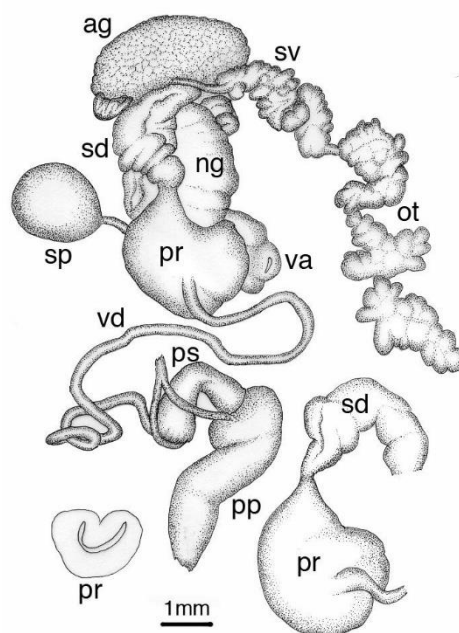


Figura 4. Vista dorsal del sistema reproductivo de un ejemplar adulto de *Pectinidens diaphanus*. El individuo fue diseccionado bajo un microscopio estereoscópico, y el dibujo del sistema reproductivo lo realizó Jean-Pierre Pointier usando cámara lúcida. Las imágenes obtenidas fueron digitalizadas con un escáner Apple. ag = glándula de albúmina; ng = glándula nidamental; ot = ovotestis; pr = próstata; pp = prepucio; ps = vaina del pene; sd = espermiducto; sp = espermateca; sv = vesícula seminal; va = vagina; vd = conducto deferente.

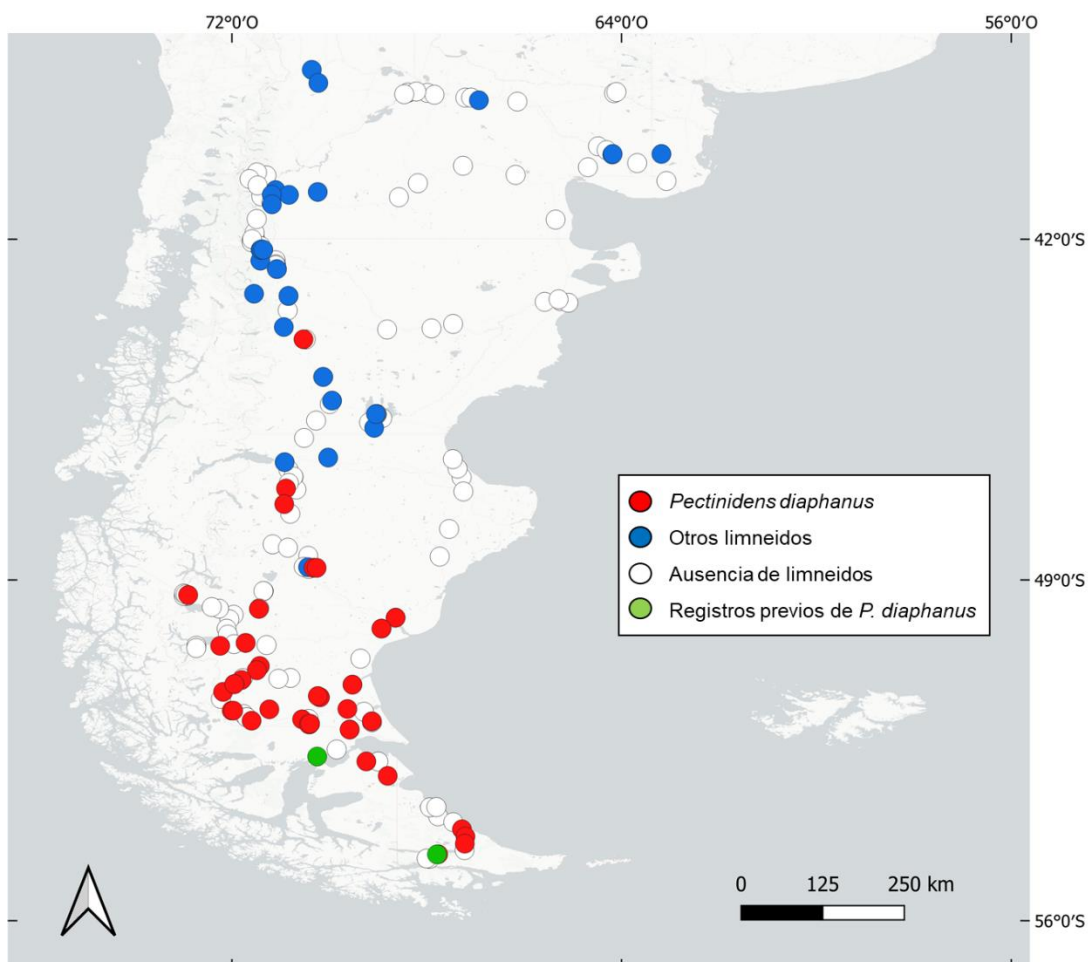


Figura 5. Distribución de los 198 sitios muestreados a lo largo de la Patagonia entre 2018 y 2025.

