

**DISTRIBUCIÓN Y VULNERABILIDAD DE DOS GÉNEROS
DE GASTERÓPODOS DULCEACUÍCOLAS ENDÉMICOS DE
SUDAMÉRICA, EN LA COSTA BONAERENSE DEL
RÍO DE LA PLATA**

Lic. Micaela de Lucía

Director: Diego Eduardo Gutiérrez Gregoric

Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo

Año 2022





Universidad Nacional de La Plata
Facultad de Ciencias Naturales y Museo

**DISTRIBUCIÓN Y VULNERABILIDAD DE DOS GÉNEROS DE
GASTERÓPODOS DULCEACUÍCOLAS ENDÉMICOS DE SUDAMÉRICA,
EN LA COSTA BONAERENSE DEL RÍO DE LA PLATA**

Autor: Lic. Micaela de Lucía

Director: Dr. Diego Eduardo Gutiérrez Gregoric

Tesis presentada para optar al título de Doctora en Ciencias Naturales
de la Universidad Nacional de La Plata

Lugar de Trabajo:
Unidad de Investigación Anexo Museo I, División Zoología Invertebrados, Museo de La Plata
Facultad de Ciencias Naturales y Museo
Universidad Nacional de La Plata

La Plata, 2022

AGRADECIMIENTOS

A Enzo, mi pareja, por apoyarme y escucharme durante este trayecto. Por bancarse el olor a alcohol y el armado de laboratorio en casa durante la pandemia. Por entender todos mis “no entiendo”, y por acompañarme en todo momento.

A Iris, por ser parte de mi vida y escucharme, porque aunque no habla una mirada suya dice todo.

A mis papás, que me enseñaron que hay que hacer lo que a uno le gusta y le hace feliz. Sin su apoyo incondicional no estaría acá. A mi papá, que aunque no entendía cómo me parecían tan lindos estos animales, siempre estuvo dispuesto a mirar un poster, llevarme a juntar bichos o conseguirme pelos de lo que necesitara. A mi mamá, que sin saber que tenía que hacer estuvo dispuesta a muestrear, y juntar esas “piedritas” (según ella); y me ayudo además a contar y separar muestras. Además de todo su apoyo durante estos años y su guía para no aflojar nunca. Al resto de mi familia de sangre y política por escucharme o simplemente interesarse en lo que hago.

A mi director, Diego, por recibirme cuando fui a hablar de moluscos, darme un lugar para trabajar con él y presentarme estos caracoles. Por tener las ganas y la paciencia (sobretudo paciencia) de enseñarme a trabajar con estos animales minúsculos. Por enseñarme a no rendirme cuando las cosas no salen o a calmarme cuando enloquecía.

A las “chicas de la facu”: Pau, Estef, Bel, Yami y Majo, siempre presentes en todo, con un oído, un mate, una cena o un audio. Por estos casi 15 años de amistad que me dieron, y por su apoyo incondicional. En especial a Pau que siempre me apoyo a seguir intentando cuando las cosas no salían o cuando desesperaba; y a Estef por sus caminatas en el parque y su oído o experiencias previas compartidas en este camino, además de toda su ayuda con la estadística, las revisiones y los comentarios.

A las “chicas del lab”: Agus por ser mi compañera de muestreo en la isla, por esos viajes interminables (micro-tren-lancha), todas esas colectas bajo el sol, niebla, o esas caminatas por el intangible (tan feas, en muchos momentos). A Noe, que sin ella no se me hubiera ocurrido nunca pisar Bs As, mucho menos realizar cursos y materias en la UBA. A Mari, por ser también compañera de muestreo, y de pérdidas en autopista. Además de todas charlas entre mates, cappuccinos, ADN y PCR; todo el apoyo y el conocimiento que me dieron, y por permitirme conocerlas mejor durante estos años.

A las “chicas de Bolívar”, Coni y Mari, por recordarme porque elegí lo que elegí hacer en mi vida cuando quise bajar los brazos; por escucharme, alentarme y estar siempre.

A aquellas personas de la División Zoología Invertebrados y del Anexo, que me ayudaron de diversas maneras, ya sea enseñándome, juntando material, comentándome algo, escuchándome, mirando las peceras, o simplemente ofreciéndome un mate en el mejor momento (Gustavo Darrigran,

Lisandro Negrete, Francisco Brusa, Cristina Damborenea, Alejandra Rumi, Hugo Merlo, Santiago Torres, Verónica Núñez, Luciana Cao, Francisco Brea, Stella Martín, Bettina Gullo). En especial a Roberto Vogler y a Ariel Beltramino, que siempre estuvieron dispuestos a ayudarme, enseñarme y contestar todas mis dudas sobre la molécula, ya sea por un mensaje, un mail o un zoom.

A la Asociación Argentina de Malacología (ASAM) y al Conchologists of America (COA), por sus premios los cuales cubrieron parte de los gastos necesarios para el desarrollo de esta investigación.

A los guardaparques de la Isla Martín García (Eugenia, Nazareno y Gloria) por mostrarnos los caminos y estar atentos a que siempre salgamos del intangible. A Claudio, Marcela, Graciela (Hostal & Camping Escuela de Grumetes), y a José (Comedor Solís), por la logística y apoyo durante los viajes a la isla.

A las colecciones malacológicas (los curadores y técnicos) del Museo de La Plata, del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia y del Museo de Historia Natural de Viena.

A la Facultad de Ciencias Naturales y Museo (UNLP) por ser mi lugar de formación, y a la Comisión de Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires (CIC), por otorgarme la Beca Doctoral, sin las cuales no habría podido realizar este trabajo.

Debido a la situación de pandemia de Covid-19 ocurrida durante 2020-2021, y a las disposiciones de ASPO (Aislamiento Social, Preventivo y Obligatorio) y DISPO (Distanciamiento Social, Preventivo y Obligatorio) las cuales limitaron los ingresos a los laboratorios y a los establecimientos no se pudo realizar la amplificación de más ejemplares del gen 16S, así como tampoco un análisis en profundidad de los lotes que se adquirieron en préstamo de las colecciones malacológicas del Museo de La Plata y del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia (por ejemplo fotografías en microscopio electrónico de barrido, anatomía interna). Por este motivo, las descripciones detalladas en los resultados solo corresponden a los ejemplares colectados en este trabajo y no a los consultados en las colecciones malacológicas.

ÍNDICE GENERAL

RESUMEN	1
ABSTRACT	5
ORGANIZACIÓN GENERAL DE LA TESIS	8
INTRODUCCIÓN GENERAL	9
OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	16
CAPÍTULO 1: Especies de los géneros <i>Potamolithus</i> y <i>Chilina</i> presentes en la costa bonaerense del Río de la Plata	18
INTRODUCCIÓN	19
MATERIALES Y MÉTODOS	21
i. Área de muestreo	21
ii. Descripción de los sitios de muestreo	22
iii. Colecta y relajación del material	27
iv. Análisis morfológico y anatómico	27
v. Análisis molecular	33
v.i. <i>Elección de los genes</i>	33
v.ii. <i>Extracción del ADN</i>	34
v.iii. <i>Elección de los primers, amplificación en cadena de la Polimerasa y purificación</i>	34
v.iv. <i>Obtención y edición de la secuencia</i>	35
v.v. <i>Análisis bioinformáticos</i>	36
v.v.i. <i>Análisis filogenéticos</i>	36
v.v.ii. <i>Delimitación de especies</i>	38
RESULTADOS	42

Género <i>Potamolithus</i>	42
Análisis anatómicos	42
<i>Potamolithus agapetus</i> Pilsbry, 1911	44
<i>Potamolithus bisinuatus</i> Pilsbry, 1896	51
<i>Potamolithus buschii</i> (Frauenfeld, 1865)	58
<i>Potamolithus</i> sp.	65
Análisis molecular	71
Género <i>Chilina</i>	77
Análisis molecular	77
DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN	83
CAPÍTULO 2: Estudios poblacionales de <i>Potamolithus</i> spp. y <i>Chilina fluminea</i> en la costa bonaerense del Río de la Plata	86
INTRODUCCIÓN	87
MATERIALES Y MÉTODOS	90
i. Sitios de muestreo, colecta y relajación del material	90
ii. Ensayo de crecimiento en <i>Potamolithus</i>	92
iii. Análisis de datos	92
<i>Potamolithus</i> spp.	92
Análisis de densidades	93
Análisis de crecimiento en laboratorio	95
<i>Chilina fluminea</i>	96
Análisis de densidades	96
Análisis de crecimiento en campo	96
RESULTADOS	98
<i>Potamolithus</i> spp.	98
Análisis de densidades	98
Análisis de crecimiento en laboratorio	102

<i>Chilina fluminea</i>	108
Análisis de densidades	108
Análisis de crecimiento en campo	114
DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN	117
CAPÍTULO 3: <i>Limnoperna fortunei</i> ¿una amenaza para los géneros <i>Potamolithus</i> y <i>Chilina</i> ?	121
INTRODUCCIÓN	122
MATERIALES Y MÉTODOS	124
i. Sitios de muestreo, colecta, relajación del material y análisis de los ejemplares	124
ii. Análisis de datos	126
RESULTADOS	127
DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN	129
CAPÍTULO 4: Malacofauna en la costa bonaerense del Río de la Plata, identificación y distribución	132
INTRODUCCIÓN	133
MATERIALES Y MÉTODOS	139
i. Sitios de muestreo, colecta y relajación del material	139
ii. Análisis morfológico	139
iii. Análisis de datos	139
RESULTADOS	140
DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN	150
CAPÍTULO 5: Estado de amenaza de <i>Potamolithus</i> spp. y <i>Chilina fluminea</i> en la provincia de Buenos Aires	154
INTRODUCCIÓN	155
MATERIALES Y MÉTODOS	159
RESULTADOS	160

Género <i>Potamolithus</i>	160
<i>Chilina fluminea</i>	162
<i>Lista de amenazas verificadas para ambas entidades en la provincia de Buenos Aires</i>	164
DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN	165
CONCLUSIÓN	169
REFERENCIAS	173
ANEXO	197

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1. Mapa de los sitios muestreados ordenados de norte a sur	21
Figura 1.2. Mapa indicando los subsitios de la Isla Martín García	23
Figura 1.3. Isla Martín García	23
Figura 1.4. Playa Anchorena	24
Figura 1.5. Reserva Natural Punta Lara	25
Figura 1.6. Balneario Bagliardi	25
Figura 1.7. Balneario La Balandra	26
Figura 1.8. Reserva Natural Privada “El Destino”	26
Figura 1.9. Playa Punta Piedras	27
Figura 1.10. Medidas de la concha del género <i>Potamolithus</i>	29
Figura 1.11. Conchas del género <i>Potamolithus</i> consultadas	32
Figura 1.12. Concha de <i>Potamolithus agapetus</i>	45
Figura 1.13. Rádula de <i>Potamolithus agapetus</i>	46
Figura 1.14. Esquema de anatomía externa e interna de <i>Potamolithus agapetus</i>	49
Figura 1.15. Concha de <i>Potamolithus bisinuatus</i>	52
Figura 1.16. Rádula de <i>Potamolithus bisinuatus</i>	53
Figura 1.17. Esquema de anatomía externa e interna de <i>Potamolithus bisinuatus</i>	55
Figura 1.18. Concha de <i>Potamolithus buschii</i>	59
Figura 1.19. Rádula de <i>Potamolithus buschii</i>	60
Figura 1.20. Esquema de anatomía externa e interna de <i>Potamolithus buschii</i>	63
Figura 1.21. Concha de <i>Potamolithus</i> sp.	66
Figura 1.22. Rádula de <i>Potamolithus</i> sp.	66
Figura 1.23. Esquema de anatomía externa e interna de <i>Potamolithus</i> sp.	69
Figura 1.24. Relaciones filogenéticas y delimitación de especies en el género <i>Potamolithus</i>	74
Figura 1.25. Conchas del género <i>Chilina</i> en diferentes vistas	77
Figura 1.26. Relaciones filogenéticas y delimitación de especies en el género <i>Chilina</i>	80
Figura 2.1. Esquema de muestreo de una transecta	91

