



UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

TESIS DE DOCTOR EN BIOLOGÍA

**DIETA NATURAL DEL CARACOL DULCEACUÍCOLA
INVASOR *POMACEA CANALICULATA* Y SU INFLUENCIA
SOBRE LAS COMUNIDADES DE MACRÓFITAS
SUMERGIDAS EN SU RANGO NATIVO**

LIC. ENZO MANARA

**BAHÍA BLANCA
ARGENTINA**

2018

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 INBIOSUR-Laboratorio de Ecología, dependiente del Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, durante el período comprendido entre el 03/06/2014 y el 04/12/2018, bajo la dirección del Dr. Pablo Rafael Martín, Profesor Adjunto de las materias Ecología General y Ecología de Poblaciones, y la dirección adjunta de la Dra. Viviana Nora Cambi, Profesora Adjunta de las materias Biología de Plantas Vasculares y Farmacobotánica.

.....

Fecha

.....

Firma

Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL SUR

AGRADECIMIENTOS

Al Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia de la Universidad Nacional del Sur, al INBIOSUR (Instituto de Ciencias Biológicas y Biomédicas del Sur, UNS-CONICET) y a las instituciones que financiaron el desarrollo de la presente tesis a través de una beca doctoral (CONICET: Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas) y de diferentes subsidios (Universidad Nacional del Sur, PGI 24/B185 y 24/B232; ANPCyT: Agencia Nacional de Promoción Científica y Tecnológica, PICT 2012-1956; CONICET, PIP 112 200901 00473).

A Pablo por su dirección y acompañamiento durante toda la tesis. A todos los chicos del laboratorio por su ayuda y compañerismo, en especial a Mara y Lucía con quienes compartimos diferentes experimentos y trabajamos en conjunto.

A mi familia y mis amigos que siempre están conmigo, en especial a mis viejos que siempre me bancaron cuando las cosas no salían como uno esperaba. Y por sobre todo a Emilse y a Francisco, que hacen el esfuerzo de todos los días valga la pena y me esperan siempre con una sonrisa.

RESUMEN

El caracol de agua dulce sudamericano *Pomacea canaliculata* es un herbívoro generalista con hábitos de alimentación principalmente macrofitófagos. Los impactos más relevantes que este invasor ha producido fuera de su rango de distribución nativo se deben a la erradicación de la vegetación sumergida, que genera cambios en el funcionamiento ecosistémico. El estudio de la dieta natural y de otros aspectos de la alimentación de *P. canaliculata* son importantes para comprender sus efectos sobre la vegetación y su rol en los humedales naturales en su rango de distribución nativo, que no han sido estudiados aún. Los objetivos de esta tesis fueron analizar los determinantes de la variación en la dieta natural de *P. canaliculata* en la Cuenca de las Encadenadas del Oeste (Buenos Aires, Argentina), evaluar el efecto de su herbivoría sobre la composición y estructura de las macrófitas sumergidas e investigar si la ingesta de partículas líticas afecta los procesos digestivos.

La palatabilidad y preferencia que presentan las diversas macrófitas sumergidas son las que determinan la herbivoría de *P. canaliculata*. Experimentos de laboratorio mostraron que la palatabilidad está relacionada de forma negativa con las defensas físicas de las mismas y que la preferencia se encuentra determinada por la palatabilidad. A través de experimentos en mesocosmos se demostró que *P. canaliculata* podría estar afectando la comunidad de macrófitas en su rango de distribución nativo, debido a la erradicación o a la disminución de la biomasa de algunas macrófitas, producido por el efecto de su herbivoría en conjunto con un incremento en la turbidez del agua. A su vez se registraron efectos sobre otros componentes del ecosistema, como el aumento en la productividad del fitoplancton y una disminución en la biomasa de detritos.

El análisis de los contenidos del tracto digestivo de *P. canaliculata* a través de la técnica micrográfica resultó un método adecuado para estudiar su dieta natural. El estudio del contenido del intestino es suficiente para determinar la dieta, aportando la

misma o una mayor información que el estómago, que ha sido el órgano usualmente estudiado. El componente principal de la dieta de *P. canaliculata* en su rango de distribución nativo fueron los detritos, mientras que macrófitas, gramíneas, restos animales y algas filamentosas completaron los ítems más representativos. Los diagramas de Amundsen sugieren que esta especie se comporta como generalista, resaltando la importancia de los detritos en la dieta natural. A pesar de que los ambientes estudiados difieren en la disponibilidad de recursos tróficos potenciales, la dieta estimada a partir de los contenidos digestivos no muestra variación entre ambientes ni a lo largo del año. Con la excepción del arroyo donde *P. canaliculata* es más frecuente, la frecuencia y abundancia de las macrófitas sumergidas en la Cuenca de las Encadenadas del Oeste no se relacionaron con las de *P. canaliculata*. Sin embargo, al comparar esta cuenca con otra cercana, donde este caracol está ausente, se encontraron diferencias evidenciando un probable efecto del caracol.

La presencia de partículas líticas en el tracto digestivo de *P. canaliculata* es común en caracoles provenientes de ambientes naturales. La disponibilidad de partículas líticas puede aumentar la eficiencia de crecimiento, permitiendo alcanzar mayores largos y pesos, especialmente en las hembras juveniles. La ingesta de partículas parece ocurrir de forma accidental, pudiendo ingerir partículas que tengan un efecto adverso. Las partículas líticas en el tracto digestivo de *P. canaliculata* podrían actuar como gastrolitos, aunque esta función dependerá de la forma, tamaño y mineralogía de las mismas.

Los resultados de esta tesis sugieren que *Pomacea canaliculata* tiene un rol como especie clave en su rango de distribución nativo y este rol puede mantenerse en el rango exótico. Los resultados obtenidos, también sugieren que podría tener un rol importante en la resistencia biótica ante macrófitas invasoras y también un uso potencial como agente de control biológico. Sin embargo, la palatabilidad de las macrófitas presentes en los ambientes naturales y sus respectivas abundancias son determinantes del rol de esta especie y de los efectos que puede llegar a producir.

ABSTRACT

The South American freshwater snail *Pomacea canaliculata* is a generalist herbivore with macrophytophagous feeding habits. The most relevant impacts that this invasive snail has produced outside of its native range are due to the eradication of submersed vegetation, which generates changes in ecosystem functioning. The study of the natural diet and other aspects of the trophic ecology of *P. canaliculata* are important to understand its effects on aquatic vegetation and its role in waterbodies in its native range, which have not yet been studied. The objectives of this thesis were to study the determinants of the variation in the natural diet of *P. canaliculata* in the Encadenadas del Oeste basin (Buenos Aires, Argentina), to evaluate the effect of its herbivory on the composition and structure of submersed macrophyte communities and to investigate if the ingestion of lithic particles affects the digestive processes of the snail.

The palatability and preference for the different submersed macrophytes determine the herbivory of *P. canaliculata*. Laboratory experiments showed that palatability is negatively related to the physical defenses of the submersed macrophytes and that the preference for one or another species depends on their palatability. Mesocosmos experiments demonstrated that *P. canaliculata* could be affecting the submersed macrophyte communities in its native range, due to the eradication or biomass reduction of some macrophytes, probably as a result of its herbivory together with an increase in water turbidity. At the same time, effects on other ecosystemic components were observed, such as the increase in the productivity of phytoplankton and a decrease in detrital biomass.

The micrographic analysis of the digestive contents was an adequate method to study the natural diet of *P. canaliculata*. The analysis of the intestine content is sufficient to determine the diet, giving the same or even more information than the stomach, which has been the usually studied organ. The main component of the diet of *P. canaliculata* in

its native range was detritus, while macrophytes, grasses, animal remains and filamentous algae completed the most representative items. The Amundsen diagrams suggest that this species behaves as a generalist, and highlights the importance of detritus in its natural diet. Although the environments studied differ in the availability of potential trophic resources, the diet estimated from the digestive contents does not show variation among environments or throughout the year. Exception made of the stream where *P. canaliculata* was more frequent, the frequency and abundance of submersed macrophytes in the Encadenadas del Oeste basin was not related to the presence and abundance of *P. canaliculata*. However, when comparing this basin with a nearby one where the snail is naturally absent, differences were found in the frequency of occurrence of the most palatable macrophytes, probably indicating an effect on the part of the snail.

The presence of lithic particles in the digestive tract is common in *P. canaliculata* snails from natural waterbodies. The availability of lithic particles can increase growth efficiency, allowing greater lengths and weights to be reached by the snails, especially by juvenile females. The ingestion of these particles seems to happen accidentally, as the snails may ingest also particles that have noxious effects. The lithic particles in the digestive tract of *P. canaliculata* could act as gastroliths, although this function would depend on their shape, size and mineralogy.

The results of this thesis suggest that *Pomacea canaliculata* has a role as a keystone species in its native range which may be maintained in the exotic range. Results also indicate this snail could play a role in the biotic resistance against invasive macrophytes in addition to showing a potential as a biological control agent. However, the palatability of the macrophytes present in natural environments and their respective abundances are determinants of the role of this species and the effects it eventually produces.

Contenido

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	1
1.1 Antecedentes sobre la herbivoría de <i>Pomacea canaliculata</i>	1
1.2 Zona de estudio	6
1.3 Macrófitas representativas del Sudoeste Bonaerense	8
1.4 Objetivos.....	9
CAPÍTULO 2: PALATABILIDAD Y PREFERENCIA DE MACRÓFITAS SUMERGIDAS POR <i>POMACEA CANALICULATA</i>	10
2.1 Introducción.....	10
2.1.1 Objetivos.....	13
2.2 Materiales y métodos	14
2.2.1 Origen y mantenimiento de caracoles	14
2.2.2 Origen y mantenimiento de macrófitas sumergidas.....	14
2.2.3 Procedimientos de los experimentos de palatabilidad y preferencia.....	15
2.2.4 Análisis del valor nutricional de las macrófitas	15
2.2.5 Análisis estadísticos.....	16
2.3 Resultados	17
2.3.1 Palatabilidad de las macrófitas sumergidas	17
2.3.2 Preferencia de las macrófitas sumergidas.....	18
2.4 Discusión.....	20
CAPÍTULO 3: ANÁLISIS MICROGRÁFICO EXPERIMENTAL DE LOS RESTOS DE MACRÓFITAS SUMERGIDAS EN LOS CONTENIDOS DIGESTIVOS DE <i>POMACEA</i> <i>CANALICULATA</i>	24
3.1 Introducción.....	24
3.1.1 Objetivos.....	25
3.2 Materiales y métodos	26
3.2.1 Reconocimiento de macrófitas a partir de contenidos digestivos	26
3.3 Resultados	29
3.3.1 Reconocimiento de macrófitas a partir de contenidos digestivos	29
3.3.2 Cuantificación de la ingestión de macrófitas a partir de contenidos digestivos	35
3.4 Discusión.....	38
CAPÍTULO 4: VARIACIÓN ESPACIAL Y TEMPORAL DE LA DIETA NATURAL DE <i>POMACEA CANALICULATA</i>	41
4.1 Introducción.....	41
4.1.1 Objetivos.....	42
4.2 Materiales y métodos	43

4.2.1 Muestréos para el análisis de contenidos digestivos y la caracterización ambiental.....	43
4.2.2 Análisis de los contenidos digestivos	45
4.3 Resultados	49
4.3.1 Dieta natural	49
4.3.2 Recursos tróficos disponibles.....	56
4.4 Discusión.....	59
CAPÍTULO 5: EFECTOS DE <i>POMACEA CANALICULATA</i> SOBRE LAS COMUNIDADES DE MACRÓFITAS SUMERGIDAS.....	65
5.1 Introducción.....	65
5.1.1 Objetivos.....	67
5.2 Materiales y métodos	68
5.2.1 Origen y mantenimiento de las macrófitas sumergidas	68
5.2.2 Origen y mantenimiento de los caracoles	68
5.2.3 Estimación de los efectos de <i>P. canaliculata</i> sobre la comunidad de macrófitas sumergidas	69
5.2.4 Análisis estadísticos.....	72
5.3 Resultados	73
5.3.1 Efectos de <i>P. canaliculata</i> sobre la comunidad de macrófitas sumergidas.....	73
5.4 Discusión.....	79
CAPÍTULO 6: RELACIÓN ENTRE LA DISTRIBUCIÓN DE MACRÓFITAS ACUÁTICAS Y LA DE <i>POMACEA CANALICULATA</i> EN EL SUDOESTE BONAERENSE.....	85
6.1 Introducción.....	85
6.1.1 Objetivos.....	86
6.2 Materiales y métodos	88
6.2.1 Área de estudio.....	88
6.2.2 Estimación de la abundancia de macrófitas acuáticas, detritos y de <i>P. canaliculata</i> en la Cuenca de las Encadenadas del Oeste.....	89
6.2.3 Estimación de la ocurrencia de macrófitas acuáticas en la Cuenca de Drenaje Austral del Sistema de Ventania	89
6.2.4 Análisis de datos y estadísticos	90
6.3 Resultados	92
6.4 Discusión.....	99
CAPÍTULO 7: PRESENCIA DE PARTÍCULAS LÍTICAS EN EL TRACTO DIGESTIVO DE <i>POMACEA CANALICULATA</i> Y SU PRESUNTA FUNCIÓN COMO GASTROLITOS.....	104
7.1 Introducción.....	104
7.1.1 Objetivos.....	105

7.2 Materiales y métodos	107
7.2.1 Muestreo de campo: partículas líticas en diferentes partes del tracto digestivo	107
7.2.2 Origen y mantenimiento de los caracoles para los experimentos de laboratorio	107
7.2.3 Determinaciones de crecimiento en experimentos de laboratorio	108
7.2.4 Experimento 1: efecto de la disponibilidad de partículas líticas	109
7.2.5 Experimento 2: efecto del tamaño y disponibilidad de las partículas líticas	110
7.2.6 Experimento 3: efecto de la disponibilidad de partículas líticas y de alimento y su interacción	111
7.2.7 Análisis estadísticos de los datos.....	112
7.3 Resultados	113
7.3.1 Muestreo de campo: partículas líticas en diferentes partes del tracto digestivo	113
7.3.2 Experimento 1: efecto de la disponibilidad de partículas líticas	114
7.3.3 Experimento 2: efecto del tamaño y la disponibilidad de partículas líticas.....	115
7.3.4 Experimento 3: efecto de la disponibilidad de partículas líticas y de alimento y su interacción	116
7.4 Discusión.....	120
CAPÍTULO 8: CONCLUSIONES, PERSPECTIVAS Y CONSIDERACIONES FINALES	127
8.1 Conclusiones.....	127
8.2 Perspectivas.....	128
8.2.1 Estimación experimental de la dieta natural de <i>P. canaliculata</i>	128
8.2.2 Importancia de las partículas líticas en la ecología trófica de <i>P. canaliculata</i>	129
8.2.3 Rol de <i>P. canaliculata</i> como especie clave en su rango de distribución nativo e invadido	130
8.2.4 Posible rol de <i>P. canaliculata</i> en la resistencia biótica	131
8.2.5 Potencial uso de <i>P. canaliculata</i> como agente de control biológico.....	132
8.2.6 Efectos indirectos de <i>P. canaliculata</i> sobre el funcionamiento ecosistémico ..	133
8.2.7 Impactos de <i>P. canaliculata</i> en el rango de distribución invadido y nativo.....	135
8.3 Consideraciones finales	136
BIBLIOGRAFÍA.....	138

CAPÍTULO 1

INTRODUCCIÓN

1.1 Antecedentes sobre la herbivoría de *Pomacea canaliculata*

Pomacea canaliculata (Lamarck, 1822) es un caracol dulceacuícola perteneciente a la familia Ampullariidae (Caenogastropoda), el cual es considerado un herbívoro generalista (Estebenet, 1995). Su distribución natural abarca desde el sur de Brasil hasta el sur Bonaerense (Martín *et al.*, 2001; Hayes *et al.*, 2008). Sin embargo, esta especie se ha convertido en invasora en diferentes sitios alrededor del mundo, como en el Sudeste Asiático (Halwart, 1994), Hawaii, Texas y Florida (Rawlings *et al.*, 2007) y España (López *et al.*, 2010).

Los herbívoros exóticos generalmente producen efectos negativos mayores sobre la abundancia y riqueza de plantas nativas que sobre plantas exóticas mientras que los herbívoros nativos producen un efecto negativo mayor sobre la abundancia de plantas exóticas en comparación con las nativas (Parker *et al.*, 2006); a su vez, los herbívoros exóticos incrementan la riqueza de plantas exóticas mientras que los herbívoros nativos no producen efectos detectables sobre la riqueza tanto para plantas nativas como para las exóticas. Los impactos más relevantes producidos por *P. canaliculata* en el rango de distribución invadido se deben a su hábito macrofitófago y a su voraz apetito (Cowie, 2002; Horgan *et al.*, 2014b; Hayes *et al.*, 2015) pero no se limitan a la vegetación. Por ejemplo, en ciertos humedales tropicales fue capaz de erradicar completamente las macrófitas sumergidas y flotantes, promoviendo así cambios en el funcionamiento de estos ecosistemas acuáticos, generando un incremento en la productividad del fitoplancton y en la turbidez del agua debido a la liberación de nutrientes durante los procesos de excreción (Carlsson *et al.*, 2004; Fang *et al.*, 2010; Horgan *et al.*, 2014a). Sin embargo, aún cuando no erradique la vegetación acuática, su herbivoría diferencial puede alterar la composición y estructura de esas comunidades, debido al reemplazo de

especies palatables por no palatables (Qiu & Kwong, 2009), actuando de esta manera como una especie clave en las regiones invadidas (Power *et al.*, 1996). Sus grandes impactos se reflejan en su inclusión entre las 100 peores especies invasoras a nivel mundial (Lowe *et al.*, 2000; Nentwig *et al.*, 2018), entre las que es el único caracol de agua dulce.

A pesar de ser un herbívoro generalista algunos estudios han señalado que *P. canaliculata* se alimenta preferentemente de macrófitas con un origen geográfico distinto a su área nativa (Burks *et al.*, 2011; Morrison & Hay, 2011b), lo que llevaría a predecir que la influencia de su herbivoría es menor en sus ambientes nativos, por lo que no cumpliría allí el mencionado rol como especie clave. Las macrófitas presentan en general defensas químicas ante los caracoles del género *Pomacea* del mismo origen geográfico, por lo que estos herbívoros generalistas pueden resultar piezas clave en la resistencia biótica a plantas acuáticas invasoras (Morrison & Hay, 2011b; Ribas *et al.*, 2017; Calvo *et al.*, 2018). Sin embargo, Grutters *et al.* (2017a) han señalado que el valor nutricional en combinación con las defensas físicas y químicas que poseen las plantas son los que determinan la palatabilidad y no su origen geográfico. Esto sugiere que la influencia y los impactos producidos por *P. canaliculata* no deberían diferir entre el rango de distribución nativo y el invadido, sino que dependerán de la identidad y defensas particulares de las macrófitas presentes en un determinado cuerpo de agua. Giorgi *et al.* (2005) han sugerido que esta especie puede tener un rol natural importante en el mantenimiento del estado trófico y la estructura de la vegetación de humedales pampeanos, tal vez cumpliendo un rol como especie clave. Sin embargo, su rol y efecto sobre la comunidad de macrófitas acuáticas no ha sido investigado aún en su rango de distribución nativo en América del Sur.

Pese a su amplia distribución actual a escala global, de los antecedentes sobre los efectos producidos por su herbivoría y de numerosos estudios de alimentación en laboratorio (e.g. Estebenet, 1995; Qiu & Kwong, 2009; Morrison & Hay, 2011a, b, c), sólo

existen cuatro estudios previos sobre la dieta natural de *P. canaliculata*. Uno de ellos fue realizado en Hong Kong (Kwong *et al.*, 2010), donde las comunidades vegetales tienen una composición muy distinta de las de su rango natural de distribución, y los otros tres fueron realizados en el norte de la provincia de Buenos Aires (López-van Oosterom *et al.*, 2013; Ocon *et al.*, 2013) y en la provincia de Santa Fe (Saigo *et al.*, 2016). Sin embargo, en ninguno de esos estudios se intentó discriminar la identidad específica de las macrófitas, agrupándolas en categorías como plantas vasculares o macrófitas ingeridas. La importante pero variable representación de los tejidos vegetales en los contenidos digestivos de *P. canaliculata* (López-van Oosterom *et al.*, 2013, 2016; Saigo *et al.*, 2016) sugieren que la intensidad de la herbivoría quizás dependa de la composición de la vegetación acuática. El análisis micrográfico de los contenidos estomacales (Cuartas & Garcia-Gonzalez, 1996) es un método adecuado para determinar la dieta natural y poder confirmar la expresión de las preferencias tróficas en condiciones naturales.

Un factor determinante en la herbivoría e impactos de este caracol es la palatabilidad que presentan las plantas. La mayoría de los estudios sobre la palatabilidad de macrófitas por parte de *P. canaliculata* han sido llevados a cabo en el rango de distribución donde es invasor y se ha usado como un *proxy* de la palatabilidad la tasa de ingestión específica bajo condiciones de alimentación *ad libitum* y con oferta única (Baker *et al.*, 2010; Grutters *et al.*, 2017a). Estos estudios incluyeron macrófitas de muy diversos hábitats y hábitos de crecimiento, desde semi-acuáticas y emergentes a flotantes y sumergidas (Burlakova *et al.*, 2009; Qiu & Kwong, 2009; Wong *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2016), y en general se encontraron grandes diferencias en la palatabilidad entre las macrófitas investigadas. Sin embargo, no solo la palatabilidad es la que condiciona el consumo de plantas por parte del caracol, sino que la preferencia o palatabilidad relativa de las mismas es de suma importancia. La preferencia es la predilección que muestra el caracol por las macrófitas en condiciones de oferta múltiple, y esta puede ser registrada como la elección de una macrófita por sobre otra o puede ser estimada según su

palatabilidad (palatabilidad relativa) (Lach *et al.*, 2000; Morrison & Hay, 2011b). A pesar de su amplio espectro trófico, *P. canaliculata* muestra marcadas preferencias entre macrófitas (e.g. Estebenet, 1995, Qiu & Kwong, 2009; Morrison & Hay, 2011a, b). Los valores de preferencia de una macrófita pueden cambiar dependiendo de la identidad taxonómica y palatabilidad del resto de la comunidad vegetal. La importancia de cada macrófita como recurso en la dieta de *P. canaliculata* dependerá tanto de la palatabilidad (condición propia de la especie) como de la preferencia (condición dependiente de la comunidad presente).

Pomacea canaliculata posee poderosas mandíbulas y rádula (Andrews, 1965; Moretto & Nahabedian, 1989; Martín & Negrete, 2007), un estómago con una fuerte musculatura y una molleja cuticularizada (Andrews, 1964) y altos niveles de actividad enzimática en diferentes partes de su tracto digestivo (Godoy *et al.*, 2013; Luo *et al.*, 2015) que permiten la ingestión y digestión de macrófitas. A pesar de estos múltiples mecanismos, se ha mencionado que la presencia de partículas líticas (“*small stones or grit*”) en el estómago de *P. canaliculata* podría tener también un rol importante en la disgregación del material vegetal ingerido (Andrews, 1965). Si esta afirmación fuera cierta permitiría a los caracoles sacar un mayor provecho del alimento debido a una mayor trituración de los tejidos ingeridos (Gross & Lombardo, 2018), sobre todo en condiciones de baja disponibilidad. Además podría hacer posible la disgregación y digestión de algunas plantas que debido a su alto contenido de fibras (Burlakova *et al.*, 2009; Gross & Bakker, 2012) serían imposibles de digerir. Sin embargo, en otros caracoles de agua dulce no se han registrado efectos cuantitativos significativos de la disponibilidad de partículas líticas sobre la ingestión de macrófitas (Gross & Lombardo, 2018).

Los efectos producidos por este caracol se deben en parte a su alta tasa de ingestión (Tamburi & Martín, 2009a; Morrison & Hay, 2011a) y a los altos niveles poblacionales de densidad y biomasa que puede llegar a alcanzar (Fang *et al.*, 2010; Gilioli *et al.*, 2017a, b). Las poblaciones de *P. canaliculata* presentan densidades muy

variables en su rango de distribución nativo encontrándose desde 11 hasta 71 caracoles por metro cuadrado (Burela & Martín, 2014). Sin embargo, se desconoce si la riqueza y abundancia de las macrófitas en estos cuerpos de agua se ven afectados por la presencia y abundancia de este ampulárido.

Los efectos producidos por *P. canaliculata* en las zonas invadidas podrían replicarse de forma similar en Argentina, donde se ha producido una expansión antrópica de su distribución natural (Martín *et al.*, 2001; Martín & De Francesco, 2006). Sus altas tasas reproductivas y su plasticidad para adaptarse a distintos ambientes y condiciones (Estebenet & Martín, 2002; Tamburi & Martín, 2011; Saveanu *et al.*, 2017; Seuffert & Martín, 2017) hacen prever que su expansión pueda continuar. La herbivoría de *P. canaliculata* podría acentuar y volver irreversibles los estados de aguas turbias en los cuerpos de agua de la zona pampeana (Quirós *et al.*, 2002; Carlsson *et al.*, 2004; Fang *et al.*, 2010). Sin embargo, no se conoce aún lo suficiente sobre las palatabilidades, preferencias y la dieta natural de este ampulárido para poder comprender los efectos de su herbivoría sobre la comunidad de macrófitas sumergidas en sus ambientes naturales.

1.2 Zona de estudio

La región pampeana es una eco-región plana y cubierta mayormente por pastizales que cuenta con una gran cantidad de cuerpos de agua superficiales. En estos cuerpos de agua las macrófitas son muy importantes desde el punto de vista ecosistémico y comunitario. Los arroyos pampeanos son lentos y altamente productivos, y carecen de árboles en su vegetación ribereña (Giorgi *et al.*, 2005; Rodrigues Capítulo *et al.*, 2010; Acuña *et al.*, 2011). Por otra parte, los lagos o lagunas pampeanas, que se caracterizan por ser someros y eutróficos, presentan grandes fluctuaciones en turbidez y biomasa de fitoplancton debido a la muerte y descomposición de macrófitas, causadas en parte por fluctuaciones del nivel del agua (Llames *et al.*, 2013; Sánchez *et al.*, 2015). Muchos de estos cuerpos de agua se hallan en un equilibrio fluctuante entre un estado de aguas claras, dominado por las plantas sumergidas y uno de aguas turbias, dominado por el fitoplancton (Quirós *et al.*, 2002).

La zona de estudio comprende la Cuenca de las Lagunas Encadenadas del Oeste (CEO; Figura 1.1) y se encuentra en el sudoeste de la provincia de Buenos Aires, representando el límite austral de la distribución natural de *P. canaliculata* (Martín *et al.*, 2001; Hayes *et al.*, 2008). Las lagunas están conectadas entre sí y reciben aportes hídricos de arroyos de la vertiente Noroeste de las Sierras de Ventania. Los arroyos se pueden catalogar según sus nacientes en las subcuencas a las que pertenecen en arroyos denominados largos o cortos. Los primeros se extienden por la superficie de las subcuencas hasta la zona de las Sierras, donde se encuentran sus nacientes, mientras que los últimos nacen a la mitad de la subcuenca a la que pertenecen (Geraldí, 2009). Se han registrado poblaciones de *P. canaliculata* en los arroyos largos, mientras que se encuentran ausentes en los arroyos cortos (Seuffert & Martín, 2013a), siendo el único ampulárido presente en el sur Bonaerense (Martín *et al.*, 2001). Las Sierras de Ventania parecen ser una barrera infranqueable para los caracoles, por lo que su distribución geográfica natural se vio limitada por la misma (Martín *et al.*, 2001; Martín & De

Francesco, 2006). Por otro lado, al Sudoeste de las Sierras de Ventania se encuentra la Cuenca de Drenaje Austral del Sistema de Ventania (CDASV; Figura 1.1), integrada por arroyos y ríos aislados entre si y de cortos recorridos. Los arroyos de esta cuenca, si bien son similares a los de la CEO, nunca han sido habitados por *P. canaliculata* (Martín *et al.*, 2001; Martín & De Francesco, 2006), aunque se han registrado algunas poblaciones introducidas recientemente.

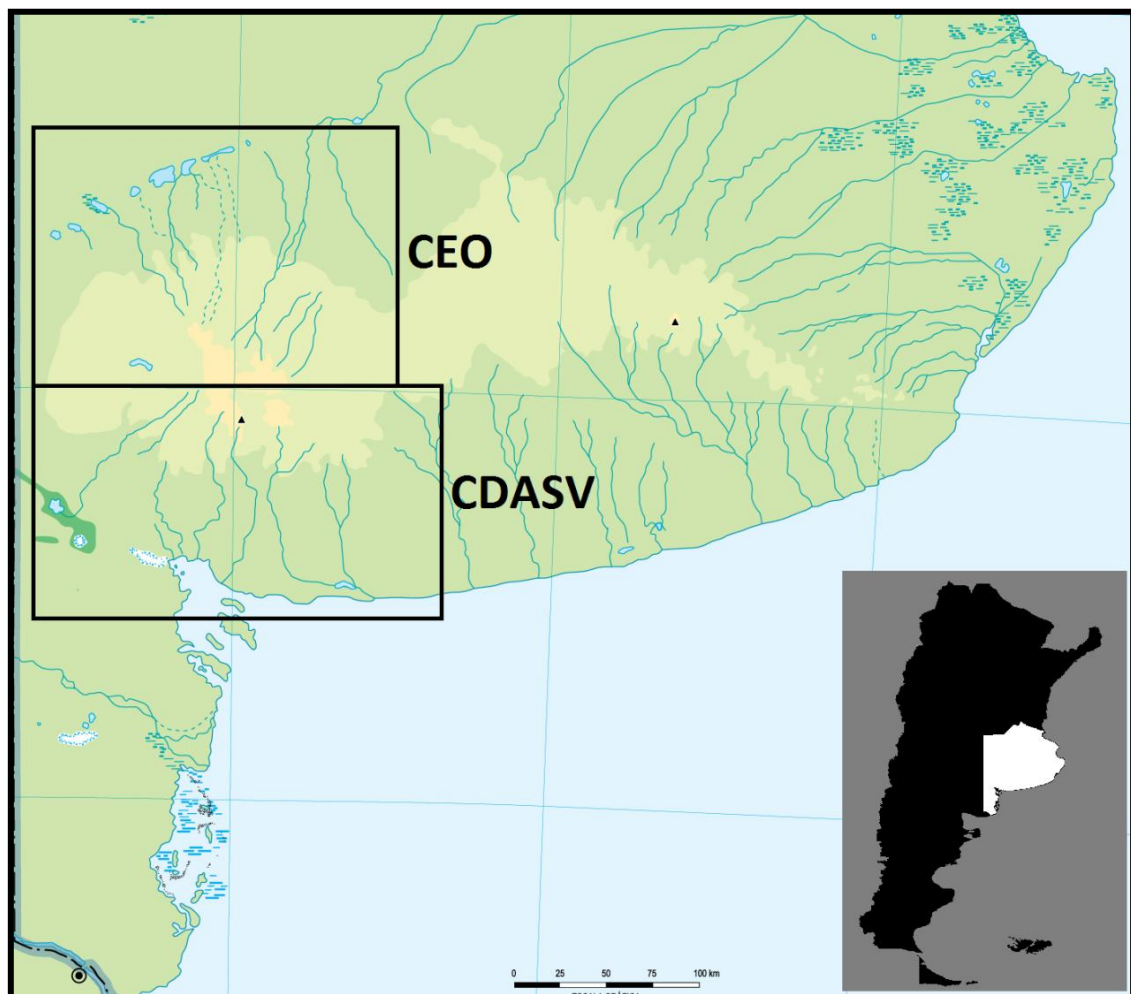


Figura 1.1. Mapa de la provincia de Buenos Aires en el que se resalta la Cuenca de las Lagunas Encadenadas del Oeste (CEO), zona de estudio de la presente tesis, y la Cuenca de Drenaje Austral del Sistema de Ventania (CDASV).

1.3 Macrófitas representativas del Sudoeste Bonaerense

Las plantas que crecen en los humedales, comúnmente llamadas macrófitas, son plantas adaptadas para crecer en suelos saturados de agua; una característica intrínseca de los humedales es estar vegetados por este tipo de plantas (Brix, 1994). Los arroyos de la zona de estudio y de la región pampeana carecen mayormente de árboles en la vegetación ribereña, por lo que la vegetación acuática resulta de suma importancia debido a que la mayor parte de la heterogeneidad ambiental depende de ella (Rodríguez Capítulo *et al.*, 2010; Acuña *et al.*, 2011; Giorgi *et al.*, 2005).

Las macrófitas sumergidas más representativas del Sudoeste Bonaerense son *Chara contraria* var. *nitelloides* (A. Braun ex Kütz) (Charophyta), *Ludwigia peploides* (Kunth) (Onagraceae), *Myriophyllum quitense* (Kunth) (Haloragaceae) y *Stuckenia striata* (Ruiz & Pav.) y *Zannichellia palustris* L. (Potamogetonaceae). Estas especies fueron las utilizadas en varios experimentos realizados en la presente tesis por ser las más abundantes en los arroyos de esta zona. A su vez en estos arroyos suelen aparecer comúnmente especies de macrófitas emergentes como *Cyperus* spp., *Eleocharis bonariensis* Nees, *Hydrocotyle bonariensis* Comm. ex Lam, *Schoenoplectus californicus* (C.A. Mey), *Senecio bonariensis* Hook & Arn y *Thypha* sp. y algunas flotantes como *Azolla filiculoides* Lam, *Lemna minor* L., *Ricciocarpus natans* (L.) Corda y *Wolffia columbiana* H. Karst.

1.4 Objetivos

El objetivo general de la presente tesis es analizar los determinantes de la variación en la dieta natural del caracol macrofitófago *Pomacea canaliculata* para comprender sus diversos efectos sobre la vegetación de los humedales naturales.

Objetivos específicos:

- Investigar si hay diferencias en la palatabilidad y la preferencia de las macrófitas más frecuentes en nuestra zona de estudio por parte de *P. canaliculata*.
- Evaluar a través de un análisis micrográfico si es posible reconocer las macrófitas ingeridas por *P. canaliculata* a través de los contenidos del tracto digestivo.
- Evaluar si es posible reconocer los contenidos digestivos de caracoles provenientes del campo y estimar qué recursos son los más consumidos en su ambiente natural.
- Determinar si la herbivoría diferencial de *P. canaliculata* podría afectar la composición y estructura de las comunidades de macrófitas sumergidas en el rango de distribución nativo.
- Estimar si existe alguna relación entre la riqueza de macrófitas y la cobertura relativa de cada una y la presencia y abundancia de *P. canaliculata* en arroyos de su ambiente natural.
- Investigar la presencia de partículas líticas en el tracto digestivo de individuos de *P. canaliculata* en ambientes naturales y determinar el significado de las mismas en su ecología trófica.

CAPÍTULO 2

PALATABILIDAD Y PREFERENCIA DE MACRÓFITAS SUMERGIDAS POR *POMACEA CANALICULATA*

2.1 Introducción

Pomacea canaliculata se caracteriza por poseer un hábito de alimentación principalmente macrofitófago (Estebenet, 1995); sin embargo, diversos estudios señalan su capacidad para alimentarse de distintos recursos tróficos como detritos, carroña e incluso presentan un mecanismo de colecta pedal para captar alimento que se encuentra en la superficie del agua (Saveanu & Martín, 2013; López-van Oosterom *et al.*, 2016; Saveanu *et al.*, 2017). Estudios realizados en zonas donde este caracol es invasor destacan su voracidad por las macrófitas acuáticas o semi-acuáticas (Qiu & Kwong, 2009; Wong *et al.*, 2010; Morrison & Hay, 2011a, b, c; Xu *et al.*, 2016), encontrándose sin embargo grandes diferencias en la palatabilidad y preferencia dependiendo de la identidad de las macrófitas investigadas.

A diferencia de lo que ocurre en el rango de distribución invadido, son escasos los estudios sobre estos aspectos en su rango nativo, encontrándose algunos trabajos donde se analizan los contenidos del tracto digestivo pero sin hacer referencia a la palatabilidad o preferencia en forma directa (Cruz *et al.*, 2015; López-van Oosterom *et al.*, 2016); en otros se destaca la capacidad de este caracol para ingerir algunas especies de macrófitas (Cazzaniga, 1981) e inclusive la capacidad de detectar algunas de ellas a distancia (Estebenet, 1995). Sin embargo, estos estudios no reflejan el comportamiento que tendría *P. canaliculata* en su hábitat natural ya que las especies de macrófitas seleccionadas muchas veces no representan la oferta real de los cuerpos de agua, llegándose a usar macrófitas que difícilmente estarían a su disposición (e.g. semi-acuáticas y emergentes; Qiu & Kwong, 2009; Wong *et al.*, 2010), o se trata de macrófitas seleccionadas buscando

un fin específico (ej. control de malezas acuáticas por parte del caracol; Cazzaniga, 1981).

La palatabilidad de un alimento determina su grado de aceptación para la ingesta. Debido a que la palatabilidad depende de un conjunto de múltiples características (Garner, 1963), una forma sencilla de evaluarla es a través de la tasa de ingestión que presenta un alimento por parte de un individuo. Por su parte, la preferencia es una elección entre ciertas alternativas e incluye la posibilidad de generar un orden de las mismas. Para el caso de la herbivoría de *P. canaliculata* se puede estimar el grado de palatabilidad de las macrófitas a través de la tasa de ingestión de las mismas cuando son ofrecidas en forma aislada (Qiu & Kwong, 2009; Kwong *et al.*, 2010). El grado de preferencia se puede considerar como la elección de una macrófita por sobre otra (Lach *et al.*, 2000; Morrison & Hay, 2011b), estimado por las tasas de ingestión de las mismas en situaciones de oferta simultánea y equivalente de las macrófitas a comparar.

La palatabilidad de las macrófitas puede depender de muchos aspectos, pero en particular de las estrategias defensivas desarrolladas por las macrófitas para evitar la herbivoría. A grandes rasgos estas se pueden dividir en defensas físicas o químicas (Qiu & Kwong, 2009; Wong *et al.*, 2010), que pueden ser más o menos efectivas y estar presentes o no en simultáneo. Si a estas defensas le sumamos la calidad nutritiva que puede presentar cada macrófita, obtenemos una gran variedad de combinaciones que pueden aumentar o disminuir la palatabilidad de las especies disponibles. Algunos trabajos señalan que la palatabilidad para los ampuláridos está directamente relacionada con el valor nutritivo de las macrófitas, es decir que aquellas con alto contenido de N y P serían más palatables (Xu *et al.*, 2016). Dentro de las defensas físicas, una de las más importantes es el contenido de celulosa. Las macrófitas con un alto contenido de esta sustancia, mayormente semi-acuáticas y emergentes, poseen tejidos más duros y hacen difícil una ingesta por parte del caracol (Burlakova *et al.*, 2009). En cuanto a las defensas químicas, los principales componentes involucrados son los fenoles, que son

considerados compuestos anti-palatables para *P. canaliculata* (Qiu & Kwong, 2009). Sin embargo, varias de las especies vegetales utilizadas para estas determinaciones no son netamente acuáticas, siendo incluso algunas terrestres, por lo que la gran variación encontrada en la ingesta de las mismas puede atribuirse a que son especies con hábitos y características muy diferentes a las macrófitas acuáticas.

Por último, se ha mencionado que la novedad de las macrófitas para herbívoros generalistas como los ampuláridos podría variar la palatabilidad de las mismas (Morrison & Hay, 2011b), siendo más palatables las que no han tenido un contacto previo en su historia evolutiva, ya que no estarían preparadas para evitar la herbivoría por parte de estos caracoles. Las macrófitas que hubieran compartido su historia evolutiva con los caracoles podrían haber desarrollado defensas físicas o químicas por estar expuestas a la herbivoría por parte de *P. canaliculata* y así haber disminuido su palatabilidad (Morrison & Hay, 2011b). Wong *et al.* (2010) relacionan la palatabilidad de las macrófitas con la relación N/C, que sería indicador del balance entre el valor nutritivo de una macrófita y sus defensas físicas, siendo altamente palatables las especies con un valor alto del coeficiente y poco palatables las que tengan un valor bajo.

La preferencia de las macrófitas por parte de *P. canaliculata* es de suma importancia, ya que en los ambientes naturales la herbivoría de este ampulárido estaría direccionada por la misma. Estudios en los ambientes donde esta especie es invasora han encontrado diferencias en las preferencias por parte del caracol por las distintas macrófitas ofrecidas (Lach *et al.*, 2000; Wong *et al.*, 2010). Sin embargo, como se señaló anteriormente, algunas de las macrófitas utilizadas no son netamente acuáticas, lo que hace poco probable su ingesta en el ambiente natural y relativiza estos hallazgos. La preferencia entre macrófitas sumergidas en la Argentina no ha sido estudiada en forma específica hasta ahora. La preferencia de *P. canaliculata* por las macrófitas podría variar mucho de un lugar a otro dependiendo de la identidad de las mismas, y el grado de preferencia podría estar relacionado con sus palatabilidades. En consecuencia podríamos

encontrar diferencias tanto en la herbivoría como en los impactos producidos por *P. canaliculata* dependiendo de la composición de la comunidad de macrófitas.

2.1.1 Objetivos

Investigar en laboratorio a través de experimentos de oferta única si hay diferencias en la palatabilidad de las cinco macrófitas sumergidas más frecuentes en nuestra zona de estudio por parte de *Pomacea canaliculata* y estimar a través de experimentos de oferta múltiple la preferencia por las mismas. Se espera que las macrófitas que presenten valores nutritivos altos y no presenten defensas físicas tengan una palatabilidad alta para *P. canaliculata*, mientras que las que presenten defensas físicas y valores nutritivos bajos tengan una palatabilidad baja. A su vez se espera que la preferencia de las macrófitas sumergidas se encuentre direccionada por la palatabilidad de las mismas.

2.2 Materiales y métodos

2.2.1 Origen y mantenimiento de caracoles

Los caracoles utilizados fueron obtenidos a partir de puestas de huevos depositadas en laboratorio por caracoles provenientes del arroyo Corto en la localidad de Espartillar (37° 20' 48" S, 62° 25' 19" O). Se utilizaron caracoles criados en laboratorio para evitar posibles interferencias debido a experiencias previas que pudieran tener los caracoles con las macrófitas si estos fueran provenientes de un ambiente natural. Una vez eclosionadas las puestas en laboratorio, los caracoles fueron criados en acuarios individuales de 200 ml con agua saturada con CaCO₃ a 25°C, con un fotoperiodo de 14:10 hs (luz:oscuridad) y alimentados *ad libitum* con lechuga hasta alcanzar un largo de conchilla entre 24 y 30 mm. Dos semanas antes de comenzar el experimento se cambió el alimento a papel para limpiar el tubo digestivo de restos vegetales y así poder constatar luego si los caracoles habían ingerido las macrófitas ofrecidas.

2.2.2 Origen y mantenimiento de macrófitas sumergidas

Las macrófitas utilizadas fueron colectadas en el arroyo Napostá Grande en la localidad de Tres Picos (38° 17' 47" S, 62° 10' 15" O), perteneciente a la Cuenca de Drenaje Austral del Sistema de Ventania (CDASV), y se trasladaron al laboratorio en recipientes plásticos con agua del lugar. Las macrófitas fueron enjuagadas tanto en el lugar de colección como en el laboratorio para remover restos de sedimentos, algas e invertebrados que pudieran contener. Las macrófitas utilizadas fueron *Chara contraria* var. *nitelloides*, *Ludwigia peploides*, *Myriophyllum quitense*, *Stuckenia striata* y *Zannichellia palustris*, por ser las más abundantes en los arroyos de nuestra zona de estudio.