3.2 Efecto de la heterogeneidad ambiental en la variación morfoanatómica de poblaciones naturales

No encontré un efecto significativo del tipo de hábitat sobre el área y perímetro del complejo peniano ni sobre el área de la próstata en *P. diaphanus* (Tabla 2). Los análisis de morfometría geométrica revelaron diferencias marcadas en la forma de la concha entre los individuos de *P. diaphanus* provenientes de poblaciones naturales que habitan distintos tipos de hábitat. La regresión multivariante mostró que el tamaño de la concha (tamaño del centroide) explicó solo el 1,5 % de la variación en forma y no fue estadísticamente significativo (prueba de permutación, $P = 0,156$), indicando que los efectos alométricos eran despreciables y no fue necesaria ninguna corrección por tamaño. El Análisis de Componentes Principales (PCA) de los datos de *landmarks* alineados mostró una clara agrupación por hábitat, con los dos primeros componentes principales explicando el 65,2 % de la variación total de la forma (PC1: 52,2 %, PC2: 12,9 %). El Análisis de Variación Canónica (CVA) respaldó aún más la divergencia asociada al hábitat, mostrando una separación clara entre poblaciones de lago, río, arroyo y charca. El primer eje canónico (CV1) explicó el 81,7 % de la varianza y el segundo (CV2) el 9,9 %, sumando un total del 91,6 % (Fig. 6A). Las formas medias de la concha difirieron según el hábitat: los caracoles de hábitat estable presentaron conchas más globosas, mientras que los de hábitat inestable mostraron formas más

alargadas (Fig. 6B). Las poblaciones de río exhibieron una morfología intermedia, consistente con su posición transicional en el gradiente de estabilidad del hábitat.

Tabla 2. Morfometría del sistema reproductor de poblaciones naturales. Valores medios (\pm D.E.) del área (mm^2) y perímetro (mm) del complejo peniano y la próstata del caracol limneido *Pectinidens diaphanus* recolectado en la Patagonia. Los rasgos morfométricos se cuantificaron utilizando el software ImageJ. Todos los rasgos morfométricos se compararon entre tipos de hábitat mediante ANOVA en R Studio. No se encontraron diferencias en el área ni en el perímetro del complejo peniano o la próstata entre los distintos tipos de hábitat. N: número de individuos medidos.

Hábitat	Complejo peniano		Próstata		N
	Área	Perímetro	Área	Perímetro	
Lago	3.05 ± 0.97	11.56 ± 1.95	3.04 ± 0.79	6.72 ± 0.90	10
Río	2.29 ± 0.31	10.3 ± 0.67	2.19 ± 0.41	5.57 ± 0.52	10
Arroyo	3.61 ± 0.63	13.21 ± 0.78	2.89 ± 0.47	6.37 ± 0.45	10
Charca	2.79 ± 0.69	11.49 ± 0.99	2.50 ± 0.48	5.79 ± 0.48	20

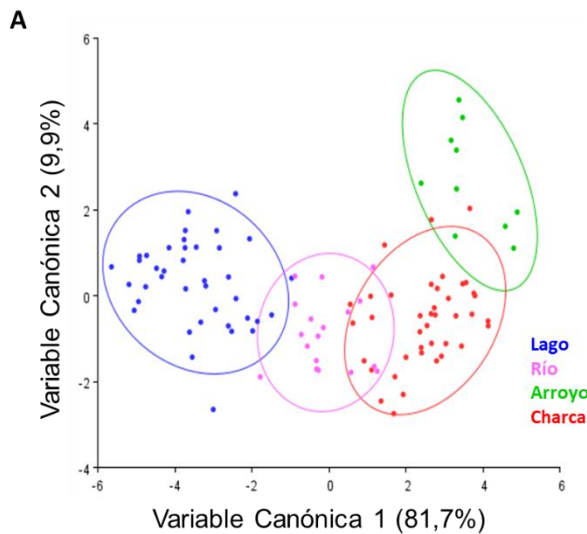
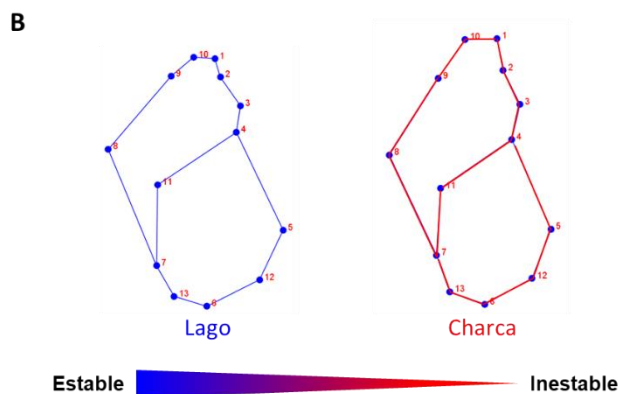


Figura 6. A) Análisis de Variación Canónica basado en 13 *landmarks* morfométricos para individuos de *Pectinidens diaphanus* colectados en el sur de la provincia de Santa Cruz (Argentina) provenientes de cuatro tipos de hábitat diferentes que representan un gradiente desde ambientes estables (lago, río) hasta inestables (arroyo, charca). **B)** Formas promedio de la concha de *P. diaphanus* provenientes de dos hábitats que representan los extremos del gradiente de estabilidad (lago y charca).



3.3 Análisis transgeneracional de la variación morfológica de la concha

Los análisis morfométricos de los individuos F₂ mostraron variación en la forma de la concha, consistente con el patrón observado en la generación parental (P). No se aplicó una corrección alométrica en los análisis ya que el tamaño de la concha no fue significativo, explicó solo una pequeña proporción de la variación de la forma (4,4 %, $P = 0,140$). El Análisis de Componentes Principales (PCA) reveló una agrupación definida por hábitat, con los dos primeros componentes explicando el 49,0 % de la variación total en la forma (PC1: 29,1 %; PC2: 19,9 %). Además, el análisis discriminante mostró una separación clara entre los grupos, con un T^2 de Hotelling = 275,92 ($P = 0,005$) y una distancia de Procrustes de 0,04, significativa bajo pruebas de permutación ($P < 0,001$; Fig. 7).