Figura 2.2. Porcentaje de ejemplares de <i>Potamolithus</i> hembras versus machos en las distintas estaciones del año	100
Figura 2.3. Porcentaje de ejemplares de <i>Potamolithus</i> juveniles versus adultos en las distintas estaciones del año	101
Figura 2.4. Huevos del género <i>Potamolithus</i> sobre un ejemplar juvenil en alcohol, colectado en campo	103
Figura 2.5. Estadios de los huevo en <i>Potamolithus</i> sp.	104
Figura 2.6. Método gráfico de Walford para obtener el valor de L_{∞} para hembras de <i>Potamolithus</i> sp.	105
Figura 2.7. Método gráfico de Walford para obtener el valor de L_{∞} para machos de <i>Potamolithus</i> sp.	105
Figura 2.8. Curvas de crecimiento teórico (líneas violetas) de <i>Potamolithus</i> sp. (hembras círculos rosa, machos: círculos verdes).....	106
Figura 2.9. Regresión lineal simple entre la longitud observada versus estimada (esperada) de <i>Potamolithus</i> sp. hembras.	107
Figura 2.10. Regresión lineal simple entre la longitud observada versus estimada (esperada) de <i>Potamolithus</i> sp. machos	107
Figura 2.11. Puestas de <i>Chilina</i> sp.	109
Figura 2.12. Distribución de tallas de <i>Chilina fluminea</i> en Isla Martín García (Punta Cañón)	110
Figura 2.13. Distribución de tallas de <i>Chilina fluminea</i> en Playa Anchorena	111
Figura 2.14. Distribución de tallas de <i>Chilina fluminea</i> en la Reserva Natural Punta Lara	111
Figura 2.15. Distribución de tallas de <i>Chilina fluminea</i> en el Balneario Bagliardi	112
Figura 2.16. Porcentaje de <i>Chilina fluminea</i> juveniles versus adultos	113
Figura 2.17. Curvas de crecimiento teórico de <i>Chilina fluminea</i> para los sitios analizados	114
Figura 2.18. Curva de crecimiento teórico (línea violeta) de <i>Chilina fluminea</i> en Playa Anchorena	115
Figura 2.19. Curva de crecimiento teórico (línea violeta) de <i>Chilina fluminea</i> en el Balneario Bagliardi	115
Figura 2.20. Valores de longitud del último anfracto observada versus estimada (esperada) de <i>Chilina fluminea</i> en el sitio Playa Anchorena	116
Figura 2.21. Valores de longitud del último anfracto observada versus estimada (esperada)	

de <i>Chilina fluminea</i> en el sitio Balneario Bagliardi	116
Figura 3.1. <i>Limnoperna fortunei</i>	125
Figura 4.1. Playa Anchorena, imágenes de archivo	135
Figura 4.2. Modificaciones en Playa Anchorena	135
Figura 4.3. Cambios en Playa Anchorena a través de los años	136
Figura 4.4. Cambios en Atalaya a través de los años	137
Figura 4.5. Especies de gasterópodos hallados en la costa bonaerense del Río de la Plata	141
Figura 4.6. Especies de bivalvos hallados en la costa bonaerense del Río de la Plata	146
Figura 4.7. Isla Martín García, subsitio Punta Cañón; gasterópodos en su ambiente	147
Figura 4.8. Pozas de Balneario Bagliardi, gasterópodos en su ambiente	148
Figura 5.1. Estructura de las categorías usadas a nivel regional, tomado de UICN (2012b)	157
Figura 5.2. Mapa de distribución histórica (círculos violeta) y actual (círculos verdes) del género <i>Potamolithus</i> en la provincia de Buenos Aires	161
Figura 5.3. Mapa de distribución histórica (círculos violeta) y actual (círculos verdes) de <i>Chilina fluminea</i> en la provincia de Buenos Aires	163

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1.1. Medidas de concha (mm) de <i>Potamolithus agapetus</i>	46
Tabla 1.2. Medidas anatómicas (mm) de <i>Potamolithus agapetus</i>	50
Tabla 1.3. Medidas de concha (mm) de <i>Potamolithus bisinuatus</i>	54
Tabla 1.4. Medidas anatómicas (mm) de <i>Potamolithus bisinuatus</i>	56
Tabla 1.5. Medidas de concha (mm) de <i>Potamolithus buschii</i>	60
Tabla 1.6. Medidas anatómicas (mm) de <i>Potamolithus buschii</i>	64
Tabla 1.7. Medidas de concha (mm) de <i>Potamolithus</i> sp.	67
Tabla 1.8. Medidas anatómicas (mm) de <i>Potamolithus</i> sp.	70
Tabla 1.9. Matriz de distancias genéticas entre especies del género <i>Potamolithus</i>	71
Tabla 1.10. Delimitación de especies del género <i>Potamolithus</i> por el método K/θ	75
Tabla 1.11. Matriz de distancias genéticas entre especies del género <i>Chilina</i>	78
Tabla 1.12. Delimitación de especies del género <i>Chilina</i> por el método K/θ	81
Tabla 2.1. Media (±) desvío estándar de la densidad total (ind./cm ³) del género <i>Potamolithus</i> ..	99
Tabla 2.2. Media (±) desvío estándar de la densidad (ind./cm ³) de cada especie del género <i>Potamolithus</i> durante el año 2019	99
Tabla 2.3. Media (±) desvío estándar de la densidad (ind./cm ³) de ejemplares del género <i>Potamolithus</i> hembras y machos	100
Tabla 2.4. Media (±) desvío estándar de la densidad (ind./cm ³) de ejemplares del género <i>Potamolithus</i> juveniles y adultos	101
Tabla 2.5. Media (±) desvío estándar de la densidad de huevos adheridos por individuos del género <i>Potamolithus</i>	102
Tabla 2.6. Media (±) desvío estándar de la densidad total (ind./30min) de <i>Chilina fluminea</i> , por sitios y estación del año	108
Tabla 2.7. Media (±) desvío estándar de la densidad total (ind./30min) de juveniles y adultos de <i>Chilina fluminea</i> , por sitios y estación del año	113
Tabla 3.1. Sitios (localidades) y tipos de sustratos muestreados	124
Tabla 3.2. Media (±) desvío estándar de la densidad (ind./m ²) total de <i>Limnoperna fortunei</i> ...	127
Tabla 3.3. Media (±) desvío estándar de la densidad (ind./m ²) de los moluscos acompañantes en los distintos sitios muestreados	128
Tabla 4.1. Lista de especies, distribución y frecuencia en los sitios muestreados en la costa bonaerense del Río de la Plata	142

ÍNDICE DE ANEXO

Anexo 1.1. Secuencias utilizadas en los análisis filogenéticos del gen COI de los géneros <i>Potamolithus</i> y <i>Chilina</i>	198
Anexo 1.2. Secuencias obtenidas para el género <i>Potamolithus</i>	203
Anexo 1.3. Secuencias utilizadas en el análisis del género <i>Potamolithus</i> ; alineadas	208
Anexo 1.4. Matriz de distancias genéticas de todos los ejemplares del género <i>Potamolithus</i> utilizados	215
Anexo 1.5. Relaciones filogenéticas entre linajes de COI en especies del género <i>Potamolithus</i> . Análisis de Neighbor-Joining	223
Anexo 1.6. Relaciones filogenéticas entre linajes de COI en especies del género <i>Potamolithus</i> . Análisis de Máxima Verosimilitud	224
Anexo 1.7. Secuencias utilizadas en el análisis del género <i>Chilina</i>	225
Anexo 1.8. Matriz de distancias genéticas de todos los ejemplares del género <i>Chilina</i> utilizados	229
Anexo 1.9. Relaciones filogenéticas entre linajes de COI en especies del género <i>Chilina</i> . Análisis de Neighbor-Joining	231
Anexo 1.10. Relaciones filogenéticas entre linajes de COI en especies del género <i>Chilina</i> . Análisis de Máxima Verosimilitud	232
Anexo 4.1. Áreas Protegidas en la costa bonaerense del Río de la Plata	233
Anexo 4.2. Especies de moluscos citadas para la costa bonaerense del Río de la Plata, sin tomar en cuenta los ambientes internos	234
Anexo 5.1. Resumen de los cinco criterios (A - E) utilizados para evaluar la pertenencia de una especie a una de las categorías de amenaza de la Lista Roja de UICN (UICN, 2012a)	239
Anexo 5.2. Sistema de clasificación de amenazas utilizado en el proceso de evaluación de moluscos de agua dulce (Böhm et al., 2021)	240

RESUMEN

La introducción de especies no-nativas constituye actualmente una de las principales causas de pérdida de biodiversidad, seguida por la destrucción del hábitat. En este sentido, los moluscos presentan el mayor número de extinciones documentada, hecho que se ve agravado debido a que gran cantidad de entidades no se hallan identificadas, y a la faltante de datos de importancia como distribución, tamaño poblacional, abundancia, ciclo vital básico, fisiología y morfología. Los moluscos dulceacuícolas representan uno de los grupos más diversos de organismos de agua dulce, pero se encuentran bajo altos niveles de amenaza, siendo los más frecuentes la contaminación, la modificación del sistema natural, las especies invasoras, la agricultura, y el uso de recursos biológicos.

La diversidad y riqueza de gasterópodos dulceacuícolas en la Argentina ha sido estudiada en los últimos años y se determinó que el Río de la Plata presenta uno de los mayores valores de diversidad, junto con los ríos Paraná, Iguazú y Uruguay. Los mayores valores de riqueza en estos sitios están dados por representantes de las familias Tateidae (género *Potamolithus*) y Chilinidae (género *Chilina*). El género *Potamolithus* ha sido en general foco de pocos estudios, remontándose la mayoría a descripciones de sus especies. Actualmente la mayor información que se conoce es sobre sus conchas, con poca información de su anatomía, y prácticamente nula información a nivel poblacional y genético-molecular. Por otro lado, el género *Chilina* posee estudios taxonómicos, poblacionales e inicios de estudios genéticos-moleculares.