2.2.3 Procedimientos de los experimentos de palatabilidad y preferencia

Para estimar la palatabilidad, en función de la ingesta diaria, cada macrófita fue ofrecida a 10 caracoles en forma individual (n=10 para cada especie) por un periodo de 24 hs. Al mismo tiempo se ofrecieron todas las macrófitas en simultáneo a otros 10 caracoles para estimar la preferencia (n=10). Durante el experimento se utilizaron acuarios individuales de 3 l sin agregado de CaCO₃ en el agua. Previo al experimento se mantuvo a los caracoles en ayuno por tres días. En cada frasco se colocaron un caracol y aproximadamente 2 g de cada macrófita, que supera lo que un caracol puede comer por día. Las macrófitas fueron pesadas antes y después del experimento (peso fresco; precisión de 1 mg) retirando el exceso de agua por centrifugación para obtener los pesos iniciales (P_I) y finales (P_F) de cada especie. Como control se utilizaron cinco acuarios con las cinco macrófitas (sin caracoles), a partir de las cuales se calculó un coeficiente de crecimiento y/o hidratación a través de los pesos iniciales y finales ($H = P_I / P_F$). Éste coeficiente se utilizó para corregir los valores de los pesos finales a la hora de calcular la tasa de ingestión diaria (TID: gramos de material vegetal consumidos por gramo de caracol por día; g.g⁻¹.d⁻¹):

$$TID = (P_F * H - P_I) / P_C$$

P_F: peso fresco final de la macrófita

P_I: peso fresco inicial de la macrófita

P_C: peso del caracol

2.2.4 Análisis del valor nutricional de las macrófitas

Se tomó una muestra de 500 g de cada macrófita para realizar un análisis nutricional estándar en el Laboratorio de Nutrición Animal (Departamento de Agronomía, UNS) y obtener los siguientes parámetros nutricionales (%): materia seca (MS), cenizas (C; contenido total de minerales), lignina (L), fibras de digestión neutra (FDN; celulosa,

hemicelulosa y lignina) y ácida (FDA; celulosa y lignina) (Van Soest *et al.*, 1991), carbohidratos solubles (CS; azúcares simples y complejos) (Silva & Queiroz, 2002) y proteínas solubles (PS; proteínas y nitrógeno no proteico) (Araba & Dale, 1990).

2.2.5 Análisis estadísticos

Para determinar si había diferencias entre la palatabilidad de las macrófitas utilizadas se analizaron las TID mediante el test de Kruskal-Wallis con un test *a posteriori* de comparaciones de a pares de Dunn. Para determinar si había diferencias en la preferencia de las macrófitas utilizadas se calculó un índice de preferencia (IP) para cada una el cual fue analizado por medio del test de Friedman (Roa, 1992):

$$\text{IP (\%)} = 100 \times \text{gr consumidos de cierta macrófita} / \sum \text{gr consumidos de cada macrófita}$$

Se realizaron correlaciones de Pearson de a pares entre las variables y la palatabilidad buscando definir aquellos componentes nutricionales determinantes para la ingesta por parte de *P. canaliculata*.

2.3 Resultados

La inspección de los acuarios tanto del experimento de palatabilidad como de preferencia permitió observar la presencia de heces con restos de material vegetal verde. El contraste entre estas últimas y las heces de papel, de color blanco, indican que todos los caracoles se alimentaron de las macrófitas y que parte del material ingerido atravesó el tracto digestivo del caracol en menos de 24 hs.

2.3.1 Palatabilidad de las macrófitas sumergidas

Las palatabilidades de las macrófitas para *P. canaliculata* fueron, en orden decreciente, las siguientes: *C. contraria*, *M. quitense*, *Z. palustris*, *S. striata* y *L. peploides*, encontrándose diferencias significativas entre las mismas (test de Kruskal-Wallis: $\chi^2 = 36,931$, $p < 0,001$; Figura 2.1). La palatabilidad de *C. contraria* fue significativamente mayor a las de *S. striata* y *L. peploides*, pero no difirió de las de *M. quitense* y *Z. palustris*, y a su vez *M. quitense* mostró una palatabilidad mayor a *L. peploides* (test de Dunn: $z = 2,807$, $p < 0,05$). El resto de las comparaciones de a pares no evidenció diferencias significativas.

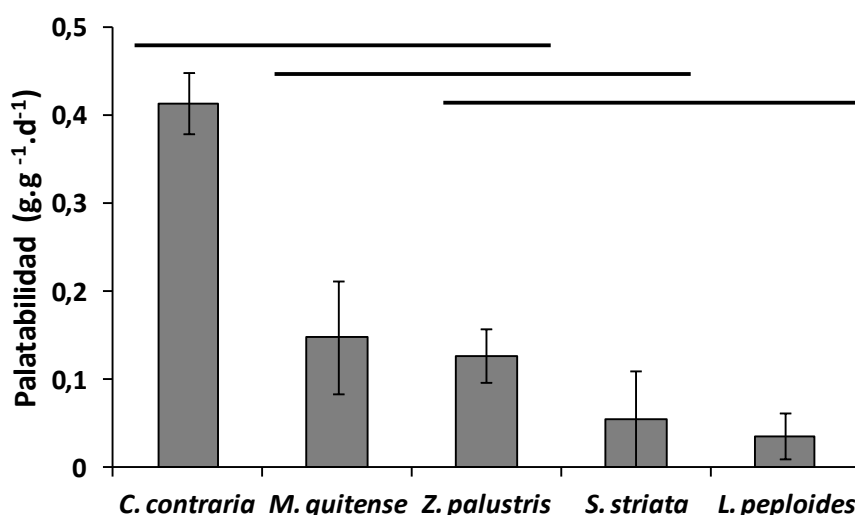


Figura 2.1. Palatabilidad (g.g⁻¹.d⁻¹, media ± DE) de las cinco macrófitas para *Pomacea canaliculata*; las macrófitas unidas por una línea continua no difieren significativamente entre sí (test de Dunn: $p < 0,05$).

Se encontraron correlaciones significativas, tanto positivas como negativas, entre la palatabilidad y las variables nutricionales de las macrófitas (Tablas 2.1 y 2.2). La palatabilidad está relacionada positivamente con el contenido de cenizas mientras que disminuye con el contenido de fibras (Tabla 2.1). *Chara contraria*, la macrófita más palatable, presentó los valores más altos de contenidos de cenizas y los más bajos de lignina (Tabla 2.2). Por su parte, *S. striata*, una de las macrófitas menos palatables, presentó los valores más altos de fibras tanto de digestión neutra como de digestión ácida, y junto a *L. peploides* presentaron los valores más altos para lignina (Tabla 2.2).

Variables	Palatabilidad		
	r	p	N
Materia seca	0,585	0,063	5
Cenizas	0,988	0,002	5
Fibras en detergente neutro	-0,939	0,018	5
Fibras en detergente ácido	-0,958	0,010	5
Lignina	-0,693	0,195	5
Carbohidratos solubles	-0,606	0,279	5
Proteína soluble	-0,699	0,189	5

Tabla 2.1. Correlaciones de Pearson entre la palatabilidad y las variables nutricionales de las macrófitas. En negrita los valores significativos ($p \leq 0.05$).

Macrófitas	MS	C	L	FDN	FDA	CS	PS
<i>C. contraria</i>	96,58	62,32	4,51	17,67	21,72	2,24	1,79
<i>L. peploides</i>	93,33	11,25	18,34	46,89	38,45	4,51	5,35
<i>M. quitense</i>	95,30	31,77	18,49	34,96	34,28	3,34	5,15
<i>S. striata</i>	91,78	20,82	9,43	53,65	43,76	2,44	2,97
<i>Z. palustris</i>	93,38	24,44	16,77	47,59	35,76	3,20	4,83

Tabla 2.2. Valores nutricionales de las macrófitas (%): materia seca (MS), cenizas (C), lignina (L), fibras de digestión neutra (FDN) y ácida (FDA), carbohidratos solubles (CS) y proteínas solubles (PS).

2.3.2 Preferencia de las macrófitas sumergidas

El índice de preferencia (IP) calculado para cada una de las cinco macrófitas mostró diferencias significativas entre las mismas (test de Friedman: $X^2 = 26,960$,

$p < 0,001$; Figura 2.2). *Chara contraria* fue la macrófita con más alta preferencia, presentando un alto porcentaje de herbivoría por parte de *P. canaliculata* (85.83%). Luego le siguieron con un bajo índice de preferencia *M. quitense* (10,01%) y *Z. palustris* (8,06%) y por último las especies menos preferidas, con escasa o nula herbivoría, *S. striata* (-4,12%) y *L. peploides* (0,20%).

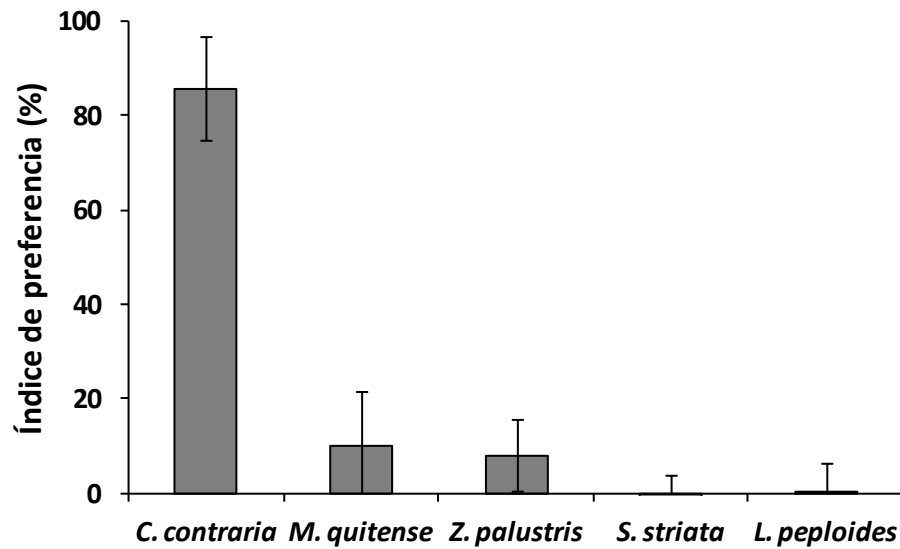


Figura 2.2. Índice de preferencia (% , media \pm DE) de *Pomacea canaliculata* por las cinco macrófitas para el experimento de oferta múltiple.

2.4 Discusión

A través de los experimentos de laboratorio se demostró que la palatabilidad de las macrófitas sumergidas para *P. canaliculata* es altamente variable, a pesar de que se trata de especies que comparten el mismo hábito de crecimiento y que ofrecen una disponibilidad similar para ser consumidas, ya que todos los órganos están al alcance del caracol. La preferencia por estas macrófitas parece estar estrictamente relacionada a su palatabilidad, mostrando sin embargo cierto grado de interacción entre las especies utilizadas cuando todas están disponibles al mismo tiempo.

Los caracoles utilizados para los experimentos de palatabilidad y preferencia fueron criados a partir de puestas de huevos eclosionadas en laboratorio, por lo tanto no tenían ninguna experiencia previa (Grantham *et al.*, 1993) que pudiera afectar la palatabilidad de ninguna de las macrófitas utilizadas. Debido a esto, se puede asumir que las tasas de ingestión diaria y el índice de preferencia reflejan en forma directa la palatabilidad y la preferencia y estas dependerán de forma exclusiva del valor nutricional y de las defensas tanto físicas como químicas que puedan presentar las macrófitas (Burlakova *et al.*, 2009; Qiu & Kwong, 2009; Wong *et al.*, 2010). Por otro lado, las macrófitas no podrían haber desarrollado defensas inducidas (Morrison & Hay, 2011c) debido a la herbivoría de *P. canaliculata*, ya que el experimento tuvo una duración de 24 hs; tampoco podrían haber desarrollado estas defensas en el ambiente natural debido a que fueron colectadas en el arroyo Napostá Grande, donde *P. canaliculata* está naturalmente ausente.

Pomacea canaliculata posee un amplio espectro trófico y puede alimentarse de una gran diversidad de especies de macrófitas, pasando de unas netamente acuáticas a otras semi-acuáticas o semi-terrestres (Qiu & Kwong, 2009; Wong *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2016). Esto conlleva la posibilidad de encontrar diferentes tipos de defensas por parte de las macrófitas para evitar la herbivoría, por lo que tanto la palatabilidad como la

preferencia pueden variar según la identidad de las macrófitas. En el presente estudio las cinco macrófitas ofrecidas a *P. canaliculata* mostraron una variación en su palatabilidad de hasta 11 veces, a pesar de ser especies netamente acuáticas. En comparación a otros trabajos en el rango de distribución nativo donde se encontró una variación de 2,5 a 6 veces (Cazzaniga, 1981; Cruz *et al.*, 2015), nuestros valores parecen elevados. Sin embargo, si consideramos sólo las plantas vasculares (excluyendo a la macroalga *C. contraria*) obtenemos una variación de una magnitud de 4 veces entre la macrófita más palatable y la menos palatable, lo que da un valor dentro del rango de los trabajos mencionados.

La mayor diferencia en palatabilidad se encontró entre *C. contraria* (la especie más palatable) y *S. striata* y *L. peploides* (las menos palatables). En primera instancia esto parece deberse a la presencia de defensas físicas y químicas por parte de las macrófitas menos palatables y no al valor nutricional en sí. En el caso *S. striata* la baja palatabilidad podría estar relacionada con las defensas físicas, ya que esta macrófita mostró un alto contenido de celulosa y otros carbohidratos estructurales (53,65%) mientras que *C. contraria* presentó el valor más bajo (17,67%). Dichos compuestos están directamente relacionados con la dureza del material vegetal, lo que dificulta la ingestión y digestión por parte del caracol (Burlakova *et al.*, 2009). Por otro lado, aunque no se estudiaron aquí, el bajo consumo de *L. peploides* pareciera estar relacionado con la presencia de defensas químicas ya que Grutters *et al.* (2017b) encontraron que esta especie presenta un alto contenido de fenoles, siendo segunda en un ranking de 34 macrófitas utilizadas, mientras que *C. contraria* se encuentra última en esta lista.

Tamburi & Martín (2009b) han registrado para *P. canaliculata*, en condiciones de laboratorio similares a las usadas aquí, un consumo de lechuga de 0,312 y 0,426 g.g⁻¹.d⁻¹ para machos y hembras adultos respectivamente. Los registros de la tasa de ingestión diaria se realizaron en condiciones *ad libitum* del alimento. La tasa de ingestión diaria para *C. contraria* registrada en nuestro estudio presentó valores similares (0,415 g.g⁻¹.d⁻¹).

Para el resto de las macrófitas utilizadas las tasas de ingestión diaria presentaron valores siempre por debajo de $0,148 \text{ g}\cdot\text{g}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$. Sin embargo cabe destacar que para caracoles juveniles las tasas de ingestión diarias son mucho mayores, alcanzando a consumir su propio peso vivo en lechuga (Tamburi & Martín, 2009a). Esto sugiere que las tasas de ingestión específicas de las macrófitas utilizadas en nuestro experimento pueden ser aun mayores en los ambientes naturales donde estén presentes caracoles tanto adultos como juveniles.

La preferencia del caracol por las cinco macrófitas parece estar estrictamente relacionada con su palatabilidad; sin embargo, se evidencia también algún grado de interacción entre las macrófitas. La herbivoría sobre *C. contraria* parece no verse afectada por la presencia de otras especies. Sin embargo cuando esta última está presente las ingestas de *M. quitense* y *Z. palustris* se ven reducidas a un tercio y un cuarto, respectivamente. *Ludwigia peploides* y *S. striata* al ser las especies menos palatables no se ven afectadas ante la presencia de otras macrófitas, ya que tanto en los experimentos de palatabilidad como en los de preferencia son escasamente ingeridas. Esto indicaría que en los ambientes naturales *P. canaliculata* concentraría su herbivoría sobre *C. contraria*, para luego seguir por las especies de palatabilidad intermedia (*M. quitense* y *Z. palustris*), quedando como últimas opciones de recurso trófico *S. striata* y *L. peploides*.

Debido a las diferencias encontradas tanto en palatabilidad como en preferencia, y al grado de interacción que podría darse entre las macrófitas presentes en los cuerpos de agua se esperaría que *P. canaliculata* concentre su herbivoría sobre las especies más palatables y preferidas. En los arroyos de la zona de estudio en la CEO *S. striata* y *L. peploides* son las macrófitas que se encuentran con mayor frecuencia y abundancia (Capítulo 6), pudiendo ser esto una consecuencia de la herbivoría diferencial de *P. canaliculata*, a diferencia de lo que ocurre en CDASV donde las cinco macrófitas presentan similares frecuencias y abundancias, siendo *L. peploides* la más difícil de

encontrar. Los resultados de los experimentos de mesocosmos (Capítulo 5) y de dieta natural (Capítulo 4) confirman que la herbivoría de *P. canaliculata* en los ambientes naturales se encuentra direccionada por la palatabilidad y la preferencia de las macrófitas presentes, y muestran que debido a su rol estructurante sobre la comunidad de macrófitas sumergidas tendría un rol como especie clave.

CAPÍTULO 3

ANÁLISIS MICROGRÁFICO EXPERIMENTAL DE LOS RESTOS DE MACRÓFITAS SUMERGIDAS EN LOS CONTENIDOS DIGESTIVOS DE *POMACEA CANALICULATA*

3.1 Introducción

La dieta natural de *Pomacea canaliculata* representa un tema de gran importancia para poder comprender los efectos producidos por su herbivoría, tanto en los ambientes donde es nativo como en las zonas donde es invasor. Sin embargo los estudios en los que se analizan sus contenidos digestivos no determinan la identidad taxonómica de las especies de macrófitas ingeridas, agrupándolas en una sola categoría, ya sea como macrófitas, plantas vasculares o tejidos vegetales (Kwong *et al.*, 2010; Ocon *et al.*, 2013; López-van Oosterom *et al.*, 2016; Saigo *et al.*, 2016).

Este ampulárido posee poderosas mandíbulas y rádula (Andrews, 1965; Moretto & Nahabedian, 1989; Martín & Negrete, 2007), un estómago con una fuerte musculatura y un área cuticularizada (Andrews, 1964) y niveles altos de actividad enzimática en diferentes partes de su tracto digestivo (Godoy *et al.*, 2013; Luo *et al.*, 2015) que permiten la ingestión y digestión de diversas macrófitas. Además se ha reportado que la presencia de partículas líticas en su tracto digestivo genera una disgregación aun mayor del alimento ingerido (Andrews, 1964). Estas herramientas digestivas en conjunto pueden haber desalentado *a priori* el estudio específico de la dieta natural debido a la dificultad o imposibilidad de la identificación del material ingerido. Sin embargo, el análisis de los contenidos digestivos de este caracol, con una identificación taxonómica previa de las especies vegetales cuyos fragmentos o tejidos sean encontrados en los mismos, permitiría establecer una relación entre la oferta natural de macrófitas presentes en el ambiente y las que realmente ingiere. Esta información permitirá establecer si existe una relación directa entre la herbivoría de *P. canaliculata* y la reducción, erradicación o la falta de efecto sobre las especies presentes en los cuerpos de agua donde habita.

3.1.1 Objetivos

Evaluar la posibilidad de reconocer las especies de macrófitas ingeridas por *P. canaliculata* a través del análisis micrográfico de los contenidos del tracto digestivo. En particular, se realizaron comparaciones entre estómago e intestino para evaluar si los restos de las macrófitas ingeridas difieren entre contenidos de estas dos secciones del tracto digestivo. Con esta información se propuso realizar una guía de referencia para reconocer y cuantificar las especies vegetales en los contenidos digestivos de caracoles provenientes de ambientes naturales.

3.2 Materiales y métodos

3.2.1 Reconocimiento de macrófitas a partir de contenidos digestivos

Los experimentos de palatabilidad y preferencia (Capítulo 2) fueron utilizados para obtener una referencia gráfica para el reconocimiento de las macrófitas utilizadas (*Chara contraria*, *Ludwigia peploides*, *Myriophyllum quitense*, *Stuckenia striata* y *Zannichellia palustris*) a partir de los restos presentes en los contenidos digestivos. Una vez finalizados dichos experimentos los caracoles fueron sacrificados por inmersión en agua a 100°C. Se mantuvieron a -20°C en *freezer* hasta su posterior disección, en la cual se registró el sexo del individuo y se colectaron los contenidos del tracto digestivo.

Al momento de realizar las disecciones se procedió a extraer las partes blandas de la conchilla del caracol para luego extraer el tracto digestivo. Durante todo el proceso se trabajó bajo microscopio estereoscópico utilizando agujas histológicas, bisturí y pinzas. Una vez separado el tracto digestivo del resto del cuerpo del animal, se colocaron en cajas de Petri separadas el estómago y el intestino (Figura 3.1). Luego se procedió a la apertura longitudinal de cada sección para obtener los contenidos digestivos en caso de estar presentes. Los contenidos fueron colectados en tubos de Eppendorf mediante pipetas Pasteur y fueron conservados a -20°C en *freezer* hasta su utilización.

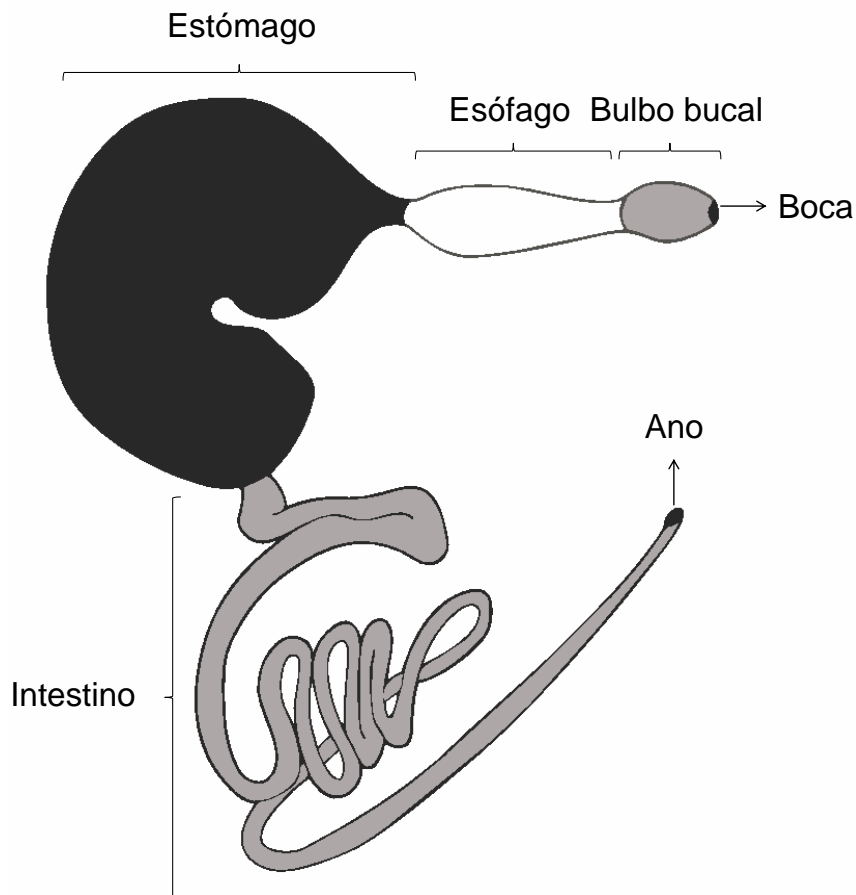


Figura 3.1. Esquema del tracto digestivo de *P. canaliculata* indicando las diferentes secciones de las que se analizaron los contenidos (estómago e intestino).

Las muestras fueron revisadas bajo microscopio estereoscópico y se realizó el conteo de fragmentos vegetales de los contenidos. A su vez, se buscaron caracteres celulares diagnósticos de cada especie (Cáceres, 1978; Lozano *et al.*, 1986; Novelo, 2005; Cumana Campos, 2010; Moody & Les, 2010) a fin de ser utilizados para identificar las especies ingeridas en el ambiente natural. La observación de los contenidos de los experimentos de palatabilidad y preferencia indicaría si es posible diferenciar las cinco especies utilizadas en los experimentos, lo que daría un indicio de la factibilidad de reconocer las plantas de los contenidos de caracoles provenientes del ambiente natural.

Para el conteo de fragmentos vegetales de los contenidos se utilizó una caja de Petri con una cuadrícula de 1 mm de lado, en la cual se observaron 100 celdas (un área de 10 x 10 celdas). Para cada celda se registró la presencia de restos vegetales reconocibles de las especies utilizadas y la presencia de restos verdes no identificables

(pudiéndose encontrar más de una categoría por celda). Luego se estimó la proporción de fragmentos vegetales identificables para cada especie (Pli; celdas con fragmentos identificables en relación a las celdas con contenidos). Para el experimento de palatabilidad la proporción fue calculada como el número de celdas con fragmentos de la especie i dividido por el número de celdas con fragmentos de la especie i más el número de celdas con fragmentos de restos verdes no identificables:

$$P_{li} = \text{n}^\circ \text{ celdas especie } i / (\text{n}^\circ \text{ celdas restos verdes no identificables} + \text{n}^\circ \text{ celdas especie } i)$$

Para el experimento de preferencia la proporción identificable fue calculada como el número de celdas con fragmentos de la especie i dividido por la sumatoria del número de celdas con fragmentos de cada especie más el número de celdas con fragmentos de restos no identificables:

$$P_{li} = \text{n}^\circ \text{ celdas especie } i / (\text{n}^\circ \text{ celdas restos verdes no identificables} + \sum \text{n}^\circ \text{ celdas especie } i), \text{ donde } i=1 \rightarrow n$$

3.3 Resultados

3.3.1 Reconocimiento de macrófitas a partir de contenidos digestivos

Se registraron fragmentos vegetales identificables de las cinco especies utilizadas en los experimentos de palatabilidad y preferencia. El almacenamiento del material en *freezer* no alteró el color verde de los fragmentos de las macrófitas, permitiendo una clara distinción entre éstos y los restos marrones correspondientes a los detritos (Capítulo 4). El material inequívocamente identificado resultó ser exclusivamente fragmentos foliares, salvo en *C. contraria* donde pudieron identificarse fragmentos de distintas partes del talo. Los fragmentos con elementos diagnósticos adecuados para determinar su procedencia resultaron proporcionalmente escasos y los restos vegetales sin características propias que los hicieran determinantes de un grupo taxonómico (no identificables) resultaron los predominantes en los contenidos digestivos. A excepción de *S. striata* y *Z. palustris*, el resto de plantas pertenecen a familias o divisiones diferentes, lo que resulta en diferencias estructurales identificables bajo microscopio esteroscópico.

Chara contraria: se encontraron fundamentalmente fragmentos del eje principal y filoides los cuales se reconocen por su superficie estriada (Figura 3.2 A y B). También se observaron restos sin estriaciones y con un engrosamiento o calcificación apical, que corresponden a células apicales de un filoide, ápices de un bracteoide o ápices de una bractéola, dependiendo del tamaño (Figura 3.2 C). Otras estructuras encontradas fueron oósporas, elipsoides con ornamentaciones (crestas) dispuestas en espiral desde un extremo al otro (Figura 3.2 B). Se observó la presencia de corónulas de células globosas (Figura 3.2 D), similares a las células apicales del oogonio, las cuales se han desprendido del mismo; se observan cuatro células juntas que poseen alguna calcificación.

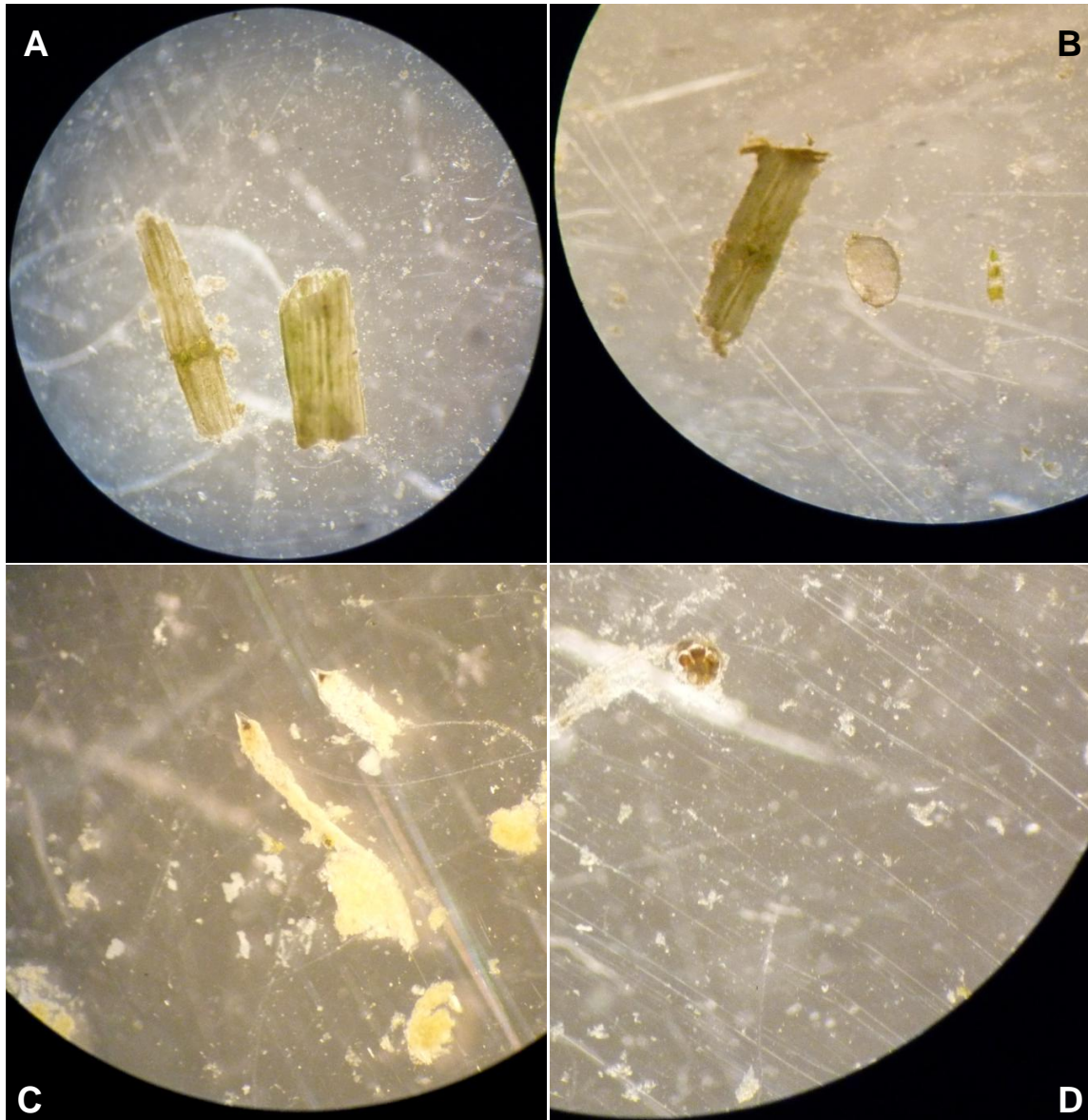


Figura 3.2. Fragmentos pertenecientes a *C. contraria* en los cuales se observan caracteres diagnósticos. **A.** Fragmentos del eje principal y filoides. **B.** Fragmentos del eje principal y oóspora. **C.** Células apicales de un filoide, ápices de un bracteoide o ápices de una bractéola. **D.** Corónula de células globosas.

Ludwigia peploides: en general se encontraron fragmentos foliares de diferente tamaño de un color verde brillante, algunos de los cuales incluyeron el margen (Figura 3.3 A y B). El movimiento del fragmento vegetal en caja de Petri genera un aspecto tornasolado por la reflectancia de la cutícula. Por debajo se observa en transparencia el mesofilo verde (Figura 3.3 C). Se encontraron también fragmentos de mesofilo libres de cutícula, en estos casos el tejido resultó de color verde más claro (Figura 3.3 D).

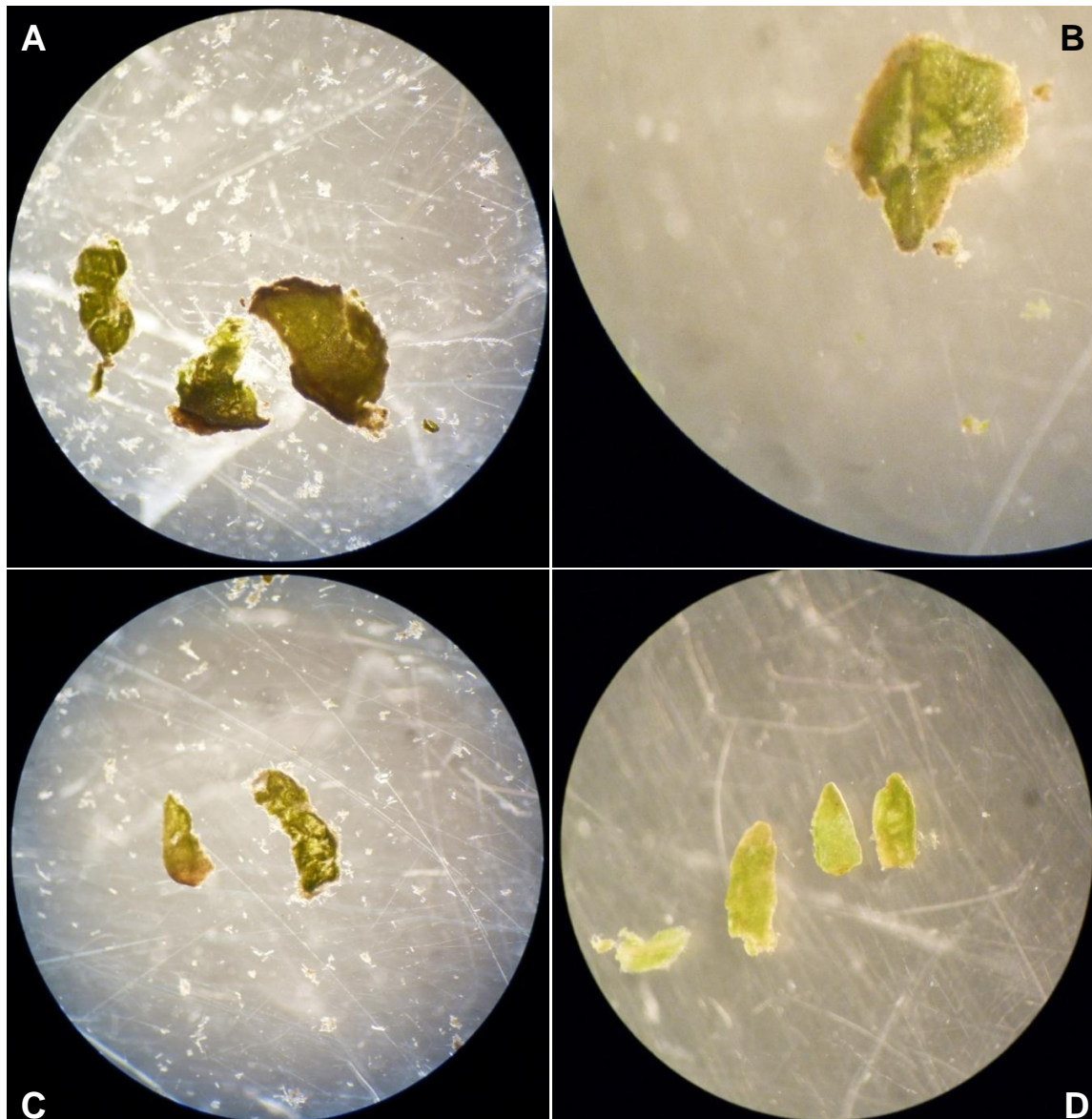


Figura 3.3. Fragmentos foliares pertenecientes a *L. peploides* en los cuales se observan caracteres diagnósticos. **A, B y C.** Fragmentos foliares. **D.** Mesófilo libre de cutícula.

Myriophyllum quitense: los elementos encontrados con mayor frecuencia fueron fragmentos foliares (pinnas) del ancho completo de la lámina (cortes transversales de las mismas; Figura 3.4 A y C). Muchos fragmentos correspondieron a la porción apical de las pinnas (Figura 3.4 A y D) y otros a partes intermedias (Figura 3.4 B y C). Se observaron fragmentos caulinares en la zona de los nudos donde nacen las pinnas (Figura 3.4 B). Las pinnas de esta especie presentan un nervio medio muy notorio. Las láminas presentan un aerénquima conspicuo (mesófilo homogéneo con 3 o 4 cámaras de aire de tamaño reducido y disposición irregular).

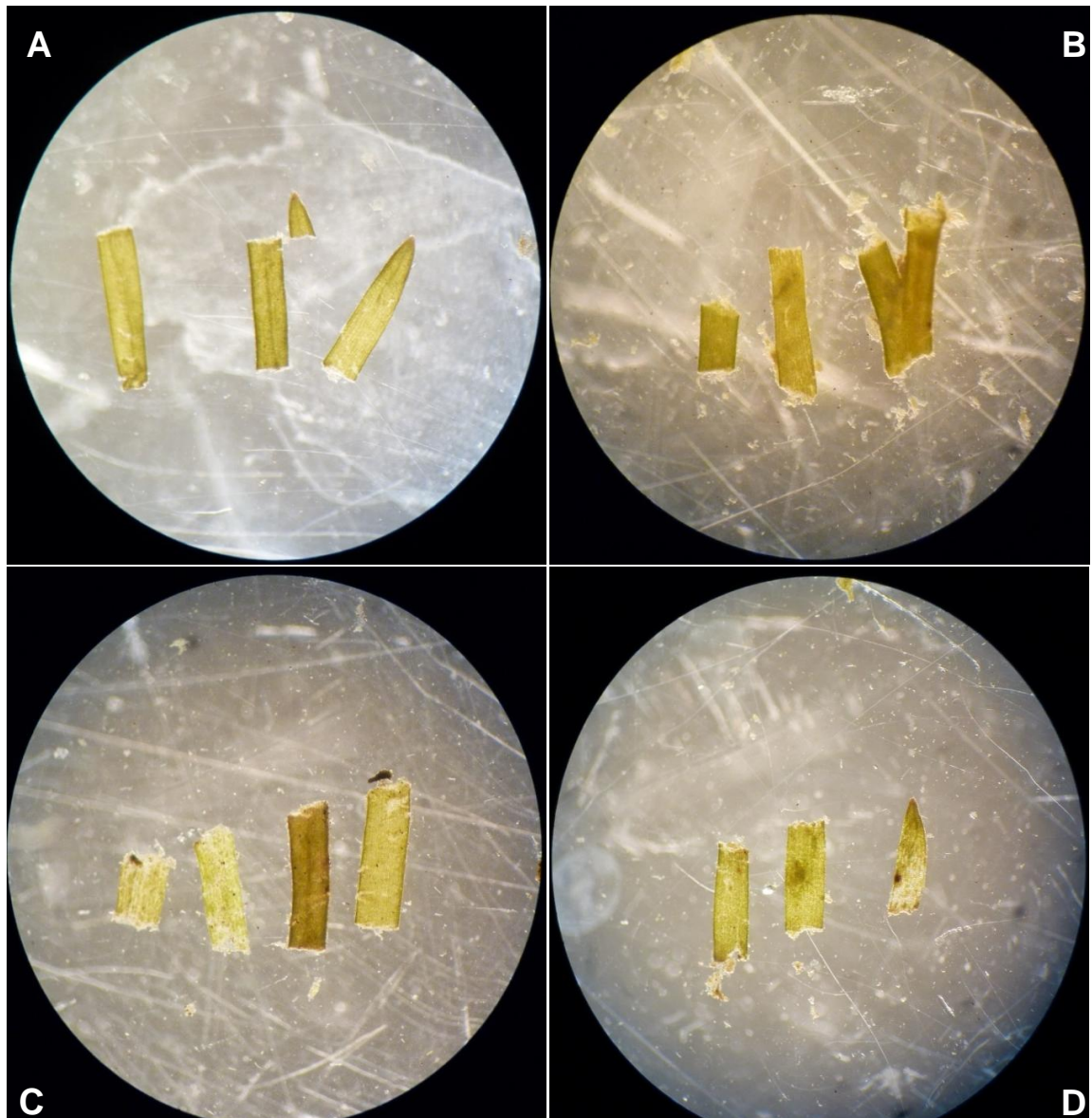


Figura 3.4. Fragmentos pertenecientes a *M. quitense* en los cuales se observan caracteres diagnósticos. **A y D.** Fragmentos medios y apicales de las pinnas. **B y C.** Fragmentos caulinares; en **B** se advierte un nudo caulinar.

Stuckenia striata: prácticamente todos los fragmentos encontrados para esta especie correspondieron a hojas. Se encontraron fragmentos que incluyeron solo uno de los márgenes foliares (Figura 3.5 B y C), siendo poco frecuente encontrar que los mismos correspondan al ancho completo como sucede en *M. quitense*. Las hojas de *S. striata* poseen un grosor mayor que las de *M. quitense*, por lo que los fragmentos encontrados se diferencian también en este aspecto. En general los fragmentos observados resultaron de formas algo irregulares. En algunos de estos fragmentos se observaron claramente los nervios como líneas longitudinales de similar grosor paralelas al margen foliar (Figura 3.5

C y D). Los bordes de las hojas se observaron de tonalidad verde-marrón. Se encontraron algunos ápices foliares (Figura 3.5 A y C), que a diferencia de los de *M. quitense*, se afinan bruscamente rematando en un extremo agudo.

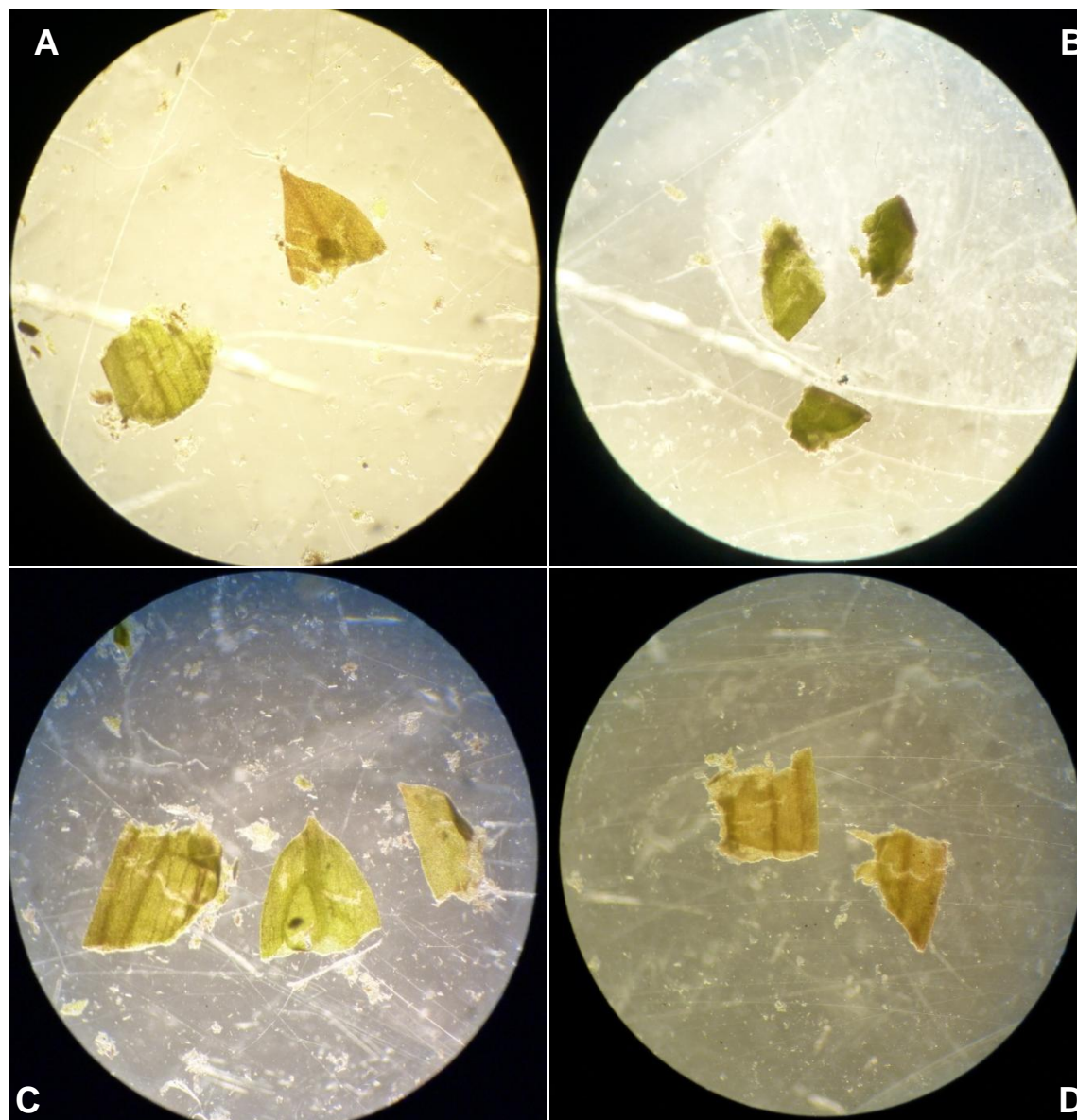


Figura 3.5. Fragmentos pertenecientes a *S. striata* en los cuales se observan caracteres diagnósticos. **A y C.** Fragmentos y ápices foliares. **B y D.** Fragmentos foliares.