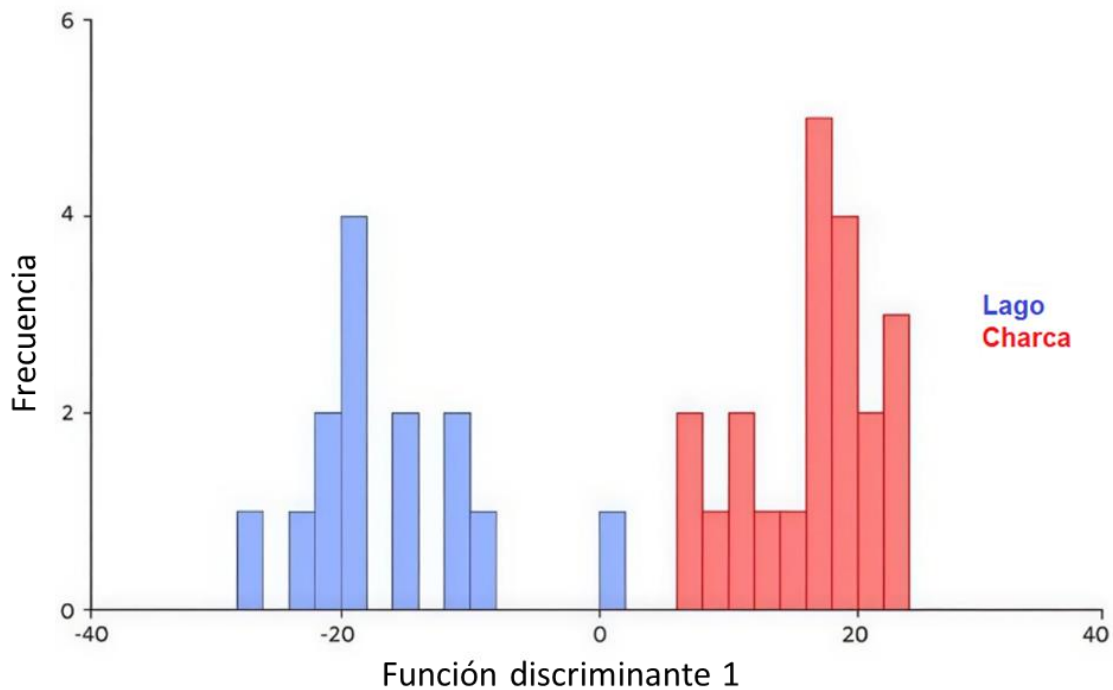


Figura 7. Análisis discriminante basado en 13 *landmarks* morfométricos de individuos F₂ de *Pectinidens diaphanus* criados en condiciones estandarizadas de laboratorio, provenientes de dos tipos de hábitat contrastantes (lago y charca).

4. DISCUSIÓN

Estos resultados constituyen la evaluación espacial y morfológica más completa de *Pectinidens diaphanus* realizada hasta la fecha, ampliando su rango confirmado a lo largo del sur de la Patagonia — donde emerge como la única especie de limneido presente— y evidenciando una notable versatilidad ecológica. En conjunto, las estructuras anatómicas del sistema reproductivo se mantuvieron altamente conservadas entre poblaciones provenientes de hábitats contrastantes. No obstante, la marcada divergencia en la forma de la concha observada en los individuos provenientes del campo, y su persistencia en la generación F₂ criada bajo condiciones controladas, indica que esta variación no puede atribuirse únicamente a plasticidad fenotípica inducida por el ambiente, sino que probablemente involucra diferencias genéticas heredables.

Los análisis morfo-anatómicos y moleculares confirmaron que de los sitios muestreados en el sur de la Patagonia, 41 resultaron positivos para *P. diaphanus*. Estos resultados amplían considerablemente el área documentada para la especie respecto de reportes previos (Bargues et al., 2011; Correa et al., 2011; Duffy et al., 2009; Paraense, 1984), y muestran que *P. diaphanus* habita una variedad amplia de tipos de ambientes acuáticos en el extremo austral. Es importante subrayar que esta mayor extensión espacial probablemente refleja, en buena medida, un mayor esfuerzo de muestreo en áreas previamente poco exploradas más que la aparición de poblaciones recientes. Respecto a los mecanismos que podrían explicar su dispersión, fenómenos como eventos de inundación estacionales, el traslado de individuos o estadios inmaduros adheridos a barro en patas de aves y mamíferos, y el transporte sobre vegetación acuática o restos flotantes resultan plausibles y consistentes con la ecología de los limneidos (Kappes & Haase, 2012; Kappes & Sulikowska-Drozd, 2016; Roszkowska & Książkiewicz, 2023; Van Leeuwen et al., 2013). Estos vectores pasivos, combinados con la conectividad hidrológica temporal de la región, podrían explicar la presencia de *P. diaphanus* en múltiples hábitats disyuntivos. La confirmación de *P. diaphanus* en diversos tipos de ambientes invita a desarrollar estudios biogeográficos integradores que combinen datos históricos, genéticos y ecológicos para caracterizar las vías de dispersión y los procesos de colonización.

Por otra parte, surge la interrogante de por qué la especie no aparece más al norte en la Patagonia. Si bien podría argumentarse que la ausencia de *P. diaphanus* más al norte se debe simplemente a un muestreo insuficiente, nuestros relevamientos reiterados en múltiples tipos de ambientes entre 2018 y 2025 —en los cuales *Galba viator* fue registrada de manera consistente, mientras que *P. diaphanus* no fue detectada en ninguna ocasión— sugieren que la ausencia de registros de *P. diaphanus* en esa región no parece ser un artefacto del muestreo, sino un patrón real de su distribución. Esto plantea preguntas adicionales acerca de los factores que limitan su distribución hacia el norte, ya sea por restricciones ambientales o climáticas, diferencias en tolerancia ecológica o posibles interacciones competitivas con otros limneidos. Comprender estos límites biogeográficos constituye una línea de investigación prometedora para futuros estudios.