En las costas bonaerenses del Río de la Plata se han citado siete especies del género *Potamolithus* y cuatro del género *Chilina*. Estas costas son un ambiente de múltiples usos (pesca, puerto, transporte, fuente de agua potable y aguas residuales, vertido de residuos y efluentes industriales, recreación) que podrían afectar a estas especies, sin embargo, se desconoce el impacto de estas amenazas. A lo largo de los años han sufrido varias modificaciones, realizadas por el hombre de manera directa (ganándole terreno al río, modificando su sustrato con rocas y arena no propias del lugar ya sea para prevenir inundaciones o para generar espacios de recreación, entre otros) o de manera indirecta (introducción no intencional de especies invasoras como el bivalvo *Limnoperna fortunei*). Debido a que existe una marcada insuficiencia general de datos sobre el estado de las especies de estos géneros dentro de la región, se plantea como objetivo general evaluar el grado de amenaza de los gasterópodos nativos de los géneros *Potamolithus* y *Chilina*.

presentes en la costa bonaerense del Río de la Plata sobre la base de estudios conquiológicos, anatómicos, moleculares, poblacionales y de distribución.

Se establecieron como sitios de muestreo áreas protegidas y no protegidas de la costa bonaerense del Río de la Plata, desde la naciente hacia la desembocadura: Isla Martín García (IMG); Playa Anchorena; Reserva Natural Punta Lara; Balneario Bagliardi; Balneario La Balandra; Reserva Natural Privada “El Destino”; y Playa de Punta Piedras. Los muestreos se realizaron entre los años 2018 y 2020 durante las cuatro estaciones climáticas.

Representantes del género *Potamolithus* fueron hallados solo en el sitio IMG, los análisis anatómicos revelaron la presencia de cuatro especies (tres de las cuales ya han sido citadas para ese sitio y una posiblemente nueva): *P. agapetus*, *P. bisinuatus*, *P. buschii* y *Potamolithus* sp. En cuanto a los datos moleculares se obtuvieron 47 secuencias en total, de las cuales 34 pertenecen a el género *Potamolithus* (28 para el gen citocromo oxidasa c subunidad I -COI- y seis para el gen mitocondrial 16S). Los análisis moleculares (gen COI) revelaron la presencia de cinco posibles especies (*P. agapetus*, *P. bisinuatus*, *P. buschii*, *Potamolithus* sp1 y *Potamolithus* sp2), debido a que *Potamolithus* sp. anatómicamente no es posible de diferenciar.

En tanto, individuos del género *Chilina* se registraron en todos los sitios excepto en la Reserva Natural Privada “El Destino”. Los análisis anatómicos del género *Chilina* revelaron la presencia de dos especies: *C. fluminea* hallada en todos los sitios y *C. rushii* (solo hallada en IMG). Para este género, se obtuvieron 18 secuencias (17 para el gen COI y una para el gen 16S) y los análisis moleculares no presentaron a estas especies como especies distintas.

Los análisis poblacionales en el género *Potamolithus* demostraron que: las mayores densidades se dan en verano, las especies que se hallan en mayor densidad son *P. buschii* y *Potamolithus* sp., no existen diferencias entre las proporciones de hembras y machos y que, si bien se reproducen a lo largo de todo el año, el mayor esfuerzo reproductivo lo realizan durante la estación de primavera. El crecimiento individual llevado a cabo en laboratorio para la especie *Potamolithus* sp. responde al modelo logístico y su longevidad máxima es de 665 días.

Los análisis poblacionales en *Chilina fluminea* demostraron que el sitio con mayor densidad es la IMG, y al contrario de lo que sucede con *Potamolithus* las mayores densidades de *Chilina* se dan durante la estación de invierno. Se evidenció que se reproducen a lo largo de todo el año, pero el mayor esfuerzo reproductivo se da durante las estaciones de otoño e

invierno; y el crecimiento individual realizado en campo se ajustó al modelo de von Bertalanffy.

En los mismos sitios donde se halló al género *Chilina*, también se halló a el bivalvo invasor *Limnoperna fortunei*. Los análisis estadísticos de este bivalvo invasor demostraron que hay diferencias significativas en cuanto a su densidad en los distintos sitios muestreados, siendo mayor en el Balneario La Balandra y menor en la IMG. En cuanto a los moluscos que fueron hallados sobre *L. fortunei* (*Heleobia piscium*, *Anisancylus obliquus*, *Potamolithus buschii*, *Chilina fluminea* y *Corbicula fluminea*) solo se encontraron diferencias significativas en la densidad de *H. piscium*, siendo el Balneario La Balandra el sitio con mayor densidad.

La malacofauna total hallada durante este trabajo de tesis consistió en representantes de los géneros *Asolene*, *Pomacea*, *Chilina*, *Heleobia*, *Anisancylus*, *Hebetancylus*, *Uncancylus*, *Biomphalaria*, *Drepanotrema*, *Physa*, *Potamolithus*, *Corbicula*, *Erodona*, *Rhipidodonta*, *Anodontites*, *Limnoperna*, *Eupera*, *Musculium* y *Pisidium*. Las especies más frecuentes y registradas en varios de los sitios muestreados fueron *Chilina fluminea*, *Heleobia piscium* y *Limnoperna fortunei*.

A través de mapas de distribución histórica versus actual para la provincia de Buenos Aires se demostró que la distribución histórica del género *Potamolithus* era más amplia, ya que se lo hallaba a lo largo de la costa continental llegando hasta Atalaya. Actualmente, en la provincia de Buenos Aires este género queda restringido a las costas de la IMG. En cuanto al género *Chilina*, si bien se la halló en casi todos los sitios muestreados, la presencia en los mismos fue restringida a un área muy pequeña, y no de manera continua a lo largo de la costa.

Sobre la base de los resultados obtenidos en este trabajo de tesis se concluye que el género *Potamolithus* se haya extinto localmente en la costa continental bonaerense del Río de la Plata, hallándose actualmente solo en la Isla Martín García en estado de En Peligro Crítico. Mientras que el género *Chilina* se haya en un estado de En Peligro a lo largo de la costa bonaerense del Río de la Plata, con una distribución de a “parches”. Las causas de la extinción del género *Potamolithus* y el estado de amenaza del género *Chilina* no son conocidas, aunque se infiere que podría deberse a la modificación que ha sufrido el sustrato por parte del hombre y/o por la aparición del mejillón invasor *Limnoperna fortunei*. Hay que remarcar que el mejillón se haya en la Isla Martín García conviviendo con *Potamolithus* y *Chilina*, sin embargo, como evidenciamos en los análisis estadísticos, la densidad del mismo es mucho menor que en la costa continental bonaerense en el Río de la Plata.

Por lo expuesto anteriormente, se recomienda intensificar los esfuerzos de conservación de los ambientes protegidos (sobre todo en la Isla Martín García debido a que es el sitio donde se hallaron ambos géneros; y en la costa de la Reserva Natural Punta Lara, ya que la misma es modificada de manera continua), para así proteger a las especies de moluscos nativos.

ABSTRACT

The introduction of non-native species is currently one of the main cause of biodiversity loss, followed by habitat destruction. In this sense, mollusks present the highest number of documented extinctions, a fact that is aggravated because a large number of entities have not been identified, and the lack of important data such as distribution, population size, abundance, basic life cycle, physiology, and morphology. Freshwater mollusks represent one of the most diverse groups of freshwater organisms but are under high levels of threat, the most frequent being pollution, modification of the natural system, invasive species, agriculture, and the use of biological resources.

The diversity and richness of freshwater gastropods in Argentina have been studied in recent years and it was determined that the Río de la Plata river presents one of the highest diversity values, along with the Paraná, Iguazú, and Uruguay rivers. The highest richness values in these sites are given by representatives of the families Tateidae (genus *Potamolithus*) and Chiliniidae (genus *Chilina*). The genus *Potamolithus* has generally been the focus of few studies, the majority going back to descriptions of its species. Currently, the most information that is known is about their shells, with little information on their anatomy, and practically no information at the population and genetic-molecular level. On the other hand, the genus *Chilina* has taxonomic and population studies and the beginning of genetic-molecular studies.

Seven species of the genus *Potamolithus* and four of the genus *Chilina* have been cited on the Buenos Aires coasts of the Río de la Plata river. These coasts are an environment with multiple uses (fishing, port, transportation, source of drinking water and wastewater, dumping of waste and industrial effluents, recreation) that could affect these species, however, the impact of these threats is unknown. Over the years they have undergone several modifications, carried out by man directly (gaining ground from the river, modifying its substrate with rocks and sand not typical of the place, either to prevent floods or to generate recreational spaces, among others) or indirectly (unintentional introduction of invasive species such as the bivalve *Limnoperna fortunei*). Due to the fact that there is a marked general insufficiency of data on the status of the species of these genera within the region, the general objective is to assess the degree of threat of the native gastropods of the genera *Potamolithus* and *Chilina* present on the Buenos Aires coast of the Río de la Plata river on the basis of conchological, anatomical, molecular, population and distribution studies.

Protected and unprotected areas of the Buenos Aires coast of the Río de la Plata river, from the source to the mouth, were established as sampling sites: Martín García Island (IMG); Anchorena Beach; Punta Lara Natural Reserve; Bagliardi Beach; La Balandra Beach; Private Natural Reserve “El Destino”; and Punta Piedras Beach. The samplings were carried out between the years 2018 and 2020 during the four climatic seasons.

Representatives of the genus *Potamolithus* were found only at the IMG site, anatomical analyzes revealed the presence of four species (three of which have already been cited for that site and one possibly new): *P. agapetus*, *P. bisinuatus*, *P. buschii* and *Potamolithus* sp. Regarding the molecular data, a total of 47 sequences were obtained, of which 34 belong to the genus *Potamolithus* (28 for the cytochrome oxidase c subunit I -COI-gene and six for the 16S mitochondrial gene). Molecular analyzes (COI gene) revealed the presence of five possible species (*P. agapetus*, *P. bisinuatus*, *P. buschii*, *Potamolithus* sp1, and *Potamolithus* sp2) because *Potamolithus* sp. anatomically it is not possible to differentiate.

Meanwhile, individuals of the genus *Chilina* were recorded in all the sites except in the Private Natural Reserve “El Destino”. Anatomical analyzes of the genus *Chilina* revealed the presence of two species: *C. fluminea* found at all sites and *C. rushii* (only found in IMG). For this genus, 18 sequences were obtained (17 for the COI gene and one for the 16S gene) and the molecular analyzes did not present these species as distinct species.

Population analyzes in the genus *Potamolithus* showed that: the highest densities occur in summer, the species with the highest density are *P. buschii* and *Potamolithus* sp., there are no differences between the proportions of females and males; and that although they reproduce throughout the year, the greatest reproductive effort is made during the spring season. The individual growth carried out in the laboratory for the species *Potamolithus* sp. response to the logistic model, and its maximum longevity is 665 days.

Population analyzes in *Chilina fluminea* showed that the site with the highest density is the IMG, and contrary to what happens with *Potamolithus*, the highest densities of *Chilina* occur during the winter season. It was evidenced that they reproduce throughout the year, but the greatest reproductive effort occurs during the autumn and winter seasons, and the individual growth carried out in the field was adjusted to the von Bertalanffy model.

At the same sites where the genus *Chilina* was found, the invading bivalve *Limnoperna fortunei* was also found. The statistical analysis of this invasive bivalve showed that there are significant differences in terms of its density in the different sampled sites,

being higher in the La Balandra Beach and lower in the IMG. Regarding the mollusks that were found on *L. fortunei* (*Heleobia piscium*, *Anisancylus obliquus*, *Potamolithus buschii*, *Chilina fluminea*, and *Corbicula fluminea*) only significant differences were found in the density of *H. piscium*, being the La Balandra Beach the site with the highest density.