Zannichellia palustris: los fragmentos encontrados correspondieron a hojas que en general presentaron un color verde claro brillante y sus ápices, agudos, delimitan un pequeño mamelón terminal. Las hojas presentan un nervio principal central y dos secundarios notorios, uno a cada lado del central (Figura 3.6 A y C). Los fragmentos abarcaron el ancho completo de la hoja (incluyendo los tres nervios mayores; Figura 3.6 D) o éstos estuvieron fraccionados en porciones menores. En este último caso, los

fragmentos se encontraron seccionados por los nervios principales, ya sea tanto por el medio como por los secundarios. En consecuencia se encontraron fragmentos de forma prácticamente rectangular, delimitados, al menos en uno de los lados, por uno de los nervios antes citados (Figura 3.6 B). Se registraron también sectores apicales de las hojas, en los cuales se observó que los ejes secundarios se unen al central en el tercio terminal de la lámina. Los fragmentos de esta planta son de un grosor mucho menor que los de *S. striata*.

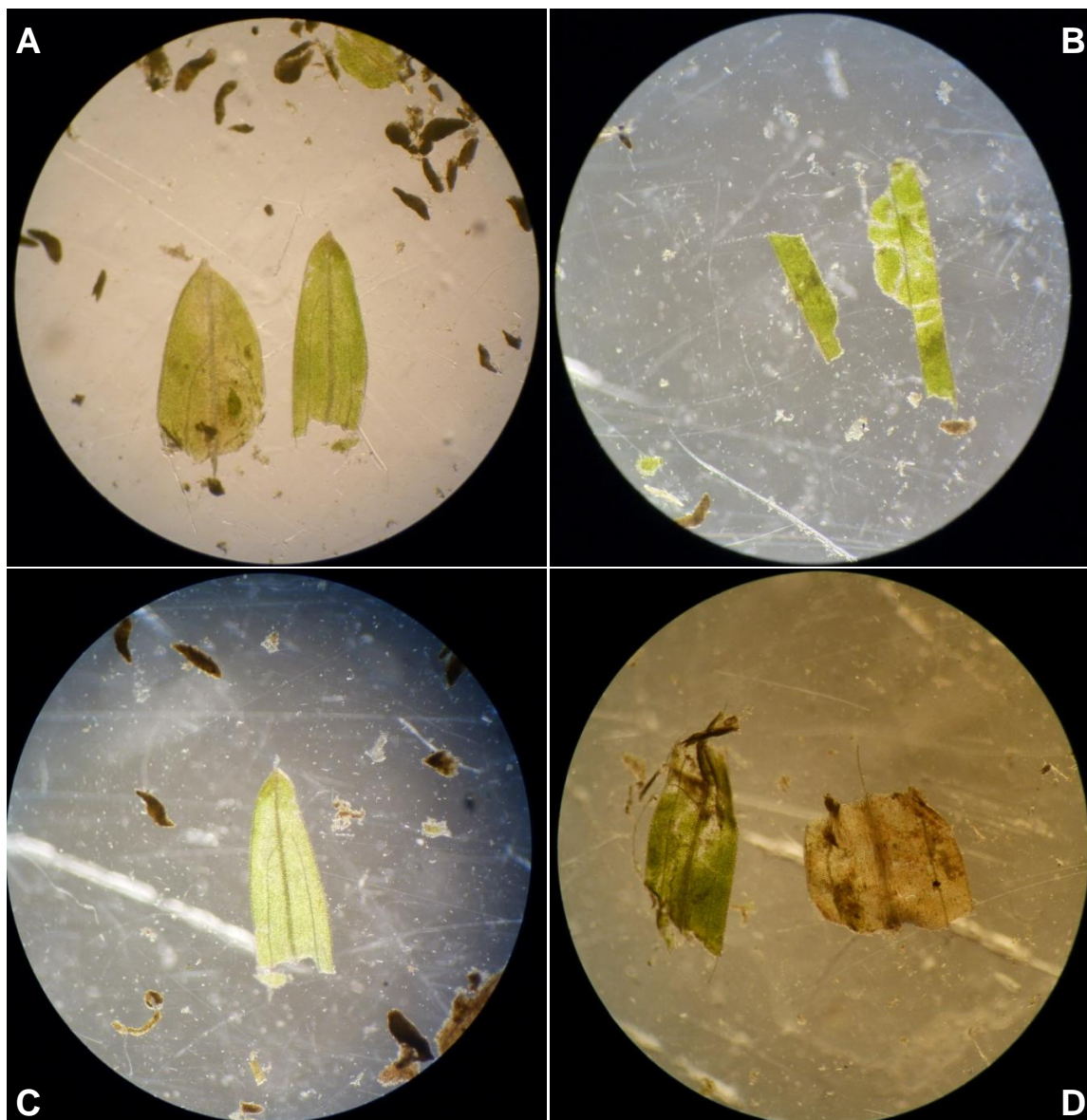


Figura 3.6 Fragmentos pertenecientes a *Z. palustris* en los cuales se observan caracteres diagnósticos. **A y C.** Fragmentos foliares en los que se pueden observar los tres nervios mayores. **B.** Fragmentos foliares delimitados por los nervios mayores. **D.** Fragmentos foliares que presentan el ancho completo de la hoja.

3.3.2 Cuantificación de la ingestión de macrófitas a partir de contenidos digestivos

Tanto en el experimento de palatabilidad como en el de preferencia se observó la presencia de materia fecal de color (en contraposición a la materia fecal blanca de papel en algunos de los acuarios; Capítulo 2). Esta evidencia indica que al menos una parte del material vegetal ingerido por *P. canaliculata* puede finalizar su paso por el tracto digestivo en menos de 24 horas.

En el experimento de palatabilidad se pudieron identificar los fragmentos vegetales de las cinco macrófitas (Tabla 3.1), y con esta referencia se pudieron identificar a las mismas en el experimento de preferencia (Tabla 3.2), encontrándose contenidos vegetales en el 90% de los estómagos y en el 100% de los intestinos. Para el experimento de palatabilidad se pudo identificar fragmentos vegetales en una mayor proporción en el intestino, mientras que para el experimento de preferencia los valores entre estómago e intestino prácticamente no difieren. En el experimento de palatabilidad la macrófita que presentó la mayor proporción de fragmentos identificables fue *M. quitense* (Pli superior a 0,5 para estómago e intestino) y en orden decreciente siguieron *C. contraria*, *Z. palustris*, *S. striata* y en último lugar *L. peploides* (Tabla 3.1). La proporción de fragmentos identificables para cada especie en el intestino fueron siempre superiores en comparación con el estómago.

Macrófita	Estómago	Intestino
<i>C. contraria</i>	0,271 ± 0,077	0,356 ± 0,079
<i>L. peploides</i>	0,045 ± 0,123	0,135 ± 0,176
<i>M. quitense</i>	0,546 ± 0,079	0,580 ± 0,173
<i>S. striata</i>	0,162 ± 0,077	0,127 ± 0,057
<i>Z. palustris</i>	0,198 ± 0,074	0,243 ± 0,119

Tabla 3.1. Proporción identificable de cada macrófita (Pli, media ± DE) respecto a los restos vegetales totales encontrados en el experimento de palatabilidad.

En el experimento de preferencia las macrófitas que presentaron el mayor Pli fueron *M. quitense* y *C. contraria* (valores de Pli mayores a 0,21; Tabla 3.2). Las tres macrófitas restantes presentaron Pli muy bajos (siempre menores a 0,03), llegando a no poder identificar ningún fragmento en algunos casos (*L. peploides* en estómago y *S. striata* en intestino; Tabla 3.2). Los fragmentos identificables para cada especie muestran valores similares en estómago e intestino.

Macrófita	Estómago	Intestino
<i>C. contraria</i>	0,219 ± 0,078	0,240 ± 0,082
<i>L. peploides</i>	0,000 ± 0,000	0,003 ± 0,011
<i>M. quitense</i>	0,266 ± 0,106	0,241 ± 0,121
<i>S. striata</i>	0,006 ± 0,017	0,000 ± 0,000
<i>Z. palustris</i>	0,028 ± 0,026	0,028 ± 0,022

Tabla 3.2. Proporción identificable de cada macrófita (Pli, media ± DE) respecto a los restos vegetales totales encontrados en el experimento de preferencia.

La proporción identificable de las macrófitas en estómago e intestino presentó una correlación positiva y significativa con las tasas de ingestión diaria de las mismas, tanto para el experimento de palatabilidad ($r = 0,333$ y $p = 0,019$, Figura 3.7 A; $r = 0,344$ y $p = 0,015$, Figura 3.7 B) como para el de preferencia ($r = 0,489$ y $p = 0,000$, Figura 3.8 A; $r = 0,596$ y $p = 0,000$, Figura 3.8 B). Si se calculan las correlaciones excluyendo a *M. quitense*, debido al alto número de fragmentos identificable en función a lo ingerido (ver Discusión), se obtienen valores de correlaciones mayores tanto en el experimento de palatabilidad ($r = 0,578$ y $p = 0,000$ para estómago y $r = 0,605$ y $p = 0,000$ para intestino) como en el de preferencia ($r = 0,869$ y $p = 0,000$ para estómago y $r = 0,914$ y $p = 0,000$ para intestino).

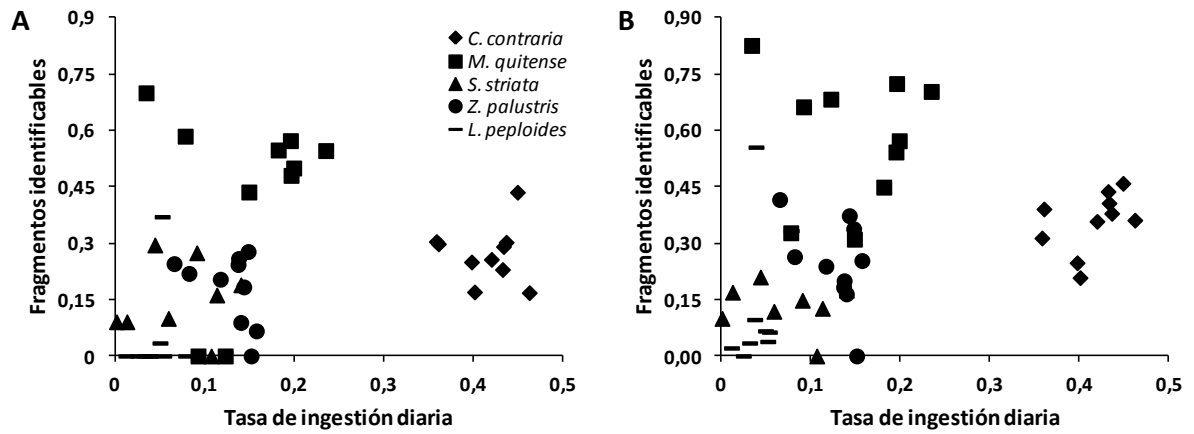


Figura 3.7. Proporción de fragmentos identificables para cada especie (Pli) en los contenidos digestivos individuales del experimento de palatabilidad en función de la tasa de ingestión diaria por caracol ($\text{g.g}^{-1}.\text{d}^{-1}$). **A.** Estómago. **B.** Intestino.

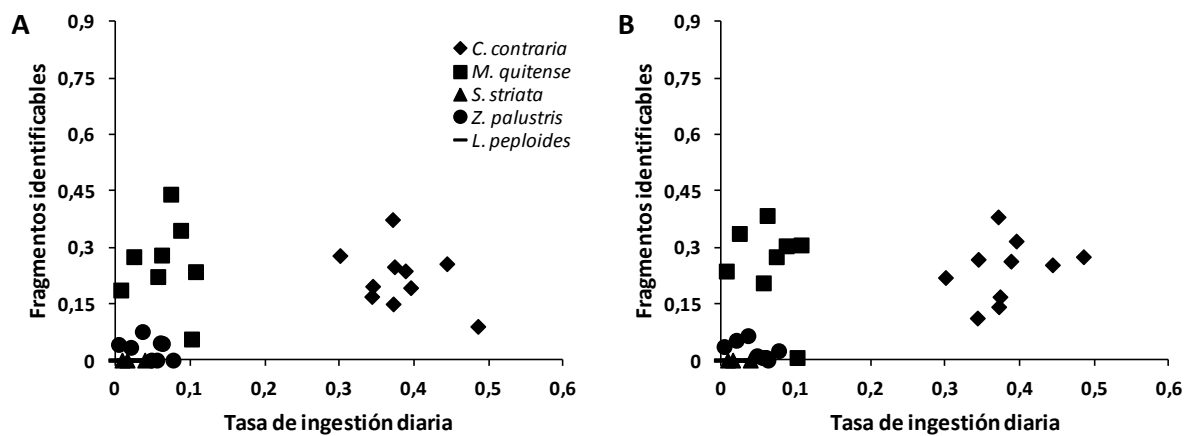


Figura 3.8. Proporción de fragmentos identificables para cada especie (Pli) en los contenidos digestivos individuales del experimento de preferencia en función de la tasa de ingestión diaria por caracol ($\text{g.g}^{-1}.\text{d}^{-1}$). **A.** Estómago. **B.** Intestino.

3.4 Discusión

A través del análisis micrográfico de los contenidos digestivos se pudieron identificar caracteres diagnósticos que harían factible el reconocimiento y cuantificación de las cinco macrófitas en los contenidos digestivos de caracoles provenientes de ambientes naturales. Los experimentos de laboratorio revelaron que *P. canaliculata* posee una digestión mecánica relativamente leve para las macrófitas, ya que se observaron algunos fragmentos de gran tamaño tanto en el estómago como en el intestino. Estos fragmentos se encontraron incluso en la última parte del intestino, lo que evidencia que prácticamente no han sufrido cambio alguno en la digestión.

Se pudieron obtener caracteres diagnósticos de las cinco macrófitas utilizadas a través del análisis de los contenidos digestivos del experimento de palatabilidad, para luego ser identificadas en los contenidos del experimento de preferencia. Sin embargo, en los experimentos de palatabilidad el porcentaje de fragmentos vegetales identificables supera el 50% solo para *M. quitense*, siendo menor al 35% para el resto de las macrófitas. Para los contenidos del experimento de preferencia el porcentaje de fragmentos identificables fue menor a 30% en todos los casos, y salvo para *C. contraria* y *M. quitense*, nunca superaron el 3%. Teniendo en cuenta que para este experimento se conocía la identidad taxonómica de las especies usadas y que se tenía una referencia con las pruebas hechas en el experimento de palatabilidad, puede suponerse que para caracoles provenientes del ambiente natural estos valores serían menores debido a la mayor diversidad de recursos disponibles para la ingesta. Sin embargo, en los arroyos con una baja riqueza de especies vegetales, como aquellos donde habita *P. canaliculata* en la CEO, se podrían identificar previamente las macrófitas sumergidas del ambiente y realizar una búsqueda de los caracteres distintivos de cada una para tener una referencia más directa.

En el experimento de palatabilidad el 90% de estómagos presentó contenidos mientras que en los intestinos fue de un 100%. Esta diferencia del 10% podría indicar que los contenidos encontrados en el estómago son recientes, indicando que el tiempo de retención en esta sección del tubo digestivo es menor a 24 hs. Esta referencia permite inferir que los contenidos encontrados en los estómagos de los caracoles del ambiente natural corresponden a lo ingerido recientemente. A su vez, la presencia de restos vegetales en todos los intestinos indica que los contenidos son capaces de llegar al intestino y finalizar su paso por el tracto digestivo en menos de 24 hs, ya que en algunos de los acuarios se observó la presencia de materia fecal de color verde, en contraposición a la materia fecal blanca por el papel ingerido en la fase pre-experimental, (Capítulo 2).

El porcentaje de fragmentos identificables tanto en estómago como en intestino muestra una correlación significativa y positiva con las tasas de ingestión. Sin embargo, *M. quitense* mostró altos porcentajes de fragmentos identificables en proporción a lo ingerido si se lo compara con las otras especies. Esto podría deberse a que *P. canaliculata* concentra su herbivoría sobre las hojas y no los tallos de esta especie (Capítulo 5). Las pinnas de las hojas de esta especie son delgadas y alargadas. Al ingerir una porción de la hoja, que abarca varias pinnas, los caracoles realizan cortes transversales de las mismas, lo que produce una alta fragmentación, generando muchos fragmentos vegetales a pesar de ingerir poco material. Esto sugeriría la necesidad de combinar los datos de palatabilidad y de contenidos digestivos para evitar sub o sobrestimaciones debido a la diferencia en fragmentación que pueden presentar las macrófitas.

Para los caracoles provenientes del ambiente natural los contenidos que aparecen en el intestino no siempre aparecen en el estómago, y la mayoría de las veces el volumen de los contenidos del intestino es mayor que el del estómago (Capítulo 4), posibilitando encontrar los ítems poco representados con una mayor probabilidad en el intestino. A su

vez, se encontraron varios caracoles durante el otoño con sus estómagos vacíos pero que presentaban contenidos en sus intestinos. Esto sugiere la idea de que el tiempo de retención en esta última sección del tracto digestivo es mayor y que los contenidos encontrados allí podrían pertenecer no solo a la última ingesta. En los trabajos donde se analizaron los contenidos digestivos de *P. canaliculata* se optó por utilizar los contenidos provenientes del estómago (Kwong *et al.*, 2010; López-van Oosterom *et al.*, 2016). En algunos casos no se describe con precisión la precedencia de los mismos, como en Ocon *et al.* (2013) donde se analizaron los contenidos provenientes del “foregut”, que corresponde a la parte anterior del tubo digestivo, presumiblemente estómago. La evidencia indica que podría obtenerse la misma o una mayor información de dieta utilizando sólo los contenidos del intestino en comparación con el estómago, logrando una reducción tanto del material revisado como del tiempo e insumos utilizados.

CAPÍTULO 4

VARIACIÓN ESPACIAL Y TEMPORAL DE LA DIETA NATURAL DE *POMACEA* *CANALICULATA*

4.1 Introducción

Pomacea canaliculata es ampliamente conocido por su alto impacto sobre las comunidades acuáticas en las regiones que ha invadido. El efecto más importante que produce sobre ellas es la reducción tanto en riqueza como en abundancia de la vegetación, especialmente las macrófitas sumergidas y flotantes, llegando en algunos casos a su total erradicación (Carlsson *et al.*, 2004; Carlsson & Lacoursière, 2005). En diversas ocasiones esto ha producido cambios ecosistémicos irreversibles en cuerpos de agua (ej.: cambio de un estado de aguas claras con abundantes macrófitas a un estado de turbidez permanente sin macrófitas; Carlsson *et al.*, 2004). Ésto, sumado a su carácter de plaga de los cultivos de arroz (donde se alimenta de dicho cultivo además de algunas malezas (Halwart, 1994; Okuma *et al.*, 1994; Teo, 2003)), ha motivado muchos estudios de sus hábitos alimentarios. Sin embargo, la mayoría de los estudios sobre la alimentación de este caracol se han desarrollado en ambientes donde *P. canaliculata* es invasor o en zonas de cultivo donde las plantas disponibles difieren de las que se encuentran en su hábitat natural. En dichos trabajos se ha reportado la capacidad de este ampulárido de ingerir diversas especies y tipos de plantas, desde plantas netamente acuáticas a otras semi-acuáticas o directamente terrestres (Carlsson & Lacoursière, 2005; Carlsson & Brönmark, 2006; Qiu & Kwong, 2009; Wong *et al.*, 2010; Qiu *et al.*, 2011). Sin embargo, pocos trabajos se han realizado sobre su dieta natural, lo cual es de suma importancia para comprender los impactos ambientales producidos por esta especie.

El principal estudio sobre la dieta natural de *P. canaliculata* fue realizado por Kwong *et al.* (2010) en Hong Kong, en donde se registraron como ítems principales en los

contenidos estomacales detritos, macrófitas, cianobacterias, algas verdes y diatomeas. Dentro del rango de distribución nativo de *P. canaliculata*, en arroyos de la cuenca del río de la Plata, López-van Oosterom *et al.* (2016) encontraron que se alimentan de plantas vasculares, detritos, perifiton, una pequeña porción de restos animales y cianobacterias, algas y hongos con una muy baja frecuencia y abundancia. Por su parte, Ocon *et al.* (2013) encontraron detritos, diatomeas y plantas vasculares en el “*gut*” de *P. canaliculata*. A su vez, Siago *et al.* (2016) registraron tejidos vegetales, detritos, algas y tejidos animales entre los contenidos del “*anterior gut*” (presumiblemente el estómago), de caracoles provenientes de lagunas de inundación del río Paraná. Sin embargo, en estos trabajos se agrupan todas las especies vegetales consumidas denominándolas como plantas vasculares o macrófitas.

4.1.1 Objetivos

Estimar qué ítems son consumidos por *P. canaliculata* a través del análisis del contenido digestivo de caracoles provenientes del ambiente natural. A través de la guía de referencia elaborada en el Capítulo 3 se espera poder reconocer al menos las especies utilizadas anteriormente. Se espera que las especies más palatables y preferidas (Capítulo 2) sean las más frecuentes en los contenidos digestivos de *P. canaliculata* por ser consumidas en forma preferencial en el ambiente natural. Con los datos obtenidos de los contenidos digestivos se realizó una descripción de la estrategia trófica del caracol y se estimó qué ítems fueron los más consumidos en distintos ambientes y estaciones del año.

4.2 Materiales y métodos

4.2.1 Muestreos para el análisis de contenidos digestivos y la caracterización ambiental

Se realizaron cuatro muestreos en cuatro ambientes lóticos de la Cuenca de las Encadenadas del Oeste (CEO). Para cada ambiente se seleccionó un sitio de muestreo (Figura 4.1) el cual fue visitado en distintas estaciones del año (10/03/15, verano; 27/05/15, otoño; 25/11/15, primavera; 09/03/16; verano). No se realizaron muestreos durante el invierno debido a la inactividad que presenta *P. canaliculata* durante este periodo (Seuffert *et al.*, 2010), en el cual los caracoles se encuentran enterrados en el sedimento, haciendo difícil su recolección. La combinación de los distintos puntos de muestreos con las distintas épocas del año permitió estudiar tanto la variación espacial como temporal.

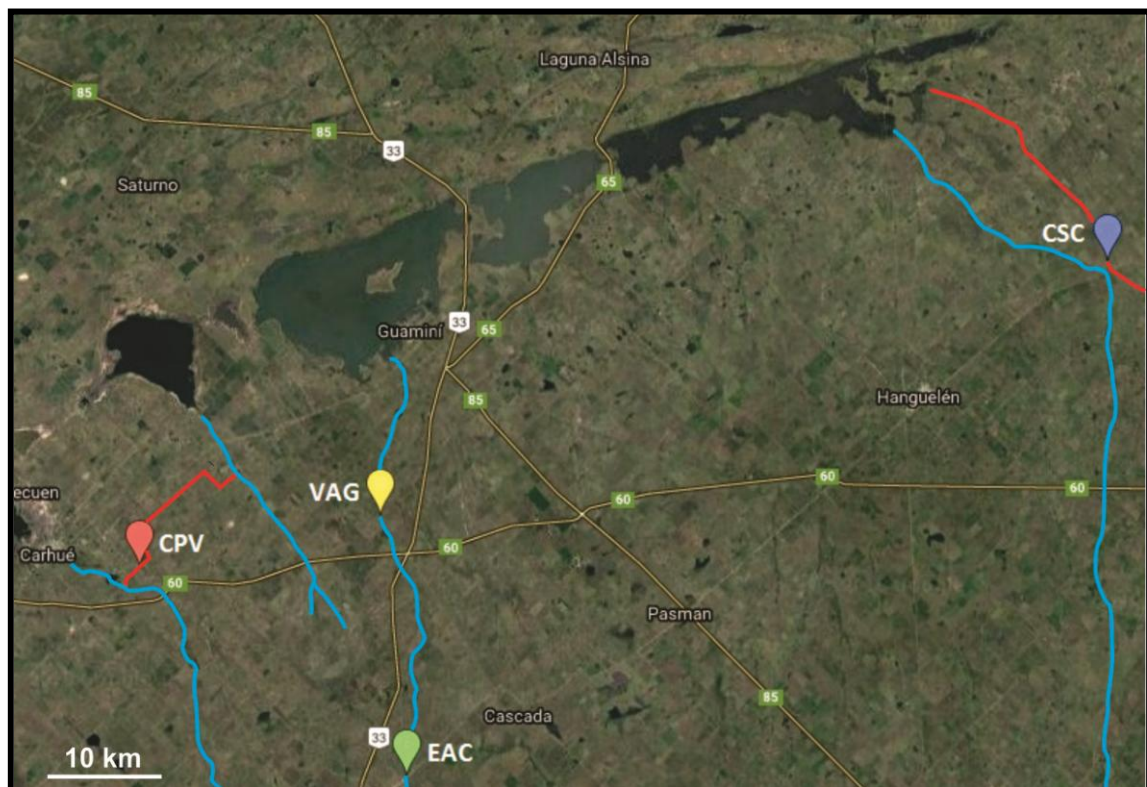


Figura 4.1. Mapa indicando los sitios de muestreo en la Cuenca de las Encadenadas del Oeste (CEO): canal Pigüé-Venado (CPV), canal del Sauce Corto (CSC), Espartillar en arroyo Corto (EAC) y vado en arroyo Guaminí (VAG); en azul se muestran los arroyos y en rojo los canales.

En cada sitio se colectaron, cuando fue posible cinco machos y cinco hembras, dando un total de 127 caracoles analizados, ya que en el canal del Sauce Corto sólo se encontraron tres caracoles el 27/05/2015 y cuatro el 09/03/16 y en el vado de arroyo Güaminí no se encontró ningún individuo en las mismas fechas. La recolección de los caracoles fue realizada a mano, por tres personas, recorriendo las orillas del sitio de muestreo aguas arriba y se registró el tiempo de búsqueda para luego estimar su abundancia (caracoles.min⁻¹). Se sacrificaron los caracoles en el acto por inmersión en agua a 100°C y luego se los conservó refrigerados hasta ser transportados al laboratorio, donde se mantuvieron a -20°C en *freezer* para su posterior disección en la cual se confirmó el sexo de cada individuo y se colectaron en forma diferenciada los contenidos de estómago e intestino.

En cada sitio se realizaron 10 transectas transversales al curso del arroyo con un espaciamiento de 1 a 2 m entre cada una. Cada transecta abarcó de una orilla a la otra del arroyo o canal y con una cinta métrica se registraron los metros cubiertos por cada especie vegetal, detritos o por fondo desnudo (sin detritos ni algas o macrófitas). Para estimar la diversidad de recursos tróficos disponibles y su homogeneidad se calcularon el índice de diversidad de Shannon (H') y su correspondiente índice de uniformidad (U_H). Los ítems tenidos en cuenta para calcular estos índices fueron aquellos que pueden ser ingeridos por *P. canaliculata*: detritos, gramíneas, plantas flotantes, algas filamentosas, *scum* (espuma espesa y viscosa formada a partir de restos vegetales y de algas) y las macrófitas *Stuckenia striata*, *Myriophyllum quitense*, *Ludwigia peploides*, *Nasturtium officinale*, *Zannichellia palustris* y una crucífera indeterminada (Crucifera sp1). Para cada ítem la proporción o abundancia relativa (pi) fue calculada de la siguiente manera: se sumaron los metros lineales de dicho ítem de todas las transectas efectuadas en el sitio de muestreo para una fecha determinada y se lo dividió por la suma de los metros de todos los ítems de todas las transectas efectuadas en el mismo sitio de muestreo para la misma fecha:

$p_i = m_i / \sum m_i$, donde $i=1 \rightarrow n$

m_i = metros de la categoría i

Para cada sitio y para cada fecha se calcularon los índices de diversidad (H') y uniformidad ($U_{H'}$) de Shannon:

$H' = - \sum (p_i) \cdot (\log_2 p_i)$, donde $i=1 \rightarrow n$

$U_{H'} = H' / (\log_2 n)$

p_i : proporción del ítem i

n : número de ítems presentes

A su vez, con los datos de las transectas se calculó la cobertura vegetal o la falta de ella (fondo desnudo) en cada arroyo. Para ello se utilizaron tres categorías:

- Detritos: metros de la transecta en los que se hallaban detritos
- Macrófitas: metros de la transecta en los que se hallaban macrófitas
- Fondo desnudo: metros de la transecta sin macrófitas ni detritos

Para cada categoría se sumaron los metros de todas las transectas efectuadas en un sitio de muestreo para una fecha determinada. La cobertura de cada una de estas categorías se calculó de la siguiente manera:

$\%i = (m_i / \sum m_i) \cdot 100$, donde $i=1 \rightarrow n$

m_i : metros de la categoría i

4.2.2 Análisis de los contenidos digestivos

Al momento de realizar las disecciones se procedió a extraer las partes blandas de la conchilla del caracol para luego proceder a la extracción del tracto digestivo. Durante todo el proceso se trabajó bajo microscopio estereoscópico utilizando agujas histológicas, bisturí y pinzas. Una vez separado el tracto digestivo del resto del cuerpo del animal, se colocaron en cajas de Petri separadas el estómago y el intestino. Los esófagos no fueron revisados en busca de contenidos digestivos ya que en experimentos previos

se observó que la mayoría de los esófagos se encontraban vacíos (Capítulo 6). Luego se procedió a la apertura longitudinal de cada sección para obtener los contenidos digestivos si los hubiera. Los contenidos fueron colectados en tubos de Eppendorf mediante pipetas Pasteur y fueron conservados a -20°C en *freezer* hasta ser utilizados.

Las muestras fueron revisadas bajo microscopio estereoscópico con el cual se realizó la cuantificación de los contenidos. Para ello se utilizó una caja de Petri con una cuadrícula de 1 mm de lado. En los conteos se buscaron fragmentos vegetales que permitieran identificar las especies ingeridas por el caracol. Se registraron todos los ítems encontrados, buscando en particular los restos de las plantas utilizadas en los experimentos de palatabilidad y preferencia (las cuales son las más abundantes en el SOB; Capítulos 2 y 3) o restos que permitieran identificar alguna otra especie. Los contenidos que no pudieron ser identificados taxonómicamente, o que no fueron de origen vegetal, se clasificaron en las siguientes categorías:

- RV: restos vegetales verdes no identificables
- RM: restos vegetales marrones (detritos)
- RA: restos animales
- PF: pellets fecales (compuestos mayormente por endosimbiontes, restos microscópicos de alimento y sedimento fino; Castro-Vazquez *et al.*, 2002).

Para cada muestra se observaron 100 celdas (un área de 10 x 10 celdas de 1 mm² cada una) y se revisó celda por celda la cuadrícula, registrando los contenidos de cada una (pudiéndose encontrar más de una categoría por celda). Al contenido volcado en la placa de Petri se le agregó agua para lograr una concentración homogénea en toda la superficie. En el caso de que el volumen a observar fuera demasiado grande, lo que dificultaba un buen conteo, se optó por observar el 50% de la muestra. Se estimó el volumen de los contenidos de cada sección del tubo digestivo utilizando un Eppendorf de referencia, el cual fue previamente graduado con volúmenes conocidos mediante una micropipeta.

Con los datos obtenidos de las disecciones y conteos se realizaron comparaciones entre estómago e intestino para determinar si alguna de las dos secciones aporta más información que la otra, y así poder optimizar el método para futuros estudios. Se calculó para cada sitio el porcentaje de individuos con contenidos en estómago e intestino, el volumen por individuo de los contenidos de estómago e intestino y el índice de Shannon (H') para el estómago e intestino de cada individuo. Para calcular el índice de Shannon (H') se utilizaron las siguientes categorías, las cuales corresponden a los ítems encontrados en los contenidos digestivos: *Chara contraria*, *M. quitense*, *S. striata*, *Fissidens fontanus*, algas filamentosas, gramíneas, detritos (restos vegetales marrones), restos vegetales verdes no identificables y restos animales. El pi de cada categoría fue calculado en este caso como el número de celdas con el ítem i sobre la sumatoria de celdas para todos los ítems:

$$p_i = \frac{\text{n}^\circ \text{ celdas con el ítem } i}{\sum \text{n}^\circ \text{ celdas con el ítem } i}, \text{ donde } i=1 \rightarrow n$$

Con los datos de los volúmenes de los contenidos digestivos y con el índice de Shannon calculado para cada individuo se calcularon para cada sitio los volúmenes promedio para estómago e intestino y el índice de Shannon promedio para estómago e intestino. Se realizaron test t apareados para evaluar si había diferencias entre estómago e intestino para el volumen promedio de los contenidos y para el índice de Shannon (H').

Con los datos de los conteos se realizaron gráficos de Amundsen (gráfico de Costello modificado por Amundsen; Amundsen *et al.*, 1996). Para ello se calculó la frecuencia de ocurrencia (FOi) y la abundancia específica (fi) de los siguientes ítems: algas filamentosas, gramíneas, macrófitas (incluye *C. contraria*, *M. quitense*, *S. striata*, *F. fontanus* y restos verdes no identificables), detritos y restos animales.

$$FO_i = \frac{\text{n}^\circ \text{ individuos con el ítem } i}{\text{n}^\circ \text{ individuos con contenidos digestivos}}$$

$$f_i = \frac{\sum \text{ frecuencia relativa del ítem } i}{\text{n}^\circ \text{ individuos que presentan ese ítem}}, \text{ donde } i=1 \rightarrow n$$

Frecuencia relativa del ítem i (F_{Ri}) = celdas del ítem i / \sum celdas del ítem i , donde $i=1 \rightarrow n$

El producto de la abundancia específica de cada ítem y de su frecuencia de ocurrencia da como resultado la abundancia total (%) de cada ítem. Los valores para las abundancias de los ítems están representados con isolíneas de abundancia total en los gráficos (Fig. 4.2.A). Para calcular la abundancia específica de cada ítem, se calculó la proporción de cada ítem en cada estómago e intestino (usando el conteo por celdas), y luego se calculó el promedio para cada sitio o fecha o promedio total para estómago e intestino por separado. A través del gráfico de Amundsen se puede interpretar la estrategia trófica, la importancia del ítem y el aporte individual a la amplitud del nicho poblacional (Figura 4.2.B).

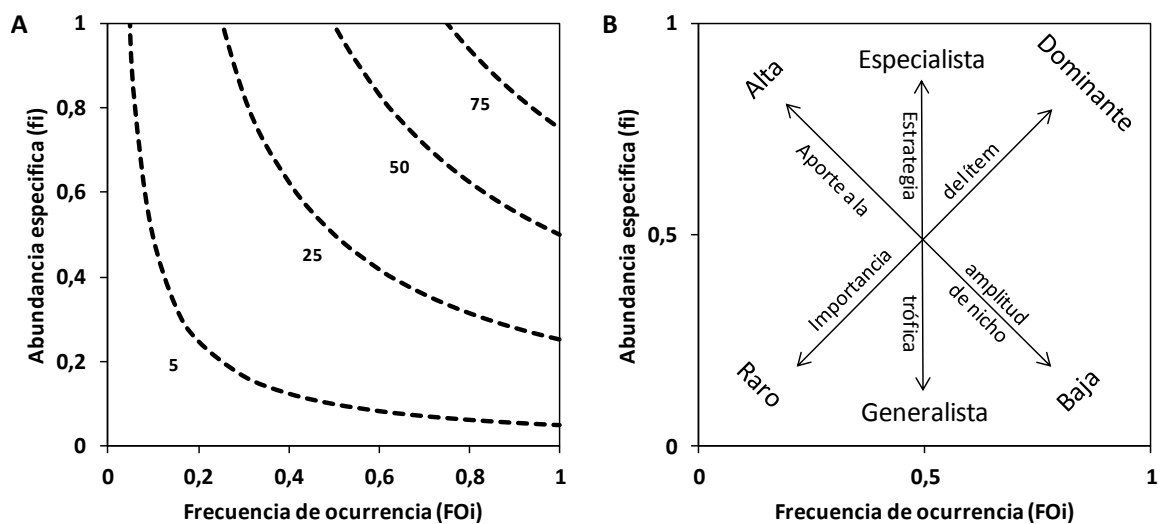


Figura 4.2. Gráficos de Amundsen **A.** Isolíneas de abundancias totales (5, 25, 50 y 75 %). **B.** Interpretación del gráfico de Amundsen: la posición de los ítems digestivos sobre diversos ejes permite describir la estrategia trófica (especialista vs. generalista), la importancia del ítem (raro vs. dominante) y la contribución individual a la amplitud del nicho poblacional (alta vs. baja).

4.3 Resultados

4.3.1 Dieta natural

Los 127 caracoles analizados presentaron algún tipo de contenido en los intestinos. Por el contrario, se encontraron 12 estómagos vacíos, repartidos estos entre los diferentes sitios, dando un mínimo de un 80% de estómagos con contenidos para CPV (Figura 4.3).

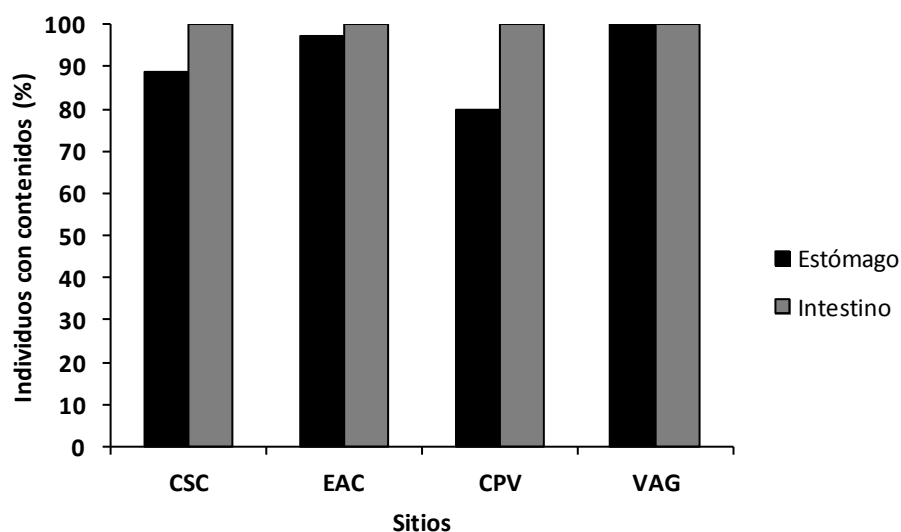


Figura 4.3. Porcentaje de caracoles con contenidos en estómago e intestino para los cuatro ambientes muestreados (EAC, CPV, CSC y VAG).

En general los ítems encontrados en los contenidos no diferían entre estómago e intestino para un mismo caracol y no había una gran variación entre los contenidos de los caracoles de un mismo sitio para una fecha determinada. Las frecuencias de ocurrencia de los distintos ítems en estómago e intestino presentaron una alta correlación ($r = 0,990$, $p = 0,000$). El ítem más representado fueron siempre detritos, con una frecuencia de ocurrencia por encima del 90% (Tabla 4.1). Las macrófitas presentaron una frecuencia de ocurrencia baja, siempre menor al 15% para cada especie en particular y menor al 25% al considerarlas todas juntas. Sin embargo, se encontraron restos verdes que no pudieron ser identificados con una frecuencia de casi 35% en los estómagos y 45% en los intestinos (Tabla 4.1).

Ítem	Estómago	Intestino
<i>C. contraria</i>	0,008	0,008
<i>M. quitense</i>	0,000	0,008
<i>S. striata</i>	0,126	0,142
<i>F. fontanus</i>	0,000	0,008
Algas filamentosas	0,063	0,079
Gramíneas	0,110	0,220
RV	0,346	0,449
RM	0,906	1,000
RA	0,386	0,362

Tabla 4.1. Proporción de caracoles con presencia de cada ítem para el total de los caracoles colectados durante los muestreos (n = 127). RV: restos vegetales verdes no identificables, RM: restos vegetales marrones (detritos), RA: restos animales.

De las macrófitas utilizadas en el experimento de palatabilidad y preferencia *S. striata* fue la única que se encontró con cierta frecuencia (0,126 y 0,142 en estómago e intestino, respectivamente), ya que tanto *C. contraria* como *M. quitense* sólo aparecieron en los contenidos digestivos de un caracol y *Z. palustris* y *L. peploides* no se registraron nunca. Entre las plantas acuáticas no utilizadas en otros capítulos en los experimentos de palatabilidad y preferencia solo aparecieron *F. fontanus* (musgo) en un individuo y algas filamentosas en 14 individuos.

En general se observó que el volumen de los contenidos del intestino fue un 28,5% mayor al volumen de contenidos del estómago del mismo individuo, siendo estas diferencias significativas para todos los sitios salvo para CSC (Tabla 4.2; Figura 4.4).

Lugar	t	p	G. de L.
EAC	-2.988	0.005**	39
CPV	-7.302	>0.001**	39
CSC	-1.738	0.094	26
VAG	-3.092	0.006**	19

Tabla 4.2. Prueba t apareada entre el volumen estomacal e intestinal de cada caracol para los cuatro ambientes muestreados (EAC, CPV, CSC y VAG). En negrita los valores significativos ($p \leq 0.05$).

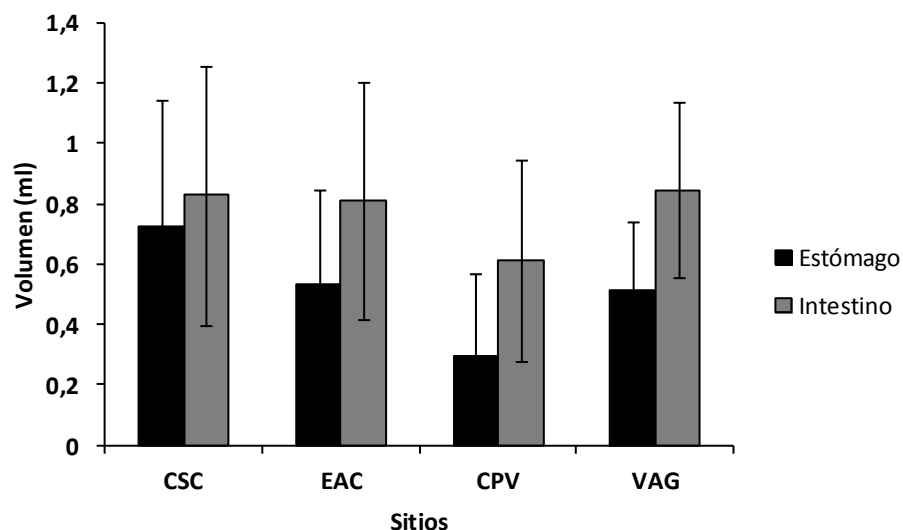


Figura 4.4. Volumen (media \pm DE, ml) de los contenidos de estómago e intestino para los cuatro ambientes muestreados (EAC, CPV, CSC y VAG).

El índice de diversidad de Shannon (H') fue levemente mayor para los contenidos intestinales que para los contenidos estomacales (Figura 4.5). Sin embargo, para esta variable sólo se encontraron diferencias significativas entre estómago e intestino para CPV (Tabla 4.3).

Lugar	t	p	G. de L.
EAC	-1.023	0.313	39
CPV	-4.456	>0.001**	39
CSC	-1.842	0.077	26
VAG	-0.113	0.911	19

Tabla 4.3. Prueba t apareada entre el índice de Shannon calculado para los ítems encontrados en estómago e intestino de cada caracol para los cuatro ambientes muestreados (EAC, CPV, CSC y VAG). En negrita los valores significativos ($p \leq 0.05$).