Dado que *P. diaphanus* es la única especie de limneido presente en la Patagonia austral y se han registrado casos de fasciolosis en la región (Issia et al., 2009; Kleiman et al., 2007), esta especie representa el único potencial hospedador intermediario local del parásito *Fasciola hepatica*. Aunque diferentes estudios han señalado su participación en el ciclo del parásito (Correa et al., 2010; Vázquez et al., 2019), hasta ahora no se cuenta con evidencia experimental formal que evalúe su susceptibilidad. Ensayos recientes realizados en el laboratorio de *Genética y Ecología Evolutiva* del CERZOS muestran resultados preliminares que aportan información clave: *P. diaphanus* logró infectarse con cepas alopátricas de *F. hepatica*, pero no con cepas simpátricas (Müller et al., datos no publicados). Actualmente estamos llevando a cabo experimentos adicionales diseñados para evaluar de manera sistemática la susceptibilidad parasitaria de este limneido, lo que permitirá clarificar su rol epidemiológico en la transmisión de *F. hepatica* en el extremo sur de la Patagonia.

En este contexto, la identificación taxonómica fiable adquiere particular relevancia. El hecho de que no se detectaran diferencias significativas en las estructuras reproductivas —como el complejo peniano o la próstata— entre poblaciones sometidas a condiciones ambientales contrastantes refuerza el valor de estos rasgos como caracteres diagnósticos para distinguir *P. diaphanus* de otros limneidos. Un patrón similar se ha documentado en *Pseudosuccinea columella*, donde la morfoanatomía interna muestra una notable constancia incluso a lo largo de un amplio gradiente ecológico (Pointier et al., 2007). Dado que los rasgos externos, en particular la concha, exhiben una elevada plasticidad en los limneidos (e.g., Samadi, 2000; Whelan, 2021), esta constancia en los caracteres internos resulta especialmente importante para evitar errores de identificación, los cuales pueden tener consecuencias epidemiológicas significativas cuando las especies difieren en su capacidad de transmisión (e.g., Stevenson & Norris, 2016).

En contraste con la ausencia de variación morfológica en los rasgos reproductivos analizados, la morfología de la concha estuvo fuertemente estructurada por el tipo de hábitat. Esta marcada variación fenotípica asociada al hábitat observada en *P. diaphanus* coincide con la plasticidad conquiológica ampliamente documentada en limneidos (Samadi, 2000; Vinarski, 2014; Whelan, 2021) y refuerza el valor de estos caracoles como modelos para el estudio de la plasticidad fenotípica (Brönmark et al., 2011, 2012). La morfología de la concha representa un resultado adaptativo de presiones de selección contrastantes. En arroyos y charcas, definidos como ambientes temporales e inestables caracterizados por ventanas temporales breves durante las cuales la especie debe completar el ciclo de vida, los individuos mostraron consistentemente conchas más alargadas. En caracoles, la forma de la concha está estrechamente vinculada a la tasa de crecimiento (Chapman, 1995). En hábitats inestables, el crecimiento acelerado permite a los individuos alcanzar antes la talla o edad de madurez reproductiva, asegurando así la supervivencia y la reproducción dentro de ventanas temporales restringidas (Oh et al., 2021; Richter-Boix et al., 2006). Por lo tanto, la morfología alargada observada podría ser una manifestación fenotípica de un *trade-off* que prioriza el crecimiento rápido en condiciones de alta temporalidad. Por el contrario, los caracoles de ambientes más estables, como los lagos, exhibieron conchas más globosas. Este patrón es congruente con estudios que indican que un crecimiento individual más lento tiende a generar conchas

de este tipo (Saura et al., 2012), ya que las condiciones estables permiten un crecimiento prolongado y reducen la presión por reproducirse rápidamente (Chapman, 1995; Spight, 1973).

Inicialmente, esta divergencia morfológica podría interpretarse como una manifestación directa de la plasticidad fenotípica en respuesta a factores ambientales inmediatos. Sin embargo, el hallazgo experimental crucial que redefine esta interpretación surge del análisis de la segunda generación (F_2). Notablemente, en los caracoles F_2 —descendientes criados y mantenidos bajo condiciones controladas y estandarizadas de laboratorio— persistieron los patrones de forma de concha asociados a su hábitat de origen, replicando las diferencias observadas en las poblaciones naturales. Este resultado demuestra que la divergencia en la morfología de la concha no puede atribuirse únicamente a la plasticidad fenotípica inducida por el ambiente, sino que posee un componente heredable y estable. Hallazgos similares, donde las diferencias morfométricas entre poblaciones persisten al criar a los individuos en ambientes estandarizados, se han descrito en el caracol terrestre *Leptinaria unilamellata* y en el marino *Littorina saxatilis* (Conde-Padín et al., 2009; Medeiros et al., 2015). Estos patrones concuerdan con la posibilidad de una respuesta evolutiva dirigida por la plasticidad, enmarcada por la acomodación genética (West-Eberhard, 2005). La acomodación genética es el proceso adaptativo general mediante el cual la regulación ambiental de un fenotipo se refina a través de cambios genéticos cuantitativos. El caso extremo de este proceso, donde el rasgo inicialmente plástico se vuelve genéticamente fijo (perdiendo su dependencia ambiental), se denomina asimilación genética (Ehrenreich & Pfennig, 2016; Waddington, 1942). Es decir, la selección natural ha actuado sobre la variación genética subyacente que permitía la plasticidad, estabilizando la expresión del rasgo adaptativo. Este resultado implica que la expresión de los morfotipos de la concha ha quedado canalizada, un concepto de Waddington (1942) que describe la robustez del desarrollo del fenotipo contra perturbaciones genéticas o ambientales. En conjunto, estos resultados sugieren que, si bien la plasticidad fenotípica puede modular inicialmente la morfología de la concha, lo hace sobre una base genética que puede ser modificada por la selección, canalizando y fijando la expresión de determinados morfotipos y, por lo tanto, contribuyendo directamente a la divergencia permanente entre poblaciones.