The total malacofauna found during this thesis work consisted of representatives of the genera *Asolene*, *Pomacea*, *Chilina*, *Heleobia*, *Anisancylus*, *Hebetancylus*, *Uncancylus*, *Biomphalaria*, *Drepanotrema*, *Physa*, *Potamolithus*, *Corbicula*, *Erodona*, *Rhipidodonta*, *Anodontites*, *Limnoperna*, *Eupera*, *Musculium*, and *Pisidium*. The most frequent and recorded species in several of the sampled sites were *Chilina fluminea*, *Heleobia piscium*, and *Limnoperna fortunei*.

Through maps of historical versus current distribution for the province of Buenos Aires, it was shown that the historical distribution of the genus *Potamolithus* was broader since it was found along the continental coast reaching Atalaya. Currently, in the province of Buenos Aires, this genus is restricted to the shores of the IMG. Regarding the genus *Chilina*, although it was found in almost all the sampled sites, its presence was restricted to a very small area, and not continuously along the coast.

Based on the results obtained in this thesis work, it is concluded that the genus *Potamolithus* has become locally extinct on the Buenos Aires continental coast of the Río de la Plata river, currently only being found on Martín García Island in a Critically Endangered state. While the genus *Chilina* is in a state of Endangered along the Buenos Aires coast of the Río de la Plata river, with a distribution of “patches”. The causes of the extinction of the genus *Potamolithus* and the threat status of the genus *Chilina* are not known, it is inferred that it could be due to the modification that the substrate has undergone by man and/or by the appearance of the invading mussel *Limnoperna fortunei*. It should be noted that the mussel was found on Martín García Island coexisting with *Potamolithus* and *Chilina*, however, as we evidenced in the statistical analysis, its density is much lower than on the continental coast of Buenos Aires in the Río de la Plata river.

Due to the above, it is recommended to intensify conservation efforts in protected environments (especially on Martín García Island because it is the site where both genera were found; and on the coast of the Punta Lara Natural Reserve, since they are continuously modified), to protect native mollusk species.

ORGANIZACIÓN GENERAL DE LA TESIS

Este trabajo de Tesis se encuentra organizado de la siguiente manera:

Introducción General, donde se plantean los antecedentes que dan base a los objetivos planteados. Presentando los géneros que se estudiarán, detallando número de especies conocidas, distribución, y datos que existen publicados hasta el momento (sobre la base de estudios de su anatomía, genética y ecología) y su estado de conservación.

Capítulo 1, se encuentra orientado a la identificación de las especies, desde el punto de vista anatómico y genético, de los géneros *Potamolithus* y *Chilina* que habitan la costa bonaerense del Río de la Plata. Donde se dará un enfoque más amplio al género *Potamolithus*, detallando su anatomía debido a que las especies aquí presentes no poseen esta información completa.

Capítulo 2, aborda los estudios poblacionales para los dos géneros, ya que estos datos son importantes al momento de realizar una evaluación para su conservación. Si bien se tienen datos de distribución, basándonos en datos tomados de colecciones de museos y registros históricos, los datos poblacionales son escasos (en el caso del género *Chilina*) y ausentes (en el caso del género *Potamolithus*).

Capítulo 3, se encuentra enfocado en como incide el bivalvo *Limnoperna fortunei* sobre la presencia y densidad de *Potamolithus* y *Chilina*, analizando su distribución y su densidad actual, debido a que es el molusco invasor más importante en la costa bonaerense.

Capítulo 4, registra los moluscos que habitaban y que habitan áreas protegidas y no protegidas de la costa bonaerense del Río de la Plata. Además, se muestran los cambios que sufrió un sitio, Playa Anchorena, donde históricamente se registraban especies de los géneros *Potamolithus* y *Chilina*.

Capítulo 5, recopila todos los datos obtenidos en los capítulos anteriores y define el estado de amenaza, bajo los criterios regionales de la UICN, del género *Potamolithus* y de la especie *Chilina fluminea* para la provincia de Buenos Aires.

Conclusión, donde se integran los resultados obtenidos en este trabajo de Tesis.

INTRODUCCIÓN GENERAL



INTRODUCCIÓN GENERAL

El agua dulce constituye el 0,01% del agua del mundo y cubre solo el 0,8% de la superficie del mundo, sin embargo, esta pequeña fracción del agua mundial alberga casi el 9,5% de las especies animales descritas (Dudgeon et al., 2006; Balian et al., 2008). Las aguas continentales constituyen un recurso natural valioso, en términos económicos, culturales, estéticos, científicos y educativos; además, la biodiversidad de estos ecosistemas proporciona una amplia variedad de bienes y servicios valiosos para las sociedades humanas (Dudgeon et al., 2006). A pesar de su importancia, los ecosistemas de agua dulce pueden ser de los más amenazados en el mundo, debido a que están siendo rápidamente alterados con la construcción de represas, contaminación (p. ej.: nutrientes, productos químicos derivados de la agricultura, mala gestión de aguas residuales) y la introducción de especies no-nativas que afectan letal o sub-letalmente a las poblaciones nativas, entre otros, de moluscos de agua dulce (Dudgeon et al., 2006; Cuttelod et al., 2011; Clavijo & Scarabino, 2013; Cowie et al., 2017). Las influencias combinadas e interactivas de las cinco categorías principales de amenazas (sobreeplotación; contaminación del agua; modificación de flujo; destrucción o degradación del hábitat; invasión de especies exóticas) han provocado una disminución de las poblaciones y una reducción del rango de distribución de la biodiversidad de agua dulce en todo el mundo (Dudgeon et al., 2006).

Los moluscos presentan el mayor número de extinciones documentadas; representado un 42% de las extinciones registradas de especies animales desde el año 1500 (Lydeard et al., 2004). La situación se ve agravada debido a que una gran cantidad de entidades no se encuentran identificadas, sumado a la falta de datos de referencia críticos relacionados con la distribución, tamaño poblacional, abundancia, ciclo vital básico, fisiología y morfología. En este sentido, la Lista Roja de especies, generada por la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN¹), produce una estimación relativa de la posibilidad de extinción de un taxón y sirve como un medio para evaluar el estado de conservación de las especies. De acuerdo con los criterios de la UICN (2012a), el monitoreo del tamaño de la población, la distribución y la abundancia debe llevarse a cabo para todas las especies, ya sea que estas se encuentren amenazadas, posean datos insuficientes o que no hayan sido evaluadas aún. Para ser consideradas dentro de estos criterios, es necesaria la investigación taxonómica que permita una certera identificación y definición de las especies, y diseñar buenas estrategias de conservación y gestión ambiental

¹ <http://www.iucnredlist.org/>

(Clavijo et al., 2010; Cuttelod et al., 2011). Sin embargo, se estima que existen descripciones válidas para aproximadamente 5.600 especies de moluscos de agua dulce, de las cuales 4.365 son gasterópodos y 1.230 pertenecen a los bivalvos (Lydeard & Cummings, 2019), y cerca de 3.000 a 10.000 faltan por describir (Lydeard et al., 2004). Actualmente, en determinados grupos de gasterópodos para realizar una adecuada descripción específica de moluscos se requiere conocer su morfo-anatomía y genética (Pujadas et al., 2015). En este último punto, el uso de técnicas de secuenciación permite completar el conocimiento taxonómico, contribuyendo a los estudios sobre biodiversidad y conservación (Vidigal et al., 2013). Asimismo, estudios del ciclo de vida, por ejemplo en poblaciones de bivalvos unionidos, son fundamentales para establecer el grado de vulnerabilidad de estas (Torres et al., 2016).

En las últimas décadas, los sitios “hotspots” (puntos calientes) de diversidad fueron áreas prioritarias de la conservación de la biodiversidad, siendo aplicadas numerosas estrategias para evitar la extinción de las especies (Zachos & Habel, 2011). Estas áreas son importantes debido a que contienen altos niveles de especies endémicas que no se encuentran en ningún otro lugar. Al momento de priorizar un área de conservación, el número de especies por sí solo no es una medida a tener en cuenta ya que varias áreas pueden compartir la misma especie; en su lugar se deben priorizar lugares con altos niveles de endemismo porque las especies únicas que contienen no se pueden proteger en otro lugar (Mittermeier et al., 2011). Sin embargo, la conservación de estas áreas se ve localmente limitada debido a la falta de información y conocimiento de las especies (desde la perspectiva de la identidad de estas, así como su información ecológica, poblacional, entre otros). En este sentido, el río Uruguay y el Río de la Plata fueron clasificados como sitios “hotspots” de diversidad de gasterópodos de agua dulce a nivel mundial (Strong et al., 2008). El Río de la Plata se destaca por presentar uno de los mayores valores de diversidad de moluscos (Rumi et al., 2006, 2008; Núñez et al., 2010), junto con los ríos Paraná, Iguazú y Uruguay. Las mayores riquezas específicas en la Argentina están dadas por los géneros endémicos *Potamolithus* Pilsbry, 1896 (Tateidae, 30 especies) y *Chilina* Gray, 1828 (Chilinidae, 24 especies) (Gutiérrez Gregoric & de Lucía, 2016; Núñez, 2017; de Lucía et al., 2021).

La familia Tateidae Thiele, 1925 es una de las familias de gasterópodos de agua dulce más diversa del mundo, constituida por 43 géneros y alrededor de 490 especies con una distribución Gondwanica (Lydeard & Cummings, 2019). La mayoría de las especies de esta familia son nativas de Australia, Nueva Zelanda, Nueva Caledonia y otras islas del Pacífico Sur (Ponder, 2019). Solo dos géneros se hallan por fuera de esta distribución: el género *Potamolithus* Pilsbry, 1896, nativo de Sudamérica, y el género *Potamopyrgus* Stimpson,

1865, nativo de Nueva Zelanda e islas adyacentes, pero que se ha convertido en una especie invasora en todo el mundo, inclusive en Sudamérica (Ponder, 1988; Bowler, 1991; López Armengol, 1996; Shimada & Urabe, 2003; Hamada et al., 2013; Collado, 2014; Ponder, 2019; Cuezco et al., 2020). Recientemente, un nuevo género es presentado en esta familia para Sudamérica, *Strobelitatea* Cazzaniga, 2017, donde se ubica a la especie *Heleobia hatcheri* como *Strobelitatea hatcheri* (Pilsbry, 1911) (Cazzaniga 2017). *Heleobia hatcheri* pertenecía a la familia Cochliopidae, pero estudios moleculares llevados a cabo por Koch et al. (2015) ubican a esta especie dentro de la familia Tateidae. Sobre la base de este estudio, y de trabajos anteriores (Cazzaniga, 1981; Martín, 2002), Cazzaniga (2017) remienda el género *Strobelliela* propuesto por él mismo en 1981, proponiendo el género *Strobelitatea* para la especie *H. hatcheri*. Sin embargo, el análisis molecular llevado a cabo por Koch et al. (2015) ubica a “*Heleobia*” *hatcheri* inmersa con otras especies del género *Potamolithus*. Por esta razón, el género *Strobelitatea* se ha puesto en duda por varios autores, los cuales no lo han incorporado en sus publicaciones (Collado et al., 2019; Ponder, 2019; de Lucía et al., 2021). Es por esta razón que en este trabajo se la nombra como “*Heleobia*” *hatcheri*. Actualmente hay investigadores trabajando con esta especie para lograr dilucidar a que género y nombre específico pertenece (*Potamolithus hatcheri* ya es un nombre válido para otra entidad descripta para el Río Uruguay por Pilsbry (1911)).