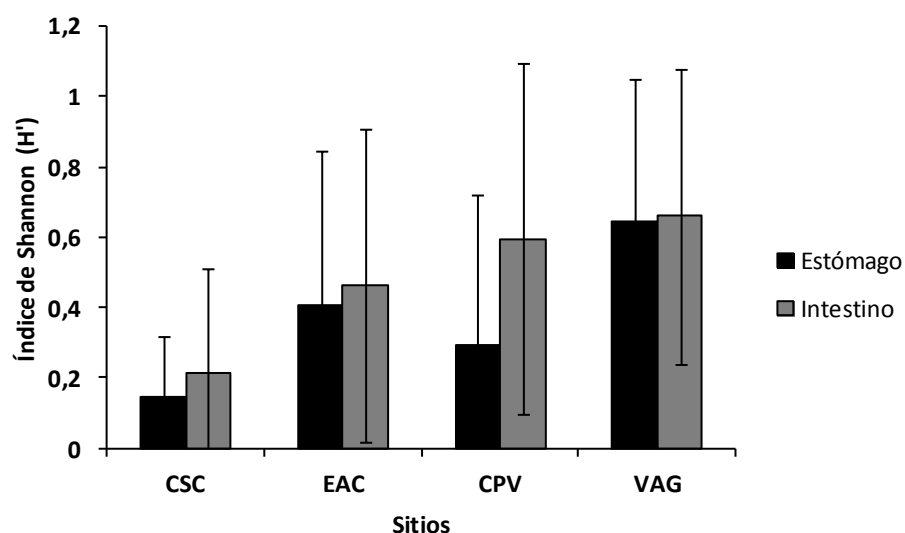


Figura 4.5. Índice de diversidad de Shannon (media \pm DE) para estómago e intestino para los cuatro ambientes muestreados (EAC, CPV, CSC y VAG).

En los gráficos de Amundsen se puede observar que en líneas generales los detritos fueron el ítem predominante presentando una frecuencia de ocurrencia igual a 1, una abundancia específica superior a 0,8 y una abundancia total superior a 75% (Figura 4.6). En segundo lugar, los restos animales y de macrófitas presentaron una frecuencia de ocurrencia que rondaba entre 0,4 y 0,5 para todos los individuos en promedio, con una abundancia específica menor a 0,2 y abundancia total que llega al 5% solo para las macrófitas (Figura 4.6.A). Estos ítems mantienen valores similares al analizar todos los individuos juntos pero agrupándolos por sitios, siendo predominantes los detritos con sus FOi igual a 1 para todos los sitios, sus fi entre 0,8 y 1 y sus abundancias totales mayores al 75%. En segundo orden las macrófitas muestran una gran variación entre sitios en sus valores de FOi entre 0,3 y 0,7 para estómago e intestino, con una abundancia específica menor a 0,3 (Figura 4.6.B). Al igual que las macrófitas, los restos animales presentan una variación de FOi entre 0,1 y 0,6 para estómago y entre 0 y 0,4 para intestino, con valores de abundancia específica en general menor a 0,2 (Figura 4.6.B). El resto de los ítems por lo general están por debajo de los valores mencionados siendo poco significativos para el análisis de la dieta de *P. canaliculata*.

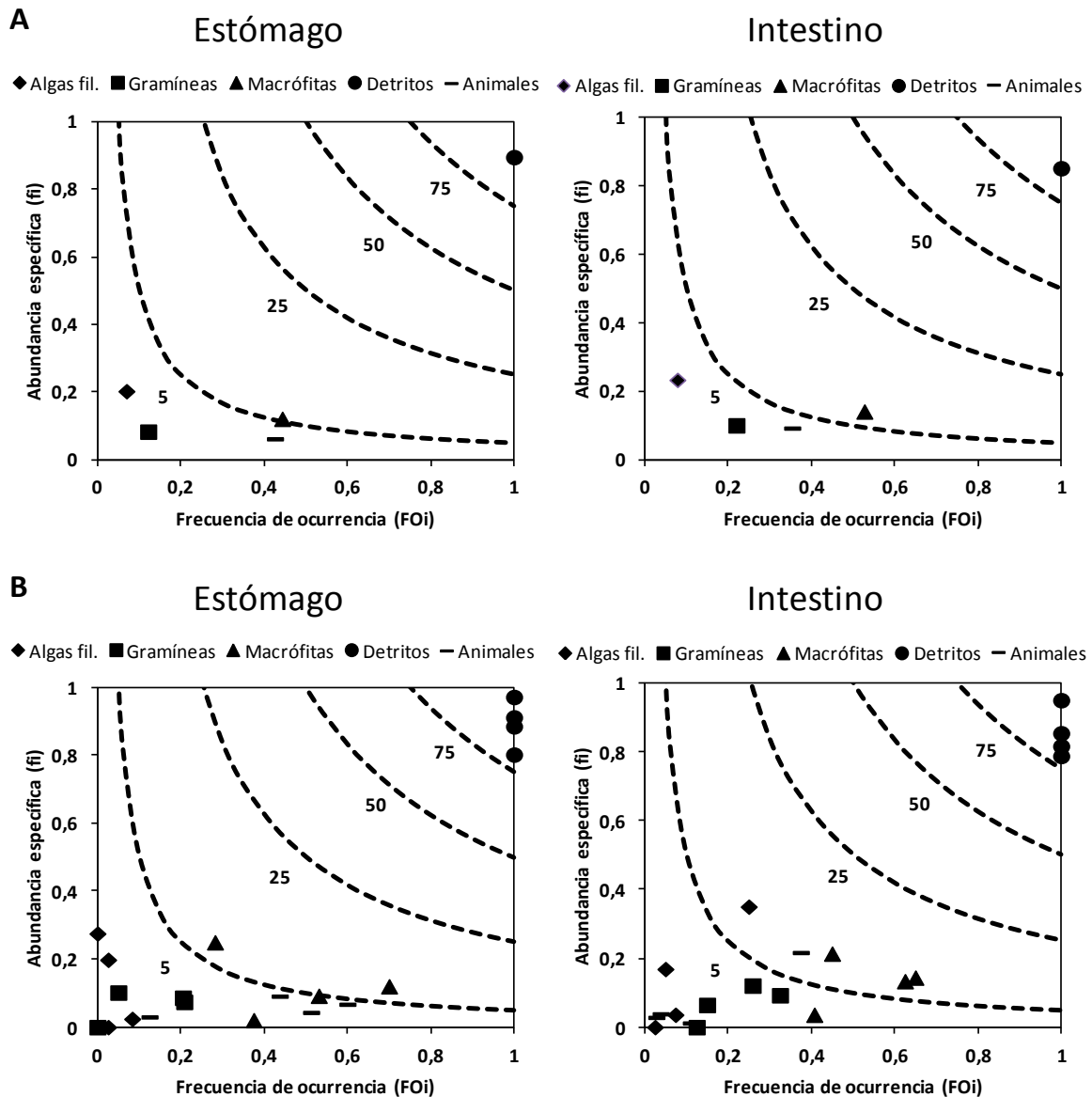


Figura 4.6. Gráficos de Amundsen para estómago e intestino con las cinco categorías de ítems principales. **A.** Todos los individuos en promedio. **B.** Individuos de los cuatro sitios para las cuatro fechas en promedio.

Al analizar cada sitio por separado se puede observar que el patrón general coincide con lo observado anteriormente. El ítem predominante fueron los detritos con sus FOi igual a 1, sus abundancias específicas siempre mayores a 0,6 y con abundancias totales mayoritariamente superiores a 75% y nunca por debajo de 50% (Figuras 4.7 y 4.8). En el caso de los dos canales muestreados se pueden observar algunas situaciones particulares. Para CSC la FOi de las gramíneas presentó para el 09/03/16 valores superiores a 0,7 en estómago e intestino, alcanzando una abundancia total de 5% para

estómago y superando este valor para intestino (Figura 4.7.A). Algo similar sucede para CPV pero con los restos animales, alcanzando FOi cercanas a 0,8 para estómago y de 0,9 para intestino para el 10/03/15. Al igual que las macrófitas, los restos animales presentaron valores de abundancias totales entre 5% y 25% para algunas de las fechas (Figura 4.7.B).

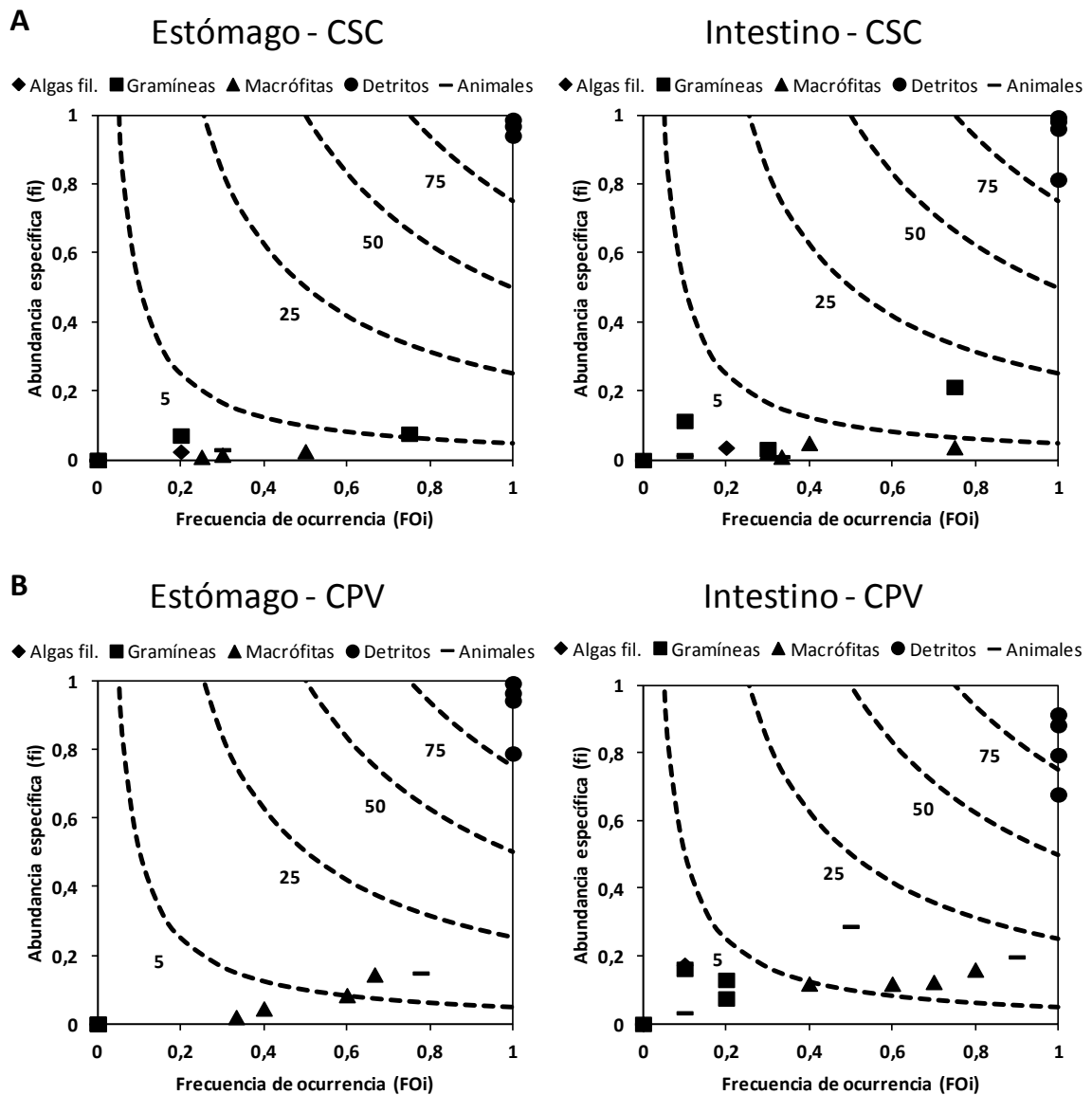


Figura 4.7. Gráficos de Amundsen para estómago e intestino con las cinco categorías de ítems principales. **A.** Individuos del canal del Sauce Corto para las cuatro fechas. **B.** Individuos del canal Pigüé-Venado para las cuatro fechas.

En el caso de los dos arroyos investigados, las macrófitas mostraron la mayor representación en la dieta en EAC, alcanzando FOi superiores a 0,8 para una fecha, con una abundancia específica alrededor de 0,4 y con valores de abundancias totales de 25% para estómago y por encima de dicho valor para intestino (Figura 4.8.A). Por su parte, en VAG se hicieron presentes las algas filamentosas con sus FOi de 0,4 y 0,5 para el 10/03/2015 en estómago e intestino, alcanzando valores de abundancia específica cercanos a 0,3 y 0,4 respectivamente, con abundancias totales entre 5% y 25% (Figura 4.8.B). Para este sitio se puede destacar también que tanto las macrófitas como los restos animales presentaron FOi entre 0,7 y 0,8 (las macrófitas el 25/11/15 y los restos animales el 10/03/15), pero con bajas abundancias específicas y totales.

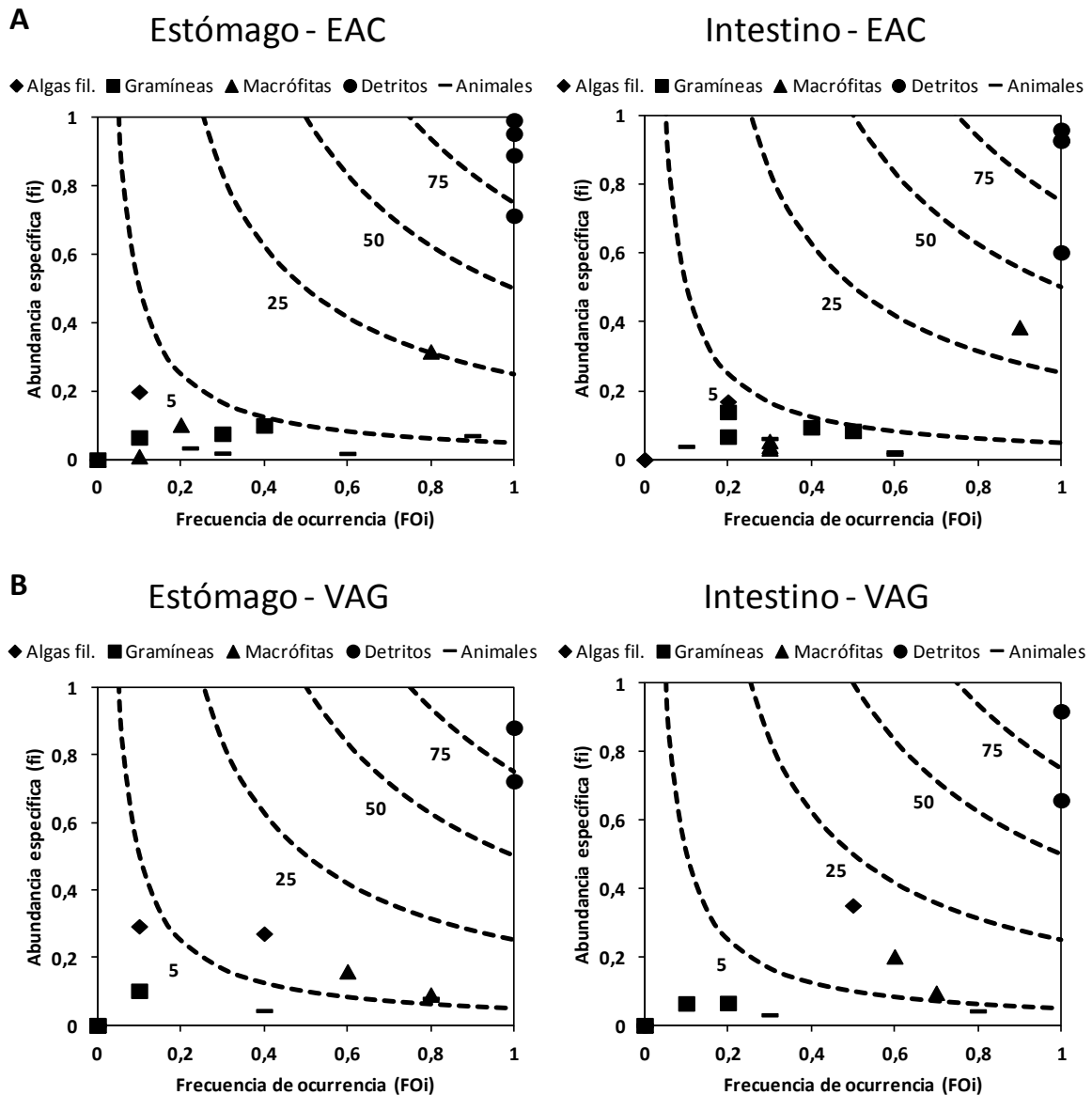


Figura 4.8. Gráficos de Amundsen para estómago e intestino con las cinco categorías de ítems principales. **A.** Individuos de Espartillar en arroyo Corto para las cuatro fechas. **B.** Individuos del vado en arroyo Guaminí para las dos fechas.

4.3.2 Recursos tróficos disponibles

Los arroyos EAC y VAG poseían fondo desnudo casi en su totalidad, mientras que los canales CPV y CSC presentaban una alta cobertura de macrófitas. Estos últimos, a pesar de tener ambos una alta cobertura vegetal (siempre superior al 70%, a excepción de CPV el 27/05/2015 con un 42.5%; Figura 4.9) difieren mucho en la diversidad de especies. En CPV se encontró prácticamente sólo *S. striata* como macrófita acuática, mientras que en el CSC se observó un ensamble de emergentes como *Schoenoplectus*

californicus, *Typha* sp., una crucifera no identificada (Crucifera sp1), las sumergidas *L. peploides* y *M. quitense* (sólo el 09/03/2016) y las flotantes *Azolla filiculoides*, *Ricciocarpus* sp. y *Lemna minor*; también se registraron matas flotantes de algas filamentosas (*scum*) en CSC el 10/03/15. Además de las plantas acuáticas mencionadas, en general se encontraban en los cuatro sitios algunas plantas terrestres en la orilla que podían encontrarse parcialmente sumergidas debido a las fluctuaciones del nivel de agua del arroyo, dentro de las cuales se encontraban *Cyperus* sp., *Eleocharis bonariensis*, *Hydrocotyle bonariensis*, juncos, gramíneas sumergidas o con las puntas en el agua, y también raíces de plantas.

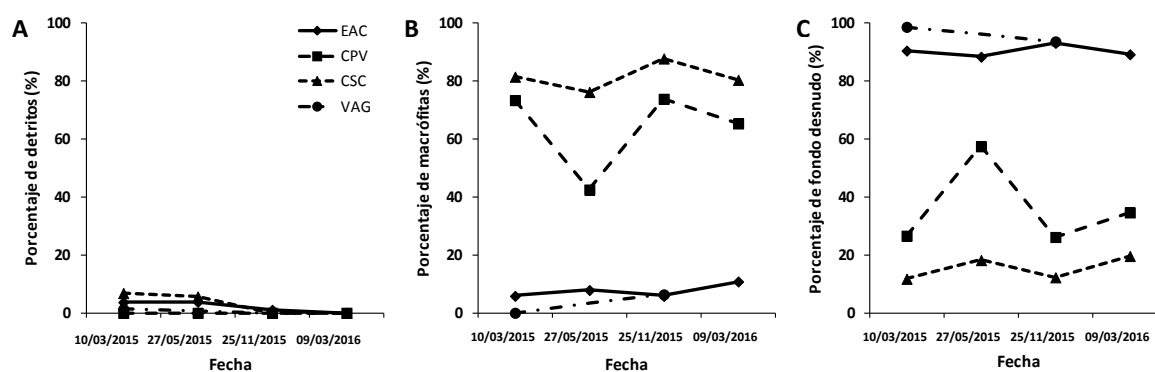


Figura 4.9. Cobertura de recursos tróficos y fondo desnudo (%) en los cuatro sitios (EAC, CPV, CSC y VAG) a lo largo del periodo de muestreo. **A.** Detritos. **B.** Macrófitas. **C.** Fondo desnudo. En **A** la escala del eje es menor a las de **B** y **C**.

Las diferencias en la composición de plantas en cada sitio y a lo largo del tiempo se ven reflejadas en diferencias para la diversidad (H') y la uniformidad ($U_{H'}$) (Figura 4.10). Los sitios que mostraron mayores valores de diversidad y uniformidad fueron EAC y CSC. EAC presentó niveles altos para las primeras tres fechas, siendo muy bajos sus valores en la última fecha, mientras que CSC mostró su valor más bajo en la primera fecha para luego aumentar sus valores y mantenerse constante. CPV tuvo siempre valores bajos salvo para la tercera fecha para ambas variables, y VAG tuvo un comportamiento similar (para este sitio no se calcularon H' y $U_{H'}$ para 27/05/15 y 09/03/16 debido a que por la falta de caracoles en los sitios muestreados no se realizaron transectas de cobertura vegetal).

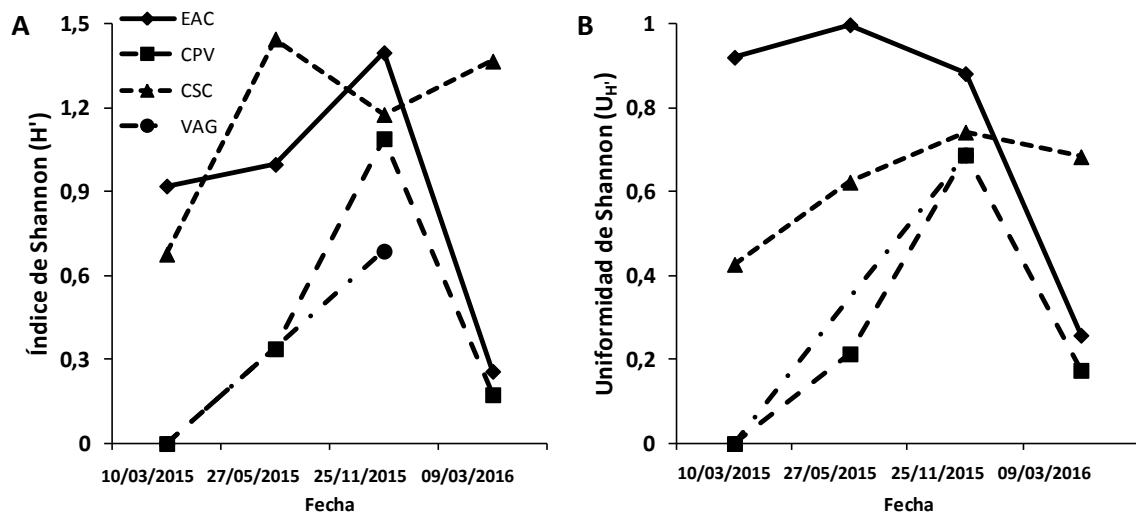


Figura 4.10. Diversidad de recursos tróficos para los cuatro ambientes muestreados (EAC, CPV, CSC y VAG). **A.** Índice de diversidad de Shannon (H') a lo largo del periodo de muestreo. **B.** Índice de uniformidad de Shannon ($U_{H'}$) a lo largo del periodo de muestreo.

4.4 Discusión

Para los caracoles provenientes del ambiente natural, salvo alguna excepción, los contenidos que aparecen en el estómago aparecen siempre en el intestino pero la inversa no se cumple. A su vez, para cada sitio se observó que la proporción de individuos con presencia de algunos de los ítems es mayor para el intestino que para el estómago. La mayoría de las veces el volumen de los contenidos del intestino fue mayor que el del estómago, lo que explica la mayor probabilidad de encontrar los ítems que están poco representados. En algunos casos (en especial en los caracoles del otoño) se encontraron varios individuos con estómagos vacíos pero que presentaban contenidos intestinales. En poblaciones naturales de arroyos pertenecientes a la Cuenca de las Encadenadas del Oeste se ha registrado para esta época del año un comportamiento de inactividad por parte de los caracoles, encontrándose hasta más de un 90% de los caracoles retraídos en su conchilla (Seuffert *et al.*, 2010). En consecuencia, los caracoles podrían presentar sus estómagos vacíos debido a su falta de actividad y no a la falta de alimento. La presencia caracoles con estómagos vacíos pero con contenidos en el intestino sugiere la idea de que el tiempo de retención en esta última sección del tracto digestivo es mayor y que los contenidos encontrados allí podrían no pertenecer sólo a la última ingesta. El índice de Shannon (H') sólo mostró diferencias significativas en un sitio de muestreo (CPV) entre estómago e intestino, siendo superior para los contenidos correspondientes al intestino. En concordancia con el Capítulo 2, los resultados de este capítulo indican que la utilización de los intestinos es más apropiada para la determinación de la dieta de *P. canaliculata* ya que aportan la misma o una mayor información que los estómagos.

La única especie de macrófita encontrada con cierta frecuencia en los contenidos digestivos de caracoles de campo fue *S. striata*. Esta macrófita es muy abundante en el canal Pigüé-Venado, con una cobertura superior al 40%, donde se encontraron porcentajes variables de caracoles con restos vegetales de la misma para las cuatro fechas (entre 10 y 90%). Sin embargo, esta macrófita también estuvo presente en el 35%

de los contenidos de los caracoles del vado en arroyo Guaminí, a pesar de estar aparentemente ausente en el sitio. Esto podría deberse a la presencia de caracoles durante la recolección que hayan derivado de aguas arriba, donde se encuentran algunas de las macrófitas mencionadas en el presente estudio (Seuffert & Martín, 2012), entre ellas *S. striata*. Otro ítem que se observó con una cierta frecuencia y una gran abundancia fueron algas filamentosas, las cuales se encontraron en 14 individuos (11% del total). Sin embargo, estas algas nunca fueron encontradas en los muestreos cuando se realizaron las transectas de cobertura vegetal. Una posible explicación podría ser que este recurso se encuentra en el fondo de los arroyos y con una muy baja densidad, lo que haría muy dificultoso su aparición en los muestreos realizados, pero es consumido en forma preferencial. Fang *et al.* (2010) han reportado que las algas filamentosas son muy palatables para *P. canaliculata*, que es capaz de ingerir 0,25 gramos por gramo de caracol por día, un valor por debajo de lo ingerido de la macrófita sumergida más palatable de la CEO (*C. contraria*, 0,41 gramos consumidos por gramo de caracol por día; Capítulo 2) pero superando ampliamente al resto (*M. quitense* 0,14, *Z. palustris* 0,13, *S. striata* 0,05 y *L. peploides* 0,03 gramos consumidos por gramo de caracol por día; Capítulo 2).

Debido a la gran voracidad que muestra *P. canaliculata* por diferentes macrófitas se podría esperar que la mayor parte de los contenidos del tracto digestivo esté representado por este ítem, como fue encontrado por Siago *et al.* (2016), que reportaron una gran importancia relativa de tejidos vegetales en los contenidos (aproximadamente 85%), aunque los detritos fueron también encontrados en el estómago (aproximadamente 12%). Sin embargo, a pesar de ser catalogado como un caracol macrofitófago, López-van Oosterom *et al.* (2016) encontraron que este caracol tiene una dieta generalista siendo los detritos el principal ítem consumido (70% de abundancia relativa y 100% de FOi) y estando las plantas vasculares en segundo orden (35% de abundancia relativa y 70% de FOi). A su vez Kwong *et al.* (2010) llegaron a resultados similares en el rango de

distribución invadido; los ítems encontrados en los contenidos digestivos fueron detritos con una alta FOi (42-50%), seguidos por las macrófitas (28-38%). Ocón *et al.* (2013) encontraron que, en un arroyo de características similares a los de nuestra zona de estudio, la mayor frecuencia relativa en los contenidos digestivos fue para detritos (42%), seguido de diatomeas (32%) y luego plantas vasculares (menor al 21%). *Pomacea canaliculata* es considerado un caracol macrofitófago, pero las macrófitas mostraron una baja FOi (> 25%) en sus contenidos digestivos en el presente estudio y el ítem más representativo fueron siempre los detritos (FOi = 100%). Sin embargo, si se tiene en cuenta que los restos verdes no identificables provienen mayormente de macrófitas y se los cuenta como tales, este porcentaje en conjunto (restos verdes no identificables y macrófitas) subiría al 43% para el estómago y 56% para el intestino, pero todavía mucho menor que los detritos.

Al igual que la mayoría de los trabajos mencionados sobre dieta natural (Kwong *et al.*, 2010; Ocon *et al.*, 2013; Lopez-van Oosterom *et al.*, 2016), el estudio de los contenidos digestivos de caracoles provenientes del ambiente natural muestra que los detritos fueron con amplia diferencia el ítem con mayor frecuencia relativa y mayor proporción para todos los sitios y en todas las fechas. Una explicación posible es que en los sitios de la zona de estudio de esta tesis hay escasa o nula disponibilidad de macrófitas (según los resultados del presente Capítulo y del Capítulo 6), siendo la mayor parte de las especies presentes poco palatables (Capítulo 2). Debido a esta escasez de macrófitas palatables *P. canaliculata* concentraría su ingesta en los detritos, los cuales podrían provenir de estas especies no palatables, de macrófitas emergentes o de gramíneas (Panteleit *et al.*, 2018; Türke, *et al.*, 2018). La ingesta de material senescente proveniente de especies con baja palatabilidad ha sido investigada por Qiu *et al.* (2011), quienes determinaron que especies con altos contenidos fenólicos se vuelven más palatables luego de la senescencia debido a la pérdida de los mismos. El aprovechamiento de este recurso permitiría a los caracoles subsistir en los ambientes

donde ellos mismos han erradicado a la mayoría de las macrófitas acuáticas o por lo menos las más palatables (Capítulos 5 y 6). Los arroyos de la cuenca de las Encadenadas del Oeste se caracterizan por la ausencia de árboles (Seuffert & Martín, 2013a) por lo que la vegetación ribereña se compone casi exclusivamente de gramíneas, las cuales se las puede encontrar frecuentemente sumergidas debido al desmoronamiento de las orillas de los arroyos, aportando así material vegetal senescente. Las gramíneas pueden representar un componente importante en la dieta de *P. canaliculata*, como lo fue en CSC (FOi superiores a 0,7 tanto en estómago como en intestino), llegando incluso a representar una proporción mayor de los contenidos digestivos que el de las macrófitas.

Los dos arroyos (EAC y VAG) mostraron porcentajes de fondo desnudo superiores al 90 %, mientras que en los dos canales (CPV y CSC) el porcentaje de cobertura vegetal fue siempre superior al 40 %. Sin embargo, en líneas generales la dieta natural de *P. canaliculata* parece no variar entre ambientes, dentro de la Cuenca de las Encadenadas del Oeste, a pesar de las diferencias mencionadas en cobertura vegetal así como en diversidad de especies entre los sitios de muestreo. En los canales no se observa algún patrón estacional para la cobertura vegetal y la herbivoría de *P. canaliculata* podría no estar afectando a las especies vegetales presentes, ya que en general no son las más palatables para este caracol. El índice de diversidad de Shannon (H') y su correspondiente índice de uniformidad ($U_{H'}$) no parecen mostrar un patrón anual que pudiera estar relacionado con la actividad de los caracoles. Sin embargo, para la última fecha de muestreo sus valores caen abruptamente, a excepción del canal del Sauce Corto. Tal vez esto podría deberse a que con crecidas de los arroyos provocadas por las lluvias las especies vegetales presentes fueran arrastradas por la corriente, y que la excepción en CSC se deba a que es el sitio más alejado de los cuatro, por lo que podría haber evitado la incidencia de alguna lluvia.

Al igual que sucede en el rango de distribución invadido (Hong Kong) la dieta de este ampulárido no parece variar entre estaciones (Kwong *et al.*, 2010), pese a que los inviernos presentan temperaturas menores en el SOB (Kwong *et al.*, 2008). A pesar de las diferencias tanto en cobertura vegetal como en diversidad de especies entre los sitios de muestreo, el ítem dominante en la dieta según los contenidos del tracto digestivo (estómago e intestino) resultaron ser los detritos ($FO_i = 1$ en estómago e intestino). Sin embargo se hallaron restos provenientes de plantas (ya sean identificables o no) con cierta frecuencia para estómago e intestino (43 y 56% respectivamente) a pesar de no haber a disposición inmediata macrófitas que resultaran palatables para el caracol. Esto implicaría que *P. canaliculata* estaría alimentándose en parte de las macrófitas poco palatables pero abundantes y que estaría basando su dieta en los ítems que presenten una oferta continua y sean aptos para su ingesta, como los detritos.

La mayoría de los ítems encontrados en los contenidos digestivos de los caracoles de la Cuenca de las Encadenadas del Oeste presentaban abundancias específicas bajas, por lo que según el diagrama de Amundsen *P. canaliculata* se comporta como una especie generalista. Sin embargo, la alta frecuencia de ocurrencia y abundancia específica que presentaron los detritos demuestran su importancia en la dieta, tal vez debido a la falta de macrófitas palatables en el ambiente natural. A su vez, la falta de ítems con una alta abundancia específica y una baja frecuencia de ocurrencia indica que ninguno de ellos fue consumido de forma preferencial, apoyando la idea de una estrategia trófica generalista. Diferentes autores han destacado el hábito de alimentación macrofitófago que presenta este ampulárido, resaltando la capacidad de alimentarse también de detritos (Ocón *et al.*, 2013; Lopez-van Oosterom *et al.*, 2016; Saveanu *et al.*, 2017). Según los resultados obtenidos del presente estudio y en coincidencia con Saveanu (2014) se podría afirmar que *P. canaliculata* es un generalista oportunista, variando su estrategia dependiendo de la oferta inmediata, y comportándose

fundamentalmente como detritívoro ocasional en la Cuenca de las Encadenadas del Oeste.

CAPÍTULO 5

EFFECTOS DE *POMACEA CANALICULATA* SOBRE LAS COMUNIDADES DE MACRÓFITAS SUMERGIDAS

5.1 Introducción

En cualquier comunidad hay usualmente unas pocas especies que tienen un efecto desproporcionado sobre las otras y por lo tanto sobre la estructura de la comunidad y el funcionamiento del ecosistema. Estas son llamadas especies clave (*keystone species*; Power *et al.*, 1996) y pueden ser tanto especies nativas como exóticas que se hayan establecido, dispersado y convertido en invasoras (Perrings *et al.*, 2010). *Pomacea canaliculata* probablemente esté actuando como especie clave en varios de los ecosistemas que ha invadido, en los que su herbivoría es capaz de erradicar completamente las macrófitas sumergidas y flotantes, promoviendo cambios en el funcionamiento de los ecosistemas acuáticos debido a la liberación de nutrientes y el consiguiente incremento en la productividad del fitoplancton y en la turbidez del agua (Carlsson *et al.*, 2004; Fang *et al.*, 2010; Horgan *et al.*, 2014a). Los efectos de la herbivoría de los ampuláridos sobre las macrófitas acuáticas han sido estudiados alrededor del mundo para prever sus impactos sobre la vegetación acuática, la calidad del agua y los servicios ecosistémicos (ej. Gilioli *et al.*, 2017b; Low & Anderson, 2017). Sin embargo, hasta ahora no se han desarrollado estudios sobre estos impactos o sobre los roles que pueden tener estos ampuláridos en su rango de distribución nativo, la región pampeana de la cuenca del río de la Plata, desde donde estos caracoles han sido llevados a otros continentes (Hayes *et al.*, 2008).

Los herbívoros exóticos generalmente producen efectos negativos mayores sobre la abundancia y riqueza de las plantas nativas que sobre plantas exóticas mientras que los herbívoros nativos producen un efecto negativo mayor sobre la abundancia de plantas exóticas en comparación con las nativas (Parker *et al.*, 2006). A pesar de ser

considerados herbívoros generalistas, los ampuláridos parecen seguir este patrón, ya que se alimentan más intensamente de, o les resultan más palatables, las macrófitas ajenas a su área nativa (Morrison & Hay, 2011b). Esta evidencia da lugar a la predicción de que la influencia de su herbivoría sería menor, y no estaría cumpliendo un rol como especie clave, en su rango de distribución nativo. Sin embargo, Grutters *et al.* (2017a) demostraron que el valor nutricional de las macrófitas acuáticas en conjunto con sus defensas, sean estas físicas o químicas, son los principales determinantes de su palatabilidad y no su origen geográfico o la novedad de las plantas para *P. canaliculata*. Esto sugiere que la influencia e impactos producidos por la herbivoría de *P. canaliculata* no deberían diferir necesariamente entre el rango de distribución nativo y el invadido sino que dependerán de los rasgos particulares de las macrófitas presentes en los cuerpos de agua.

La región pampeana es una ecorregión de pastizales de llanura en la cual se presentan una gran cantidad de cuerpos de agua someros, siendo una de las regiones más pobladas y modificadas antrópicamente del sur de América del Sur, debido a la agricultura, la ganadería y al uso de agroquímicos (Rodríguez Capítulo *et al.*, 2010; Amuchástegui *et al.*, 2016; Solís *et al.*, 2018). En estos cuerpos de agua las macrófitas son muy importantes desde un punto de vista comunitario y ecosistémico. Los arroyos pampeanos son altamente productivos, sin vegetación ribereña y la heterogeneidad de hábitats depende mayormente de la vegetación acuática (Giorgi *et al.*, 2005; Rodríguez Capítulo *et al.*, 2010; Acuña *et al.*, 2011). Por otro lado, los lagos pampeanos son someros y eutróficos, y muestran grandes fluctuaciones en turbidez y biomasa fitoplanctónica debido a la muerte, descomposición y liberación de nutrientes de las macrófitas, causado en parte por fluctuaciones en el nivel del agua (Llames *et al.*, 2013; Sánchez *et al.*, 2015).

La importante pero variable representación de tejidos vegetales en los contenidos digestivos de *P. canaliculata* en su rango de distribución nativo (López-van Oosterom *et*

al., 2013, 2016; Saigo *et al.*, 2016) sugieren que su consumo tal vez dependa de la composición específica de la vegetación acuática. Estos caracoles, a pesar de ser catalogados como polívoros o generalistas, muestran marcadas preferencias por algunas macrófitas acuáticas por sobre otras, aún si tienen el mismo hábito de crecimiento o forma de vida, tal como se demostró en el Capítulo 2.

5.1.1 Objetivos

Evaluar, mediante un experimento en mesocosmos, si la herbivoría diferencial de *P. canaliculata* podría afectar la composición, estructura y abundancia de las comunidades de macrófitas sumergidas en su rango nativo de distribución. También testear si la herbivoría de este caracol podría promover cambios en el fitoplancton, en las variables fisicoquímicas del agua y de los sedimentos en cuerpos de agua de esta región. Debido a las marcadas diferencias en la preferencia de algunas macrófitas que muestra *P. canaliculata*, se espera que su herbivoría diferencial produzca cambios al menos en la composición de la comunidad de macrófitas sumergidas, reduciendo la cobertura o biomasa de las especies de mayor palatabilidad y preferencia. A su vez se espera que se produzcan cambios en el ecosistema debido a la liberación de nutrientes y en consecuencia un incremento en la productividad del fitoplancton y en la turbidez del agua.

5.2 Materiales y métodos

5.2.1 Origen y mantenimiento de las macrófitas sumergidas

Para evitar posibles interferencias debidas a interacciones previas entre las macrófitas y los caracoles (Grantham *et al.*, 1993; Baker *et al.*, 2010), las plantas utilizadas fueron todas colectadas en un mismo sitio del arroyo Napostá Grande (38° 17' 47" S, 62° 10' 15" O), donde *P. canaliculata* está naturalmente ausente (Martín & De Francesco, 2006), perteneciente a la Cuenca de Drenaje Austral del Sistema de Ventania (CDASV), cerca de la localidad de Tres Picos. Las plantas utilizadas fueron *Chara contraria var. nitelloides*, *Ludwigia peploides*, *Myriophyllum quitense*, *Stuckenia striata* y *Zannichellia palustris*, por ser las más abundantes en los arroyos de nuestra zona de estudio. Las plantas fueron colectadas y llevadas al lugar del experimento en recipientes con agua de arroyo para luego ser plantadas en los mesocosmos dentro de las 5 hs de la recolección.

5.2.2 Origen y mantenimiento de los caracoles

Los caracoles utilizados fueron colectados en el arroyo Corto en la localidad de Espartillar, sitio elegido debido a la ausencia total de macrófitas sumergidas que pudieran servir de alimento y afectar las preferencias del caracol. Luego se los llevó al laboratorio donde fueron mantenidos en grupos de diez individuos en acuarios colectivos, con agua saturada en CaCO₃ y alimentados *ad libitum* con lechuga. Para el presente experimento se utilizaron solo machos adultos (largo de conchilla de 30-40 mm), para evitar posibles escapes accidentales causados por el comportamiento de oviposición por encima del nivel del agua de las hembras (Albrecht *et al.*, 1996).

5.2.3 Estimación de los efectos de *P. canaliculata* sobre la comunidad de macrofitas sumergidas

El experimento fue llevado a cabo en el campo experimental del CERZOS (UNS-CONICET; 38° 39' 54" S, 62° 13' 57" O). Diez piletas de 500 l (largo: 1,30 m; ancho: 0,95 m; alto: 0,40 m) fueron utilizadas como mesocosmos, las cuales al ser llenadas hasta una profundidad de 0,25 m con agua de red contenían un volumen final de 300 l de agua. Se cubrió el fondo con 3 cm de arena de arroyo, obtenida del arroyo Napostá Grande en la localidad de Bahía Blanca (38° 41' 12" S, 62° 14' 24" O). El experimento tuvo una duración de tres meses (desde el 20 de diciembre de 2016 hasta el 29 de marzo del 2017), en el cual la exposición solar tuvo una variación entre 15 y 12 hs, al principio y al final del experimento, respectivamente, debido a la duración de los días y al sombreado durante el amanecer y atardecer causado por la vegetación e infraestructura cercana. Datos de radiación solar y temperatura fueron obtenidos de una estación meteorológica automática (Delta-T Devices DL1) localizada a 250 m de los mesocosmos (Figura 5.1).

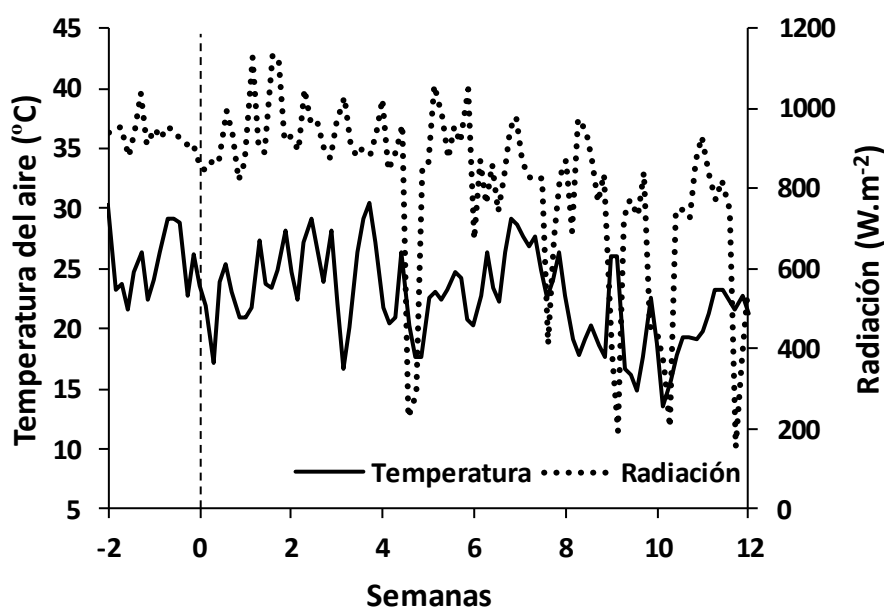


Figura 5.1. Datos de radiación solar (máxima diaria $W m^{-2}$) y temperatura (media diaria $^{\circ}C$) a lo largo del experimento de mesocosmos. La línea punteada indica el inicio del experimento.

Tres matas de cada especie de macrófita fueron plantadas en cada mesocosmos, las cuales fueron enjuagadas previamente con agua de red para remover los sedimentos, invertebrados y detritos que pudieran contener. La disposición espacial de las matas fue al azar. Se dejó transcurrir un periodo de dos semanas para permitir un buen establecimiento de las macrófitas antes de comenzar el experimento. Al inicio del experimento a cinco de los mesocosmos elegidos al azar se les agregaron dos caracoles machos y los otros cinco se utilizaron como control (sin caracoles).