A partir de nuestros hallazgos, proponemos varias líneas de investigación prioritarias. En primer lugar, resulta fundamental integrar la morfología con rasgos de historia de vida (fecundidad, tasa de puesta, velocidad de crecimiento, edad de madurez) para evaluar si las diferencias en la forma de la concha se traducen en efectos demográficos que modulen la persistencia y capacidad de expansión de las poblaciones (Chapuis & Ferdy, 2012; Pardo & Johnson, 2005). En segundo lugar, es necesario explorar las implicancias epidemiológicas de la variación intraespecífica: estudios experimentales que relacionen morfología, historia de vida y susceptibilidad/parasitismo permitirán cuantificar el potencial de transmisión de *F. hepatica* entre poblaciones (Dube et al., 2023). En tercer lugar, la caracterización de la arquitectura genética de la divergencia conquiológica mediante aproximaciones genómicas (p. ej. RAD-seq) aclarará si la diferenciación responde a selección local, deriva o procesos de acomodación/asimilación genética. En cuarto lugar, integrar filogeografía poblacional, modelos de distribución

y datos hidrológicos ayudará a reconstruir las vías de dispersión y la historia de colonización en la Patagonia austral, complementando hipótesis sobre vectores pasivos como inundaciones, transporte en barro o sobre vegetación flotante. En conjunto, estas líneas ofrecerán una visión integradora de las causas y consecuencias ecológicas, evolutivas y epidemiológicas de la variación observada en *P. diaphanus*.

5. CONCLUSIONES

Este estudio amplía de manera significativa el conocimiento sobre *Pectinidens diaphanus* en la Patagonia austral, revelando una distribución más extensa de lo previamente documentado y confirmando que es la única especie de limneido presente en la región. Las estructuras reproductivas mostraron una notable constancia entre poblaciones, reforzando su valor taxonómico en un grupo caracterizado por la alta plasticidad de la concha. En contraste, la forma de la concha presentó una fuerte estructuración asociada al tipo de hábitat, y su persistencia en individuos F₂ criados en laboratorio indica un componente genético heredable además de la plasticidad fenotípica. Este patrón destaca el potencial de *P. diaphanus* como modelo para estudiar la interacción entre plasticidad, adaptación y diferenciación morfológica. En conjunto, nuestros resultados subrayan la importancia de enfoques integrativos que combinen morfología, genética y rasgos de historia de vida para comprender la variación intraespecífica y evaluar el rol ecológico y epidemiológico de *P. diaphanus* como potencial hospedador intermediario de *Fasciola hepatica* en la región.

6. BIBLIOGRAFÍA

- Alba, A., Vazquez, A. A., & Hurtrez-Boussès, S. (2021). Towards the comprehension of fasciolosis (re-)emergence: An integrative overview. *Parasitology*, *148*(4), 385-407. <https://doi.org/10.1017/S0031182020002255>
- Albarrán-Mélzer, N. C., Rangel Ruiz, L. J., Benítez, H. A., & Lagos, M. E. (2020). Can temperature shift morphological changes of invasive species? A morphometric approach on the shells of two tropical freshwater snail species. *Hydrobiologia*, *847*(1), 151-160. <https://doi.org/10.1007/s10750-019-04078-z>
- Albert, C. H., Thuiller, W., Yoccoz, N. G., Douzet, R., Aubert, S., & Lavorel, S. (2010). A multi-trait approach reveals the structure and the relative importance of intra- vs. Interspecific variability in plant traits. *Functional Ecology*, *24*(6), 1192-1201. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2010.01727.x>
- Alda, P., Lounnas, M., Vázquez, A. A., Ayaqui, R., Calvopiña, M., Celi-Erazo, M., Dillon, R. T., González Ramírez, L. C., Loker, E. S., Muzzio-Aroca, J., Nárvaez, A. O., Noya, O., Pereira, A. E., Robles, L. M., Rodríguez-Hidalgo, R., Uribe, N., David, P., Jarne, P., Pointier, J.-P., & Hurtrez-Boussès, S. (2021). Systematics and geographical distribution of *Galba* species, a group of cryptic and worldwide freshwater snails. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, *157*, 107035. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.107035>
- Bargues, M. D., Artigas, P., Khoubbane, M., Flores, R., Glöer, P., Rojas-García, R., Ashrafi, K., Falkner, G., & Mas-Coma, S. (2011). *Lymnaea schirazensis*, an overlooked snail distorting fascioliasis data: genotype, phenotype, ecology, worldwide spread, susceptibility, applicability. *PLoS ONE*, *6*(9), e24567. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024567>
- Bargues, M. D., Artigas, P., Khoubbane, M., Ortiz, P., Naquira, C., & Mas-Coma, S. (2012). Molecular characterisation of *Galba truncatula*, *Lymnaea neotropica* and *L. schirazensis* from Cajamarca, Peru and their potential role in transmission of human and animal fascioliasis. *Parasites & Vectors*, *5*(1), 174. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-5-174>
- Bonel, N., Pointier, J.-P., & Alda, P. (2021). Environmental stressors induced strong small-scale phenotypic differentiation in a wide-dispersing marine snail. *Marine Ecology Progress Series*, *674*, 143-162.
- Bourdeau, P. E., Butlin, R. K., Brönmark, C., Edgell, T. C., Hoverman, J. T., & Hollander, J. (2015). What can aquatic gastropods tell us about phenotypic plasticity? A review and meta-analysis. *Heredity*, *115*(4), 312-321. <https://doi.org/10.1038/hdy.2015.58>
- Brönmark, C., Lakowitz, T., & Hollander, J. (2011). Predator-induced morphological plasticity across local populations of a freshwater snail. *PLoS ONE*, *6*(7), e21773. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0021773>
- Brönmark, C., Lakowitz, T., Nilsson, P. A., Ahlgren, J., Lennartsdotter, C., & Hollander, J. (2012). Costs of inducible defence along a resource gradient. *PLoS ONE*, *7*(1), e30467. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0030467>