El género *Potamolithus* está representado por 48 especies, de las cuales 39 están presente en la Cuenca Del Plata (Brasil, Uruguay y Argentina), cinco solo están presentes en cuencas de Brasil (cuatro en la cuenca Atlántico Sur y una en la cuenca San Francisco), y cuatro habitan tanto la Patagonia Argentina como el sur de Chile (Pilsbry, 1899; Pilsbry, 1911; Pilsbry, 1924; Pilsbry, 1925; Davis & Silva, 1984; Simone & Moracchioli, 1994; López Armengol, 1985; López Armengol & Darrigran, 1998; Rumi et al., 2008; Núñez, 2017; de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2017a, 2017b; Collado et al., 2019; de Lucía et al., 2021; Simone, 2021). La mayoría de las especies de este género habitan ecosistemas epigeos (ríos y arroyos), encontrándose sobre las rocas, pero al menos dos especies viven en ecosistemas hipogeos (cuevas) donde se encuentran tanto debajo como sobre las rocas (Bichuette & Trajano, 2003; Bichuette & Trajano, 2018). Ponder (2019) y Collado et al. (2019) argumentan que, a nivel de especie e incluso de género, la mayoría de los Tateidae son difíciles de identificar utilizando solo datos de la concha, siendo necesarios datos anatómicos y moleculares para una identificación precisa. Sin embargo, la mayoría de las descripciones de las especies del género *Potamolithus* están realizadas sobre las conchas únicamente. Previo al inicio de este trabajo de tesis cinco especies poseían información de anatomía parcial y nueve de anatomía completa; mientras que dos poseían datos moleculares del gen

mitocondrial Citocromo Oxidasa subunidad I (COI) y una sola especie (*P. ribeirensis* Pilsbry, 1911) poseía información del gen COI, del gen mitocondrial subunidad mayor del ARNr (16S) y del gen nuclear subunidad menor del ARNr (18S) (Davis & Silva, 1984; López Armengol, 1985; 1996; Simone & Moracchioli, 1994; Silva & Veitenheimer-Mendes, 2004; Wilke et al., 2013; Núñez, 2017). Actualmente, las especies con información de anatomía completa se incrementó a 18 y las especies con datos moleculares correspondientes únicamente al gen COI se incrementaron a 13 (de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2017a, 2017b; Collado et al., 2019; de Lucía et al., 2021; Simone, 2021). En cuanto a estudios poblacionales y reproductivos, solo se ha realizado un trabajo por Bichuette & Trajano (2003) en especies presentes en Brasil (dos descriptas y dos aún no descriptas).

Por otro lado, la familia Chilinidae Dall, 1870 está representada por solo un género, *Chilina* Gray, 1828 y alrededor de 50 especies (Gutiérrez Gregoric, 2019). Esta familia es endémica de Sudamérica, distribuyéndose en la Argentina (hasta las Islas Malvinas), Chile, Brasil, Uruguay y Paraguay (Pilsbry, 1911; Castellanos & Gaillard, 1981; Brown & Pullan, 1987). Las especies del género *Chilina* habitan gran variedad de ecosistemas epigeos (lagunas, lagos, ríos, cascadas, arroyos y estuarios) siendo, en general, sitios con agua bien oxigenada y rangos de temperatura variable (Gutiérrez Gregoric, 2008; Cuezco, 2009). Se las puede encontrar tanto sobre rocas, como en arena e incluso sobre vegetación.

Al igual que el género *Potamolithus*, la mayoría de las descripciones de especies del género *Chilina* están basadas en sus conchas. Gutiérrez Gregoric (2019) expone que debido al gran polimorfismo que muestran algunas especies, son necesarios estudios anatómicos y moleculares. Tres especies poseen anatomía parcial y 14 anatomía completa; cinco tienen datos moleculares correspondientes únicamente al gen mitocondrial Citocromo Oxidasa subunidad I (COI); cuatro tienen datos para el gen COI y el gen mitocondrial Citocromo b (Cyt b); una especie, *C. fluminea* (Maton, 1809), posee información del gen COI, Cyt b y del gen nuclear 28S; *C. patagonica* Sowerby, 1874, posee información del gen nuclear 5.8S; mientras que cinco especies poseen datos poblacionales (Dayrat et al., 2001; Gutiérrez Gregoric, 2008; Gutiérrez Gregoric & Rumi, 2008; Gutiérrez Gregoric et al., 2010, 2012, 2014; Ovando & Gutiérrez Gregoric, 2012; Gutiérrez Gregoric & de Lucía, 2016; Saadi et al., 2020).

Desde el punto de vista del estado de vulnerabilidad, el género *Potamolithus*, solo posee siete especies evaluadas en la “Lista Roja” de la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) (Pastorino & Darrigan, 2011, 2012, 2015), de las cuales cuatro se catalogan como de “preocupación menor” (*P. conicus* (Brot, 1867); *P.*

lapidum (d'Orbigny, 1835); *P. paranensis* Pilsbry, 1911 y *P. simplex* Pilsbry, 1896) y tres especies como con “datos insuficientes” (*P. doeringi* Pilsbry, 1911; *P. filipponei* Ihering, 1910 y *P. paysanduanus* Ihering, 1910). Por su parte, el género *Chilina* posee seis especies evaluadas en la Argentina (Pastorino & Darrigran, 2011), de las cuales cuatro se catalogan como de “preocupación menor” (*C. aurantia* Marshall, 1924; *C. fulgurata* Pilsbry, 1911; *C. patagonica* Sowerby, 1874 y *C. rushii* Pilsbry, 1911) y dos como con “datos insuficientes” (*C. fluminea* y *C. strebeli* Pilsbry, 1911). La UICN (2016) aclara que para estas especies se necesitan investigaciones adicionales, en relación con la abundancia, distribución, ecología y evolución de sus poblaciones, y también de los impactos de las amenazas sobre ellas. Según Rumi et al. (2006; 2008) y Gutiérrez Gregoric & de Lucía (2016), 25 especies de estos géneros son consideradas vulnerables debido a su distribución restringida y/o discontinua.

Las principales amenazas a la integridad biológica del Río de la Plata son la contaminación, pesca, invasiones biológicas, alteración de hábitats, floraciones algales nocivas y alteraciones del medio físico asociadas a cambios climáticos (FREPLATA, 2005). La vulnerabilidad y las potenciales amenazas para las especies que habitan dicha área se ven íntimamente vinculadas con los impactos antrópicos relacionados con el uso de la cuenca del Río de La Plata. Estos impactos se registran desde finales del 1800, con la construcción de puertos y su consecuente modificación ambiental, el uso recreativo de la cuenca (con modificación del sustrato en playas artificiales), la extracción de agua potable y el vuelco de aguas residuales (vertido de residuos y efluentes industriales), pesca deportiva y comercial, deportes náuticos, entre otros. Cabe destacar que el impacto real de estas amenazas es desconocido debido al escaso conocimiento que existe sobre ese ecosistema (Darrigran & Lagreca, 2005). Sumado a esto, en el año 1991 se registró la presencia del mejillón invasor *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) en el Río de la Plata (Pastorino et al., 1993), el cual es considerado un “ingeniero de ecosistema” por su habilidad de transformar el ambiente que coloniza (Darrigran & Damborenea, 2011). La presencia y abundancia del mejillón dorado ha favorecido el aumento de la abundancia de algunas especies de macroinvertebrados y la disminución de gasterópodos nativos (Darrigran et al., 1998), desplazando a poblaciones locales de *Chilina fluminea* y *Uncancylus concentricus* (d'Orbigny, 1835) en la costa argentina del estuario del Río de la Plata (Martín & Darrigran, 1994). Debido a que existe una marcada insuficiencia general de datos sobre el estado de las especies de los géneros *Potamolithus* y *Chilina* dentro de la región, se pretende aplicar los criterios de la UICN a nivel regional como un inicio para futuras evaluaciones de conservación a un nivel más amplio. Los datos obtenidos de regiones más pequeñas son fundamentales para la evaluación de regiones más extensas, y son importantes para la

planificación de la conservación (UICN, 2012b). Por lo tanto, es indispensable mantener actualizados los monitoreos poblacionales a efectos de relevar la información necesaria que permita evaluar el estado de amenaza de las especies de estos géneros en la costa bonaerense del Río de la Plata y poder, de esta manera, generar herramientas de manejo para la conservación de estas especies endémicas.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el grado de amenaza de los gasterópodos nativos de los géneros *Potamolithus* y *Chilina* presentes en la costa bonaerense del Río de la Plata. Además, determinar las especies presentes, las densidades poblacionales, el crecimiento individual y distribución actual de los géneros en estudio. El conocimiento obtenido a partir de este trabajo de Tesis permitirá generar aportes de base para estudios futuros de conservación a nivel nacional.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Completar y actualizar la descripción anatómica y genética de las especies de *Potamolithus* y *Chilina* presentes en la costa bonaerense del Río de la Plata, a efecto de estimar la contribución e importancia relativa de cada especie para su conservación, de acuerdo con la variabilidad que presenta.
2. Proporcionar datos sobre la ecología e historia de vida, densidad, cambios temporales en la densidad de población, tasa de crecimiento individual, tiempos de reclutamiento y distribución de *Potamolithus* spp. y *Chilina fluminea* en la costa bonaerense del Río de la Plata.
3. Analizar si existe evidencia de que el bivalvo no nativo invasor *Limnoperna fortunei* incide negativamente sobre la presencia y densidad de los géneros *Potamolithus* y *Chilina* en las costas bonaerenses del Río de la Plata, además de evaluar la malacofauna asociada a *Limnoperna fortunei* con énfasis en los géneros mencionados anteriormente.
4. Analizar la distribución y la riqueza específica de la malacofauna dulciacuícola presente en áreas protegidas y no protegidas de la costa bonaerense del Río de la Plata, con especial énfasis en los géneros *Potamolithus* y *Chilina*.
5. Categorizar a las especies de los géneros *Potamolithus* y *Chilina* en la costa bonaerense de acuerdo con los criterios regionales de conservación definidos por la UICN (2012b), sobre la base de los datos obtenidos en el presente trabajo de tesis.

HIPÓTESIS

1. El uso de los métodos morfoanatómicos y genéticos conducen a la identificación de las especies del género *Potamolithus* citadas para la costa bonaerense del Río de la Plata.

Predicciones: 1- Los análisis conquiológicos, de anatomía interna y externa concuerdan en la misma delimitación de especies que los resultados obtenidos a partir de análisis genéticos (a través del gen COI) mediante los análisis filogenéticos y métodos de delimitación de especies; 2- Las especies del género estudiado obtenidas a través de estos métodos coinciden con los registros citados para la zona de estudio.

2. En la costa del Río de la Plata se encuentran establecidas más de dos especies del género *Chilina*.

Predicciones: Los ejemplares del género *Chilina* colectados a lo largo de la zona de estudio pertenecen a más de dos especies definidas a partir análisis filogenéticos y métodos de delimitación de especies (a través del gen COI).