Diversas variables biológicas y fisicoquímicas fueron medidas al inicio y cada dos semanas a lo largo de todo el experimento, y también se inspeccionó cada mesocosmos para asegurarse de que los dos machos de *P. canaliculata* estuvieran vivos. Se estimó la cobertura para cada especie vegetal para lo cual se utilizó una grilla de nailon la cual era colocada sobre cada pileta para tomar los registros (Figura 5.2). Dicha grilla consistía en cuadrados de 12 x 12 cm y para cada uno se registraba las especies de macrófitas que aparecían en él. Con estos datos fue posible calcular la cobertura (%) de cada planta en relación a la superficie total de la pileta (70 cuadrados), así como la cobertura vegetal total (porcentaje de la superficie con al menos una macrófita). Usando las coberturas de cada especie como abundancias relativas se calcularon los índices de diversidad (H') y uniformidad ($U_{H'}$) de Shannon (Krebs, 1989):

$$H' = - \sum (p_i) \cdot (\log_2 p_i), \text{ donde } i=1 \rightarrow n$$

$$U_{H'} = H' / (\log_2 n)$$

p_i : proporción de cobertura de la especie i sobre la superficie total

n : número de especies presentes



Figura 5.2 Mesocosmos con la grilla de nailon con la que se realizaron los conteos para estimar la cobertura por especie y la cobertura total.

El experimento tuvo una duración de 12 semanas, durante las cuales se registraron *in situ*, al inicio y cada dos semanas, las siguientes variables fisicoquímicas del agua utilizando una sonda multiparamétrica (Horiba H-52): oxígeno disuelto, conductividad, temperatura, turbidez y pH. También se obtuvo una muestra de agua para su análisis químico posterior para obtener los valores de N inorgánico y P total (determinaciones realizadas por el LANAQUI, Laboratorio de Análisis Químicos del CERZOS). Luego de tomar todas las medidas y registrar todas las variables se agregó agua a los mesocosmos para reponer las pérdidas por evaporación, evitando generar turbidez debido a la resuspensión de los detritos y la arena del fondo. El exceso de agua que pudiera ser provocado por las lluvias era eliminado por rebalse en las cuatro esquinas de los mesocosmos (Figura 5.2).

Una vez finalizado el experimento, la biomasa viva y muerta de las macrófitas de cada mesocosmos fue colectada utilizando tijeras para cortar la parte por encima del sustrato. En el laboratorio los tejidos vivos de cada especie fueron separados del resto

para estimar el peso fresco o biomasa de cada macrófita utilizando una balanza de precisión de 1 mg, luego de una leve centrifugación para eliminar el exceso de agua. Todo el material vegetal muerto fue pesado en conjunto para obtener la biomasa muerta o biomasa detrítica total. También se tomó una muestra de agua para la determinación de concentración de clorofila-a y de feopigmentos por espectrofotometría (Lorenzen, 1967) y una muestra de sedimento (100 cm³) para la determinación de C y N total y P disponible (determinaciones realizadas por el LANAQUI).

5.2.4 Análisis estadísticos

Se realizaron ANOVAs de medidas repetidas para las variables medidas cada dos semanas, con el tiempo como factor dentro de cada sujeto y la presencia o no de caracoles como el factor entre sujetos. Cuando la esfericidad de los datos fue rechazada fueron aplicadas correcciones de Greenhouse-Geisser. Para las variables medidas solo al final del experimento se realizaron pruebas t para comparar los mesocosmos con y sin caracoles; cuando el test de Levene indicó falta de homocedasticidad se realizaron pruebas t de Welch.

5.3 Resultados

5.3.1 Efectos de *P. canaliculata* sobre la comunidad de macrófitas sumergidas

Las cinco macrófitas acuáticas se establecieron satisfactoriamente en los mesocosmos, observándose un crecimiento tanto de las hojas como de los tallos; también se observaron nuevos brotes en las matas así como también nuevos brotes emergiendo desde el sustrato. En el caso de *C. contraria* se observó la producción de oogonios y en *S. striata* la formación de frutos. A su vez, todos los caracoles sobrevivieron a lo largo del experimento.

Los ANOVAs de medidas repetidas mostraron que las coberturas de *C. contraria*, *Z. palustris* y *S. striata* fueron significativamente menores para los mesocosmos con caracoles en comparación con los controles (Tabla 5.1). Cabe destacar que tanto *C. contraria* como *Z. palustris* fueron totalmente erradicadas de los mesocosmos con caracoles, en las semanas 4 y 8 respectivamente (Figura 5.3), mientras que en los controles sus coberturas se mantuvieron estables para la primera y decrecieron para la segunda. En el caso de *S. striata* la cobertura en los mesocosmos sin caracoles se incrementó a partir de la semana 6 en adelante mientras que se mantuvo sin cambios cuando los caracoles estaban presentes (Figura 5.3). Las coberturas de *L. peploides* y *M. quitense* no fueron afectadas significativamente por la presencia de los caracoles a lo largo del experimento (Tabla 5.1). Sin embargo, *M. quitense* mostró una reducción del 25% en cobertura en los mesocosmos con caracoles en las últimas 6 semanas (Figura 5.3). *Ludwigia peploides* fue la única macrófita para la cual no se encontró interacción entre la presencia del caracol y el tiempo (Tabla 5.1). La cobertura total de las macrófitas sumergidas en los controles se mantuvo sin cambios alrededor del 90%; sin embargo en los mesocosmos con caracoles la misma mostró un decrecimiento continuo alcanzando valores finales del 58.9% (Figura 5.3).

Variable	Tiempo		Tiempo x Caracoles		Caracoles	
<i>C. contraria</i>	F_{2,73, 21,81} =30,998	p =0,000	F_{2,73, 21,81} =42,518	p =0,000	F_{1, 8} =671,332	p =0,000
<i>M. quitense</i>	F _{1,89, 15,14} =2,403	p =0,126	F_{1,89, 15,14} =7,098	p =0,007	F _{1, 8} =1,929	p =0,202
<i>Z. palustris</i>	F_{2,86, 22,87} =111,519	p =0,000	F_{2,86, 22,87} =11,805	p =0,000	F_{1, 8} =42,253	p =0,000
<i>S. striata</i>	F _{1,49, 11,94} =5,147	p =0,032	F_{1,49, 11,94} =15,792	p =0,001	F_{1, 8} =12,875	p =0,007
<i>L. peploides</i>	F_{2,8, 22,40} =16,843	p =0,000	F _{2,8, 22,40} =1,241	p =0,317	F _{1, 8} =0,264	p =0,621
Total	F_{1,73, 13,82} =6,196	p =0,014	F_{1,73, 13,82} =6,002	p =0,016	F_{1, 8} =27,325	p =0,001
H'	F_{1,45, 11,58} =40,201	p =0,000	F_{1,45, 11,58} =17,033	p =0,001	F_{1, 8} =189,038	p =0,000
U _{H'}	F _{1,95, 15,56} =2,475	p =0,118	F _{1,95, 15,59} =1,150	p =0,341	F _{1, 8} =0,201	p =0,666

Tabla 5.1. ANOVAs de medidas repetidas para el efecto de los caracoles, el tiempo y su interacción en la cobertura de cada macrófita sumergida, cobertura total, diversidad (H') y uniformidad (U_{H'}) en los mesocosmos. En negrita los valores significativos ($p \leq 0,05$).

El índice de diversidad para la comunidad de macrófitas se mantuvo constante en los controles pero fue significativamente reducido en los mesocosmos con caracoles (Tabla 5.1), especialmente en las primeras seis semanas. El índice de uniformidad no mostró efectos significativos por parte de los caracoles.

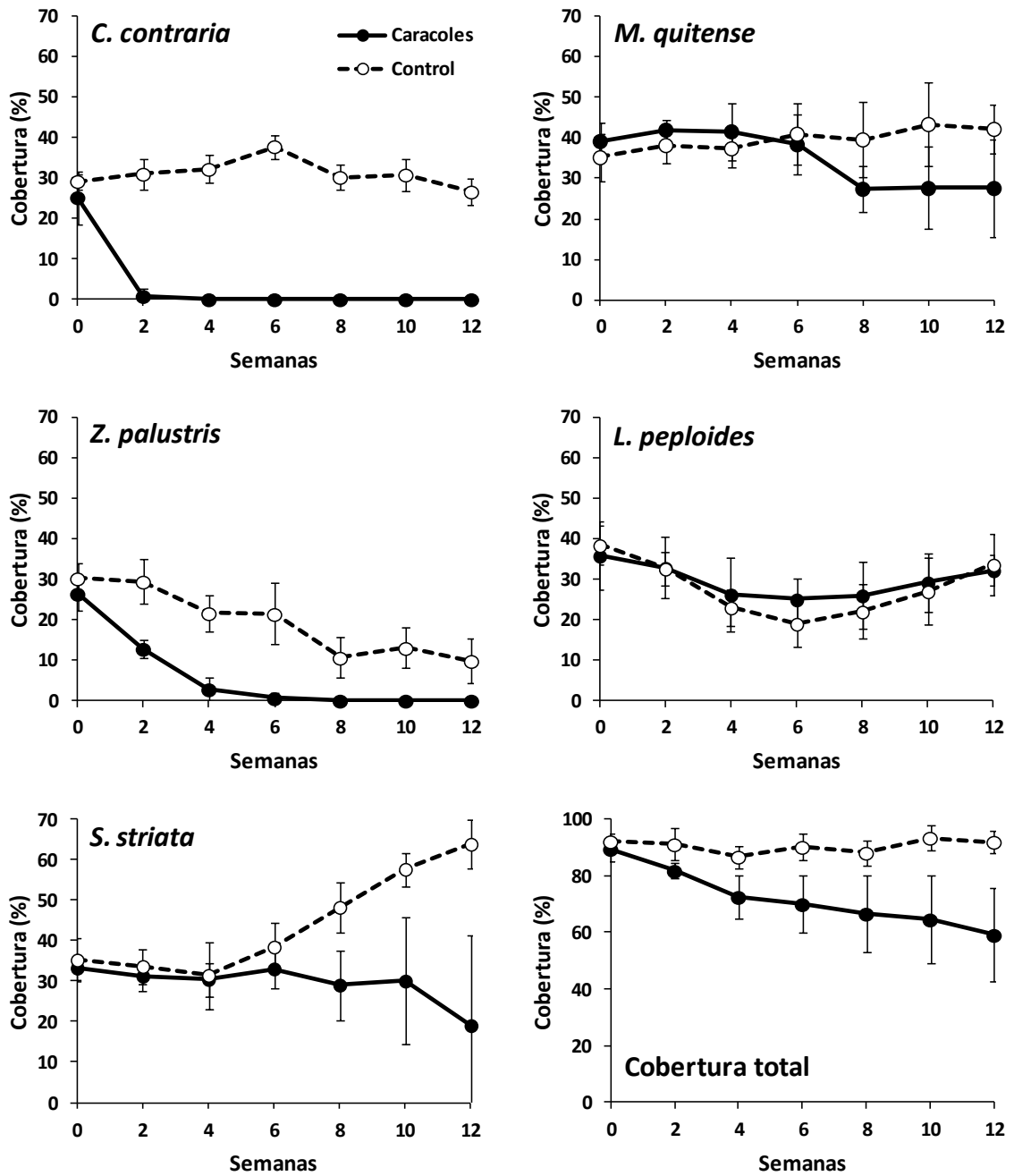


Figura 5.3. Cobertura (% , media \pm DE) de cada macrófita sumergida y cobertura total en los mesocosmos control y con caracoles.

No se encontraron efectos significativos de los caracoles para las variables fisicoquímicas (Tabla 5.2). El fósforo fue la única variable que no mostró cambios significativos en relación con el tiempo. Al final del experimento la turbidez del agua fue muy alta para los mesocosmos con caracoles, haciendo difícil su observación en los chequeos cada dos semanas, pero fue muy variable y no mostró diferencias significativas en todo el experimento.

Variable	Tiempo		Tiempo x Caracoles		Caracoles	
N inorganico	F_{6, 48} = 4,695	p = 0,001	F _{6, 48} = 1,121	p = 0,312	F _{1,8} = 1,610	p = 0,240
P total	F _{1,08, 29,45} = 0,938	p = 0,367	F _{1,08, 29,45} = 1,049	p = 0,340	F _{1,8} = 0,750	p = 0,412
O ₂ disuelto	F_{6, 48} = 8,556	p = 0,000	F _{6, 48} = 0,433	p = 0,846	F _{1,8} = 2,032	p = 0,192
Conductividad	F_{1,27, 10,14} = 166,624	p = 0,000	F _{1,27, 10,14} = 0,210	p = 0,972	F _{1,8} = 0,796	p = 0,398
Temperatura	F_{2,06, 16,468} = 299,685	p = 0,000	F _{2,06, 16,468} = 0,852	p = 0,448	F _{1,8} = 0,001	p = 0,981
Turbidez	F_{1,9, 15,2} = 4,485	p = 0,031	F _{1,9, 15,2} = 3,222	p = 0,070	F _{1,8} = 3,192	p = 0,112
pH	F_{6, 48} = 21,620	p = 0,000	F _{6, 48} = 0,388	p = 0,883	F _{1,8} = 0,041	p = 0,844

Tabla 5.2. ANOVAs de medidas repetidas para el efecto de los caracoles, el tiempo y su interacción en las variables físicas y químicas del agua. En negrita los valores significativos ($p \leq 0,05$).

Al final del experimento las biomásas fueron significativamente reducidas por los caracoles para *Z. palustris* ($t_4 = 4,627$, $p = 0,01$), *S. striata* ($t_8 = 4,778$, $p = 0,001$) y *M. quitense* ($t_8 = 3,517$, $p = 0,008$) (Figura 5.4). En el caso de *C. contraria* la biomasa viva en los mesocosmos con caracoles fue nula, pero la diferencia con los controles no fue significativa ($t_4 = 2,475$, $p = 0,069$), probablemente debido a la gran variación en los últimos. No se encontraron diferencias significativas para la biomasa de *L. peploides* ($t_8 = -0,522$, $p = 0,616$).

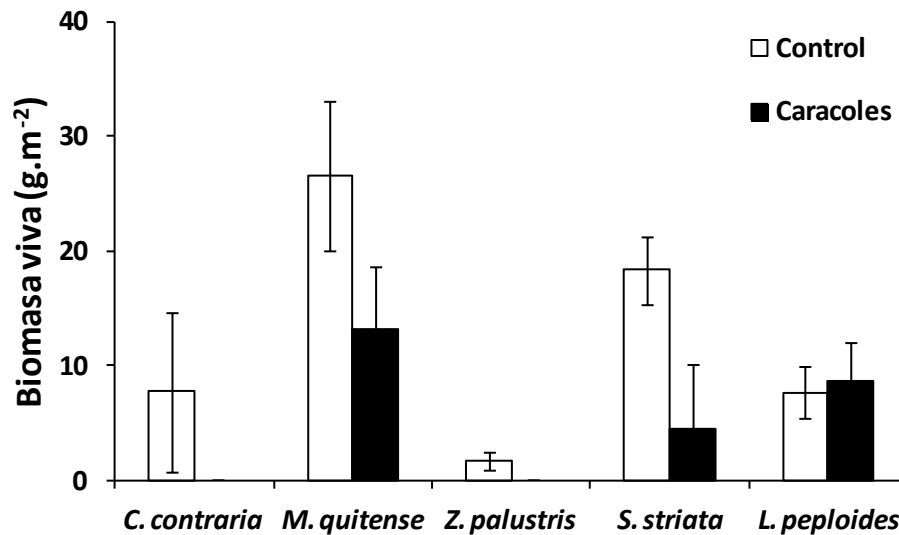


Figura 5.4. Biomasa viva (g.m^{-2} , media \pm DE) de cada macrófita sumergida en los mesocosmos control y con caracoles.

Tanto la biomasa viva total como la muerta de las macrófitas fueron significativamente menores en los mesocosmos con caracoles en relación a los controles ($t_8 = 5,956$, $p < 0,001$ y $t_8 = 5,305$, $p = 0,001$, respectivamente; Figura 5.5).

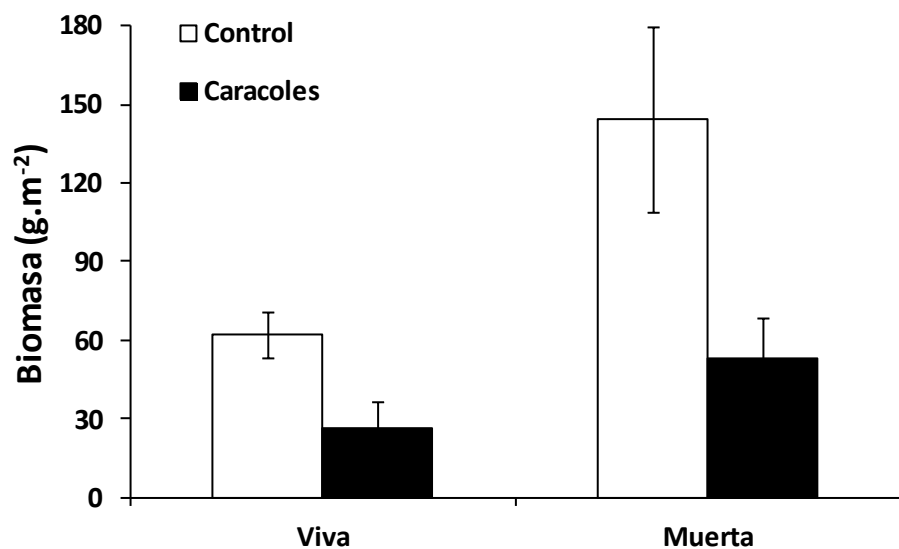


Figura 5.5. Biomasa total viva y muerta (g.m^{-2} , media \pm DE) de las macrófitas sumergidas en los mesocosmos control y con caracoles.

La concentración de clorofila-a en el agua fue significativamente mayor en los mesocosmos con caracoles mientras que los feopigmentos no mostraron un efecto significativo ($t_8 = -3,391$, $p = 0,009$ y $t_8 = -1,876$, $p = 0,098$, respectivamente; Figura 5.6).

Los contenidos de N y C totales y el P disponible en los sedimentos no fueron diferentes significativamente entre los mesocosmos con y sin caracoles (test t, $p > 0,098$ en todos los casos; Figura 5.7).

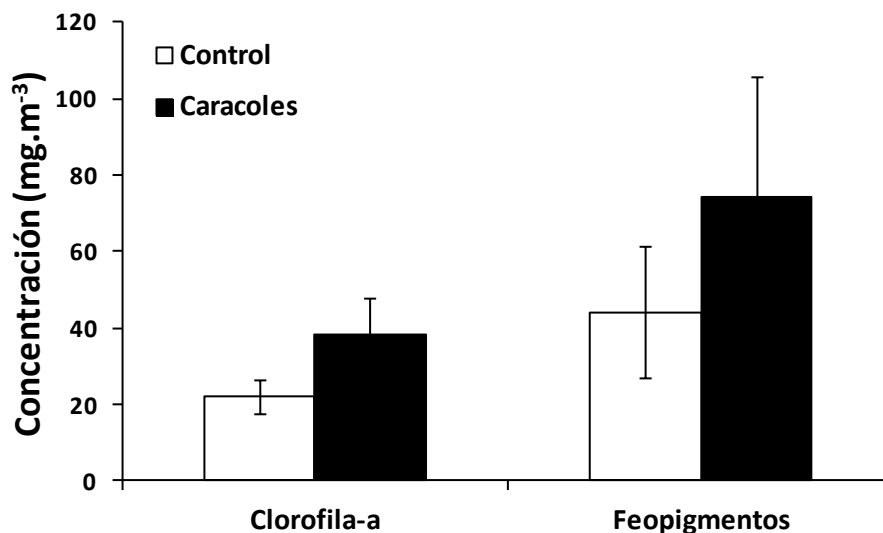


Figura 5.6. Concentración de clorofila-a y feopigmentos en agua (mg.m⁻³, media ± DE) en los mesocosmos control y con caracoles.

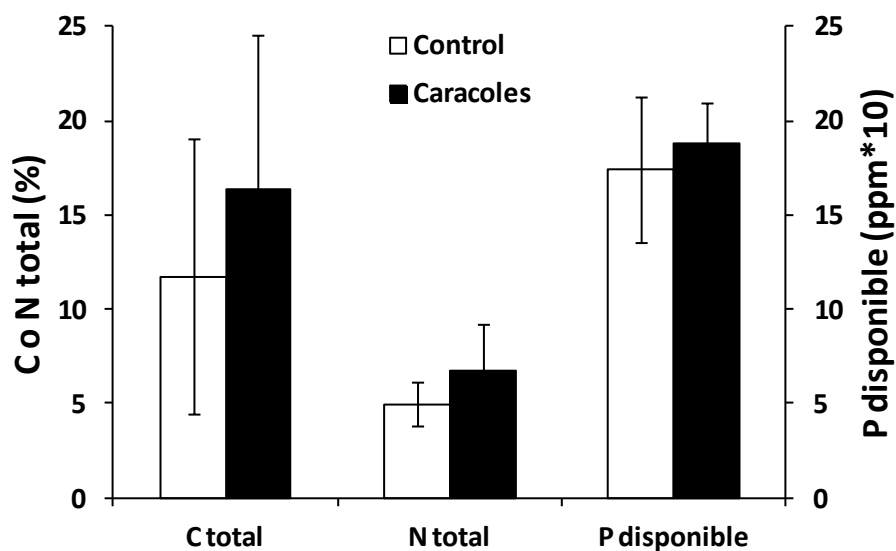


Figura 5.7. C y N total (%) y P disponible (ppm*10) en agua en los mesocosmos control y con caracoles.

5.4 Discusión

Los resultados del experimento de mesocosmos realizado en este capítulo proporcionaron evidencia de que la herbivoría diferencial de *P. canaliculata* puede tener una gran influencia en la estructura de la comunidad de macrófitas sumergidas y también promover un incremento en la concentración de clorofila-a y disminuir la biomasa de detritos.

Los efectos de la herbivoría de *P. canaliculata* en nuestros experimentos de mesocosmos fueron fuertes a pesar de su baja densidad (1,67 caracoles adultos.m⁻²). Este valor se encuentra por debajo del límite inferior para el rango de densidades (11,72 a 71,4 caracoles adultos.m⁻²) reportados para cuerpos de agua lénticos y lóticos en Argentina (Burela & Martín, 2014). La densidad usada en el presente trabajo también es menor a las densidades de caracoles adultos que han provocado reducciones significativas en la abundancia de macrófitas en otros experimentos al aire libre en el rango de distribución invadido (10 caracoles adultos.m⁻² (25-35 mm), Carlsson & Lacoursiere, 2005; 2 caracoles adultos.m⁻² (30-35 mm), Fang *et al.*, 2010). Los efectos detectados en nuestro experimento de mesocosmos podrían haber sido más fuertes si se hubieran utilizado tanto hembras como machos, ya que las tasas de ingestión específicas son un 50% mayores para las hembras que para los machos de la misma talla (Tamburi & Martín, 2009a). Un alto efecto *per capita*, como fue observado en nuestro experimento, es una característica de las especies clave (Power *et al.*, 1996).

La macrófita mas palatable y preferida, *C. contraria*, (Capítulo 2) resultó rápidamente erradicada de los mesocosmos con caracoles, seguida cuatro semanas después por una de las de palatabilidad y preferencia intermedia (*Z. palustris*). Sin embargo, la cobertura de *M. quitense*, una especie con palatabilidad y preferencia similares a la anterior, fue afectada sólo luego de ocho semanas. A pesar de esto, su biomasa fue reducida al 50% en relación a los controles al final del experimento. Esta

diferencia se debe probablemente a la preferencia de *P. canaliculata* por las hojas y no por los tallos de *Myriophyllum* spp. (Fang *et al.*, 2010), los cuales nunca aparecieron en los contenidos digestivos del experimento de palatabilidad (Capítulo 2). Como los tallos desnudos de hojas fueron tenidos en cuenta para las estimaciones de cobertura, esta variable tal vez no resultó afectada a pesar de que la biomasa se vió fuertemente reducida.

Los efectos de la herbivoría de *P. canaliculata* sobre las dos macrófitas de palatabilidad intermedia fueron bastante diferentes en nuestro experimento de mesocosmos, a pesar de las palatabilidades y preferencias semejantes (Capítulo 2). La herbivoría de ampuláridos y cangrejos de río pueden inducir defensas químicas en macrófitas al cabo de unos pocos días, a pesar de la alta palatabilidad inicial (Morrison & Hay, 2011c). Los escasos ejemplos de defensas químicas inducidas en macrófitas de agua dulce probablemente indican que esta no es una capacidad muy común y que tal vez se ha presentado sólo en *M. quitense*, a diferencia de lo que sucedió en los experimentos de corta duración para estimar palatabilidad y preferencia (Capítulo 2). Por otra parte, las diferencias entre los efectos de la herbivoría sobre estas dos macrófitas de palatabilidad intermedia tal vez se hayan debido a la capacidad de *P. canaliculata* para detectarlas a distancia por quimiorrecepción (Estebenet, 1995): *Z. palustris* fue la macrófita sumergida que más rápidamente atrajo a *P. canaliculata* en experimentos realizados en laberintos con forma de Y, mientras que su movimiento fue al azar cuando *M. quitense* era la macrófita ofrecida. Los diferentes impactos podrían deberse también a diferencias en las tasas de crecimiento de las dos macrófitas bajo las condiciones de los mesocosmos: la cobertura de *Z. palustris* no mostró una tendencia positiva en los controles, mientras que la de *M. quitense* aumentó ligeramente.

Para las dos macrófitas menos palatables y preferidas (Capítulo 2) los efectos de la herbivoría en los mesocosmos fueron también claramente diferentes. La cobertura de *S. striata* mantuvo niveles estables en los mesocosmos con caracoles mientras que en

los controles incrementó constantemente desde la semana seis en adelante, siendo su biomasa viva final cuatro veces mayor en los últimos. La falta de crecimiento en los mesocosmos con caracoles tal vez se haya debido a la herbivoría o al sombreado producido por el fitoplancton (Carlsson *et al.*, 2004). A pesar de que la palatabilidad y preferencia de *S. striata* fueron bajas, la rápida desaparición de las dos macrófitas más palatables probablemente produjo un cambio en el valor de esta especie como recurso trófico a mitad del experimento. Además, tal vez *P. canaliculata* concentró su herbivoría en los nuevos brotes de *S. striata*, impidiendo así el incremento en la cobertura observada en los controles. *Pomacea canaliculata* es capaz de alimentarse de nuevos brotes de las plantas de arroz pero no de hojas o tallos de plantas ya crecidas (Okuma *et al.*, 1994; Teo, 2003) y ha sido demostrado también que reduce el número de brotes de una macrófita acuática invasora (Ribas *et al.*, 2017).

El incremento en un 72% en la concentración de clorofila-a observado en los mesocosmos cuando el caracol está presente tal vez reduzca la tasa fotosintética de *S. striata*, especialmente de los nuevos brotes que emergen de las raíces (Köhler *et al.*, 2010). A pesar de que *S. striata* es capaz de sobrevivir con un 5% de intensidad de la luz natural, su biomasa viva es reducida a la mitad cuando la intensidad lumínica es reducida a un 25% (Lavalle & Sivori, 1981). En el rango de distribución invadido este ampulárido ha sido capaz de erradicar toda la vegetación sumergida por una combinación de herbivoría y del sombreado producido por el fitoplancton y por sedimentos en suspensión (Carlsson *et al.*, 2004). Como era de esperar por los resultados de laboratorio (Capítulo 2), la cobertura y la biomasa viva de *L. peploides* no fueron afectadas en absoluto por la herbivoría de *P. canaliculata*. El incremento en sombreado por el fitoplancton probablemente no haya afectado a esta macrófita ya que la mayoría de sus hojas están ubicadas en la superficie del agua.

La herbivoría diferencial de los caracoles del género *Pomacea* en su rango de distribución invadido tiene el potencial de producir cambios en la composición y estructura

de la comunidad de macrófitas acuáticas (Carlsson *et al.*, 2004; Carlsson & Lacourseire, 2005; Meza-Lopez & Siemann, 2015), favoreciendo a las especies menos palatables, usualmente emergentes, sobre las más palatables, usualmente flotantes y sumergidas. Los resultados de nuestros experimentos confirman que bajas densidades de estos caracoles podrían producir efectos similares también en su rango nativo de distribución e incluso entre macrófitas con el mismo hábito de crecimiento, apoyando la idea de que *P. canaliculata* estaría actuando como una especie clave.

Giorgi *et al.* (2005) sugirieron que los caracoles del género *Pomacea* podrían ejercer una fuerte influencia sobre la vegetación acuática en los cuerpos de agua pampeanos y nuestros resultados apoyan esta afirmación. En los arroyos de la Cuenca de las Encadenadas del Oeste, donde *P. canaliculata* está ampliamente distribuido y es abundante (Martín *et al.*, 2001; Seuffert & Martín, 2013a), las dos especies menos preferidas de las usadas en los experimentos (*L. peploides* y *S. striata*) son por lejos las dos macrófitas sumergidas dominantes, mientras que las otras tres son raramente encontradas o están totalmente ausentes (Capítulos 4 y 6). Por lo contrario, en el sitio en el arroyo Napostá Grande donde las macrófitas fueron colectadas para el experimento, localizado solo 83 km más al sur, y donde *P. canaliculata* está naturalmente ausente (Martín *et al.*, 2001; Martín & De Francesco, 2006), las cinco macrófitas sumergidas utilizadas se encuentran en abundancia y *L. peploides* fue la más difícil de colectar debido a su menor abundancia.

Según Estebenet (1995) las dos macrófitas que mostraron niveles intermedios tanto en palatabilidad como preferencia en relación a *S. striata* en nuestro estudio (*Z. palustris* y *M. quitense*), también produjeron mayores tasas de crecimiento en *P. canaliculata* que *S. striata*. Las características de las macrófitas que reducen la palatabilidad para este caracol también reducen diferentes aspectos de su *fitness* como la supervivencia, crecimiento y fecundidad (Qiu & Kwong, 2009; Qiu *et al.*, 2011; Yam *et al.*, 2016). Esto sugiere que las macrófitas no palatables no solo serán menos comidas sino

que también las poblaciones de caracoles crecerán más lentamente, o incluso decrecerán, cuando dominan las macrófitas sumergidas no palatables, reduciendo así la intensidad de la herbivoría y tal vez permitiendo una recuperación o establecimiento de las plantas palatables. Sin embargo, *P. canaliculata* no es solo un generalista con respecto a las fuentes de alimento de origen vegetal sino que utiliza diferentes mecanismos de obtención de alimento que le permiten comer y crecer con carroña, neuston y detritos (Saveanu & Martín, 2015; Saveanu *et al.*, 2017). Esto tal vez permita mantener altos niveles relativos de biomasa y densidades de las poblaciones de caracoles en cuerpos de agua donde la mayoría de la vegetación ha sido erradicada, evitando la recuperación de la vegetación por el consumo de rebrotes a partir de las raíces, de semillas o de estructuras de resistencia de las especies palatables (Saveanu *et al.*, 2017).

La presencia de caracoles redujo la biomasa muerta de las macrófitas sumergidas a un 36%, una reducción mayor a la producida para la biomasa viva (que fue reducida a un 42%). Esto puede ser consecuencia del consumo directo de los tejidos muertos de las macrófitas pero también puede deberse a la reducción en biomasa viva que luego morirá, reduciendo así la producción de biomasa muerta. El primer proceso es probablemente más importante, ya que el consumo de grandes cantidades de detritos ha sido reportado para *P. canaliculata* en arroyos pampeanos (Capítulo 4; López-van Oosterom *et al.*, 2016), siendo el ítem dietario con mayor frecuencia de ocurrencia (100%) y mayor abundancia relativa (70-80%). La palatabilidad de las macrófitas acuáticas para *P. canaliculata* puede crecer, decrecer o mantenerse sin cambios después de la senescencia, dependiendo de los contenidos fenólicos y del valor nutricional de la biomasa viva (Qiu *et al.*, 2011), pero los detritos probablemente se reduzcan luego de la erradicación de las macrófitas más palatables. La reducción en los detritos tal vez produzca efectos en cascada sobre otros macroinvertebrados que habitan en los mismos

arroyos y que consumen grandes cantidades de este ítem (López-van Oosterom *et al.*, 2013).

Como corolario de los efectos sobre las macrófitas sumergidas, la presencia de *P. canaliculata* incrementó la concentración de clorofila-a un 72%. Esto fue probablemente debido a un incremento en la productividad del fitoplancton debido al consumo de nutrientes que fueron liberados al agua por parte del caracol durante los procesos de excreción (Carlsson *et al.*, 2004; Fang *et al.*, 2010). Un rápido consumo de nutrientes por parte del fitoplancton, y tal vez también por el perifiton y las macrófitas, podrían explicar la falta de diferencias en las concentraciones de N y P en el agua de los mesocosmos con y sin caracoles (Fang *et al.*, 2010).

Los efectos producidos por la herbivoría directa de *P. canaliculata* podrían estar afectando la comunidad de macrófitas en su rango nativo de distribución, ya sea por efecto directo de su herbivoría sobre macrófitas y detritos o por efectos indirectos como un aumento en la turbidez del agua o un incremento en los sólidos en suspensión. Estos efectos en conjunto estarían posicionando a *P. canaliculata* como una especie clave en su rango de distribución nativo debido a que su presencia puede alterar fuertemente la estructura de las comunidades de macrófitas sumergidas aun en bajas densidades, y este rol podría mantenerse en el rango de distribución invadido.

CAPÍTULO 6

RELACIÓN ENTRE LA DISTRIBUCIÓN DE MACRÓFITAS ACUÁTICAS Y LA DE *POMACEA CANALICULATA* EN EL SUDOESTE BONAERENSE

6.1 Introducción

La Cuenca de las Encadenadas del Oeste (CEO) en el Sudoeste Bonaerense representa el límite austral de la distribución de *Pomacea canaliculata*, donde se han estudiado diferentes aspectos de su ecología (Martín *et al.*, 2017). La densidad de *P. canaliculata* puede ser altamente variable entre cuerpos de agua, dependiendo de las condiciones fisicoquímicas de los mismos y de los recursos tróficos presentes en ellos. En su rango nativo de distribución se han registrado densidades variables que van desde 11 hasta 71 caracoles por metro cuadrado (Burela & Martín, 2014). Sin embargo esta especie puede alcanzar densidades mayores en condiciones más favorables, por ejemplo, en el Sudeste Asiático, donde el clima tropical favorece una alta tasa reproductiva, alcanzando valores de hasta 609 caracoles por metro cuadrado, aunque la densidad de caracoles maduros no superaba los 2 individuos por metro cuadrado (Wada , 2004).

Pomacea canaliculata muestra marcadas diferencias en la palatabilidad y preferencia por diferentes macrófitas en el rango geográfico donde se lo considera una especie invasora (Qiu & Kwong, 2009; Wong *et al.*, 2010; Xu *et al.*, 2016). También se ha registrado la capacidad de este caracol de ingerir algunas especies de macrófitas presentes en su rango nativo de distribución (Cazzaniga, 1981; Estebenet, 1995). Su herbivoría diferencial ha producido fuertes impactos en los cuerpos de agua debido a la erradicación de la vegetación en nuevos ambientes (Carlsson *et al.*, 2004; Carlsson & Lacoursière, 2005). En la presente tesis se ha registrado la capacidad de *P. canaliculata* para ingerir diversas especies de macrófitas sumergidas (Capítulo 2) y se estimó el efecto que podría producir en esta comunidad acuática (Capítulo 5). Estos antecedentes

sugieren que esta especie podría producir efectos similares en ambientes naturales dentro de su rango nativo de distribución y actuar como una especie clave, ya sea por la total erradicación de la vegetación sumergida o por un cambio en la riqueza y/o abundancia de las macrófitas presentes. A su vez, el elevado consumo de detritos por parte del caracol (Capítulo 4) podría estar reduciendo su disponibilidad en los ambientes naturales (Capítulo 5) y en consecuencia afectando las tramas tróficas debido a que este ítem es un recurso fundamental para otros invertebrados.

Los efectos de este caracol sobre las macrófitas se deben en parte a su alta tasa de ingestión (Tamburi & Martín, 2009a; Morrison & Hay, 2011a) y a los altos niveles poblacionales de densidad y biomasa que puede llegar a alcanzar (Fang *et al.*, 2010; Gilioli *et al.*, 2017a, b). La comunidad de macrófitas sumergidas es de suma importancia en los arroyos pampeanos, siendo la principal causante de la heterogeneidad ambiental en estos cuerpos de agua debido a la falta de vegetación arbórea ribereña y a la baja frecuencia de clastos de tamaño mediano a medio (Giorgi *et al.*, 2005). A pesar de que se han realizado estudios sobre la abundancia de macrófitas y la densidad de caracoles en su ambiente natural no se encontraron relaciones entre estas variables (Martín *et al.*, 2001; Seuffert & Martín, 2013a) y se desconoce si la baja riqueza de macrófitas o aún la falta total de ellas (Capítulo 4) en algunos sitios se debe a un efecto de *P. canaliculata* o si es un estado común para los cuerpos de agua del Sudoeste Bonaerense.

6.1.1 Objetivos

El objetivo del presente capítulo es evaluar la influencia de *P. canaliculata* sobre las macrófitas y sus detritos en arroyos del Sudoeste Bonaerense. Para ello se realizaron muestreos en el ambiente natural en tres arroyos de la Cuenca de las Encadenadas del Oeste, en sitios con presencia y ausencia del caracol, y se estimó la riqueza de especies vegetales y la cobertura relativa de cada una y de detritos con el fin de buscar si existe alguna relación entre la presencia y abundancia del caracol y la ausencia o abundancia

de las macrófitas y sus detritos. Se espera que las especies más palatables y los detritos se encuentren ausentes o en una menor abundancia donde esté presente *P. canaliculata* y que las especies menos palatables sean las predominantes. Por lo contrario, en los sitios, arroyos o cuencas donde el caracol esté ausente se espera que la abundancia y cobertura de las macrófitas y detritos no presente ese patrón o incluso que predominen las especies más palatables.

6.2 Materiales y métodos

6.2.1 Área de estudio

Se realizaron muestreos de cobertura vegetal y de abundancia de *P. canaliculata* en tres arroyos de la Cuenca de las Encadenadas del Oeste (CEO) durante el verano (febrero de 2016) debido a que en esta época del año los caracoles presentan una gran actividad, haciendo fácil su detección (Martín *et al.*, 2001). Los arroyos seleccionados fueron: arroyo Curamalal, arroyo Guaminí y arroyo Pigüé. En cada arroyo se seleccionaron seis sitios de muestreo distribuidos uniformemente y en función de las posibilidades de acceso, estuvieran estos habitados o no por *P. canaliculata* (Figura 6.1).

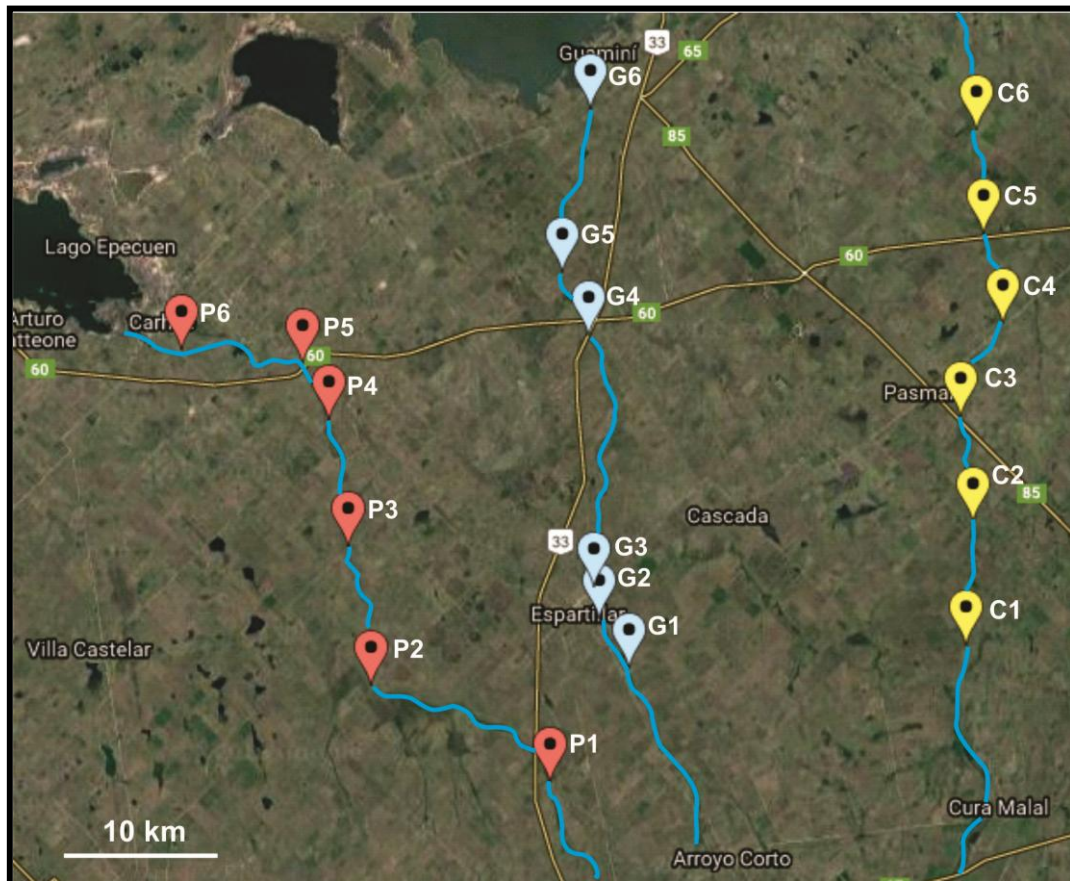


Figura 6.1. Mapa indicando los seis sitios visitados en cada uno de los arroyos muestreados en la Cuenca de las Encadenadas del Oeste: arroyo Curamalal (C1 a C6); arroyo Guaminí (G1 a G6); arroyo Pigüé (P1 a P6).

6.2.2 Estimación de la abundancia de macrófitas acuáticas, detritos y de *P. canaliculata* en la Cuenca de las Encadenadas del Oeste

Para estimar la cobertura vegetal, en cada uno de los 18 sitios de los arroyos en estudio se realizaron 10 transectas con un espaciamiento de 1-2 m entre cada una. Cada transecta abarcó desde una orilla a la otra del arroyo y con una cinta métrica se registraron los metros cubiertos por cada especie vegetal, detritos o fondo desnudo. Previo a realizar las transectas de cobertura, se registraron las siguientes variables fisicoquímicas del agua utilizando una sonda multiparamétrica (Horiba H-52): oxígeno disuelto, conductividad, temperatura, turbidez y pH. A su vez se registraron el ancho máximo y la profundidad máxima en cada sitio de muestreo. Para estimar la abundancia de caracoles en cada sitio se realizó previamente una exhaustiva búsqueda visual y por tacto por parte de tres personas y luego se estimó densidad relativa (caracol.min⁻¹).

6.2.3 Estimación de la ocurrencia de macrófitas acuáticas en la Cuenca de Drenaje Austral del Sistema de Ventania

Como parte de un estudio para detectar moluscos invasores se realizó un muestreo en febrero de 2018 en cinco cursos de agua (arroyos Chasicó, Napostá Grande y Napostá Chico y ríos Sauce Grande y Sauce Chico) ubicados en la Cuenca de Drenaje Austral del Sistema de Ventania (CDASV), donde *P. canaliculata* está naturalmente ausente (Martín *et al.*, 2001; Martín & De Francesco, 2006). Se visitaron veinte sitios en total (correspondientes a cuatro sitios en cada río o arroyo), en los cuales se registró la presencia de macrófitas acuáticas. A partir de estos datos se realizaron comparaciones de las macrófitas sumergidas presentes en los ambientes entre arroyos que nunca estuvieron habitados por *P. canaliculata* (CDASV) y arroyos dentro del rango de distribución de esta especie (CEO).