- Campbell, N. A., & Atchley, W. R. (1981). The geometry of canonical variate analysis. *Systematic Biology*, *30*(3), 268-280. <https://doi.org/10.1093/sysbio/30.3.268>
- Celi-Erazo, M., Alda, P., Montenegro-Franco, M., Pavon, D., Minda-Aluisa, E., Calvopiña, M., Pointier, J. P., Hurtrez-Boussès, S., Cevallos, W., Benítez-Ortíz, W., & Rodríguez-Hidalgo, R. (2020). Prevalence of *Fasciola hepatica* infection in *Galba cousini* and *Galba schirazensis* from an Andean region of Ecuador. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, *20*, 100390. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2020.100390>
- Chapman, M. G. (1995). Spatial patterns of shell shape of three species of co-existing Littorinid snails in New South Wales, Australia. *Journal of Molluscan Studies*, *61*(2), 141-162. <https://doi.org/10.1093/mollus/61.2.141>
- Chapuis, E., & Ferdy, J. (2012). Life history traits variation in heterogeneous environment: The case of a freshwater snail resistance to pond drying. *Ecology and Evolution*, *2*(1), 218-226. <https://doi.org/10.1002/ece3.68>
- Conde-Padín, P., Caballero, A., & Rolán-Alvarez, E. (2009). Relative role of genetic determination and plastic response during ontogeny for shell-shape traits subjected to diversifying selection. *Evolution*, *63*(5), 1356-1363. <https://doi.org/10.1111/j.1558-5646.2009.00636.x>
- Correa, A. C., Escobar, J. S., Durand, P., Renaud, F., David, P., Jarne, P., Pointier, J.-P., & Hurtrez-Boussès, S. (2010). Bridging gaps in the molecular phylogeny of the Lymnaeidae (Gastropoda: Pulmonata), vectors of Fascioliasis. *BMC Evolutionary Biology*, *10*(1), 381. <https://doi.org/10.1186/1471-2148-10-381>
- Correa, A. C., Escobar, J. S., Noya, O., Velásquez, L. E., González-Ramírez, C., Hurtrez-Boussès, S., & Pointier, J.-P. (2011). Morphological and molecular characterization of Neotropic Lymnaeidae (Gastropoda: Lymnaeoidea), vectors of fasciolosis. *Infection, Genetics and Evolution*, *11*(8), 1978-1988. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2011.09.003>
- DeWitt, T. J. (1998). Costs and limits of phenotypic plasticity: Tests with predator-induced morphology and life history in a freshwater snail. *Journal of Evolutionary Biology*, *11*(4), 465-480. <https://doi.org/10.1046/j.1420-9101.1998.11040465.x>
- Dillon, R. T., Jacquemin, S. J., & Pyron, M. (2013). Cryptic phenotypic plasticity in populations of the freshwater prosobranch snail, *Pleurocera canaliculata*. *Hydrobiologia*, *709*(1), 117-127. <https://doi.org/10.1007/s10750-012-1441-1>
- Dube, A., Kalinda, C., Manyangadze, T., Mindu, T., & Chimbari, M. J. (2023). Effects of temperature on the life history traits of intermediate host snails of fascioliasis: A systematic review. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *17*(12), e0011812. <https://doi.org/10.1371/journal.pntd.0011812>
- Duffy, T., Kleiman, F., Pietrokovsky, S., Issia, L., Schijman, A. G., & Wisnivesky-Colli, C. (2009). Real-time PCR strategy for rapid discrimination among main lymnaeid species from Argentina. *Acta Tropica*, *109*(1), 1-4. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2008.08.003>

- Ehrenreich, I. M., & Pfennig, D. W. (2016). Genetic assimilation: A review of its potential proximate causes and evolutionary consequences. *Annals of Botany*, *117*(5), 769-779. <https://doi.org/10.1093/aob/mcv130>
- Engels, D., & Savioli, L. (2006). Reconsidering the underestimated burden caused by neglected tropical diseases. *Trends in Parasitology*, *22*(8), 363-366. <https://doi.org/10.1016/j.pt.2006.06.004>
- Fox, R. J., Donelson, J. M., Schunter, C., Ravasi, T., & Gaitán-Espitia, J. D. (2019). Beyond buying time: The role of plasticity in phenotypic adaptation to rapid environmental change. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *374*(1768), 20180174. <https://doi.org/10.1098/rstb.2018.0174>
- Fugassa, M. H. (2015). Checklist of helminths found in Patagonian wild mammals. *Zootaxa*. <https://ri.conicet.gov.ar/handle/11336/50727>
- Fusco, G., & Minelli, A. (2010). Phenotypic plasticity in development and evolution: Facts and concepts. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, *365*(1540), 547-556. <https://doi.org/10.1098/rstb.2009.0267>
- Ghalambor, C. K., McKAY, J. K., Carroll, S. P., & Reznick, D. N. (2007). Adaptive versus non-adaptive phenotypic plasticity and the potential for contemporary adaptation in new environments. *Functional Ecology*, *21*(3), 394-407. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2435.2007.01283.x>
- Issia, L., Pietrokovsky, S., Sousa-Figueiredo, J., Stothard, J. R., & Wisnivesky-Colli, C. (2009). *Fasciola hepatica* infections in livestock flock, guanacos and coypus in two wildlife reserves in Argentina. *Veterinary Parasitology*, *165*(3-4), 341-344. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2009.07.011>
- Kappes, H., & Haase, P. (2012). Slow, but steady: Dispersal of freshwater molluscs. *Aquatic Sciences*, *74*(1), 1-14. <https://doi.org/10.1007/s00027-011-0187-6>
- Kappes, H., & Sulikowska-Drozd, A. (2016). Heterogeneity of mollusc communities between and within forest fragments in a much modified floodplain landscape. *Folia Malacologia*, *24*.
- Kawecki, T. J., & Ebert, D. (2004). Conceptual issues in local adaptation. *Ecology Letters*, *7*(12), 1225-1241. <https://doi.org/10.1111/j.1461-0248.2004.00684.x>
- Kleiman, F., Pietrokovsky, S., Prepelitchi, L., Carbajo, A. E., & Wisnivesky-Colli, C. (2007). Dynamics of *Fasciola hepatica* transmission in the Andean Patagonian valleys, Argentina. *Veterinary Parasitology*, *145*(3-4), 274-286. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2006.12.020>
- Klingenberg, C. P. (2011). MORPHO J: an integrated software package for geometric morphometrics. *Molecular Ecology Resources*, *11*(2), 353-357. <https://doi.org/10.1111/j.1755-0998.2010.02924.x>
- Laurila, A., Karttunen, S., & Merilä, J. (2002). Adaptive phenotypic plasticity and genetics of larval life histories in two *Rana temporaria* populations. *Evolution*, *56*(3), 617-627. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2002.tb01371.x>