3. La presencia de moluscos no-nativos (*Limnoperna fortunei*) en las costas del Río de la Plata interfieren negativamente en la presencia de los géneros *Potamolithus* y *Chilina*.

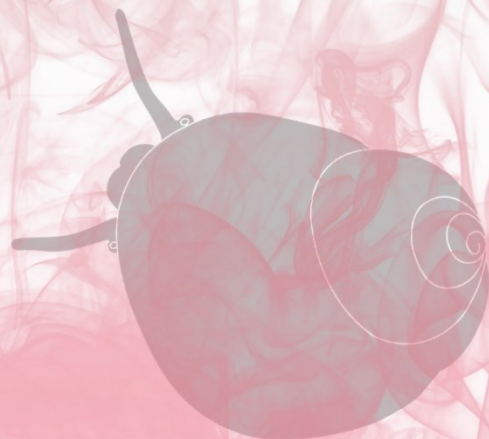
Predicciones: En los sitios donde se registra la presencia de *Limnoperna fortunei* no se registra la presencia de los géneros en estudio, o la densidad de los mismos está disminuida.

4. De acuerdo con los criterios regionales de la UICN, las especies de los géneros *Potamolithus* y *Chilina* se consideran amenazadas (En Peligro Crítico, En Peligro o Vulnerables) en la costa bonaerense del Río de la Plata.

Predicciones: Las especies estudiadas presentan actualmente una extensión de presencia y un área de ocupación menor a 20.000 km² y 2.000 km², respectivamente; están severamente fragmentadas y/o en un número de localidades menor o igual a 10 y presentan una disminución continua. Estos subcriterios se determinaron a través del análisis comparativo de registros históricos y actuales en la zona de estudio.

CAPÍTULO 1

**Especies de los géneros *Potamolithus*
y *Chilina* presentes en la costa
bonaerense del Río de la Plata**



CAPÍTULO 1

ESPECIES DE LOS GÉNEROS *POTAMOLITHUS* Y *CHILINA* PRESENTES EN LA COSTA BONAERENSE DEL RÍO DE LA PLATA

INTRODUCCIÓN

En la Argentina hay citadas 32 especies del género *Potamolithus*, de las cuales 30 se encuentran en la Cuenca Del Plata (distribuidas en las provincias malacológicas Misionera, Paraná Medio, Río Uruguay y Paraná Inferior - Río de la Plata, definidas por Núñez et al., 2010); y dos en una cuenca endorreica en la Meseta de Somuncurá, provincia de Río Negro (Núñez et al., 2010; de Lucía et al., 2021). Por otro lado, el género *Chilina* presenta 24 especies para la Argentina, contando con una distribución más amplia y presencia en todas las provincias malacológicas. Este género presenta 12 especies en la Cuenca Del Plata; dos en la Zona de Transición, 10 en el sistema Andino-Patagónico, y una especie compartida por estas dos últimas zonas (Rumi et al., 2008; Núñez et al., 2010; Cuezco et al., 2020).

El Río de la Plata es uno de los cuerpos de agua más importantes de América del Sur, que nace de la unión de los ríos Paraná y Uruguay, recorre 320 km con una orientación noroeste-sudeste y desemboca en el océano Atlántico (Darrigran, 1999; Rodrigues Capítulo et al., 2003). Generalmente, se lo divide en una *zona interna* (desde el nacimiento hasta la línea Buenos Aires-Colonia), una *zona media* (hasta la línea Punta Piedra-Punta Brava) y una *zona exterior* (hasta la línea Punta Rasa-Punta del Este; Rodrigues Capítulo et al., 2003). En lo que respecta a las especies de los dos géneros mencionados anteriormente, en la costa bonaerense del Río de la Plata se han citado siete especies del género *Potamolithus*, distribuidas en la zona interna - *P. agapetus* Pilsbry, 1911; *P. bisinuatus* Pilsbry, 1896; *P. buschii* (Frauenfeld, 1865); *P. lapidum* d'Orbigny, 1835; y *P. petitianus* d'Orbigny, 1840 y una no determinada, *Potamolithus* sp.- y en la zona media -*P. agapetus* y *P. orbigny* Pilsbry, 1896- (López Armengol, 1985; Landoni, 1992; López Armengol & Darrigran, 1998; Darrigran & López Armengol, 1998; Darrigran, 1999; César et al., 2012; Spaccesi, 2015). Cabe mencionar que, con respecto a *P. bisinuatus* hay confusión en la bibliografía debido a que en ocasiones es tomado como sinónimo de *P. petitianus*, y que *Potamolithus* sp. puede haber sido una identificación errónea siendo en realidad un ejemplar neonato del género *Pomacea* (Ampullariidae). En cuanto al género *Chilina* hay citadas cuatro especies para las costas bonaerenses del Río de la Plata - *C. fluminea*, *C. gallardoi* Castellanos & Gaillard,

1981, *C. megastoma* Hylton Scott, 1958 y *C. rushii* Pilsbry, 1896 - en la zona interna, y en la zona media - *C. fluminea* - (Darrigran, 1999; Gutiérrez Gregoric, 2008, 2010; Gutiérrez Gregoric et al., 2012; César et al., 2012). Si bien se ha citado a *C. megastoma* para la Isla Martín García (IMG), no pudieron constatarse poblaciones establecidas de esta especie, sino sólo dos conchas aisladas (Rumi et al., 1996), posiblemente erróneamente identificadas (Gutiérrez Gregoric, 2008).

Como se mencionó anteriormente, las especies del género *Potamolithus* no poseen, en su mayoría, descripciones anatómicas ni moleculares, mientras que las especie de Chiliniidae poseen escasos estudios genéticos. Este es un punto importante a tener en cuenta, ya que a través de estudios genéticos no solo se logra la determinación de las especies, sino la variabilidad genética. Como comentan Vogler et al. (2015), para el caso del caracol de agua dulce *Aylacostoma* Spix, 1827, comprender la distribución geográfica de la diversidad genética es una herramienta vital para identificar y priorizar áreas de protección, de manera que se maximice la representación genética en la naturaleza. Sumado a esto, Rannala & Yang (2020) mencionan que 80 al 90% de las especies del planeta están sin descubrir, y es probable que numerosas especies contemporáneas ya se hayan extinguido sin que los científicos hayan documentado su existencia. En relación con esto, la UICN sugiere que para poder evaluar el estado de conservación de las especies es necesario contar con información no solo de distribución sino taxonómica, para poder realizar una determinación precisa de las especies presentes en el área. Debido a esto, el objetivo de este capítulo es completar y actualizar la descripción anatómica y genética de las especies del género *Potamolithus* y, completar la descripción genética de las especies del género *Chilina* presentes en la costa bonaerense del Río de la Plata, a efecto de estimar la contribución e importancia relativa de cada especie para su conservación.

MATERIALES Y MÉTODOS

i. Área de muestreo

Se estableció como área de muestreo la costa bonaerense del Río de la Plata, desde la naciente hacia la desembocadura (Fig. 1.1), sobre la base de registros históricos bibliográficos (Strobel, 1874; Pilsbry, 1911; Parodiz, 1965; López Armegol, 1985), de colección (MLP, MACN), y muestreos previos realizados entre los años 2015 - 2017 en distintos puntos de la costa (San Isidro, Olivos, Vicente López, Ensenada, Berisso, Atalaya, Magdalena y Punta Indio). De estos sitios se descartaron Olivos, Vicente López y Atalaya debido a que han sido muy alterados, siendo de difícil acceso para el muestro, o por no presentar suficientes organismos, quedando como sitios seleccionados para este trabajo de tesis: Isla Martín García (IMG; La Plata), Playa Anchorena (ANC; San Isidro), Reserva Natural Punta Lara (RNLP; Berazategui y Ensenada), Balneario Bagliardi (BAG; Berisso), Balneario La Balandra (BAL; Berisso), Reserva Natural Privada “El Destino” (RNPED; Magdalena) y Playa de Punta Piedras (PP; Punta Indio).

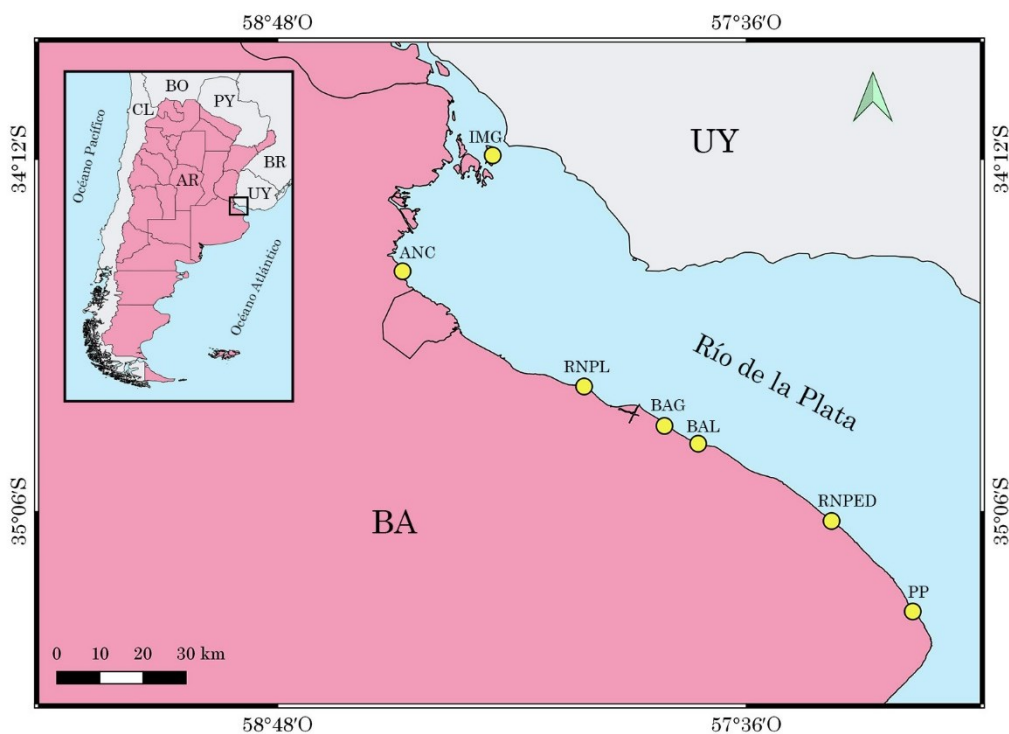


Figura 1.1. Mapa de los sitios muestreados ordenados de norte a sur: **IMG**: Isla Martín García; **ANC**: Playa Anchorena, **RNLP**: Reserva Natural Punta Lara, **BAG**: Balneario Bagliardi, **BAL**: Balneario La Balandra, **RNPED**: Reserva Natural Privada “El Destino”, **PP**: Playa Punta Piedras. Abreviaturas: AR: Argentina, BA: Buenos Aires, BO: Bolivia, BR: Brasil, CL: Chile, PY: Paraguay, UY: Uruguay.

De esta selección, los sitios IMG, RNLP y RNPED son áreas protegidas, mientras que los sitios ANC, BAG, BAL y PP son áreas no protegidas. Si bien RNPL es un área protegida, se trata de un área urbana debido a que se encuentra muy cercana a grandes ciudades (Berazategui, Ensenada y La Plata).