6.2.4 Análisis de datos y estadísticos

Con los datos de las transectas se calculó la cobertura vegetal en cada arroyo perteneciente a la CEO. Para ello se utilizaron tres categorías:

- Detritos: metros de la transecta en los que se hallaban detritos
- Macrófitas: metros de la transecta en los que se hallaban macrófitas
- Fondo desnudo: metros de la transecta sin macrófitas ni detritos

Para cada categoría se sumaron los metros de todas las transectas efectuadas en un sitio de muestreo para luego calcular el porcentaje de cobertura de cada una de ellas. El porcentaje de cada una de estas categorías se calculó de la siguiente manera:

$$C_j (\%) = (m_j / \sum m_j) \cdot 100, \text{ donde } j=1 \rightarrow n$$

m_j : metros de la categoría j para cada sitio de muestreo

Para cada sitio se calculó la cobertura para cada macrófita y la cobertura promedio por arroyo para cada macrófita. Las coberturas promedio obtenidas de las macrófitas permiten observar si hay alguna especie predominante en los arroyos estudiados o si por el contrario cada uno tiene una composición diferente. La cobertura de la especie i para un determinado sitio (C_i) y la cobertura promedio por arroyo (C_{Pi}) para cada especie fueron calculadas de la siguiente manera:

$$C_i = \sum m_i / \sum m, \text{ donde } i=1 \rightarrow s$$

$\sum m_i$: sumatoria de los metros de la especie vegetal i de todas las transectas para cada sitio

$\sum m$: sumatoria de los metros con macrófitas de todas las transectas para cada sitio

s : número de especies vegetales en cada sitio

$$C_{Pi} = \sum C_i / n, \text{ donde } i=1 \rightarrow n$$

n : número de sitios de muestreo por arroyo (6)

El porcentaje de cobertura de cada macrófita y las variables fisicoquímicas fueron sometidas a test t entre los sitios con y sin caracoles buscando diferencias entre ellos. A

su vez se realizaron correlaciones de a pares de Pearson entre la densidad relativa de caracoles y el porcentaje de cobertura de cada macrófita y entre estas y las variables fisicoquímicas.

Para caracterizar las comunidades de macrófitas en cada sitio se calculó en índice de diversidad de Shannon (H') y su correspondiente índice de uniformidad ($U_{H'}$) para las especies de macrófitas presentes. Para evaluar si hay o no diferencias en su diversidad entre los sitios con y sin caracoles para los índices de diversidad de Shannon (H') y su correspondiente índice de uniformidad ($U_{H'}$) fueron realizados test t. Los índices de diversidad (H') y de uniformidad ($U_{H'}$) de Shannon fueron calculados de la siguiente manera:

$$H' = - \sum (p_i) \cdot (\log_2 p_i), \text{ donde } i=1 \rightarrow s$$

$$U_{H'} = H' / (\log_2 s)$$

$$p_i = m_i / \sum m_i, \text{ donde } i=1 \rightarrow s$$

m_i : metros de la especie vegetal i para un determinado sitios de muestreo

s : número de especies vegetales presentes

Para realizar comparaciones de la comunidad de macrófitas acuáticas entre los arroyos de la CEO y los de la CDASV se calculó la frecuencia de ocurrencia para las macrófitas presentes (número de sitios en los que cada la macrófita se encontraba presente sobre el total de sitios muestreados para cada ambiente). Estos valores de frecuencias de ocurrencia fueron expresados en porcentaje (%).

6.3 Resultados

A través de las transectas realizadas en cada sitio de muestreo se observó que, en líneas generales, la categoría predominante en los arroyos fue el fondo desnudo (Figura 6.2). Las acumulaciones puras de detritos, al ser sumamente escasas (solo aparecieron en dos sitios de los dieciocho con un porcentaje de cobertura menor al 1%) fueron agrupadas junto a las macrófitas para calcular los porcentajes de cobertura. A excepción de tres sitios la abundancia de las macrófitas fue siempre menor al 40% (Figura 6.2). *Pomacea canaliculata* estuvo presente en los tres arroyos. Sin embargo, su presencia dentro de cada arroyo fue variando encontrándose varios puntos de muestreo sin caracoles (Figura 6.2). El arroyo Pigüé fue el único que presentó una relación inversa significativa entre la cobertura de las macrófitas y la abundancia de caracoles a nivel de sitio ($r = -0,895$; $p = 0,016$).

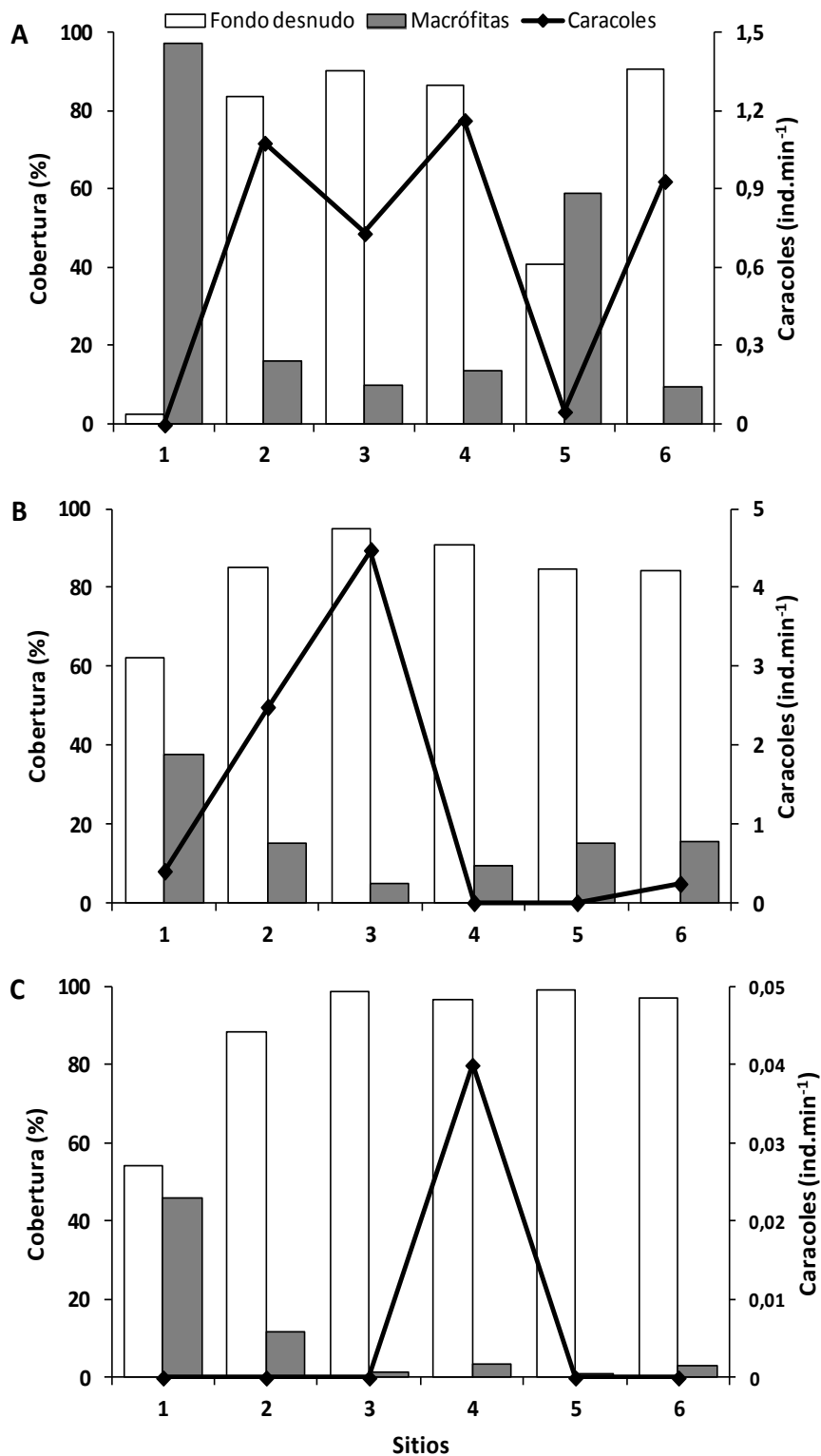


Figura 6.2. Cobertura de macrófitas y fondo desnudo y abundancia de *P. canaliculata* en arroyos de la Cuenca de las Encadenadas del Oeste. **A.** Arroyo Pigüé. **B.** Arroyo Guaminí. **C.** Arroyo Curamalal. En **B** la escala del eje secundario es mayor a las de **A** y **C**.

El índice de diversidad de Shannon (H') de las comunidades de macrófitas no mostró patrón alguno para cada arroyo o entre arroyos (Figura 6.3). No se encontraron diferencias significativas para el índice de Shannon (H') entre los sitios con y sin presencia de caracoles ($t_{16} = -1,359$; $p = 0,193$). El índice de uniformidad ($U_{H'}$) mostró un patrón similar al índice de diversidad (H') dentro de cada arroyo; no se encontraron diferencias significativas entre los sitios con y sin presencia de caracoles ($t_{16} = -0,637$; $p = 0,533$). Sin embargo, en el arroyo Pigüé la uniformidad presentó una relación positiva con la abundancia de caracoles a nivel de sitio ($r = 0,875$; $p = 0,023$).

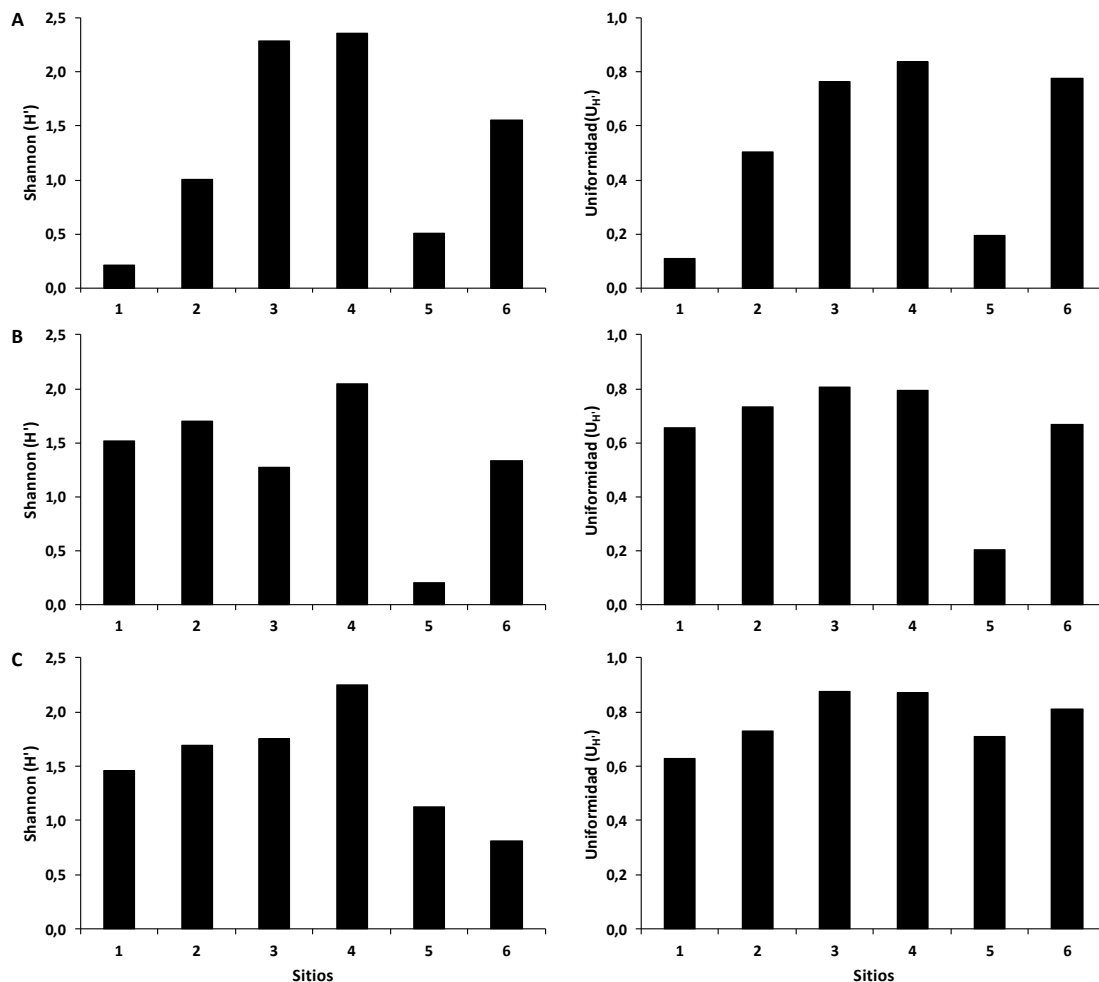


Figura 6.3. Índice de diversidad (H') y de uniformidad ($U_{H'}$) de Shannon de las comunidades de macrófitas para cada arroyo en los sitios de muestreo. **A.** Arroyo Pigüé. **B.** Arroyo Guaminí. **C.** Arroyo Curamalal.

No se encontraron diferencias significativas para las variables fisicoquímicas y para las macrófitas entre sitios con y sin *P. canaliculata* (para todas las variables $t_{16} \leq |1,74|$; $p > 0,107$). Las correlaciones entre la abundancia de *P. canaliculata* y los diferentes recursos tróficos potenciales no fueron significativas, a excepción de *Eleocharis bonariensis*, el cual mostró una correlación significativa positiva (Tabla 6.1). Las macrófitas que mostraron una correlación significativa con alguna variable fisicoquímica fueron *Ludwigia peploides* con conductividad ($r = -0,573$; $p = 0,013$) y *Chara contraria* con la temperatura del agua ($r = -0,516$; $p = 0,028$). No se encontraron correlaciones significativas entre *P. canaliculata* y las variables fisicoquímicas de los arroyos (para todas las variables $r \leq |0,405|$; $p > 0,096$; $n = 18$).

Variables	r	p	n
<i>Stuckenia striata</i>	-0,204	0,416	18
<i>Ludwigia peploides</i>	-0,118	0,640	18
<i>Hydrocotyle bonariensis</i>	-0,098	0,698	18
<i>Chara contraria</i>	-0,139	0,583	18
<i>Eleocharis bonariensis</i>	0,608	0,007	18
<i>Fissidens fontanus</i>	0,113	0,656	18
Detritos	-0,087	0,731	18
% Detritos	-0,050	0,843	18
% Macrófitas	-0,218	0,384	18
% Fondo desnudo	0,219	0,383	18

Tabla 6.1. Correlaciones bivariadas de Pearson entre la densidad relativa de *P. canaliculata* y las coberturas de macrófitas (C) y otros recursos presentes en los arroyos estudiados.

No se observó un patrón general claro en las coberturas promedio (CP) de cada macrófita para los tres arroyos (Figura 6.4). Sin embargo se puede observar que las especies menos representadas, que prácticamente no aparecen en los muestreos, son *C. contraria* (solo aparece en un sitio con una CP menor al 0,01) y *Fissidens fontanus* (solo aparece en un sitio con una CP alrededor de un 0,03), y que *Stuckenia striata* es la especie que aparece con más abundancia en general, siendo la única que presentó una CP superior al 0,05 (0,25 de CP en el arroyo Pigüé). Cabe destacar que *L. peploides*, a

pesar de estar solo presente en 4 de los 18 sitios muestreados, es junto a *S. striata* la única especie que superó una cobertura de 0,10 en alguno de los sitios muestreados. Las especies más frecuentes en los sitios de muestreo fueron *Hydrocotyle bonariensis* y *E. bonariensis*, encontrándose en 15 y 13 de los 18 sitios muestreados respectivamente, y estando presentes en los tres arroyos. Sin embargo, estas dos especies se encontraban con una baja abundancia y en localizaciones marginales en los arroyos (orillas y riberas inundadas), presentando valores de cobertura por sitio de muestreo siempre menores al 0,07 en *H. bonariensis* y 0,03 en *E. bonariensis*.

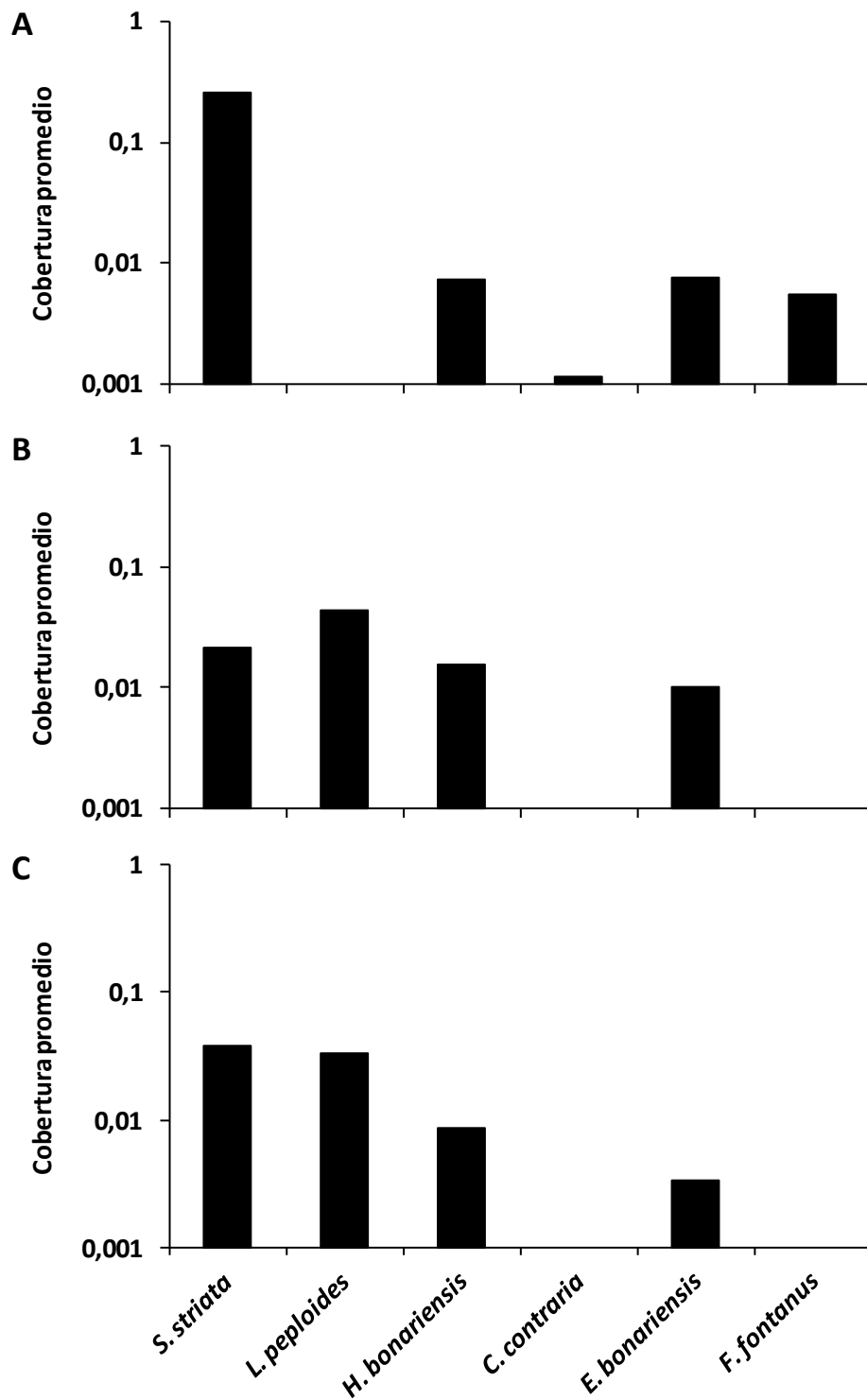


Figura 6.4. Cobertura promedio (CP, en escala logarítmica) de cada macrófita en los tres arroyos muestreados en la Cuenca de las Encadenadas del Oeste. **A.** Arroyo Pigüé. **B.** Arroyo. Guaminí **C.** Arroyo Curamalal.

Las comparaciones realizadas entre las dos zonas de estudio mostraron que las frecuencias de ocurrencia de todas las macrófitas fueron superiores para los arroyos de la CDASV (Figura 6.5). Las especies más frecuentes fueron *S. striata* y *L. peploides* para ambas cuencas hidrográficas. *Zannichelia palustris* y *M. quitense* fueron registradas solo en la CDASV, mientras que *C. contraria* estuvo presente en ambas cuencas pero en un solo sitio en CEO.

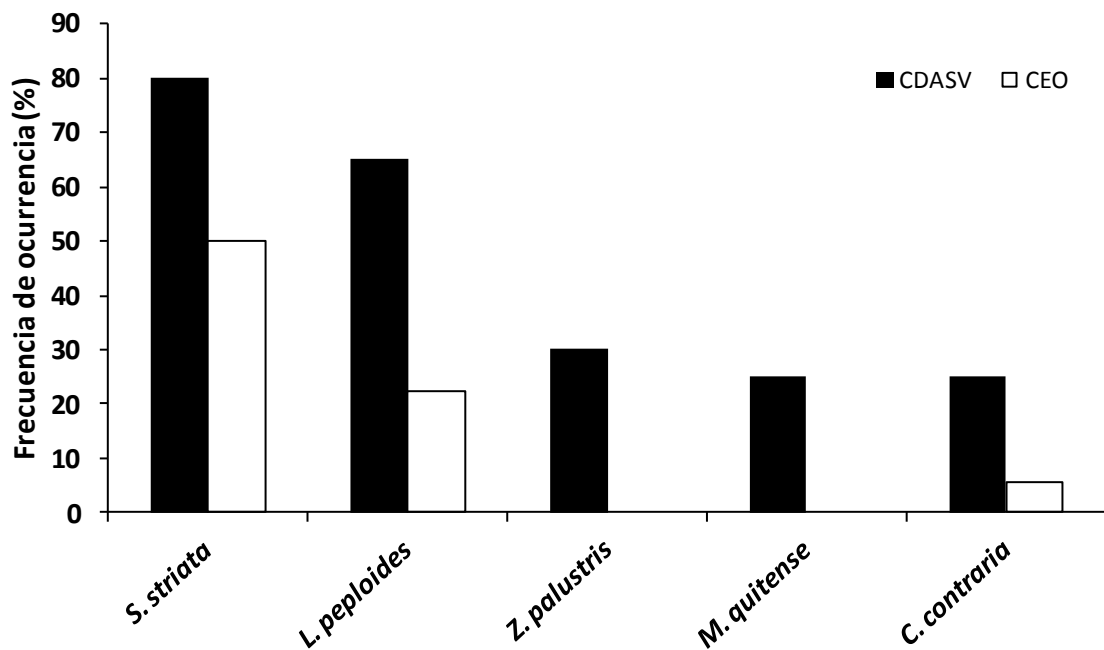


Figura 6.5. Frecuencia de ocurrencia (%) de las macrófitas sumergidas en la Cuenca de las Encadenadas del Oeste (CEO) y en la Cuenca de Drenaje Austral del Sistema de Ventania (CDASV).

6.4 Discusión

Los resultados obtenidos de los muestreos no muestran algún tipo de patrón general aparente que relacione la abundancia de los caracoles con la cobertura vegetal en los tres arroyos muestreados en la Cuenca de las Encadenadas del Oeste. Sin embargo los únicos tres sitios de muestreo en los que se encontró una proporción de cobertura vegetal superior al 40% coincidieron con una baja o nula abundancia de *P. canaliculata*. Dos de estos sitios corresponden al arroyo Pigüé, donde la abundancia de caracoles está inversamente relacionada con la cobertura vegetal. La abundancia de *P. canaliculata* es variable a lo largo de los arroyos, alternándose la presencia y ausencia de esta especie de un sitio a otro. Este patrón es llamativo debido a que una vez establecida la especie en un punto sería esperable encontrarla aguas abajo. Sin embargo, los arroyos de la Cuenca de las Encadenadas del Oeste presentan crecidas abruptas luego de lluvias en las sierras y los caracoles frecuentemente son arrastrados aguas abajo (Seuffert & Martín, 2012). Esta variación en las condiciones hidrológicas puede provocar eventos de colonización y extinción local en la distribución de *P. canaliculata* en los arroyos de la CEO, lo que podría explicar la falta de correlaciones entre *P. canaliculata* y las variables ambientales a una escala local (sitios de muestreo) (Seuffert & Martín, 2013a) y también la falta de correlación con las macrófitas. Además, en algunos puntos de los arroyos se pueden observar vados o puentes construidos por el hombre, lo que podría actuar como una barrera física e impedir el traslado de los caracoles aguas abajo a pesar de la corriente.

La riqueza de las macrófitas encontradas en los arroyos fue de cinco especies para el arroyo Pigüé y de cuatro para los arroyos Guaminí y Curamalal. Estos valores se encuentran entre los valores máximos encontrados para arroyos similares en la región pampeana durante el verano, siendo la riqueza inferior para el resto de las estaciones (Giorgi *et al.*, 2005). A pesar de ser esta la época de año con mayor cantidad de especies el índice de Shannon (H') indica que la diversidad es baja, y esto tal vez esté relacionado

con que tanto *S. striata* como *L. peploides* aporten la mayor cobertura vegetal en los sitios.

Los índices de diversidad (H') y de uniformidad ($U_{H'}$) de Shannon no revelaron ningún patrón aparente en las especies encontradas en los arroyos de la CEO. Tampoco hubo diferencias para dichos índices entre sitios con y sin caracoles. Sin embargo, la uniformidad presentó una relación positiva con la abundancia de caracoles para el arroyo Pigüé. Tal vez el efecto de la herbivoría de *P. canaliculata* en este arroyo esté favoreciendo la heterogeneidad ambiental dada por las macrófitas. El patrón similar que muestran los índices de diversidad (H') y de uniformidad ($U_{H'}$) dentro de cada arroyo sugiere que las variaciones en la diversidad se deben a la variación en uniformidad y no a una variación en la riqueza de especies. Estos resultados podrían deberse a la baja riqueza de especies que se encuentran en los puntos de muestreo, encontrándose en algunos sitios solo unas pocas especies con una alta abundancia que, en general, son poco palatables para *P. canaliculata*, siendo *S. striata* y *L. peploides* las especies más representativas en los tres arroyos. Las bajas diversidades y abundancias de especies vegetales son probablemente características propias de los arroyos de la CEO y el efecto de la herbivoría producido por *P. canaliculata* podría estar disminuyéndolas aún más.

La única macrófita que mostró algún tipo de correlación con *P. canaliculata* para toda la CEO fue *E. bonariensis*. Esta macrófita en general se encuentra en las orillas de los arroyos con la mayor parte de su biomasa por encima de la superficie del agua, por lo que no sería usada como alimento. Sin embargo, en algunos de los sitios muestreados en diferentes ocasiones, se observaron puestas de huevos de *P. canaliculata* sobre esta macrófita, por lo que podría estar siendo usada como sustrato para oviponer (Saveanu & Martín, 2014). Por otro lado, las macrófitas *L. peploides* y *C. contraria* tuvieron una correlación significativa con alguna de las variables fisicoquímicas (conductividad y temperatura, respectivamente). Tal vez en estos cuerpos de agua las macrófitas se relacionan más con las variables fisicoquímicas que con los caracoles, debido a la

fluctuación en presencia y abundancia que presentan estos últimos tanto entre arroyos como dentro de cada uno. En estudios previos no se encontraron correlaciones entre la abundancia de macrófitas y la densidad de caracoles (Martín *et al.*, 2001; Seuffert & Martín, 2013a)

Las coberturas promedio de las macrófitas parecen variar de un arroyo a otro en la CEO. *Stuckenia striata* y *L. peploides* aparecen como las macrófitas que presentan una mayor cobertura, predominando sobre otras especies cuando están presentes. Esto puede deberse en parte a la forma de crecimiento de estas dos macrófitas, que suelen ocupar un gran volumen en los cuerpos de agua formando matas que pueden abarcar de una orilla a la otra en los arroyos en el caso de *S. striata* o buena parte de las márgenes en el caso de *L. peploides*. Sin embargo, cabe destacar que justamente estas dos especies, las más dominantes en los muestreos de los arroyos, son también las macrófitas menos palatables y preferidas y las menos afectadas por *P. canaliculata*, como se demostró en capítulos anteriores (Capítulos 2 y 5). Por tal motivo *P. canaliculata* podría tener algún tipo de influencia sobre las especies de macrófitas presentes, ya que por ejemplo *C. contraria*, una especie altamente palatable y preferida, fue encontrada solamente en un sitio de muestreo justamente donde *P. canaliculata* se encontraba ausente. A su vez, *Z. palustris* y *M. quitense*, dos especies con palatabilidad intermedia, no fueron encontradas nunca en los arroyos de la CEO, mientras que estas especies junto a *C. contraria* son frecuentes y abundantes en los arroyos al sur de las Sierras de Ventania (CDASV), como por ejemplo en el arroyo Napostá Grande (Capítulos 2 y 5). Por otro lado, *H. bonariensis* y *E. bonariensis*, a pesar de ser encontradas mayoritariamente en los arroyos muestreados, poseen una baja cobertura ya que son especies que crecen en las orillas. Debido a ello, es probable que estas especies no se vean afectadas por la presencia de *P. canaliculata* ya que la mayor parte de su biomasa se encuentra por encima del nivel del agua.

Las macrófitas sumergidas estuvieron presentes con una mayor frecuencia en los arroyos de la CDASV que en los de la CEO. La ausencia o baja frecuencia de macrófitas palatables en los arroyos de la CEO podría deberse al efecto de la herbivoría por parte de *P. canaliculata*. En los arroyos de la CDASV se encontraron las macrófitas *Z. palustris* y *M. quitense*, especies totalmente ausentes en la CEO, como también una frecuencia de ocurrencia mayor de *C. contraria* para la CDASV. Estas especies presentan una palatabilidad media o alta (*Z. palustris* y *M. quitense* y *C. contraria* respectivamente; Capítulo 2) para *P. canaliculata*. Las macrófitas *S. striata* y *L. peploides*, a pesar de ser especies poco palatables, presentan frecuencias de ocurrencia menores en la CEO. Tal vez *P. canaliculata* no sea capaz de erradicarlas por completo en los ambientes donde están establecidas, pero podría reducir sus posibilidades de establecimiento debido a la ingesta de los brotes, en especial los de *S. striata* (Capítulo 5). La falta de estabilidad de las comunidades vegetales puede deberse a un efecto en conjunto de la herbivoría por parte del caracol y a las crecidas producidas por las lluvias que impiden un establecimiento de las macrófitas o incluso pueden arrastrarlas aguas abajo cuando se encuentren ya establecidas (Seuffert & Martín, 2013a).

La frecuencia y abundancia de las macrófitas sumergidas parecen no variar entre sitios con y sin presencia de *P. canaliculata* en la CEO, el límite sur de su rango natural de distribución. Tal vez la escala espacial utilizada para el presente trabajo no sea la adecuada, ya que se compararon sitios de una misma cuenca donde la inestabilidad de los arroyos podría estar determinando la falta de relación directa tanto para la abundancia de caracoles como para la abundancia de las macrófitas. Sin embargo, al utilizar una escala mayor y comparar estos valores con los arroyos al sur de la Sierras de Ventania (CDASV) se puede observar que tanto la frecuencia como la abundancia de las macrófitas se ve reducida en el rango natural de distribución del caracol (el presente Capítulo y Capítulo 5). Esto indica que, al menos a nivel de cuenca, *P. canaliculata* podría estar estructurando las comunidades de macrófitas sumergidas ya sea por la erradicación

o la reducción de alguna de las especies. Los efectos producidos por este ampulárido pueden producirse incluso en bajas densidades (Capítulo 5), comportándose como especie clave afectando tanto la composición como la estructura de las comunidades de macrófitas sumergidas.

CAPÍTULO 7

PRESENCIA DE PARTÍCULAS LÍTICAS EN EL TRACTO DIGESTIVO DE *POMACEA CANALICULATA* Y SU PRESUNTA FUNCIÓN COMO GASTROLITOS

7.1 Introducción

Las partículas líticas son comunes en el tracto digestivo de caracoles dulceacuícolas y parecen tener un rol, en algún caso esencial, en el proceso digestivo de estos animales (Dillon, 2000; Pyron & Brown, 2015). Sin embargo, en pocas oportunidades se ha probado experimentalmente la existencia de una relación entre la presencia de estas partículas y las tasas de crecimiento, la reproducción y la tasa de asimilación (ej.: Colton, 1908; Carriker, 1946; Noland & Carriker, 1946; Storey, 1970; Brendelberger, 1997; Thomas, 2001). La mayoría de estos estudios fueron llevados a cabo en pequeños caracoles pulmonados que usualmente son considerados microfitófagos y raspadores que se alimentan de algas, detritos y material vegetal senescente (Dillon, 2000; Pyron & Brown, 2015). Por otro lado, los caracoles de la familia Ampullariidae son de gran tamaño, con hábitos mayormente macrofitófagos (Cazzaniga & Estebenet, 1984; Cowie, 2002; Marchese *et al.*, 2014; Hayes *et al.*, 2015) y poseen poderosas mandíbulas y rádula las cuales les permiten desgarrar los tejidos vivos de las macrófitas (Andrews, 1965; Moretto & Nahabedian, 1989; Martín & Negrete, 2007). Además poseen en su estómago una fuerte musculatura y una molleja cuticularizada (Andrews, 1964) así como altos niveles de actividad enzimática en diferentes partes de su tracto digestivo (Godoy *et al.*, 2013; Luo *et al.*, 2015). Aunque estas herramientas, tanto mecánicas como químicas, parecen ser suficientes para procesar los tejidos relativamente blandos de las plantas acuáticas consumidas, Andrews (1965) describió la presencia de piedras pequeñas o arena (“*small stones or grit*”) en la molleja de ejemplares de *Pomacea canaliculata* de origen geográfico y hábitat inciertos y sugirió que podrían tener un rol en la disgregación del material vegetal ingerido. Diferentes autores

han señalado la presencia de partículas líticas en tracto digestivo de *P. canaliculata* (Kwong *et al.*, 2010; López-van Oosterom *et al.*, 2013; Ocon *et al.*, 2013), aunque sin hacer mención alguna a su posible función.

Según la definición del Diccionario Oxford de Ecología (Allaby, 2010), los gastrolitos son piedras o partículas líticas ingeridas para asistir en la digestión mecánica del alimento, y que adquieren una forma redondeada y pulida, pues son retenidas por períodos prolongados. Sin embargo, para Wings (2007) todas las partículas líticas encontradas en el tracto digestivo en animales salvajes deben ser consideradas como gastrolitos ya que es imposible determinar el tiempo de retención de las mismas en estos animales. Esto implica que la separación entre gastrolitos y objetos ingeridos accidentalmente sea imposible.

Pomacea canaliculata es uno de los ampuláridos a los que se ha atribuido la mayoría de los impactos negativos sobre cultivos acuáticos y funcionamiento de ecosistemas (Cowie, 2002; Carlsson *et al.*, 2004; Hayes *et al.*, 2012; Horgan *et al.*, 2014a). La mayoría de estos impactos son causados directamente por su habilidad de consumir, crecer y reproducirse en una variedad de plantas acuáticas, incluyendo plantas vasculares semi-acuáticas de difícil ingestión y digestión debido a su dureza (ej., Boland *et al.*, 2008; Wong *et al.*, 2010). A pesar de los relevantes y negativos impactos causados por la herbivoría de *P. canaliculata* y de la frecuente mención de partículas líticas en su tracto digestivo no se encuentran estudios específicos sobre su ocurrencia y posibles efectos sobre el crecimiento de este caracol y sobre si pueden ser considerados o no gastrolitos.

7.1.1 Objetivos

Investigar la presencia de partículas líticas en el tracto digestivo de individuos de *P. canaliculata* en su ambiente natural y determinar su importancia en su ecología trófica. Se pretendió investigar el efecto del tamaño y disponibilidad de las partículas líticas en el

crecimiento y en la eficiencia del crecimiento a través de experimentos de laboratorio. Si las partículas líticas tuvieran una función clave en el proceso digestivo del caracol se esperaría que fueran retenidos en forma diferencial y que su presencia tuviera un efecto positivo sobre la eficiencia de aprovechamiento del alimento y el crecimiento.

7.2 Materiales y métodos

7.2.1 Muestreo de campo: partículas líticas en diferentes partes del tracto digestivo

Al menos 20 adultos de *P. canaliculata* con un largo de conchilla mayor a 30 mm (medido desde el ápex hasta el punto más lejano de la apertura, con un calibre Vernier con una precisión de 0,1 mm) fueron colectados en tres poblaciones distintas de la Cuenca de las Encadenadas del Oeste (CEO; provincia de Buenos Aires, Argentina):

- Arroyo El Huáscar (36° 55' 50" S, 61° 35' 48" O)
- Arroyo Guaminí (37° 20' 47" S, 62° 25' 20" O)
- Canal Pigüé y Venado (37° 11' 26" S, 62° 40' 26" O)

Los caracoles fueron sacrificados en el acto, luego de ser colectados, por inmersión en agua a 80°C. Luego fueron trasladados al laboratorio donde se los almacenó a -20°C en *freezer* hasta su posterior utilización. Los caracoles fueron descongelados y se procedió a su disección. El tracto digestivo fue dividido en tres secciones (esófago, estómago e intestino; Figura 3.1, Capítulo 3) las cuales fueron analizadas en forma separada en busca de restos de material vegetal y de partículas líticas: arena (0,0625 a 2 mm) y grava fina (2 a 4 mm), según la escala de Wentworth.

Se combinaron las categorías de los contenidos (arena, grava y restos vegetales) y las diferentes secciones del tracto digestivo (esófago, estómago e intestino) para obtener nueve variables binarias (presencia/ausencia). Un análisis de agrupamiento fue realizado utilizando el coeficiente de Jaccard con el método de ligamiento promedio para estimar la asociación entre variables, que fueron expresadas en un dendrograma.

7.2.2 Origen y mantenimiento de los caracoles para los experimentos de laboratorio

Todos los caracoles utilizados en los experimentos fueron obtenidos de puestas de huevos depositadas en el laboratorio por caracoles provenientes del arroyo El Huáscar. Los caracoles fueron criados desde su nacimiento en acuarios plásticos

individuales de 200 ml con agua saturada en CaCO_3 a 25°C , con un fotoperiodo 14:10 (luz:oscuridad) y fueron alimentados *ad libitum* con lechuga. Los acuarios fueron limpiados y el agua cambiada semanalmente. Se utilizó agua saturada en CaCO_3 sólo en la etapa de crianza para asegurar la integridad de la conchilla de los caracoles. Para los experimentos los caracoles fueron pasados a acuarios de 3 l con agua sin CaCO_3 para evitar interferencias entre los precipitados del CaCO_3 y las partículas líticas.

7.2.3 Determinaciones de crecimiento en experimentos de laboratorio

Todos los experimentos tuvieron una duración de cuatro semanas; sin embargo las partículas líticas, cuando estuvieron disponibles, lo estuvieron desde la semana previa (semana cero). En todos los experimentos ($n=10$ en cada tratamiento, incluidos los controles) se usaron caracoles juveniles (entre 15 y 20 mm en largo de conchilla). Al comienzo de cada experimento (final de la semana cero) el largo inicial (L_0 , mm) de cada caracol fue medido y el peso vivo inicial (P_0 , g) fue obtenido con una balanza digital ($\pm 1,0$ mg) luego de dejar a los caracoles reptar durante 30 minutos en un recipiente sin agua para asegurar que liberen el agua contenida en la cavidad del manto. Estas medidas fueron tomadas semanalmente durante las cuatro semanas que duraron los experimentos.

Una vez finalizados los experimentos los caracoles fueron sacrificados por inmersión en agua a 100°C y almacenados a -20°C en *freezer* hasta su posterior procesamiento. La conchilla y el opérculo fueron removidos (excepto en el experimento 1) y las partes blandas fueron pesadas después de ser secadas durante 72 hs a 60°C para obtener el peso seco de las partes blandas (PSPB, g). A pesar de que los caracoles fueran sexualmente indiferenciados al inicio de los experimentos, se les realizó una disección antes de ser secados. En esta se determinó su sexo por observación de la vaina del pene, en el caso de los machos, o de la glándula del albumen, en el caso de las hembras. El contenido de cenizas de las partes blandas fue obtenido luego de calcinar

las mismas por un periodo de 4 hs a 600°C y se calculó el peso seco libre de cenizas (PSLC, g).

7.2.4 Experimento 1: efecto de la disponibilidad de partículas líticas

En este experimento se usó mármol triturado como sustituto a las partículas líticas naturales debido a su homogeneidad en mineralogía y granulometría. Su color blanco permite detectarlo fácilmente entre los contenidos digestivos y materia fecales, que usualmente presentan en esta especie un color verde marronáceo (Castro-Vazquez *et al.*, 2002). Para obtener partículas libres de polvo y con un tamaño similar ($1,285 \pm 0,339$ mm, media \pm DE) el mármol triturado comercial fue tamizado y lavado en agua antes de ser usado

Se diseñaron tres tratamientos para estudiar el efecto de la disponibilidad de partículas líticas sobre el crecimiento de caracoles juveniles alimentados *ad libitum*:

- partículas líticas con disponibilidad continua (DC)
- partículas líticas con disponibilidad discontinua (DD)
- sin disponibilidad de partículas líticas (control, C)

En el tratamiento de disponibilidad discontinua, las partículas líticas estuvieron disponibles sólo durante la semana cero: 2-2,5 cm³ de mármol triturado fueron agregados luego del último cambio de agua en los acuarios de 200 ml. En el tratamiento de disponibilidad continua el mármol triturado fue provisto de la misma manera durante la semana cero, pero luego del cambio a los acuarios de 3 l, 2-2,5 cm³ de mármol triturado fueron agregados cada semana durante la limpieza semanal.

Luego del periodo de almacenamiento en el *freezer*, las partes blandas de los caracoles fueron removidas de la conchilla y se realizó una disección en busca de mármol triturado en el estómago e intestino; la materia fecal en el fondo del acuario también fue revisada en busca de mármol triturado. La conchilla y las partes blandas

(incluyendo el opérculo) fueron secadas por 72 hs a 60°C y pesadas juntas para obtener el peso seco total (PST, g).

7.2.5 Experimento 2: efecto del tamaño y disponibilidad de las partículas líticas

En este experimento se utilizó arena obtenida del arroyo Napostá (38° 41' 56" S, 62° 15' 57" O, provincia de Buenos Aires, Argentina). La arena fue lavada con agua corriente para eliminar las partículas menos densas (restos orgánicos y partes de conchillas) por flotación y deriva. Luego fue tamizada a través de una serie de tamices para obtener dos fracciones de diferente diámetro (media \pm DE): $0,80 \pm 0,23$ y $1,69 \pm 0,24$ mm (arena gruesa y arena muy gruesa, respectivamente, según la escala de Wentworth).

Cinco tratamientos fueron diseñados para testear el efecto del tamaño y la disponibilidad de las partículas líticas sobre el crecimiento de caracoles juveniles alimentados *ad libitum*:

- partículas líticas pequeñas con disponibilidad continua (PDC)
- partículas líticas grandes con disponibilidad continua (GDC)
- partículas líticas pequeñas con disponibilidad discontinua (PDD)
- partículas líticas grandes con disponibilidad discontinua (GDD)
- sin disponibilidad de partículas líticas (control, C)

La arena en los tratamientos de disponibilidad discontinua estuvo disponible sólo durante la semana cero ($2-2,5 \text{ cm}^3$ de arena fueron agregados luego del último cambio de agua en los acuarios de 200 ml), al igual que en el experimento 1. En los tratamientos con disponibilidad continua la misma cantidad de arena fue también añadida cada semana luego del cambio de agua en los acuarios de 3 l.

7.2.6 Experimento 3: efecto de la disponibilidad de partículas líticas y de alimento y su interacción

En este experimento se utilizó arena lavada y tamizada obtenida del arroyo Napostá. La arena fue lavada y tamizada como en el experimento anterior para obtener una fracción homogénea: $1,225 \pm 0,18$ mm (media \pm DE; arena muy gruesa, según la escala de Wentworth).

Para testear los efectos de la disponibilidad de alimento y de partículas líticas en el crecimiento y en la eficiencia del crecimiento de caracoles juveniles, fueron diseñados cuatro tratamientos con un diseño factorial: disponibilidad de alimento (A) X disponibilidad de partículas líticas (PL). La disponibilidad de alimento contó con dos niveles: 100% y 50% sobre la ingestión *ad libitum* de lechuga. La cantidad de alimento en la semana *i* (el cual se proveyó en dos dosis) fue estimado sobre el largo final de la semana previa utilizando la ecuación alométrica desarrollada por Tamburi y Martín (2009b) para la ingestión diaria de *P. canaliculata*. La disponibilidad de partículas líticas también contó con dos niveles: no disponible (control; C) y disponible en forma continua (DC); en el último caso, 2-2,5 cm³ de arena fueron agregados después del último cambio de agua en los acuarios de 200 ml y también cada semana luego del cambio de agua en los acuarios de 3 l.