- Lounnas, M., Correa, A. C., Alda, P., David, P., Dubois, M.-P., Calvopiña, M., Caron, Y., Celi-Erazo, M., Dung, B. T., Jarne, P., Loker, E. S., Noya, O., Rodríguez-Hidalgo, R., Toty, C., Uribe, N., Pointier, J.-P., & Hurtrez-Boussès, S. (2018). Population structure and genetic diversity in the invasive freshwater snail *Galba schirazensis* (Lymnaeidae). *Canadian Journal of Zoology*, 96(5), 425-435. <https://doi.org/10.1139/cjz-2016-0319>
- Medeiros, C., Caldeira, R. L., Mendonça, C. L. F., Carvalho, O. D. S., & D'ávila, S. (2015). Ontogeny and morphological variability of shell in populations of *Leptinaria unilamellata* (d'Orbigny, 1835) (Mollusca, Pulmonata, Subulinidae). *SpringerPlus*, 4(1), 191. <https://doi.org/10.1186/s40064-015-0959-x>
- Mitteroecker, P., & Gunz, P. (2009). Advances in geometric morphometrics. *Evolutionary Biology*, 36(2), 235-247. <https://doi.org/10.1007/s11692-009-9055-x>
- Ngcamphalala, P. I., Nyagura, I., Malatji, M. P., & Mukaratirwa, S. (2025). Susceptibility of lymnaeid snails to *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* (Digenea: Fasciolidae): a systematic review and meta-analysis. *PeerJ*, 13, e18976. <https://doi.org/10.7717/peerj.18976>
- Oh, D., Kim, Y., Yoo, S., & Kang, C. (2021). Habitat ephemerality affects the evolution of contrasting growth strategies and cannibalism in anuran larvae. *PeerJ*, 9, e12172. <https://doi.org/10.7717/peerj.12172>
- Paraense, W. L. (1984). *Lymnaea diaphana*; a study of topotypic specimens (Pulmonata: Lymnaeidae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 79(1), 75-81. <https://doi.org/10.1590/S0074-02761984000100009>
- Pardo, L. M., & Johnson, L. E. (2005). Explaining variation in life-history traits: Growth rate, size, and fecundity in a marine snail across an environmental gradient lacking predators. *Marine Ecology Progress Series*.
- Pointier, J., Noya, O., Alarcón De Noya, B., & Théron, A. (2009). Distribution of Lymnaeidae (Mollusca: Pulmonata), intermediate snail hosts of *Fasciola hepatica* in Venezuela. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 104(5), 790-796. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762009000500022>
- Pointier, J.-P., Coustau, C., Rondelaud, D., & Theron, A. (2007). *Pseudosuccinea columella* (Say 1817) (Gastropoda, Lymnaeidae), snail host of *Fasciola hepatica*: First record for France in the wild. *Parasitology Research*, 101(5), 1389-1392. <https://doi.org/10.1007/s00436-007-0656-y>
- Pointier, J.-P., & Vázquez, A. A. (2020). Chapter | 11: Phylum Mollusca: Lymnaeoidea, Lymnaeidae. En D. C. Rogers, J. H. Thorp, & C. Damborenea (Eds.), *Keys of Neotropical and Antarctic Fauna: Vol. V*.
- Prepelitchi, L., Pietrokovsky, S., Kleiman, F., Rubel, D., Issia, L., Moriena, R., Racioppi, O., Álvarez, J., & Wisnivesky-Colli, C. (2011). Population structure and dynamics of *Lymnaea columella* (Say, 1817) (Gastropoda: Lymnaeidae) in wetlands of Northeastern Argentina. *Zoological Studies*, 50(2), 164-176.