Los muestreos se comenzaron en el otoño 2018 y finalizaron en el verano 2020, cuando las mareas estaban en bajante (aproximadamente 0,30 metros o menos), observando previamente las direcciones de los vientos¹ y las predicciones de marea (Servicio de Hidrografía Naval²).

ii. Descripción de los sitios de muestreo

Isla Martín García (IMG) (Fig. 1.2 y Fig. 1.3): Ubicada en la zona interna del Río de la Plata, en la desembocadura de los ríos Uruguay y Paraná, a 40 km de la localidad de Tigre. Los límites están definidos hacia el este por el canal del infierno, hacia el norte por el islote Timoteo Domínguez (Uruguay) y, hacia el oeste y sur por el Canal Buenos Aires. Forma parte del macizo cristalino de Brasilia, denominado complejo ígneo metamórfico Martín García (Dalla Salda, 1981; Ravizza, 1984), cubierto por depósitos pleistocenos y holocenos, con una superficie de 200 Ha. Pertenece a la localidad de La Plata y fue declarada Reserva Natural de Uso Múltiple en el año 1998, según la Ley 12103. La costa norte-este-sur de la isla se caracteriza por tener un sustrato compuesto por espacios alternos de rocas, juncos y pequeñas playas de arena. La costa norte-oeste-sur de la isla posee mayor influencia del Río Paraná y se caracteriza por tener sustratos alternos de juncales y áreas areno-limosas. Se tomaron tres sub-sitios dentro de la isla: 1- *Punta Cañón* (34°10'32" S, 58°14'37" O): Ubicada en la costa noreste, pertenece a la zona del intangible (sitios sin acceso al público); posee un área de juncos hacia el Norte y Este, un área de rocas hacia el Sur y entre ambos existe una pequeña playa de arena; 2- *Casa de Bombas* (34°11'24" S, 58°14'58" O): Ubicada en la costa Sur, posee un sustrato rocoso; 3- *Bajada de Kayak* (34°11'17" S, 58°15'23" O): Ubicada en la costa Oeste, posee un sustrato arenoso-arcilloso, juncos y plantas acuáticas.

¹ www.windguru.cz

² www.hidro.gov.ar

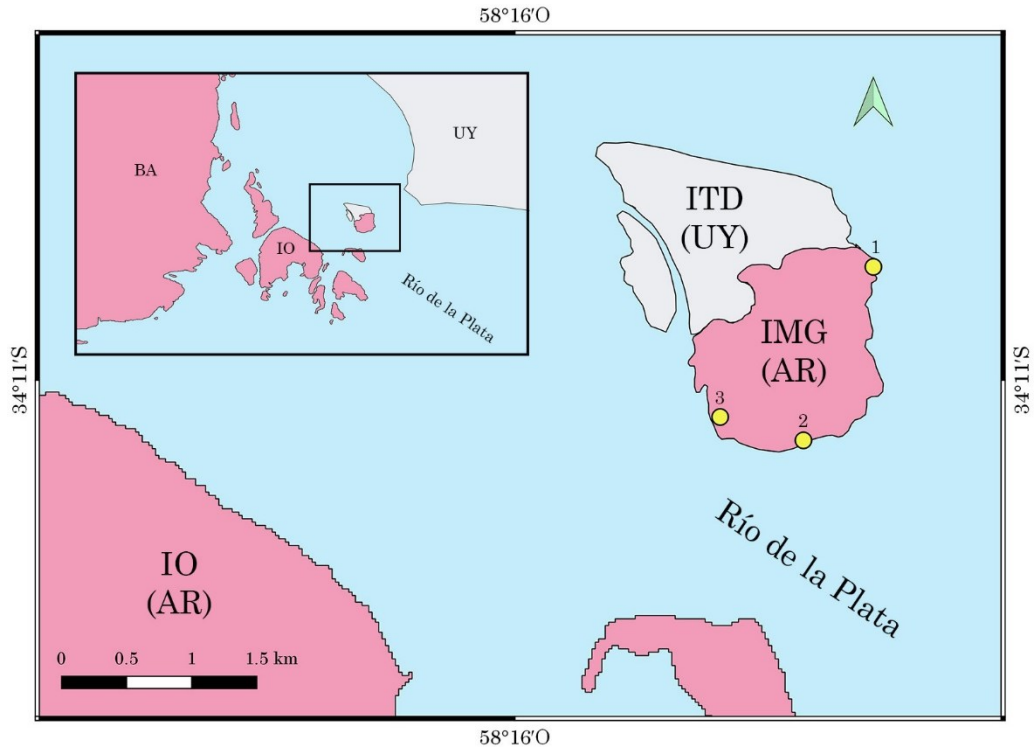


Figura 1.2. Mapa indicando los subsitios de la Isla Martín García: **1:** Punta Cañón, **2:** Casa de Bombas, **3:** Bajada de Kayak. Abreviaturas: AR: Argentina, BA: Buenos Aires, IMG: Isla Martín García, IO: Isla Oyarvide, ITD: Isla Timoteo Domínguez, UY: Uruguay.

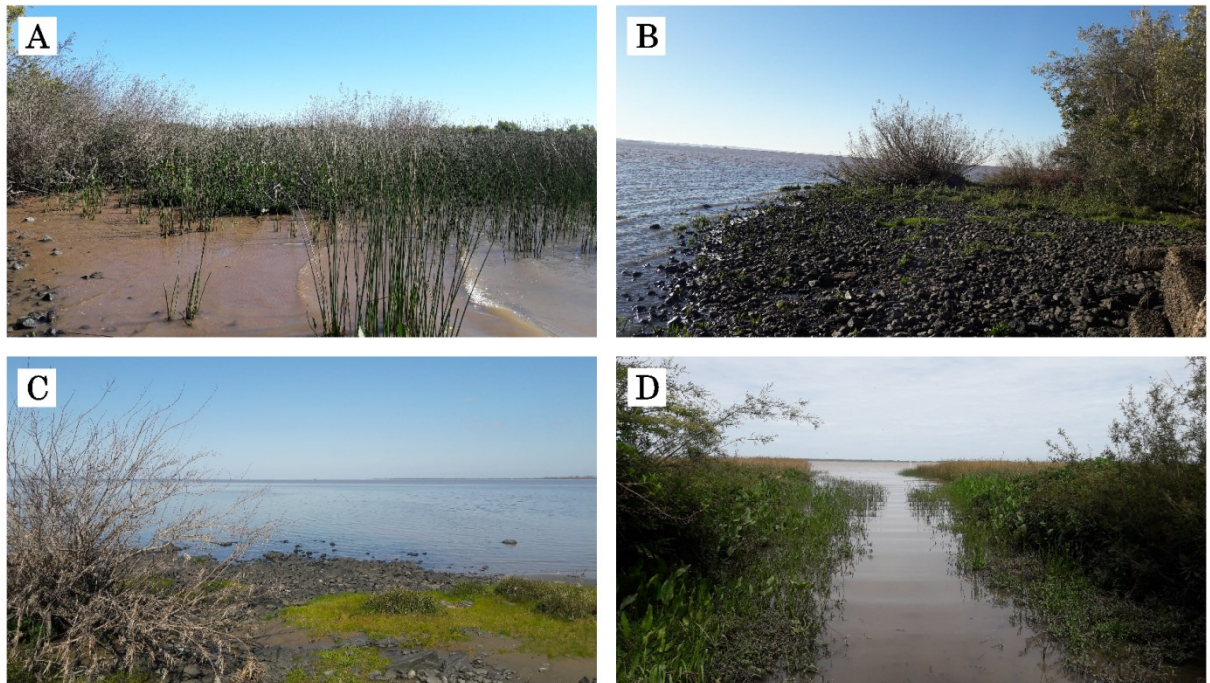


Figura 1.3. Isla Martín García. **A:** Punta Cañón junco y playa de arena, **B:** Punta Cañón sector de rocas, **C:** Casa de Bombas, **D:** Bajada de Kayak.

Playa Anchorena (ANC) ($34^{\circ}29'10''$ S, $58^{\circ}28'49''$ O) (Fig. 1.4): Se ubica en la zona interna del Río de la Plata en la localidad de San Isidro y posee 50 metros de frente. La base actual de esta playa está hecha de 30 centímetros de piedra partida contenida en canastos de alambre y una segunda capa de tierra negra sostenida por una tela especial que sólo permite el paso del agua. Así, la playa queda conformada por arena cercana a la línea de costa y el sustrato del río es “caliche”. Hacia la derecha queda expuesto un muro de contención formado por rocas y una malla metálica (gaviones) y en el sustrato se hallan rocas sueltas de menor tamaño colocadas por el hombre, denominado de acá en adelante como “rocas artificiales”. El muestreo se realizó inspeccionando las áreas con caliche y áreas con rocas artificiales.



Figura 1.4. Playa Anchorena. **A:** Vista hacia la izquierda, **B:** Vista hacia la derecha, **C:** Detalle del caliche, **D:** Detalle del muro de contención y “rocas artificiales”.

Reserva Natural Punta Lara (RNPL) (Fig. 1.5): Ubicada en la zona media del Río de la Plata, en los partidos de Berazategui y Ensenada, se encuentra rodeada por centros urbanos como la ciudad de La Plata (a 14 km). Posee una superficie de 6.000 Ha, conformando el área protegida de mayor importancia para la región (Roesler & Agostini, 2012). El sitio de muestreo fue la costa del Río de la Plata cercano a la desembocadura del arroyo Boca Cerrada ($34^{\circ}46'50''$ S, $58^{\circ}00'56''$ O); en este sitio el murallón de contención está derrumbado y sirve de sustrato para los moluscos. Si bien este sitio se encuentra dentro de

la RNPL, la protección sobre el mismo es prácticamente nula viéndose afectada por pescadores y obras de infraestructura.

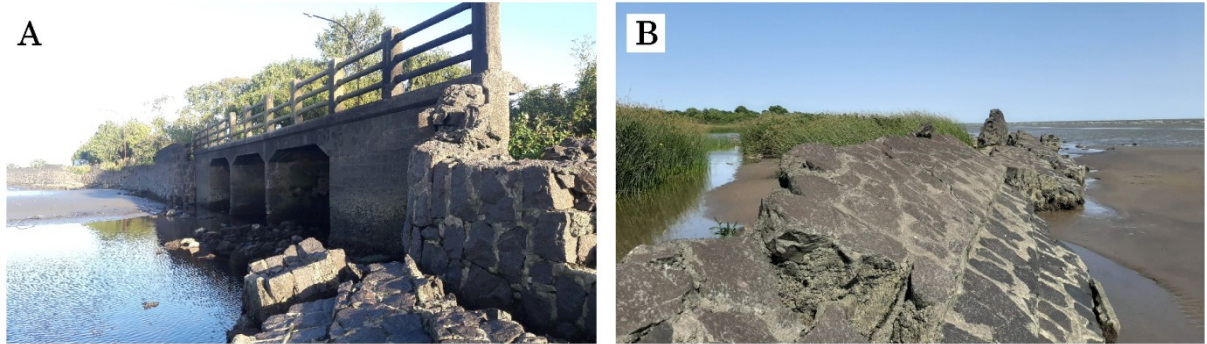


Figura 1.5. Reserva Natural Punta Lara. **A:** Desembocadura del arroyo Boca Cerrada, **B:** Detalle del murallón de contención.