La eficiencia de aprovechamiento del alimento o eficiencia de crecimiento en peso vivo (ECP, g.g⁻¹) fue estimada como el incremento en peso vivo del caracol en relación a la cantidad acumulada de alimento provisto para cada semana a lo largo de todo el experimento:

$$ECP = (P_4 - P_0) / (A_1 + A_2 + A_3 + A_4).$$

7.2.7 Análisis estadísticos de los datos

Los datos de los experimentos de laboratorio fueron analizados a través de ANOVAs de un factor (Experimentos 1 y 2) y de dos factores (Experimento 3). Previamente, tests de Levene fueron realizados para probar la homogeneidad de varianzas; cuando la homogeneidad de varianzas fue rechazada para alguna variable, los datos correspondientes para esa variable fueron transformados (ver 7.3 Resultados, tablas 7.3 y 7.4). Cuando ninguna transformación fue capaz de homogenizar las varianzas de la variable, los datos fueron analizados a través del test no paramétrico de Kruskal-Wallis en los experimentos 1 y 2; en el caso del experimento 3, el diseño factorial fue analizado separadamente para los dos niveles de disponibilidad de alimento (ver 7.3 Resultados, tabla 7.4) y la diferencia entre caracoles con y sin arena fue analizada a través del test de Kruskal-Wallis.

7.3 Resultados

7.3.1 Muestreo de campo: partículas líticas en diferentes partes del tracto digestivo

La mayoría de los individuos analizados en las disecciones (93.6%) presentaron partículas líticas al menos en alguna sección del tracto digestivo. Los contenidos digestivos de las tres poblaciones fueron bastante similares entre sí; el patrón general fue un incremento de las tres categorías de contenidos (arena, grava y restos vegetales) desde la boca hacia el ano (Figura 7.1). La frecuencia de las partículas líticas en el estómago fue menor que en el intestino, mientras que la frecuencia de material vegetal fue casi la misma. La grava fue siempre la categoría con menor representación a lo largo del tracto digestivo.

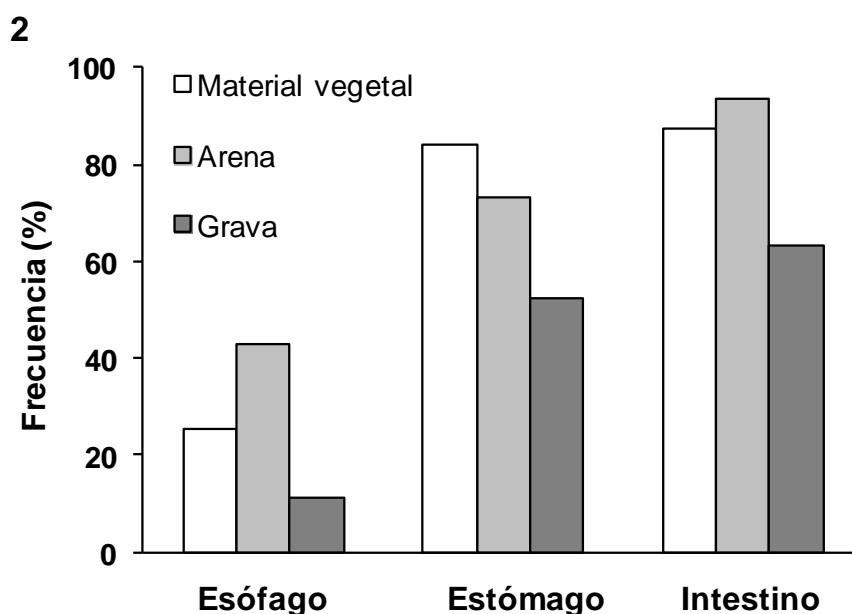


Figura 7.1. Frecuencia de ocurrencia de material vegetal y partículas líticas (arena y grava) en diferentes secciones del tracto digestivo de *P. canaliculata*.

La asociación entre la presencia de arena y de material vegetal fue alta tanto para el estómago como para el intestino y fue también bastante similar entre estas dos secciones del tracto digestivo (Figura 7.2). La presencia de grava en el intestino estuvo altamente asociada con la presencia de la misma en el estómago. Arena y material vegetal mostraron un bajo nivel de asociación en el esófago; la grava en el esófago

mostró la más baja asociación con cualquier otro contenido de otra sección ya que estuvo totalmente ausente en los esófagos de una población y en el 95% de otra.

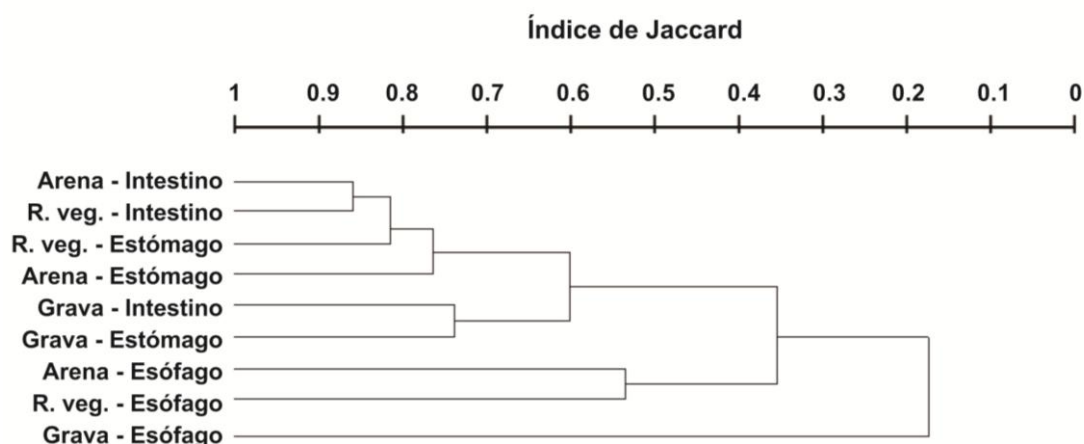


Figura 7.2. Dendrograma para la asociación de contenidos en las diferentes partes del tubo digestivo en *P. canaliculata* (R. veg.: restos vegetales).

7.3.2 Experimento 1: efecto de la disponibilidad de partículas líticas

El efecto del mármol triturado sobre el crecimiento de *P. canaliculata* fue mayormente negativo: los caracoles con disponibilidad continua de mármol triturado mostraron valores finales de largo y peso seco total significativamente menores que los otros dos tratamientos (Figura 7.3; Tabla 7.1). El peso vivo final del tratamiento con disponibilidad discontinua fue significativamente mayor que el del control y que del disponibilidad continua (Figura 7.3; Tabla 7.1).

	$F_{2;27}$	p	CM Error
L_4	5,318	0,011	7,933
P_4	5,596	0,009	3163461
PST	3,983	0,030	68797

Tabla 7.1. ANOVAs de un factor para el efecto de disponibilidad de partículas líticas sobre el crecimiento de juveniles de *P. canaliculata*. Largo final (L_4), peso vivo final (P_4) y peso seco total (PST). En negrita los valores significativos ($p \leq 0,05$).

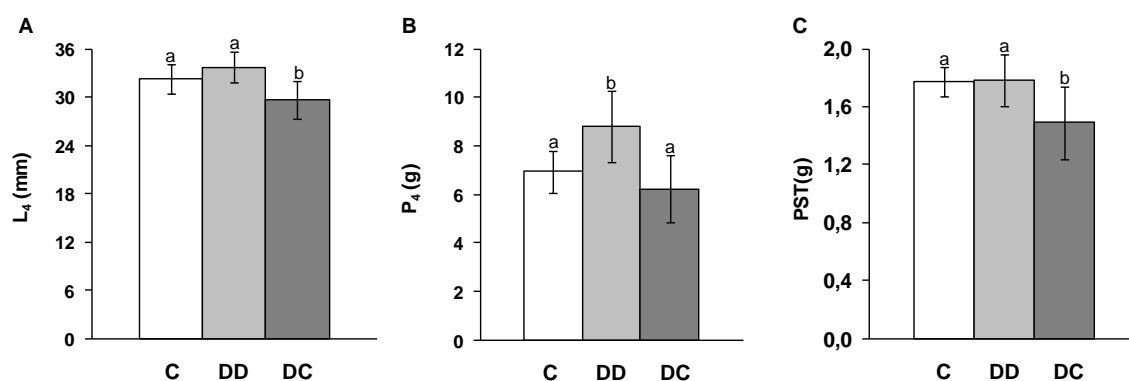


Figura 7.3. Efecto de la disponibilidad de partículas líticas en el crecimiento de juveniles de *P. canaliculata* (media \pm 95% IC); sin disponibilidad (C), disponibilidad discontinua (DD) y disponibilidad continua (DC). **A.** Largo final (L_4). **B.** Peso vivo final (P_4). **C.** Peso seco total (PST). Los tratamientos con la misma letra no difieren significativamente ($p > 0,05$).

Las disecciones realizadas luego del experimento 1 mostraron que el 60% de los caracoles con disponibilidad continua tenían partículas de mármol en su tubo digestivo (principalmente en el estómago) mientras que en ninguno de los caracoles con disponibilidad discontinua se las encontró. La materia fecal mostró también partículas de mármol incluidas en la matriz de restos de lechuga y corpúsculos pigmentados.

7.3.3 Experimento 2: efecto del tamaño y la disponibilidad de partículas líticas

No se encontraron efectos significativos para el tamaño y la disponibilidad de partículas líticas para el largo final, peso vivo final, peso seco de las partes blandas y peso seco libre de cenizas (Tabla 7.2). Las disecciones realizadas luego del experimento mostraron que el 90% (45 de 50) de los caracoles experimentales eran machos juveniles.

	$F_{4;45}$	p	CM Error
L_4	0,376	0,825	4,575
P_4	0,354	0,840	1896968
PSPB	0,161	0,957	29054
PSLC	0,265	0,899	12165

Tabla 7.2. ANOVAs de un factor para el efecto del tamaño y la disponibilidad de partículas líticas sobre el crecimiento de juveniles de *P. canaliculata*. Largo final (L_4), peso vivo final (P_4), peso seco de las partes blandas (PSPB) y peso seco libre de cenizas (PSLC).

7.3.4 Experimento 3: efecto de la disponibilidad de partículas líticas y de alimento y su interacción

Los efectos de la disponibilidad de alimento y de partículas líticas fueron significativos y positivos para los valores finales de largo, peso vivo, peso seco de las partes blandas y peso seco libre de cenizas; la interacción entre estos dos factores también fue significativa y positiva (Tabla 7.3; Figuras 7.4 y 7.5). El peso seco de las partes blandas de los caracoles alimentados *ad libitum* fue un 44,5% mayor cuando las partículas líticas estaban disponibles, mientras que su efecto en los caracoles con disponibilidad de alimento reducida fue sólo del 17,3% (Figura 7.4A). Los valores comparativos correspondientes para peso seco libre de cenizas (Figura 7.4B), largo final (Figura 7.5A) y peso vivo final (Figura 7.5B) fueron 23,6 vs 2,4%, 17,3 vs 4,8% y 53,8 vs 15,3%, respectivamente. El efecto sinérgico entre el alimento y la disponibilidad de partículas líticas en las últimas dos variables fue también aparente en sus respectivas curvas de crecimiento ya en la semana uno (Figura 7.5) y aumentó con el tiempo hasta el final del experimento. La disponibilidad de partículas líticas permitió a los caracoles con 50% de disponibilidad de alimento crecer al mismo ritmo que los caracoles con 100% de disponibilidad de alimento pero sin disponibilidad de partículas líticas.

		PL	A	A x PL	CM Error
L ₄	F _{1,36}	12,362	14,490	4,246	7,378
	p	0,001	0,000	0,047	
P ₄	F _{1,36}	15,815	22,532	6,182	1631464
	p	0,000	0,000	0,018	
PSPB	F _{1,36}	37,037	142,789	5,784	0,004
	p	0,000	0,000	0,021	
PSLC	F _{1,36}	12,661	232,055	8,077	0,002
	p	0,001	0,000	0,007	
ECP	F _{1,36}	6,038	8,462	0,267	0,001
	p	0,019	0,006	0,609	

Tabla 7.3. ANOVAs de dos factores para el efecto de la disponibilidad de las partículas líticas (PL) y de alimento (A) y su interacción (A x PL) sobre el crecimiento y la eficiencia de crecimiento en juveniles de *P. canaliculata*. Largo final (L₄), peso vivo final (P₄), peso seco de las partes blandas (PSPB), peso seco libre de cenizas (PSLC) y eficiencia de crecimiento en peso vivo (ECP). PSPB y PSLC fueron transformados logarítmicamente. En negrita los valores significativos ($p \leq 0,05$).

Por otro lado, la eficiencia de crecimiento en peso vivo mostró un efecto positivo significativo de las partículas líticas y un efecto negativo significativo de la disponibilidad de alimento (Tabla 7.3; Figura 7.4C); no hubo efecto significativo para la interacción entre estos dos factores. La eficiencia en crecimiento para el peso vivo de los caracoles alimentados *ad libitum* y para los de disponibilidad reducida de alimento fue, en promedio, 25,2% mayor cuando la arena estaba disponible que cuando no lo estaba. En promedio la eficiencia en crecimiento para el peso vivo de los caracoles alimentados *ad libitum* fue un 15,0% menor que el valor correspondiente a los valores de los caracoles con 50% de reducción en la disponibilidad de alimento.

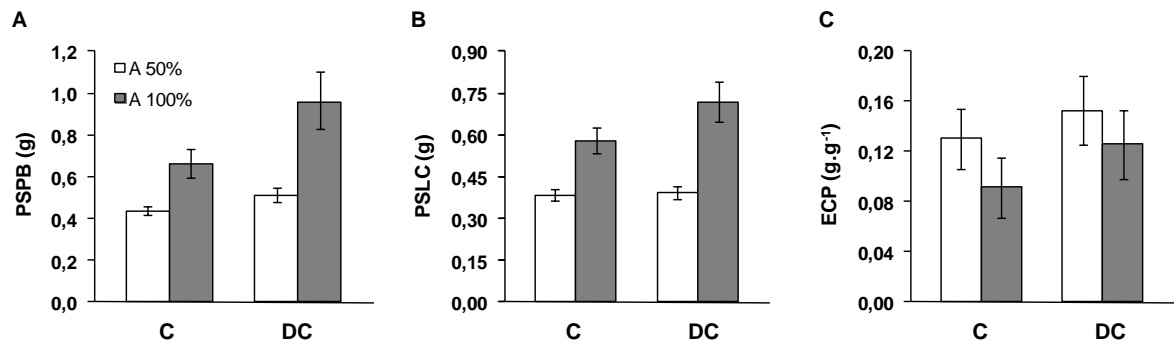


Figura 7.4. Efecto de la disponibilidad de partículas líticas (C, sin disponibilidad y DC, disponibilidad continua) y alimento (A 100% y A 50%) en el crecimiento y eficiencia de crecimiento en juveniles de *P. canaliculata* (media \pm 95% IC). **A.** Peso seco de las partes blandas (PSPB). **B.** Peso seco libre de cenizas (PSLC). **C.** Eficiencia de crecimiento en peso fresco (ECP).

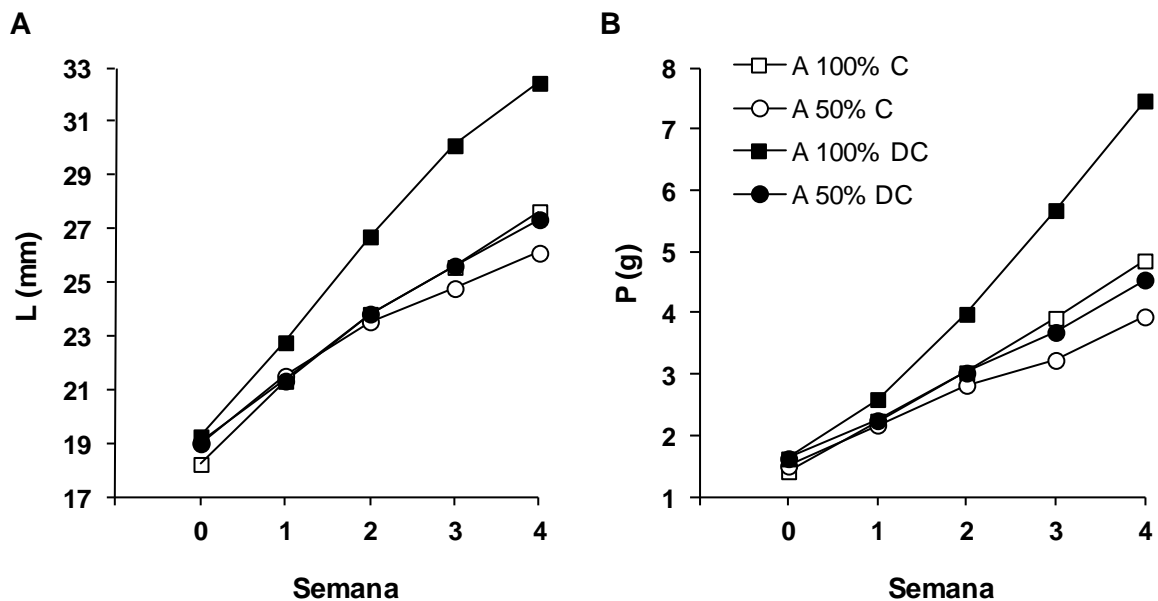


Figura 7.5. Efecto de la disponibilidad de partículas líticas (C, sin disponibilidad y DC, disponibilidad continua) y alimento (A 100% y A 50%) en el crecimiento de juveniles de *P. canaliculata* (valores medios por semana). **A.** Largo de conchilla (L). **B.** Peso vivo (P).

Los efectos del alimento y de la disponibilidad de partículas líticas y su interacción para largo final, peso fresco final, peso seco de las partes blandas, peso seco libre de cenizas y eficiencia en crecimiento para el peso vivo siguieron el mismo patrón en las hembras juveniles cuando estas fueron analizadas por separado (Tabla 7.4); la eficiencia en crecimiento para el peso vivo de las hembras fue, en promedio, 12,0% mayor cuando las partículas líticas estaban disponibles, mientras que al comparar la disponibilidad de alimento la misma variable fue un 9,0% menor para las hembras alimentadas *ad libitum*.

En el caso de los machos, solo el largo final mostró un efecto positivo significativo para la disponibilidad de alimento cuando se analizaron por separado.

	Variable	Estadístico	PL	A	A x PL	CM Error	
Hembras	L ₄	χ^2_1	4,644				
		p	0,031				
	P ₄	F _{1:22}	39,524	141,725	10,901	283656	
		p	0,000	0,000	0,003		
	PSPB	F _{1:22}	98,917	373,373	8,079	0,001	
		p	0,000	0,000	0,009		
	PSLC	F _{1:22}	23,153	241,169	10,741	2120	
		p	0,000	0,000	0,003		
	ECP	F _{1:22}	9,904	20,042	0,16	0,000	
		p	0,005	0,000	0,693		
	Machos	L ₄	F _{1:10}	2,007	5,533	0,542	0,000
			p	0,187	0,040	0,478	
P ₄		χ^2_1	0,538				
		p	0,463				
PSPB		χ^2_1	0,360				
		p	0,549				
PSLC		χ^2_1	1,604				
		p	0,205				
ECP		χ^2_1	0,111				
		p	0,739				

Tabla 7.4. ANOVAs de dos factores para el efecto de la disponibilidad de las partículas líticas (PL), disponibilidad de alimento (A) y su interacción (A x PL) sobre el crecimiento y la eficiencia de crecimiento en juveniles machos y hembras de *P. canaliculata*. Largo final (L₄), peso vivo final (P₄), peso seco de las partes blandas (PSPB), peso seco libre de cenizas (PSLC) y eficiencia de crecimiento en peso vivo (ECP). PSPB fue transformada logarítmicamente para las hembras y L₄ fue transformada a la inversa para los machos. En negrita los valores significativos (p ≤ 0,05).

7.4 Discusión

Los resultados obtenidos en el presente capítulo muestran que las partículas líticas son muy comunes en el tracto digestivo de *P. canaliculata* cuando están disponibles en el ambiente inmediato. La presencia, la abundancia y las características de estas partículas líticas afectan la eficiencia de crecimiento y el tamaño alcanzado por caracoles juveniles, especialmente en el caso de las hembras.

La presencia de grava y arena en todos los sectores del tracto digestivo de los caracoles de poblaciones naturales indica que estas partículas no son retenidas o concentradas diferencialmente en el estómago, como sugerían las observaciones realizadas por Andrews (1965). Las partículas líticas han sido encontradas en alta frecuencia pero con baja abundancia en el tracto digestivo de *P. canaliculata* (Kwong *et al.*, 2010; López-van Oosterom *et al.*, 2013; Ocon *et al.*, 2013). Las frecuencias del material vegetal, arena y grava aumentan desde la boca al ano, indicando probablemente que el tiempo de retención en cada sección también aumenta de la misma manera. El esófago parece ser un sitio de acumulación del material ingerido por un corto tiempo durante los periodos de alimentación. *Pomacea canaliculata* presenta un ligero aumento de actividad (Heiler *et al.*, 2008) y una alimentación por colecta pedal en la superficie del agua durante la noche (Saveanu & Martín, 2013), lo que podría explicar el porqué de la mayoría de los esófagos se encontraron vacíos durante nuestro muestreo diurno. El intestino es aparentemente no solo un sitio de absorción sino también de digestión, ya que distintas proteasas son liberadas en su lumen (Godoy *et al.*, 2013), y esta función tal vez estaría relacionada con una retención más prolongada en el tiempo en relación con otras partes del tracto digestivo.

La alta asociación entre arena y material vegetal en el intestino y en el estómago probablemente indican que la arena estaba depositada sobre el material vegetal y que ambas fueron ingeridas en conjunto. Por otro lado, la presencia de grava en el intestino y

en el estómago fue bastante independiente de los otros dos ítems, probablemente debido a una baja asociación con el material vegetal. El bajo grado de asociación de los contenidos del esófago con algún otro de otra sección fue debido probablemente al alto porcentaje de esófagos vacíos. Los contenidos del esófago reflejan probablemente solo la historia alimentaria del caracol durante unas pocas horas previas a la colección, mientras que los del estómago y especialmente los del intestino, integrarían el alimento ingerido en los días previos.

El efecto de mármol triturado sobre el crecimiento de *P. canaliculata* fue inesperado, ya que los caracoles con disponibilidad continua alcanzaron valores de largo final y peso seco significativamente menores. En el caso del peso seco, el efecto negativo supera el peso adicional que podría sumar el mármol triturado encontrado en el tracto digestivo durante las disecciones, en las que se encontró que los individuos del tratamiento de disponibilidad continua contenían partículas de mármol triturado en su tracto digestivo al final del experimento. En el caso del peso fresco final, el efecto es inconsistente ya que los caracoles con disponibilidad discontinua crecieron más que los controles, o que los caracoles con disponibilidad continua. Esto no puede ser explicado por el agregado de peso debido a las partículas de mármol triturado ya que en las disecciones no se encontraron partículas en el tracto digestivo al final del experimento para los caracoles con disponibilidad discontinua.

Los registros de efectos negativos en caracoles de agua dulce por la ingestión de partículas líticas son raros en la literatura. Por ejemplo, Schmölder & Becker (1990) encontraron mayor crecimiento en la conchilla y mayor producción de huevos y de reservas en los huevos a lo largo de cuatro semanas en ejemplares de *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) sin arena disponible en comparación con aquellos que sí la poseían, aunque estas diferencias desaparecían luego a pesar de la ingestión activa de arena por parte de estos caracoles. El efecto negativo del mármol triturado en el caso de *P. canaliculata* fue probablemente debido a daños en el tracto digestivo o la obstrucción del

mismo causado por la forma irregular y aplanada, y de bordes afilados y extremos puntiagudos de estas partículas. El hecho de que nuestros caracoles ingirieran mármol triturado en forma continua a pesar de sus efectos negativos apoya la idea de que al menos algunas de las partículas líticas son ingeridas accidentalmente durante la alimentación. Las partículas de mármol eran claramente diferentes a las partículas líticas encontradas en los ambientes naturales (mayormente redondeadas y lisas) y a las encontradas en los contenidos digestivos o usadas en los otros experimentos. Los efectos opuestos de las partículas líticas descritos en dos trabajos para *B. glabrata* (Schmölder & Becker, 1990; Thomas, 2001) tal vez se deban a diferencias en la mineralogía, en el tamaño y la forma de las partículas usadas en los experimentos.

El efecto de la disponibilidad de partículas líticas naturales (arena) en todas las variables relacionadas con el crecimiento somático de *P. canaliculata* (largo final, peso vivo final, peso seco de las partes blandas, peso seco libre de cenizas) fue significativo y positivo. Este efecto positivo también fue descrito en diferentes especies de caracoles pulmonados de agua dulce (Colton, 1908; Carriker, 1946; Noland & Carriker, 1946; Storey, 1970; Brendelberger, 1997; Thomas, 2001) que también ingirieron y retuvieron selectivamente los granos de arena. Tres mecanismos principales han sido sugeridos para explicar estos efectos positivos: un incremento de la digestión mecánica del alimento, un incremento en la disponibilidad de micronutrientes o la digestión de microbiota que habita los granos de arena (Thomas, 2001). La última hipótesis parece poco probable en nuestro caso ya que la arena fue totalmente lavada, mantenida seca hasta su uso y renovada semanalmente.

La eficiencia de crecimiento de *P. canaliculata* cuando la arena estaba disponible fue un 25,2% mayor que cuando estaba ausente. Este incremento en la eficiencia del crecimiento parece muy alto para ser explicado solo por el efecto de los micronutrientes. *Pomacea canaliculata* presenta una digestión que en parte es leve encontrándose fragmentos vegetales prácticamente intactos en la porción final del tubo digestivo de

caracoles sin acceso a partículas líticas (Capítulo 2). Probablemente la presencia de arena permitió una mayor disgregación de los tejidos y células vegetales, como fue sugerido por Andrews (1965), y por lo tanto una mayor eficiencia en la extracción de compuestos orgánicos intracelulares y tal vez una mayor superficie relativa para la acción de enzimas digestivas (Godoy *et al.*, 2013; Luo *et al.*, 2015).

La presencia de arena tuvo un efecto sinérgico con la disponibilidad de alimento sobre la tasa de crecimiento de juveniles de *P. canaliculata*, especialmente para las hembras. Para una baja disponibilidad de alimento la eficiencia digestiva fue mayor, como fue indicado por los altos valores de eficiencia de crecimiento, pero el efecto total sobre el crecimiento fue menor debido a la escasez de la cantidad del alimento disponible. Por otro lado, cuando la disponibilidad de alimento fue alta la eficiencia digestiva y de asimilación fue probablemente menor (Tamburi & Martín, 2009b) pero el agregado de arena permitió una mayor disgregación, el cual acoplado con una cantidad abundante de material vegetal permitió un efecto multiplicativo en el crecimiento.

En el caso de los machos juveniles de *P. canaliculata* en el tercer experimento, la presencia de arena no tuvo efecto y la disponibilidad de alimento sólo provocó un aumento en el largo final. En este caso la falta de efectos significativos tal vez se deba al bajo número de réplicas, pero ese no sería el caso para el segundo experimento. En el segundo experimento no hubo efectos del tamaño de las partículas líticas o de su disponibilidad, probablemente debido a que el 90% de los caracoles resultaron ser machos, un resultado improbable pero compatible con el mecanismo de determinación oligogenética del sexo para esta especie (Yusa, 2007; Yusa & Kumagai, 2018). Los machos de *P. canaliculata* tienen una menor tasa de crecimiento que las hembras, incluso antes de alcanzar la madurez sexual (Estoy *et al.*, 2002; Estebenet & Martín, 2003; Tamburi & Martín, 2009b), y por lo tanto el error experimental en la estimación de los crecimientos de los machos podría haber sido proporcionalmente mayor. Por otro lado, la glándula digestiva de los machos es un 28-39% más pequeña que la de las

hembras debido a la mayor porción de masa visceral que es ocupada por el testículo en comparación con el ovario (Vega *et al.*, 2005), lo cual podría impedirles sacar una ventaja de la mayor disgregación de la comida.

En el tercer experimento las tallas finales alcanzadas por los caracoles alimentados *ad libitum* fueron mayores cuando había arena disponible: 17,3% para el largo y 53,8% para el peso. Estos resultados indicarían que las tasas de crecimiento estimadas para *P. canaliculata* en la mayoría de los estudios de laboratorio (ej., Tamburi & Martín, 2009a; Seuffert & Martín, 2013b) fueron subestimaciones de las máximas tasas de crecimiento que este caracol puede alcanzar bajo condiciones de alimentación *ad libitum*. Otros estudios utilizaron polvo de conchilla de ostra o arena de coral para proveer calcio a caracoles del género *Pomacea* (ej., Estoy *et al.*, 2002; Garr *et al.*, 2011) y estos materiales podrían haber cumplido el rol de nuestras partículas líticas. Sin embargo, el signo y la magnitud de los efectos tal vez dependan de la forma y tamaño de los fragmentos de conchilla o coral utilizados, tal como mostró nuestro experimento con mármol triturado. Estos resultados indican que la presencia de partículas líticas debe ser estandarizada al igual que otros detalles en las condiciones de cría, para poder realizar comparaciones válidas entre los estudios sobre la biología de los ampuláridos.

Como en otros caracoles de agua dulce, si bien las partículas líticas tienen un efecto cuantitativo importante en el crecimiento y probablemente también en la reproducción, no son consideradas como esenciales (pero ver Storey, 1970). La disponibilidad de partículas líticas permite a *P. canaliculata* compensar reducciones en la disponibilidad de alimento de hasta un 50%, indicando su importancia en cuerpos de agua donde su disponibilidad es naturalmente baja o fluctuante, o cuando ha sido reducida por la propia herbivoría de los ampuláridos sobre las macrófitas sumergidas (ej., Carlsson *et al.*, 2004). A su vez la presencia de partículas líticas podría influir sobre la palatabilidad de las macrófitas, debido a que esta última está inversamente relacionada con las defensas físicas (mayormente celulosa y hemicelulosa; Capítulo 2), al permitir

una digestión más rápida de las macrófitas poco palatables debido a su dureza. Por otro lado, algunos efectos negativos de las partículas líticas aparecen también bajo ciertas circunstancias, como se detectó en este capítulo y en Schmölder & Becker (1990). Sin embargo, estos efectos negativos en *P. canaliculata* se produjeron al utilizar partículas líticas que difieren a las disponibles en los ambientes naturales.

El efecto de la disponibilidad de partículas líticas ha sido estudiado en otros caracoles de agua dulce, pero mayormente de pequeño tamaño. Storey (1970) menciona que *Radix peregra* (Müller, 1774) se alimenta de macrófitas acuáticas más fácilmente y a una tasa mayor cuando están presentes granos de arena. Brendelberger (1997) encontró que la adición de sedimento incrementa el crecimiento de dos caracoles de agua dulce cuando se alimentan de ciertos ítems tróficos (diatomeas, algas verdes y partículas de hoja de arce) pero no cuando se alimentan de otros (algas verde-azuladas). Probablemente algunas macrófitas que aparentemente producen un bajo crecimiento, supervivencia y fecundidad en *P. canaliculata* (Qui & Kwong, 2009) podrían tener efectos más beneficiosos si partículas líticas estuvieran disponibles. Sin embargo, Gross & Lombardo (2018) no registraron efectos beneficiosos de la presencia de arena en el estómago de *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758) al alimentarse de *Myriophyllum spicatum* debido a las defensas tanto químicas como físicas que presentaba dicha macrófita. El efecto de la presencia de partículas líticas en el tracto digestivo de caracoles dependerá fundamentalmente de las defensas físicas que presente cada especie ante la herbivoría.

La evidencia del presente capítulo sugiere que las partículas líticas son ingeridas accidentalmente junto con el alimento, sean estas beneficiosas o perjudiciales para el caracol, y no son retenidas especialmente en el estómago, ya sean partículas líticas naturales (arena o grava) o artificiales (mármol triturado). En la presente tesis se considera como gastrolitos a las partículas líticas debido a que asisten a la digestión mecánica del alimento (Allaby, 2010) a pesar de su ingesta accidental (Wings, 2007). Por

tal motivo se podría afirmar que las partículas líticas pueden actuar como gastrolitos para *P. canaliculata* y esta función dependerá del tipo de sedimentos en los ambientes naturales, los cuales son la fuente de las partículas líticas disponibles para la ingesta.

CAPÍTULO 8

CONCLUSIONES, PERSPECTIVAS Y CONSIDERACIONES FINALES

8.1 Conclusiones

La presente tesis es el primer estudio donde se estimó la dieta natural de *Pomacea canaliculata* a través de la identificación de los taxones vegetales ingeridos por medio del análisis de los contenidos del tubo digestivo. La estimación experimental tanto de la palatabilidad como de la preferencia de macrófitas por parte de *P. canaliculata* (Capítulo 2) permitió evaluar la ingestión de las mismas como también las posibles interacciones entre ellas cuando se encuentran disponibles en forma simultánea. A su vez, el análisis micrográfico de los contenidos digestivos en esos experimentos resultó una técnica adecuada para determinar caracteres diagnósticos de las macrófitas ingeridas y digeridas (Capítulo 3) para luego poder identificarlas en los contenidos digestivos de caracoles provenientes del ambiente natural (Capítulo 4).

Pomacea canaliculata es considerado un herbívoro generalista, y a pesar de tener un hábito alimentario principalmente macrofitófago puede subsistir ante la falta de macrófitas gracias a mecanismos alternativos para la obtención de alimento (Saveanu & Martín, 2013, 2014, 2015). En coincidencia con otros trabajos realizados en el rango de distribución nativo (Ocon *et al.*, 2013; López-van Oosterom *et al.*, 2016), el componente principal de la dieta natural en la Cuenca de las Encadenadas del Oeste (Sudoeste Bonaerense) fueron los detritos (Capítulo 4), a pesar de que se hallaban presentes algunas macrófitas con altos porcentajes de coberturas (Capítulo 6). Su actividad detritívora podría considerarse como una forma alternativa de obtener recursos tróficos cuando haya una baja disponibilidad o ausencia total de macrófitas palatables.

La palatabilidad y preferencia de las macrófitas son las que direccionan la herbivoría de *P. canaliculata* (Capítulos 2 y 5), por lo que sus efectos sobre las comunidades vegetales acuáticas dependerán de la identidad taxonómica de las

especies presentes en los cuerpos de agua. En el Sudoeste Bonaerense la herbivoría de *P. canaliculata* podría ser la responsable de las diferencias encontradas en las comunidades de macrófitas entre cuencas (CEO y CDASV, dónde está presente y ausente, respectivamente; Capítulo 6). Estos efectos se pueden traducir en modificaciones en la estructura de la comunidad de macrófitas sumergidas, alterando su composición tanto en riqueza como en abundancia en el rango nativo de distribución teniendo un rol como especie clave (Capítulo 5).

La magnitud de los efectos producidos por *P. canaliculata* podrían ser aún mayores en los ambientes naturales donde haya a disposición partículas líticas de tamaño y forma adecuados. La ingesta de las mismas puede resultar en mayores eficiencias de crecimiento (Capítulo 7), permitiendo un mejor desempeño del caracol en detrimento de las macrófitas presentes.

8.2 Perspectivas

8.2.1 Estimación experimental de la dieta natural de *P. canaliculata*

El análisis micrográfico de los contenidos digestivos de caracoles provenientes de ambientes naturales permite obtener una apreciación más exacta de la dieta natural que la estimación de la ingesta a través de la oferta limitada de macrófitas. Sin embargo, el estudio de la dieta de *P. canaliculata* a través de la estimación experimental tanto de la palatabilidad como de la preferencia de las macrófitas permitió inferir que, debido a su morfología particular, algunas especies pueden mostrar diferencias entre la cantidad ingerida y la cantidad de fragmentos encontrados en los contenidos digestivos, como por ejemplo en el caso *Myriophyllum quitense* (Capítulo 3). Esta tesis representa el primer estudio de la relación directa entre las macrófitas ingeridas y los contenidos digestivos de *P. canaliculata* y otros ampuláridos.

La estimación de la palatabilidad y preferencia en laboratorio en conjunto con el análisis de los contenidos digestivos resultan en una herramienta eficaz para estimar la

dieta natural de *P. canaliculata* y podría ser usado tanto en el rango de distribución nativo como en el invadido. Para ello es importante conocer la identidad taxonómica de las especies presentes en los ambientes naturales y también sus respectivas abundancias.

8.2.2 Importancia de las partículas líticas en la ecología trófica de *P. canaliculata*

Diferentes estudios señalaron que los caracoles del género *Pomacea* son herbívoros generalistas que se alimentan selectivamente y crecen de manera diferente al alimentarse de diferentes macrófitas (Estebenet, 1995; Lach *et al.*, 2000; Morrison & Hay, 2011a), en parte debido a las diferencias en los mecanismos de defensa de las últimas (Boland *et al.*, 2008; Wong *et al.*, 2010). Experimentos usando plantas reconstituidas mostraron que las defensas físicas afectan negativamente las tasas de ingestión de *P. canaliculata* (Wong *et al.*, 2010). Esto tal vez pueda ser atribuido a las dificultades para desgarrar y disgregar con las mandíbulas y rádula los tejidos de las plantas con un gran contenido de fibras, las que también podrían ser un obstáculo importante para la digestión mecánica a lo largo del tracto digestivo. La disponibilidad de partículas líticas puede aumentar la eficiencia de crecimiento y el tamaño alcanzado por juveniles de *P. canaliculata* (Capítulo 7) ya que la presencia de estas partículas en el tracto digestivo del caracol sería una herramienta más para la disgregación mecánica de los tejidos vegetales ingeridos. Tal vez podría incrementar también la palatabilidad de algunas macrófitas al hacer posible su más rápida digestión, pero este último aspecto no ha sido estudiado aún.

Pomacea canaliculata es una especie usualmente dimórfica en el tamaño de la conchilla, alcanzando las hembras frecuentemente tamaños mayores que los machos (Cazzaniga, 1990; Estebenet & Martín, 2002; Tamburi & Martín, 2009b). Sin embargo, las diferencias en tamaño entre los sexos difieren notablemente entre poblaciones (Estebenet *et al.*, 2006). Las hembras de *P. canaliculata* aparentemente se benefician más que los machos de la presencia de arena en su tracto digestivo, alcanzando

longitudes y pesos mayores en experimentos de laboratorio como también incrementando la eficiencia de crecimiento en peso vivo (Capítulo 7). Tal vez la variación en disponibilidad y composición de las partículas entre sitios aumente o disminuya la expresión del dimorfismo sexual debido a la interacción de los efectos en las tasas de crecimiento para ambos sexos.

Los efectos de *P. canaliculata* no solo se deben a su herbivoría, ya que aún otros ampuláridos pueden verse desplazados debido a la competencia por recursos, como por ejemplo *Pila scutata* (Mousson, 1848) en Tailandia (Chaichana & Sumpun, 2014). La magnitud y el signo de las interacciones entre especies varían frecuentemente acorde al contexto biótico y abiótico (Chamberlain *et al.*, 2014; Früh *et al.*, 2017). Los resultados obtenidos en esta tesis indican que las consecuencias de las interacciones entre ampuláridos y otros caracoles, y con las macrófitas, pueden estar moduladas también por el efecto de rasgos peculiares de los sedimentos, tales como forma, tamaño y mineralogía, sobre el crecimiento y la reproducción de los caracoles.

8.2.3 Rol de *P. canaliculata* como especie clave en su rango de distribución nativo e invadido

Las especies generalistas como *P. canaliculata*, pueden tener un rol de especie clave en sus ecosistemas nativos. Esta tesis mostró que *P. canaliculata* puede tener un importante rol como especie clave en su rango nativo de distribución (Capítulo 5). En un mismo arroyo pueden producirse diferencias entre sitios en la estructura de la comunidad de macrófitas sumergidas debido a diferencias en la dominancia relativa de las mismas (Giorgi *et al.*, 2005). Sin embargo, la frecuencia y abundancia de las macrófitas sumergidas parecen no variar entre sitios con y sin presencia de *P. canaliculata* en la CEO, probablemente debido a la alta frecuencia de disturbios producidos por crecidas en los arroyos que generan procesos de colonización y extinción en las poblaciones del caracol (Seuffert & Martín, 2013a) y de las macrófitas. A pesar de ello, la comparación

entre cuencas con y sin presencia de *P. canaliculata* en el Sudoeste Bonaerense reveló diferencias en la comunidad de macrófitas (Capítulo 6). La ausencia o baja frecuencia de macrófitas palatables en la CEO en comparación con la CDASV probablemente se deba al efecto de la herbivoría de *P. canaliculata*. Por lo tanto, a pesar de no ser capaz de erradicar completamente la vegetación acuática podría estar estructurando la comunidad de macrófitas sumergidas en su rango de distribución nativo.

Pomacea canaliculata parece mantener su rol de especie clave en las áreas invadidas donde, debido a los rápidos cambios que produce luego de su establecimiento, ha sido percibida como una especie invasora de alto impacto (*sensu* Ricciardi & Atkinson, 2004). Estos impactos fueron probablemente magnificados por las altas densidades alcanzadas al ser liberada de enemigos naturales especializados (ej. gavilán caracolero y caraú; Martín & De Francesco, 2006; Mapelli & Kittlein, 2011; Cadierno *et al.*, 2017) o al establecerse bajo condiciones más favorables que en su rango de distribución nativo (ej. altas temperaturas que permiten periodos reproductivos más largos; Gilioli *et al.*, 2017a). Los caracoles del género *Pomacea* son considerados herbívoros generalistas (Morrison & Hay, 2011b; Grutters *et al.*, 2017a) pero son capaces de utilizar otros recursos tróficos como neuston, carroña y animales vivos (Kwong *et al.*, 2009, 2010; Karraker & Dudgeon, 2014; Saveanu *et al.*, 2017) y en especial detritos (Capítulo 4), que probablemente les permitan persistir cuando no queden macrófitas o solo estén presentes las menos palatables. Probablemente su estrategia generalista facilite su establecimiento como invasores en nuevos hábitats donde actúen como nuevas especies clave o replacen alguna especie clave en ese ambiente (Perrings *et al.*, 2010; Simberloff, 2011).

8.2.4 Posible rol de *P. canaliculata* en la resistencia biótica

El elevado consumo de macrófitas ajenas a su rango de distribución nativo por parte de *P. canaliculata* ha sido registrado en diversos estudios (Morrison & Hay., 2011b; Cruz *et al.*, 2015; Ribas *et al.*, 2017; Calvo *et al.*, 2018) y se ha sugerido que esta especie

podría ser importante en la resistencia biótica ante macrófitas sumergidas invasoras gracias a la reducción en el establecimiento y dispersión de las mismas. Sin embargo, esto dependerá de cada especie en particular, ya que los factores como la relación de contenidos nitrógeno/fenoles de las macrófitas resultan más explicativos para la palatabilidad que su novedad para los caracoles o su origen geográfico (Grutters *et al.*, 2017a). Su efecto ante especies exóticas no solo se limita a las macrófitas, sino que se han registrado efectos negativos sobre caracoles invasores de agua dulce pero, al igual que en aquellas, estos efectos dependen de las características particulares de cada especie (Maldonado & Martín, 2018).

Los efectos del calentamiento global podrían aumentar la distribución y el crecimiento tanto de *P. canaliculata* (Liu, *et al.*, 2011; Lei *et al.*, 2017) como de las macrófitas invasoras de origen tropical (Calvo *et al.*, 2018), especialmente en ambientes donde las temperaturas están cerca o por debajo del mínimo que permite su establecimiento. Temperaturas mayores pueden aumentar la invasibilidad de ciertas macrófitas pero también pueden incrementar la herbivoría por parte de *P. canaliculata* (Calvo *et al.*, 2018). Aunque no siempre sería capaz de evitar el establecimiento, a través de su herbivoría y depredación, *P. canaliculata* podría reducir y limitar el crecimiento poblacional de las macrófitas y caracoles exóticos, mitigando la velocidad o magnitud de la invasión y ejerciendo un papel importante en la resistencia biótica.