- Richter-Boix, A., Llorente, G. A., & Montori, A. (2006). Breeding phenology of an amphibian community in a Mediterranean area. *Amphibia-Reptilia*, 27(4), 549-559. <https://doi.org/10.1163/156853806778877149>
- Rodriguez Quinteros, A. C., Soler, P., Larroza, M., Morales, J. M., & Gurevitz, J. M. (2024). Water temperature and microenvironmental factors predict the presence and detection of the snail host of *Fasciola hepatica* in Andean Patagonia. *Veterinary Parasitology*, 329, 110209. <https://doi.org/10.1016/j.vetpar.2024.110209>
- Roszkowska, M., & Książkiewicz, Z. (2023). Blown with the wind — the role of wind in passive dispersion of two land snails: *Vertigo moulinsiana* and *Vertigo antivertigo*. *Canadian Journal of Zoology*, 101(2), 75-80. <https://doi.org/10.1139/cjz-2022-0071>
- Samadi, S. (2000). Morphological studies of lymnaeid snails from the human fascioliasis endemic zone of Bolivia. *Journal Molluscan Studies*, 66(1), 31-44. <https://doi.org/10.1093/mollus/66.1.31>
- Saura, M., Rivas, M. J., Diz, A. P., Caballero, A., & Rolan-Alvarez, E. (2012). Dietary effects on shell growth and shape in an intertidal marine snail, *Littorina saxatilis*. *Journal of Molluscan Studies*, 78(2), 213-216. <https://doi.org/10.1093/mollus/eyes004>
- Schneider, C. A., Rasband, W. S., & Eliceiri, K. W. (2012). NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods*, 9(7), 671-675. <https://doi.org/10.1038/nmeth.2089>
- Schneider, H. M. (2022). Characterization, costs, cues and future perspectives of phenotypic plasticity. *Annals of Botany*, 130(2), 131-148. <https://doi.org/10.1093/aob/mcac087>
- Soler, P., Abdala, A. M., & Larroza, M. (2023). Genetic characterization and regional distribution of lymnaeid snails in northern Patagonia, Argentina. *Veterinary Parasitology: Regional Studies and Reports*, 44, 100919. <https://doi.org/10.1016/j.vprsr.2023.100919>
- Soler, P., Gurevitz, J. M., Morales, J. M., & Larroza, M. (2024). Modeling the effects of water temperature on the population dynamics of *Galba viatrix* and infection by *Fasciola hepatica*: A two-year survey in Andean Patagonia, Argentina. *PeerJ*, 12, e18648. <https://doi.org/10.7717/peerj.18648>
- Spight, T. M. (1973). Ontogeny, environment, and shape of a marine snail *Thais lamellosa* Gmelin. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology*, 13(3), 215-228. [https://doi.org/10.1016/0022-0981\(73\)90068-3](https://doi.org/10.1016/0022-0981(73)90068-3)
- Stevenson, J., & Norris, D. (2016). Implicating cryptic and novel anophelines as malaria vectors in Africa. *Insects*, 8(1), 1. <https://doi.org/10.3390/insects8010001>
- Tamburi, N. E., Seuffert, M. E., & Martín, P. R. (2018). Temperature-induced plasticity in morphology and relative shell weight in the invasive apple snail *Pomacea canaliculata*. *Journal of Thermal Biology*, 74, 331-336. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2018.04.008>
- Trussell, G. C. (2000). Phenotypic clines, plasticity, and morphological trade-offs in an intertidal snail. *Evolution*, 54(1), 151-166. <https://doi.org/10.1111/j.0014-3820.2000.tb00016.x>
- Van Leeuwen, C. H. A., Huig, N., Van Der Velde, G., Van Alen, T. A., Wagemaker, C. A. M., Sherman, C. D. H., Klaassen, M., & Figuerola, J. (2013). How did this snail get here? Several dispersal

- vectors inferred for an aquatic invasive species. *Freshwater Biology*, 58(1), 88-99. <https://doi.org/10.1111/fwb.12041>
- Vázquez, A. A., Alba, A., Alda, P., Vittecoq, M., Chapuis, E., Faugère, D., Pointier, J.-P., & Hurtrez-Boussès, S. (2023). Lymnaeid Snails and the transmission of fasciolosis: understanding the differential risks from local to global scale. En M. V. Vinarski & A. A. Vázquez (Eds.), *The Lymnaeidae* (Vol. 7, pp. 359-394). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-031-30292-3_13
- Vázquez, A. A., Alda, P., Lounnas, M., Sabourin, E., Alba, A., Pointier, J. P., & Hurtrez-Boussès, S. (2019). Lymnaeid snails hosts of *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica* (Trematoda: Digenea): a worldwide review. *CABI Reviews*, 1-15. <https://doi.org/10.1079/PAVSNR201813062>
- Vinarski, M. V. (2014). A comparative study of shell variation in two morphotypes of *Lymnaea stagnalis* (Mollusca: Gastropoda: Pulmonata). *Zoological Studies*, 53(1), 69. <https://doi.org/10.1186/s40555-014-0069-4>
- Viscosi, V., & Cardini, A. (2011). Leaf morphology, taxonomy and geometric morphometrics: A simplified protocol for beginners. *PLoS ONE*, 6(10), e25630. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0025630>
- Waddington, C. H. (1942). Canalization of development and the inheritance of acquired characters. *Nature*, 150(3811), 563-565. <https://doi.org/10.1038/150563a0>
- Walser, B., & Haag, C. R. (2012). Strong intraspecific variation in genetic diversity and genetic differentiation in *Daphnia magna*: The effects of population turnover and population size. *Molecular Ecology*, 21(4), 851-861. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05416.x>
- West-Eberhard, M. J. (2005). Developmental plasticity and the origin of species differences. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(suppl_1), 6543-6549. <https://doi.org/10.1073/pnas.0501844102>
- Whelan, N. V. (2021). Phenotypic plasticity and the endless forms of freshwater gastropod shells. *Freshwater Mollusk Biology and Conservation*, 24(2). <https://doi.org/10.31931/fmbc-d-20-00015>
- Williams, D. D. (2008). The biology of temporary waters. *Basic and Applied Ecology*, 9(5), 616. <https://doi.org/10.1016/j.baae.2008.02.003>
- Zelditch, M. L., Swiderski, D. L., Sheets, H. D., & Fink, W. L. (2004). Beyond two-dimensional configurations of landmarks. En *Geometric Morphometrics for Biologists* (pp. 385-407). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-012778460-1/50017-X>