8.2.5 Potencial uso de *P. canaliculata* como agente de control biológico

El control biológico es una alternativa ambientalmente amigable al control químico y mecánico, ya que permite reducir tanto los costos como el impacto sobre especies que no son el blanco específico del control (Barratt *et al.*, 2018; van Lenteren *et al.*, 2018). Los caracoles de la familia Ampullariidae, por su gran voracidad y su alto potencial biótico, han sido propuestos o utilizados como agentes de control biológico contra malezas acuáticas y caracoles vectores de enfermedades (Cazzaniga 1981; Pointier & David,

2004). La utilización de estos caracoles podría resultar eficaz cuando las especies blanco se traten de macrófitas palatables (Capítulo 2) logrando una reducción considerable o erradicación de las mismas (Capítulo 5). Sin embargo, su utilización no deja de tener riesgos, ya que pueden dispersarse más allá de los ambientes blanco y atacar diversas plantas acuáticas y también a otros caracoles (Kwong *et al.*, 2009; Morrison & Hay, 2011a, b; Maldonado & Martín, 2018). Esto ha llevado a que se los desaconseje fuertemente como agentes de control biológico (Cowie, 2001).

Sin embargo, el uso de ampuláridos estériles o únicamente masculinos permitiría un control seguro, localizado y de corto plazo de malezas acuáticas y también de caracoles indeseables, ya que serían incapaces de establecer poblaciones autosustentables. Por tal motivo el estudio de una técnica de cría que asegure la esterilidad del agente de control (e.g. Seuffert & Martín, 2017) o un sexado temprano y eficaz (Tamburi & Martín, 2009b) son de suma importancia. El control biológico aumentativo requiere de la producción y liberación masiva del agente de control pero no depende de su capacidad de autopropagación como en el caso del control biológico clásico (van Lenteren *et al.*, 2018).

El uso de *P. canaliculata* como agente de control de macrófitas podría ser factible solo si se lograra un método de esterilización eficaz e irreversible y si su herbivoría radujera o eliminara a la especie blanco de forma efectiva sin afectar al resto de la comunidad. Para lograr un control efectivo sería recomendable realizar experimentos de palatabilidad y preferencia con las macrófitas a controlar y con el resto de las especies de la comunidad vegetal, como los realizados en esta tesis.

8.2.6 Efectos indirectos de *P. canaliculata* sobre el funcionamiento ecosistémico

El consumo de detritos por parte de *P. canaliculata* ha sido registrado tanto en el ambiente nativo como en el rango de distribución invadido (Capítulos 4 y 5; Kwong *et al.*, 2010; Ocon *et al.*, 2013; López-van Oosterom *et al.*, 2016). Por otra parte, los detritos han

sido registrados también como un componente abundante de los contenidos digestivos de diferentes *taxa* en arroyos de la cuenca del Río de La Plata (Ocon *et al.*, 2013; López-van Oosterom *et al.*, 2015). La reducción de este recurso por parte de *P. canaliculata* (Capítulo 5) podría generar impactos que se propaguen a través de las redes tróficas, tanto a detritívoros como a otros grupos que a su vez se alimenten de ellos (López-van Oosterom *et al.*, 2016). Los posibles efectos competitivos sobre otros detritívoros debido a la depleción de este recurso trófico han recibido menos atención que la herbivoría o la depredación (Kwong *et al.*, 2009; Karraker & Dudgeon, 2014; Maldonado & Martín, 2018).

El consumo e impacto de *P. canaliculata* sobre los detritos ha sido analizado en la presente tesis (Capítulos 4 y 5) pero no su preferencia relativa con respecto a las macrófitas. A nivel mundial existe sólo un estudio experimental acerca de la diferencia en palatabilidad entre plantas frescas y las mismas en estado senescente (Qiu *et al.*, 2011). El estudio comparativo de la preferencia entre macrófitas frescas y senescentes podría aportar información importante sobre la posibilidad de persistencia de poblaciones estables de *P. canaliculata*, aun en ambientes donde dominen las especies menos palatables para el caracol, gracias al consumo de sus detritos.

La erradicación de algunas especies producida por la herbivoría de *P. canaliculata* no afecta solo la estructura de la comunidad de macrófitas sumergidas. La complejidad estructural de la comunidad de macrófitas puede afectar significativamente la estructura y diversidad de pequeños animales; en líneas generales hábitats más complejos suelen contener densidades y diversidades mayores que hábitats menos complejos (Thomaz & Cunha, 2010).

La erradicación por *P. canaliculata* de macrófitas sumergidas palatables que estabilizan los sedimentos y el aumento en la biomasa de fitoplancton por la liberación de nutrientes durante el proceso de digestión-excreción producen cambios en el estado y funcionamiento ecosistémico de los cuerpos de agua, de estados de agua clara a estados

de agua turbia (Carlsson *et al.*, 2004). Los lagos pampeanos poco profundos son naturalmente propensos a este tipo de cambios de estado (Llames *et al.*, 2013; Sánchez *et al.*, 2015) y la introducción y establecimiento de *P. canaliculata* podría acelerar el cambio hacia un estado de aguas turbias o hacerlo más estable. Estos cambios podrían impedir la recuperación de la vegetación natural debido al establecimiento o dominancia de especies menos palatables (Gilioli *et al.*, 2017b) debido a que la disponibilidad de luz sería el factor crítico en estas nuevas condiciones.

8.2.7 Impactos de *P. canaliculata* en el rango de distribución invadido y nativo

La herbivoría diferencial de los caracoles del género *Pomacea* en su rango de distribución invadido tiene el potencial de producir cambios en la composición y estructura de la comunidad de macrófitas acuáticas (Carlsson *et al.*, 2004; Carlsson & Lacourseire, 2005; Meza-Lopez & Siemann, 2015), favoreciendo a las especies menos palatables, usualmente emergentes, sobre las más palatables, usualmente flotantes y sumergidas. Los resultados experimentales del Capítulo 5 de esta tesis confirman que similares efectos se podrían producir también entre macrófitas con el mismo hábito de crecimiento.

Aunque en menor medida que en las invasiones transcontinentales, *P. canaliculata* ha incrementado su rango de distribución en América del Sur (Martín *et al.*, 2001; Martín & De Francesco, 2006; Horgan *et al.*, 2014b). En Argentina ha colonizado reservorios de agua construidos por el hombre (Cazzaniga, 1987), avanzado aguas arriba en distintos ríos (Corigliano *et al.*, 1996) y colonizado nuevas cuencas aisladas (Martín *et al.*, 2001), mayormente en regiones templadas y semi-áridas. Los experimentos de esta tesis indican que *P. canaliculata* tal vez pueda alterar la estructura y composición de la comunidad de macrófitas sumergidas en estos cuerpos de agua. *Pomacea canaliculata* mostró fuertes impactos sobre las macrófitas sumergidas (Capítulo 5) reduciendo la cobertura vegetal a un 64% y la biomasa viva total a un 50%. Sin embargo, algunos de estos impactos o efectos podrían ser compensados en el mediano o largo plazo por el

crecimiento de las macrófitas no palatables (como por ejemplo *L. peploides*, Capítulo 5), como ha sido predicho para cuerpos de agua someros en el rango de distribución invadido (Giglioli *et al.*, 2017b). En contraposición con lo que ocurre en algunos cuerpos de agua tropicales en el rango de distribución invadido (Carlsson *et al.*, 2004), *P. canaliculata* parece no ser capaz de erradicar completamente la vegetación sumergida en áreas templadas como el Sudoeste Bonaerense, probablemente debido a las bajas temperaturas que producen largos periodos de inactividad en el caracol (Seuffert *et al.*, 2010).

Al poco tiempo de su introducción y establecimiento en nuevos hábitats *P. canaliculata* sería capaz de provocar reducciones en la riqueza de especies, como fue observado en nuestro experimento de mesocosmos (Capítulo 5). La herbivoría diferencial de *P. canaliculata* tal vez le permita a especies no competitivas, que no podrían hacerlo de otra manera, establecerse, prosperar y generar un cambio en la composición de macrófitas sumergidas. Sin embargo esta recuperación podría verse impedida por el cambio de estados de agua clara a estados de agua turbia (Carlsson *et al.*, 2004), ya que afectaría en forma permanente el ambiente fótico en los cuerpos de agua.

8.3 Consideraciones finales

Los resultados de la presente tesis señalan la importancia del conocimiento de la dieta natural de *P. canaliculata* para poder comprender los efectos producidos por su herbivoría. Esta información puede resultar de gran importancia para elaborar estrategias de control en el área donde se ha convertido en plaga de cultivos y tomar medidas para evitar su establecimiento en nuevas áreas. Sin embargo, el conocimiento de la dieta natural no es suficiente para predecir su comportamiento en nuevos hábitats, ya que su herbivoría diferencial dependerá de las defensas de las macrófitas presentes en los nuevos cuerpos de agua. En este sentido, el análisis de la palatabilidad y preferencia de

las macrófitas en los nuevos hábitats aportarían información importante para determinar la dieta natural y también los posibles impactos.

Pomacea canaliculata se ha transformado en una especie invasora en diferentes sitios alrededor del mundo (Halwart, 1994; Rawlings *et al.*, 2007; López *et al.*, 2010) y numerosos esfuerzos fueron y son realizados para controlar y erradicar sus poblaciones. Sin embargo, en la presente tesis se destaca el rol que puede cumplir como especie clave tanto en el rango de distribución nativo como en el invadido (Capítulo 5). La erradicación de especies que cumplen un rol importante como podría ser el caso de este ampulárido, ya sea por su rol como especie clave o por la gran cantidad de interacciones tanto con plantas como con otros animales, puede tener consecuencias negativas debido a que su eliminación probablemente se traduzca en la pérdida de eslabones importantes en las tramas tróficas (Zavaleta *et al.*, 2001). Considerando este panorama es necesario analizar cuidadosamente los planes de manejo a efectuar sobre especies de gran impacto como lo es *P. canaliculata*.

El comercio y transporte de ampuláridos ha sido fuertemente desalentado o prohibido en América del Norte y la Unión Europea con el fin de evitar los múltiples y severos impactos producidos por estos caracoles en los servicios ecosistémicos de humedales poco profundos (Cowie *et al.*, 2009; EFSA, 2013, 2014). La presente tesis demuestra que impactos similares se podrían producir en el rango de distribución nativo al colonizar nuevos ambientes. Sin embargo, en Argentina los ampuláridos como *Pomacea* y *Asolene* son libremente vendidos en tiendas de mascotas u ofrecidos *on line* para compra e intercambio por acuaristas (Tiecher *et al.*, 2015; observaciones personales). Debido a los impactos que pueden producir luego de su introducción y establecimiento en nuevos hábitats su comercio y transporte deberían ser prohibidos y controlados también en su rango de distribución natural en el sur de América del Sur.

BIBLIOGRAFÍA

- Acuña, V., C. Vilches & A. Giorgi, 2011. As productive and slow as a stream can be: the metabolism of a Pampean stream. *Journal of the North American Benthological Society* 30: 71-83.
- Albrecht, E. A., N. B. Carreno & A. Castro-Vazquez, 1996. A quantitative study of copulation and spawning in the South American apple-snail. *The Veliger* 39: 142-147.
- Allaby, M., 2010. *A dictionary of ecology*. Oxford University Press (4 edición), 432 páginas.
- Amuchástegui, G., L. Di Franco & C. Feijoó, 2016. Catchment morphometric characteristics, land use and water chemistry in Pampean streams: a regional approach. *Hydrobiologia* 767: 65-79.
- Amundsen, P. A., H. M. Gabler & F. J. Staldvik, 1996. A new approach to graphical analysis of feeding strategy from stomach contents data-modification of the Costello (1990) method. *Journal of Fish Biology* 48: 607-614.
- Andrews, E. B., 1964. The functional anatomy and histology of the reproductive system of some pilid gastropod molluscs. *Journal of Molluscan Studies* 36: 121-140.
- Andrews, E. B., 1965. The functional anatomy of the gut of the prosobranch gastropod *Pomacea canaliculata* and of some other pilids. *Proceedings of the Zoological Society of London* 145: 19-36.
- Araba, M., & N. M. Dale, 1990. Evaluation of protein solubility as an indicator of overprocessing soybean meal. *Poultry Science* 69: 76-83.
- Baker, P., F. Zimmanck & S. M. Baker, 2010. Feeding rates of an introduced freshwater gastropod *Pomacea insularum* on native and nonindigenous aquatic plants in Florida. *Journal of Molluscan Studies* 76: 138-143.
- Barratt, B. I. P., V. C. Moran, F. Bigler & J. C. van Lenteren, 2018. The status of biological control and recommendations for improving uptake for the future. *BioControl* 63: 155-167.

- Boland, B. B., M. Meerhoff, C. Fosalba, N. Mazzeo, M. A. Barnes & R. L. Burks, 2008. Juvenile snails, adult appetites: contrasting resource consumption between two species of apple snails (*Pomacea*). *Journal of Molluscan Studies* 74: 47-54.
- Brendelberger, H., 1997. Contrasting feeding strategies of two freshwater gastropods, *Radix peregra* (Lymnaeidae) and *Bithynia tentaculata* (Bithyniidae). *Archiv für Hydrobiologie* 140: 1-21.
- Brix, H., 1994. Functions of macrophytes in constructed wetlands. *Water Science and Technology* 29: 71-78.
- Burela, S. & P. R. Martín, 2014. Nuptial gifts in *Pomacea canaliculata* (Ampullariidae, Caenogastropoda): experimental and field evidence about their function. *Malacologia* 57: 319-327.
- Burks, R. L., S. A. Hensley & C. H. Kyle, 2011. Quite the appetite: juvenile island apple snails (*Pomacea insularum*) survive consuming only exotic invasive plants. *Journal of Molluscan Studies* 77: 423-428.
- Burlakova, L. E., A. Y. Karatayev, D. K. Padilla, L. D. Cartwright & D. N. Hollas, 2009. Wetland restoration and invasive species: apple snail (*Pomacea insularum*) feeding on native and invasive aquatic plants. *Restoration Ecology* 17: 433-440.
- Cáceres, E. J., 1978. Contribución al conocimiento de los Carófitos del Centro de Argentina. *Boletín de la Academia Nacional de Ciencias de Cordoba* 42: 315-372.
- Cadierno, M. P., S. Burela, M. S. Dreon, P. R. Martín & H. Heras, 2017. The influence of energy, nutritional value and noxiousness of prey in sex-and size-biased predation by Snail Kites in southern South America. *Emu - Austral Ornithology* 117: 382-387.
- Calvo, C., R. P. Mormul, B. R. Figueiredo, E. R. Cunha, S. M. Thomaz & M. Meerhoff M., 2018. Herbivory can mitigate, but not counteract, the positive effects of warming on the establishment of the invasive macrophyte *Hydrilla verticillata*. *Biological Invasions*: 1-8. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10530-018-1803-3>
- Carlsson, N. O. & C. Brönmark, 2006. Size-dependent effects of an invasive herbivorous snail (*Pomacea canaliculata*) on macrophytes and periphyton in Asian wetlands. *Freshwater Biology* 51: 695-704.

- Carlsson, N. O. & J. O. Lacoursiere, 2005. Herbivory on aquatic vascular plants by the introduced golden apple snail (*Pomacea canaliculata*) in Lao PDR. *Biological Invasions* 7: 233-241.
- Carlsson, N. O., C. Brönmark & L. A. Hansson, 2004. Invading herbivory: the golden apple snail alters ecosystem functioning in Asian wetlands. *Ecology* 85: 1575-1580.
- Carriker, M. R., 1946. Observations on the functioning of the alimentary system of the snail *Lymnaea stagnalis appressa* Say. *Biological Bulletin* 91: 88-111.
- Castro-Vazquez, A., E. A. Albrecht, I. A. Vega, E. Koch & C. Gamarra-Luques, 2002. Pigmented corpuscles in the midgut gland of *Pomacea canaliculata* and other Neotropical apple-snails (Prosobranchia, Ampullariidae): A possible symbiotic association. *Biocell* 26: 101-109.
- Cazzaniga, N. J., 1981. Evaluación preliminar de un gasterópodo para el control de malezas acuáticas sumergidas. CIC, II Reunión sobre Malezas Subacuáticas en Canales de Desagüe de CORFO: 131-165.
- Cazzaniga, N. J., 1987. *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1801) en Catamarca (Argentina) y un comentario sobre *Ampullaria catamarcensis* Sowerby, 1874 (Gastropoda, Ampullariidae). *Iheringia Série Zoologia* 66: 43-68.
- Cazzaniga, N. J., 1990. Sexual dimorphism in *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae). *The Veliger* 33: 384-388.
- Cazzaniga, N. J. & A. L. Estebenet, 1984. Revisión y notas sobre los hábitos alimentarios de los Ampullariidae (Gastropoda). *Historia Natural* 4: 213-224.
- Chaichana, R. & T. Sumpan, 2014. The potential ecological impact of the exotic snail *Pomacea canaliculata* on the Thai native snail *Pila scutata*. *Science Asia* 40: 11-15.
- Chamberlain, S. A., J. L. Bronstein & J. A. Rudgers, 2014. How context dependent are species interactions? *Ecology Letters* 17: 881-890.

- Colton, H. S., 1908. Some effects of environment on the growth of *Lymnaea columella* Say. Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia 60: 410-448.
- Corigliano, M. D. C., C. M. Gualdoni, A. M. Oberto & G. B. Raffaini, 1996. Macroinvertebrados acuáticos de Córdoba. Biodiversidad de la Provincia de Córdoba. Fauna 1: 119-165.
- Cowie, R. H., 2001. Can snails ever be effective and safe biocontrol agents? International Journal of pest management 47: 23-40.
- Cowie, R.H., 2002. Apple Snails (Ampullariidae) as Agricultural Pests: their Biology, Impacts and Management. Pp: 145-192, en: Baker, G. M. ed., Molluscs as crop pests. CABI Publishing, Wallingford, New Zealand.
- Cowie, R. H., R. T. Dillon Jr, D. G. Robinson & J. W. Smith, 2009. Alien non-marine snails and slugs of priority quarantine importance in the United States: A preliminary risk assessment. American Malacological Bulletin 27: 113-132.
- Cruz, C., A. F. Silva, F. P. Venturini, N. Garlich, R. L. C. M. Pitelli & R. A. Pitelli, 2015. Food preference and consumption of aquatic macrophytes submerged by snail *Pomacea canaliculata*. Planta Daninha 33: 433-439.
- Cuartas, P. & R. García-González, 1996. Review of available techniques for determining the diet of large herbivores from their faeces. Oecologia Montana 5: 47-50.
- Cumana Campos, L. J., 2010. Clave para especies de *Ludwigia* L.(Onagraceae) de la región nor-oriental e insular de Venezuela depositadas en el Herbario IRBR. Acta Botánica Venezuelica 33: 299-327.
- Dillon, R. T., 2000. The ecology of freshwater molluscs. Cambridge University Press, Cambridge.
- EFSA, 2013. Assessment of the potential establishment of the apple snail in the European Union. EFSA (European Food Safety Authority) Journal 11: 3487.
- EFSA, 2014. Scientific Opinion on the environmental risk assessment of the apple snail for the EU. EFSA (European Food Safety Authority) Journal 12: 3641.

- Estebenet, A. L., 1995. Food and feeding in *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae). *The Veliger* 38: 277-283.
- Estebenet, A. L. & P. R. Martín, 2002. *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae): life-history traits and their plasticity. *Biocell* 26: 83-89.
- Estebenet, A. L. & P. R. Martín, 2003. Shell interpopulation variation and its origin in *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) from Southern Pampas, Argentina. *Journal of Molluscan Studies* 69: 301-310.
- Estebenet, A. L., P. R. Martín & S. Burela, 2006. Conchological variation in *Pomacea canaliculata* and other South American Ampullariidae (Caenogastropoda, Architaenioglossa). *Biocell* 30: 329-335.
- Estoy JR, G. F., Y. Yusa, T. Wada, H. Sakurai & K. Tsuchida, 2002. Effects of food availability and age on the reproductive effort of the apple snail, *Pomacea canaliculata* (Lamarck) (Gastropoda: Ampullariidae). *Applied Entomology and Zoology* 37: 543-550.
- Fang, L., P. K. Wong, L. I. Lin, C. Lan & J. W. Qiu, 2010. Impact of invasive apple snails in Hong Kong on wetland macrophytes, nutrients, phytoplankton and filamentous algae. *Freshwater Biology* 55: 1191-1204.
- Früh, D., P. Haase & S. Stoll, 2017. Temperature drives asymmetric competition between alien and indigenous freshwater snails species *Physa acuta* and *Physa fontinalis*. *Aquatic Sciences* 79: 187-195.
- Garner, F. H., 1963. The palatability of herbage plants. *Grass and Forage Science* 18: 79-89.
- Garr, A. L., H. Lopez, R. Pierce & M. Davis, 2011. The effect of stocking density and diet on the growth and survival of cultured Florida apple snails, *Pomacea paludosa*. *Aquaculture* 311: 139-145.
- Geraldi, A. M., 2009. Estudio Geoambiental de la Cuenca lagunar las Encadenadas del Oeste. Tesis de Doctor en Geología. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.

- Gilioli, G., S. Pasquali, P. R. Martín, N. Carlsson & L. Mariani, 2017a. A temperature-dependent physiologically based model for the invasive apple snail *Pomacea canaliculata*. *International Journal of Biometeorology* 61: 1899-1911.
- Gilioli, G., G. Schrader, N. Carlsson, E. van Donk, C. H. van Leeuwen, P. R. Martín, S. Pasquali, M. Vilà & S. Vos, 2017b. Environmental risk assessment for invasive alien species: A case study of apple snails affecting ecosystem services in Europe. *Environmental Impact Assessment Review* 65: 1-11.
- Giorgi, A., C. Feijoó & G. Tell, 2005. Primary producers in a Pampean stream: temporal variation and structuring role. *Biodiversity and Conservation* 14: 1699-1718.
- Godoy, M. S., A. Castro-Vazquez & I. A. Vega, 2013. Endosymbiotic and host proteases in the digestive tract of the invasive snail *Pomacea canaliculata*: diversity, origin and characterization. *PLOS ONE* 8: e66689.
- Grantham, Ö. K., D. L. Moorhead & M. R. Willig, 1993. Feeding preference of an aquatic gastropod, *Marisa cornuarietis*: effects of pre-exposure. *Journal of the North American Benthological Society* 12: 431-437.
- Gross, E. M. & E. S. Bakker, 2012. The role of plant secondary metabolites in freshwater macrophyte-herbivore interactions: Limited or unexplored chemical defences. Pp: 154-169, en: Iason, G. R., M. Dicke & S. E. Hartley eds., *The Ecology of Plant Secondary Metabolites: From Genes to Global Processes*. Cambridge, University Press.
- Gross, E. M. & P. Lombardo, 2018. Limited effect of gizzard sand on consumption of the macrophyte *Myriophyllum spicatum* by the great pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Hydrobiologia* 812, 131-145.
- Grutters, B., Y. O. Roijendijk, W. C. Verberk & E. S. Bakker, 2017a. Plant traits and plant biogeography control the biotic resistance provided by generalist herbivores. *Functional Ecology* 31: 1184-1192.
- Grutters, B., B. Saccomanno, E. M. Gross, D. B. Van de Waal, E. van Donk & E. S. Bakker, 2017b. Growth strategy, phylogeny and stoichiometry determine the allelopathic potential of native and non-native plants. *Oikos* 126: 1770-1779.

- Halwart, M., 1994. The golden apple snail *Pomacea canaliculata* in Asian rice farming systems: present impact and future threat. *International Journal of Pest Management* 40: 199-206.
- Hayes, K. A., R. C. Joshi, S. C. Thiengo & R. H. Cowie, 2008. Out of South America: multiple origins of non-native apple snails in Asia. *Diversity and Distributions* 14: 701-712.
- Hayes, K. A., R. H. Cowie, S. C. Thiengo & E. E. Strong, 2012. Comparing apples with apples: clarifying the identities of two highly invasive Neotropical Ampullariidae (Caenogastropoda). *Zoological Journal of the Linnean Society* 166: 723-753.
- Hayes, K. A., R. L. Burks, A. Castro-Vazquez, P. C. Darby, H. Heras, P. R. Martín, J. W. Qiu, S. C. Thiengo, I. A. Vega, T. Wada, Y. Yusa, S. Burela, M. P. Cadierno, J. A. Cueto, F. A. Dellagnola, M. S. Dreon, M. V. Frassa, M. Giraud-Billoud, M. S. Godoy, S. Ituarte, E. Koch, K. Matsukura, M. Y. Pasquevich, C. Rodriguez, L. Saveanu, M. E. Seuffert, E. E. Strong, J. Sun, N. E. Tamburi, M. J. Tiecher, R. L. Turner, P. L. Valentine-Darby & R. H. Cowie, 2015. Insights from an integrated view of the biology of apple snails (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Malacologia* 58: 245-302.
- Heiler, K. C. M., P.V. von Oheimb, K. Ekschmitt & C. Albrecht, 2008. Studies on the temperature dependence of activity and on the diurnal activity rhythm of the invasive *Pomacea canaliculata*. *Mollusca* 26: 73–81.
- Horgan, F. G., A. M. Stuart, & E. P. Kudavidanage, 2014a. Impact of invasive apple snails on the functioning and services of natural and managed wetlands. *Acta Oecologica* 54: 90-100.
- Horgan, F. G., M. I. Felix, D. E. Portalanza, L. Sánchez, W. M. M. Rios, S. E. Farah, J. A. Wither, C. I. Andrade & E. B. Espin, 2014b. Responses by farmers to the apple snail invasion of Ecuador's rice fields and attitudes toward predatory snail kites. *Crop Protection* 62: 135-143.
- Karraker, N. E. & D. Dudgeon, 2014. Invasive apple snails (*Pomacea canaliculata*) are predators of amphibians in South China. *Biological Invasions* 16: 1785-1789.

- Köhler, J., J. Hachol & S. Hilt, 2010. Regulation of submersed macrophyte biomass in a temperate lowland river: Interactions between shading by bank vegetation, epiphyton and water turbidity. *Aquatic Botany* 92: 129-136.
- Krebs, C. J., 1989. *Ecological methodology*. New York: Harper & Row.
- Kwong, K. L., R. K. Chan & J. W. Qiu, 2009. The potential of the invasive snail *Pomacea canaliculata* as a predator of various life-stages of five species of freshwater snails. *Malacologia* 51: 343-356.
- Kwong, K. L., P. K. Wong, S. S. Lau & J. W. Qiu, 2008. Determinants of the distribution of apple snails in Hong Kong two decades after their initial invasion. *Malacologia* 50: 293-302.
- Kwong, K. L., D. Dudgeon, P. K. Wong & J. W. Qiu, 2010. Secondary production and diet of an invasive snail in freshwater wetlands: implications for resource utilization and competition. *Biological Invasions* 12: 1153-1164.
- Lach, L., D. K. Britton, R. J. Rundell & R. H. Cowie, 2000. Food preference and reproductive plasticity in an invasive freshwater snail. *Biological Invasions* 2: 279-288.
- Lavalle, M. del C. & E. M. Sivori, 1981. Evaluación de herbicidas para el control de *Potamogeton pectinatus* y *Chara vulgaris* en condiciones de laboratorio. CIC, II Reunión sobre Malezas Subacuáticas en canales de desagüe CORFO: 97-112.
- Lei, J., L. Chen & H. Li, 2017. Using ensemble forecasting to examine how climate change promotes worldwide invasion of the golden apple snail (*Pomacea canaliculata*). *Environmental Monitoring and Assessment* 189, 404.
- Liu, Y., W. Han & Z. Xian, 2011. Effect of different temperatures on growth, development and feeding of *Pomacea canaliculata*. *Journal of Southern Agriculture* 42: 901-905.
- Llames, M. E., P. A. del Giorgio, H. Zagarese, M. Ferraro & I. Izaguirre, 2013. Alternative states drive the patterns in the bacterioplankton composition in shallow Pampean lakes (Argentina). *Environmental Microbiology Reports* 5: 310-321.
- López, M. A., C. R. Altaba, K. B. Andree & V. López, 2010. First invasion of the apple snail *Pomacea insularum* in Europe. *Tentacle* 18: 26-28.

- López-van Oosterom, M. V., C. S. Ocon, L. C. Armendáriz & A. Rodrigues Capítulo, 2015. Structural and functional responses of the oligochaete and aeolosomatid assemblage in lowland streams: a one-way-pollution-modelled ecosystem. *Journal of Limnology* 74: 477-490.
- López-van Oosterom, M. V., C. S. Ocón, A. C. Ferreira & A. Rodrigues Capítulo, 2016. The diet of *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) in its native habitat based on gut content and stable isotopes analysis. *Intropica* 11: 73-83.
- López-van Oosterom, M. V., C. S. Ocón, F. Brancolini, M. E. Maroñas, E. D. Sendra & A. Rodrigues Capítulo, 2013. Trophic relationships between macroinvertebrates and fish in a Pampean lowland stream (Argentina). *Iheringia Série Zoologia* 103: 57-65.
- Lorenzen, C. J., 1967. Determination of chlorophyll and pheopigments: spectrophotometric equations. *Limnology and Oceanography* 12: 343-346.
- Low, L. & C. J. Anderson, 2017. The threat of a nonnative, invasive apple snail to oligohaline marshes along the Northern Gulf of Mexico. *Journal of Coastal Research* 33: 1376-1382.
- Lowe, S., M. Browne, S. Boudjelas & M. de Poorter, 2000. 100 of the world's worst invasive alien species: a selection from the global invasive species database. Auckland, New Zealand: Invasive Species Specialist Group (ISSG) of the World Conservation Union (IUCN), 12 pp.
- Lozano, S. T., H. Smit & P. G. Murillo, 1986. Sobre el género *Zannichellia* L. (Zannichelliaceae). *Lagascalia* 14: 241-272.
- Luo, M. Z., J. E. Zhang, J. L. Hu & B. L. Zhao, 2015. Comparative study on the digestive enzyme activities between golden apple snails (*Pomacea canaliculata*) and local field snails (*Cipangopaludina chinensis*). *Acta Ecologica Sinica* 35: 3580-3587.
- Maldonado, M. A. & P. R. Martín, 2018. Dealing with a hyper-successful neighbour: effects of the invasive apple snail *Pomacea canaliculata* on exotic and native snails in South America. *Current Zoology* 1-22. DOI: <https://doi.org/10.1093/cz/zoy060>

- Mapelli, F. J. & M. J. Kittlein, 2011. Prey selection by the Snail Kite (*Rostrhamus sociabilis*) in permanent and temporary wetlands of central Argentina. *Ornitologia Neotropical* 22: 181-293.
- Marchese, M. R., M. Saigo, F. L. Zilli, S. Capello, M. Devercelli, L. Montalto, G. Paporello & K. M. Wantzen, 2014. Food webs of the Paraná River floodplain: Assessing basal sources using stable carbon and nitrogen isotopes. *Limnologica-Ecology and Management of Inland Waters* 46: 22-30.
- Martín, P. R. & C. G. De Francesco, 2006. Fossil record of *Pomacea* (Caenogastropoda: Ampullariidae) in Argentina and its paleoenvironmental implications. *Biocell* 30: 337-343.
- Martín, P. R., A. L. Estebenet & N. J. Cazzaniga, 2001. Factors affecting the distribution of *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) along its southernmost natural limit. *Malacologia* 43: 13-23.
- Martín, P. R., M. E. Seuffert, N. E. Tamburi, S. Burela & L. Saveanu, 2017. Behaviour and ecology of *Pomacea canaliculata* from Southern Pampas (Argentina). Pp: 241-256, en: Joshi, R., R. Cowie & L. Sebastian eds., *Biology and management of invasive apple snails*. Philippine Rice Research Institute.
- Martín, S. M. & L. H. L., Negrete, 2007. Radular ultrastructure of South American Ampullariidae (Gastropoda: Prosobranchia). *Brazilian Journal of Biology* 67: 721-726.
- Meza-Lopez, M. M. & E. Siemann, 2015. Experimental test of the Invasional Meltdown Hypothesis: an exotic herbivore facilitates an exotic plant, but the plant does not reciprocally facilitate the herbivore. *Freshwater Biology* 60: 1475-1482.
- Moody, M. L. & D. H. Les, 2010. Systematics of the aquatic angiosperm genus *Myriophyllum* (Haloragaceae). *Systematic Botany* 35: 121-139.
- Moretto, H. J. A. & D. E. Nahabedian, 1989. On the radulae of three species of Neotropical *Pomacea* (Mollusca: Mesogastropoda: Pilidae). *Walkerana* 3: 195-202.
- Morrison, W. E. & M. E. Hay, 2011a. 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* 13: 945-955.

- Morrison, W. E. & M. E. Hay, 2011b. Herbivore preference for native vs. exotic plants: generalist herbivores from multiple continents prefer exotic plants that are evolutionarily naïve. PLOS ONE 6: e17227.
- Morrison, W. E. & M. E. Hay, 2011c. Induced chemical defenses in a freshwater macrophyte suppress herbivore fitness and the growth of associated microbes. Oecologia 165: 427-436.
- Nentwig, W., S. Bacher, S. Kumschick, P. Pyšek & M. Vilà, 2018. More than “100 worst” alien species in Europe. Biological Invasions 20: 1611-1621.
- Noland, L. E. & M. R. Carriker, 1946. Observations on the biology of the snail *Lymnaea stagnalis appressa* during twenty generations in laboratory culture. American Midland Naturalist, 36: 467-493.
- Novelo, A., 2005. Flora del Bajío y regiones adyacentes. 133: Potamogetonaceae. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México, México DF, 1-21.
- Ocon, C., M. V. López-van Oosterom, M. I. Muñoz & A. Rodrigues Capítulo, 2013. Macroinvertebrate trophic responses to nutrient addition in a temperate stream in South America. Fundamental and Applied Limnology/Archiv für Hydrobiologie 182: 17-30.
- Okuma, M., Y. Fukushima & K. Tanaka, 1994. Feeding habitate (sic) of apple snail (*Pomacea canaliculata*) to paddy weeds and damage avoidance to rice seedlings. Weed Research (Tokyo) 39: 109-113.
- Panteleit, J., F. G. Horgan, M. Türke, A. Schmidt, M. Schädler, M. Bacht, R. Bradl & S. Hotes, 2018. Effects of detritivorous invertebrates on the decomposition of rice straw: evidence from a microcosm experiment. Paddy and Water Environment 16: 279-286.
- Parker, J. D., D. E. Burkepille & M. E. Hay, 2006. Opposing effects of native and exotic herbivores on plant invasions. Science 311: 1459-1461.
- Perrings, C., S. Burgiel, M. Lonsdale, H. Mooney & M. Williamson, 2010. International cooperation in the solution to trade-related invasive species risks. Annals of the New York Academy of Sciences 1195: 198-212.

- Pointier, J. P. & P. David, 2004. Biological control of *Biomphalaria glabrata*, the intermediate host of schistosomes, by *Marisa cornuarietis* in ponds of Guadeloupe: long-term impact on the local snail fauna and aquatic flora. *Biological Control* 29: 81-89.
- Power, M. E., D. Tilman, J. A. Estes, B. A. Menge, W. J. Bond, L. S. Mills, G. Daily, J. C. Castilla, J. Lubchenco & R. T. Paine, 1996. Challenges in the quest for keystones. *BioScience* 46: 609-620.
- Pyron, M. & K. M. Brown, 2015. Introduction to Mollusca and the Class Gastropoda. Pp: 383-421, en: Thorp, J. H. & D. C. Rogers eds., Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates: Ecology and General Biology, 4th edition. Academic Press.
- Qiu, J. W. & K. L. Kwong, 2009. Effects of macrophytes on feeding and life history traits of the invasive apple snail *Pomacea canaliculata*. *Freshwater Biology* 54: 1720-1730.
- Qiu, J. W., M. T. Chan, K. L. Kwong & J. Sun, 2011. Consumption, survival and growth in the invasive freshwater snail *Pomacea canaliculata*: does food freshness matter? *Journal of Molluscan Studies* 77: 189-195.
- Quirós, R., A. M. Rennella, M. A. Boveri, J. J. Rosso & A. Sosnovsky, 2002. Factores que afectan la estructura y el funcionamiento de las lagunas pampeanas. *Ecología Austral* 12: 175-185.
- Rawlings, T. A., K. A. Hayes, R. H. Cowie & T. M. Collins, 2007. The identity, distribution, and impacts of non-native apple snails in the continental United States. *BMC Evolutionary Biology* 7: 97.
- Ribas, L. G. D. S., E. R. Cunha, J. R. S. Vitule, R. P. Mormul, S. M. Thomaz & A. A. Padial, 2017. Biotic resistance by snails and fish to an exotic invasive aquatic plant. *Freshwater Biology* 62: 1266-1275.
- Ricciardi, A. & S. K. Atkinson, 2004. Distinctiveness magnifies the impact of biological invaders in aquatic ecosystems. *Ecology Letters* 7: 781-784.
- Roa, R., 1992. Design and analysis of multiple-choice feeding-preference experiments. *Oecologia* 89: 509-515.

- Rodrigues Capítulo, A., N. Gómez, A. Giorgi & C. Feijóo, 2010. Global changes in Pampean lowland streams (Argentina): implications for biodiversity and functioning. *Hydrobiologia* 657: 53-70.
- Saigo, M., M. Marchese & K. M. Wantzen, 2016. A closer look at the main actors of Neotropical floodplain food webs: functional classification and niche overlap of dominant benthic invertebrates in a floodplain lake of Paraná River. *Iheringia Série Zoologia* 106 e2016004.
- Sánchez, M. L., L. Lagomarsino, L. Allende & I. Izaguirre, 2015. Changes in the phytoplankton structure in a Pampean shallow lake in the transition from a clear to a turbid regime. *Hydrobiologia* 752: 65-76.
- Saveanu, L., 2014. Mecanismos y recursos tróficos alternativos del caracol macrofitófago *Pomacea canaliculata*. Tesis de Doctor en Biología. Universidad Nacional del Sur, Bahía Blanca, Argentina.
- Saveanu, L. & P. R. Martín, 2013. Pedal surface collecting as an alternative feeding mechanism of the invasive apple snail *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Journal of Molluscan Studies* 79: 11-18.
- Saveanu, L. & P. R. Martín, 2014. Egg cannibalism in *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda: Ampullariidae) from the Southern Pampas: An alternative trophic strategy? *Malacologia* 57: 341-351.
- Saveanu, L. & P. R. Martín, 2015. Neuston: a relevant trophic resource for apple snails? *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters* 52: 75-82.
- Saveanu, L., E. Manara & P. R. Martín, 2017. Carrion consumption and its importance in a freshwater trophic generalist: the invasive apple snail *Pomacea canaliculata*. *Marine and Freshwater Research* 68: 752-759.
- Schmölder, U. & W. Becker, 1990. Uptake of mineral particles by *Biomphalaria glabrata* (Say.) (Pulmonata, Mollusca) and its importance for growth rate and egg production. *Internationale Revue der Gesamten Hydrobiologie und Hydrographie* 75: 95-101.

- Seuffert, M. E. & P. R. Martín, 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. & P. R. Martín, 2013a. Distribution of the apple snail *Pomacea canaliculata* in Pampean streams (Argentina) at different spatial scales. *Limnologica - Ecology and Management of Inland Waters* 43: 91-99.
- Seuffert, M. E. & P. R. Martín, 2013b. Juvenile growth and survival of the apple snail *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda: Ampullariidae) reared at different constant temperatures. *SpringerPlus* 2: 312.
- Seuffert, M. E. & P. R. Martín, 2017. Thermal limits for the establishment and growth of populations of the invasive apple snail *Pomacea canaliculata*. *Biological Invasions* 19: 1169-1180.
- Seuffert, M. E., S. Burela & P. R. Martín, 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: 77-84.
- Silva, D. J. & A. C. Queiroz, 2002. *Análise de alimentos: métodos químicos e biológicos*. Universidade Federal de Viçosa,, 3ra edición, 235 pp.
- Simberloff, D., 2011. How common are invasion-induced ecosystem impacts? *Biological Invasions* 13: 1255-1268.
- Solis, M., C. Bonetto, N. Marrochi, A. Paracampo & H. Mugni, 2018. Aquatic macroinvertebrate assemblages are affected by insecticide applications on the Argentine Pampas. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 148: 11-16.
- Storey, R., 1970. The importance of mineral particles in the diet of *Limnaea pereger* (Muller). *Journal of Conchology* 27:191-195.
- Tamburi, N. E., & P. R., Martín. 2009a. Feeding rates and food conversion efficiencies in the apple snail *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Malacologia* 51: 221-232.

- Tamburi, N. E., & P. R., Martín. 2009b. Reaction norms of size and age at maturity of *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) under a gradient of food deprivation. *Journal of Molluscan Studies* 75: 19-26.
- Tamburi, N. E. & P. R. Martín, 2011. Effects of food availability on reproductive output, offspring quality and reproductive efficiency in the apple snail *Pomacea canaliculata*. *Biological Invasions* 13: 2351-2360.
- Teo, S. S., 2003. Damage potential of the golden apple snail *Pomacea canaliculata* (Lamarck) in irrigated rice and its control by cultural approaches. *International Journal of Pest Management* 49: 49-55.
- Thomas, J. D., 2001. Particle selection by snail hosts of human schistosomes in relation to their survival strategies and possible control by 'environmental antibodies'. *Journal of Applied Ecology* 38: 736-755.
- Thomaz, S. M. & E. R. D. Cunha, 2010. The role of macrophytes in habitat structuring in aquatic ecosystems: methods of measurement, causes and consequences on animal assemblages' composition and biodiversity. *Acta Limnologica Brasiliensia*, 22: 218-236.
- Tiecher, M. J., M. E. Seuffert & P. R. Martín, 2015. Thermal biology of the South American apple snail *Asolene platae* (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Malacologia* 58: 233-243.
- Türke, M., A. Schmidt, M. Schädler, S. Hotes & W. W. Weisser, 2018. Are invasive apple snails important neglected decomposers of rice straw in paddy fields? *Biological Agriculture & Horticulture*, 34: 245-257.
- van Lenteren, J. C., K. Bolckmans, J. Köhl, W. J. Ravensberg & A. Urbaneja, 2018. Biological control using invertebrates and microorganisms: plenty of new opportunities. *BioControl* 63: 39-59.
- van Soest, P. J., J. B. Robertson & B. A. Lewis, 1991. Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber, and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Journal of Dairy Science* 74: 3583-3597.
- Vega, I. A., C. Gamarra-Luques, E. Koch, L. E. Bussmann & A. Castro-Vazquez, 2005. A study of corpuscular DNA and midgut gland occupancy by putative symbiotic

- elements in *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda, Ampullariidae). *Symbiosis* 39: 37-45.
- Wada, T., 2004. Strategies for controlling the apple snail *Pomacea canaliculata* (Lamarck) (Gastropoda: Ampullariidae) in Japanese direct-sown paddy fields. *Japan Agricultural Research Quarterly* 38: 75-80.
- Wings, O., 2007. A review of gastrolith function with implications for fossil vertebrates and a revised classification. *Acta Palaeontologica Polonica* 52: 1-16.
- Wong, P. K., Y. Liang, N. Y. Liu & J. W. Qiu, 2010. Palatability of macrophytes to the invasive freshwater snail *Pomacea canaliculata*: differential effects of multiple plant traits. *Freshwater Biology* 55: 2023-2031.
- Xu, M., J. T. A. Dick, A. Ricciardi, M. Fang, C. Zhang, D. Gu, X. Mu, D. Luo, H. Wei & Y. Hu, 2016. Warming mediates the relationship between plant nutritional properties and herbivore functional responses. *Ecology and Evolution* 6: 8777-8784.
- Yam, R. S. W., Y. T. Fan & T. T. Wang, 2016. Importance of macrophyte quality in determining life-history traits of the apple snails *Pomacea canaliculata*: Implications for bottom-up management of an invasive herbivorous pest in constructed wetlands. *International Journal of Environmental Research and Public Health* 13: 248.
- Yusa, Y., 2007, Nuclear sex-determining genes cause large sex-ratio variation in the apple snail *Pomacea canaliculata*. *Genetics* 175: 179–184.
- Yusa, Y. & N. Kumagai, 2018. Evidence of oligogenic sex determination in the apple snail *Pomacea canaliculata*. *Genetica* 146: 264-275.
- Zavaleta, E. S., R. J. Hobbs & H. A. Mooney, 2001. Viewing invasive species removal in a whole-ecosystem context. *Trends in Ecology & Evolution* 16: 454-459.