Balneario Bagliardi (BAG) ($34^{\circ}52'25''$ S, $57^{\circ}48'35''$ O) (Fig. 1.6): Se ubica en la zona media del Río de la Plata, a 15 km de la ciudad de La Plata, en la localidad de Berisso. El área se caracteriza por una extensa playa, que posee un área elevada con rocas (que fueron parte de un murallón), donde se forman pozas que quedan sumergidas con las pleamares altas. El muestreo se realizó en el área de pozas y también se inspeccionaron las rocas de la costa.

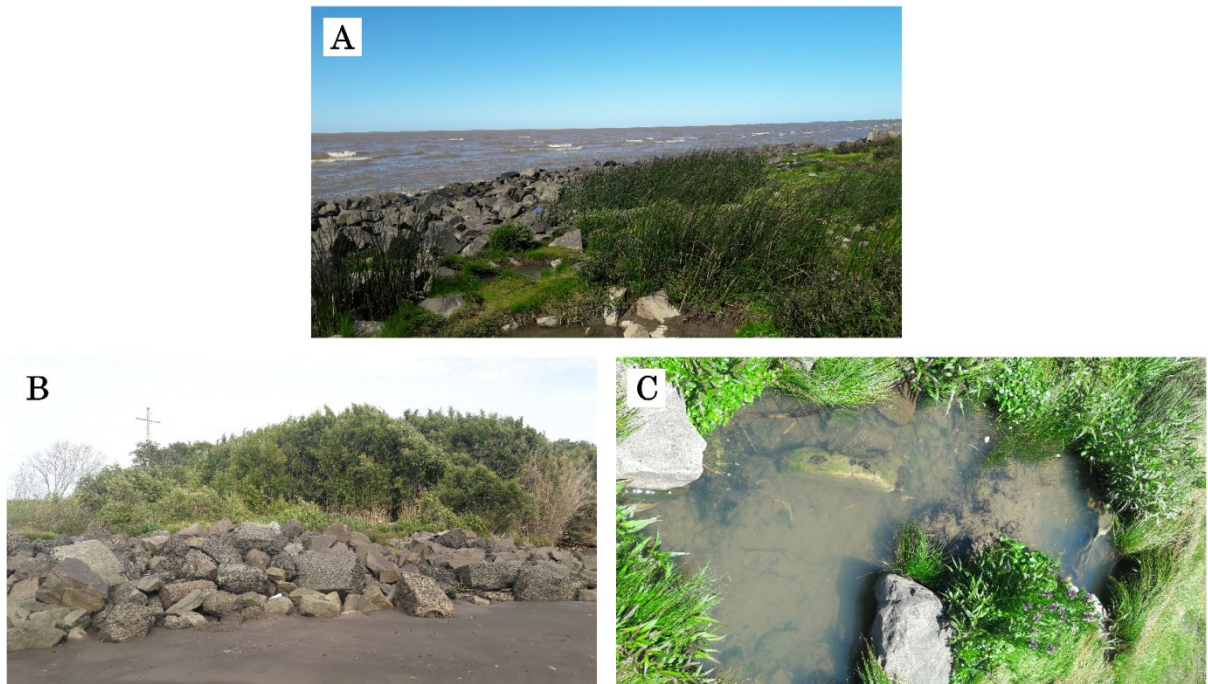


Figura 1.6. Balneario Bagliardi. **A:** Vista general del área de pozas y rocas, **B:** Vistas de las rocas desde el río, **C:** Detalle de una poza.

Balneario La Balandra (BAL) ($34^{\circ}55'36''$ S, $57^{\circ}43'24''$ O) (Fig. 1.7): Se ubica dentro de la zona media del Río de la Plata, a 25 km de la ciudad de La Plata, en la localidad de Berisso. Es la playa más amplia del distrito (1.500 metros de extensión), posee un sustrato arenoso de gran extensión y un área con un muro de contención derrumbado. El muestreo se realizó en la playa y en las rocas que pertenecían al muro de contención. También se realizaron dos muestreos en un canal que se encuentra en la entrada al balneario.



Figura 1.7. Balneario La Balandra. **A:** Área de rocas del muro de contención, **B:** Área de arena y juncos.

Reserva Natural Privada “El Destino” (RNPED) ($35^{\circ}07'27''$ S, $57^{\circ}22'55''$ O) (Fig. 1.8): Se encuentra ubicada en la zona media del Río de la Plata, en la localidad de Magdalena y cuenta con una superficie protegida de 2.500 Ha. Desde hace más de 50 años, 500 Ha fueron destinadas exclusivamente para la investigación y educación ambiental. El sustrato de la costa es arenoso, con juncos, ceibales, sauzales y margaritas del bañado, donde habitan diversos vertebrados e invertebrados. El muestreo se realizó sobre la costa del río y en un arroyito que desembocaba en la playa de la Reserva.

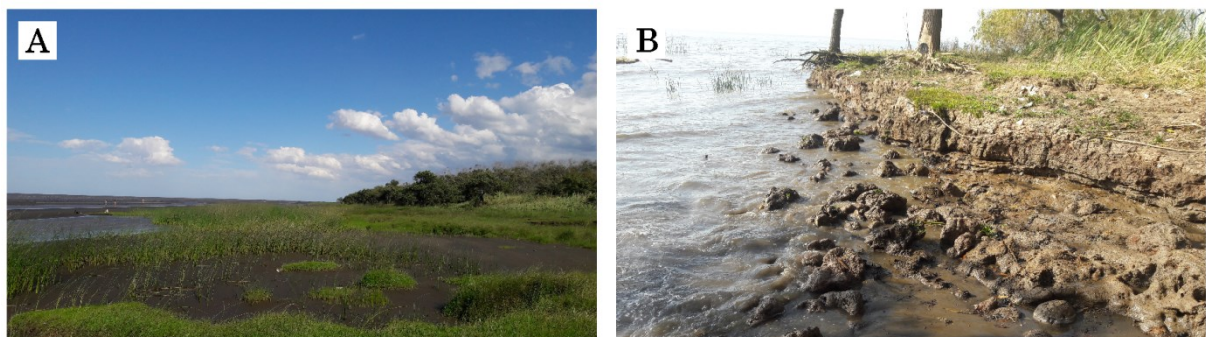


Figura 1.8. Reserva Natural Privada “El Destino”. **A:** Área de arena y juncos, **B:** Detalle del sustrato del río.

Playa Punta Piedras (PP) ($35^{\circ}21'19''$ S, $57^{\circ}10'26''$ O) (Fig. 1.9): Ubicada en la zona media del Río de la Plata, pero con gran influencia de la zona externa; es decir que recibe influencia marina y la salinidad es mayor que en los demás sitios muestreados. Esta playa pertenece a la localidad de Punta Indio. La costa está formada por un sustrato de limo a arcilla en la superficie, volviéndose más arenosos en profundidad. El muestreo se realizó en una transecta perpendicular a la línea de costa.

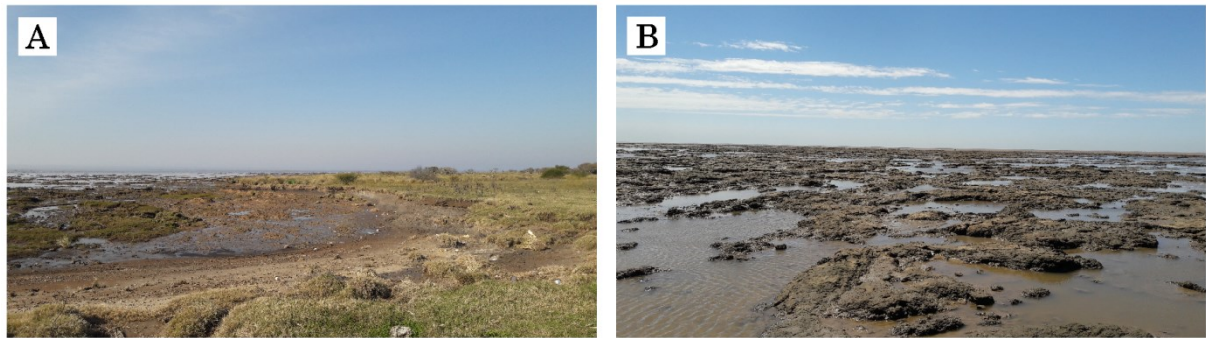


Figura 1.9. Playa Punta Piedras. **A:** Vista desde la costa, **B:** Detalle del sustrato del río.

iii. Colecta y relajación del material

En cada sitio de muestreo los ejemplares se colectaron de manera manual. En algunos sitios, cuando el sustrato lo permitió (sin rocas), se utilizó un copo de diámetro de 17,3 cm y malla de 1,5 mm. Los ejemplares fueron llevados al laboratorio, y relajados con cristales de mentol durante 10 horas aproximadamente (Gutiérrez Gregoric & Núñez, 2010). Posteriormente, se sumergieron durante 50 segundos en agua a 70°C , luego en agua fría, para ser finalmente conservarlos en alcohol 70%. El material no fue fijado en formol o Raillet-Henry porque el primero inhibe las reacciones moleculares, mientras que el último degrada la concha de los ejemplares.

iv. Análisis morfológico y anatómico

El análisis morfológico y anatómico se llevó a cabo bajo tres microscopios estereoscópicos Leica: S4E (sin cámara clara), MZ6 (con cámara clara) y Wild M3Z (con cámara clara). Los ejemplares se colocaron en cápsulas de Petri de tamaño pequeño y mediano, la cual poseía una base de parafina color negra o rojo (teñida con crayón). Para la manipulación de los ejemplares se utilizaron pinzas de relojero, agujas entomológicas minucias y pelos de distintos animales (perro, chancho, conejo y gato).

Debido a que, al iniciarse este trabajo de tesis, el conocimiento sobre el género *Potamolithus* era mayormente sobre la base de la concha y no estaba completa la descripción de la anatomía de las especies presentes en la provincia de Buenos Aires, se decidió hacer un análisis morfológico detallado de este género. Con respecto al género *Chilina*, existía más conocimiento sobre su concha, anatomía interna y externa y datos moleculares, razón por la cual se determinaron las especies siguiendo la clave de Gutiérrez Gregoric (2020), sin un análisis detallado en la anatomía.

Para realizar la determinación de las especies del género *Potamolithus* las conchas fueron dibujadas, bajo los microscopios estereoscópicos con cámara clara, y fotografiadas en sus vistas umbilical, ventral, lateral, apical y dorsal. Para descalcificar la concha y poder analizar la anatomía externa e interna, los ejemplares se sumergieron en ácido clorhídrico (1N) (el tiempo requerido varió dependiendo del grosor de la concha). Luego, estos ejemplares se lavaron con agua y fueron conservados en alcohol 70%. En el análisis conquiológico se siguió a Hershler & Landye (1988) y el número de vueltas se calculó de acuerdo con Parodiz (1951). Las medidas tomadas en las conchas fueron: número de vueltas, largo total (LT), largo espira (LE), largo del último anfracto (LUA), base espira (BE), ancho total (AT), largo abertura (LA), ancho abertura (AA), ancho columela, ancho área adcolumnelar y ángulo inclinación abertura (Fig. 1.10); la medida del diámetro mayor (D) solo será tomada en cuenta en el capítulo 2. Se calcularon las siguientes relaciones porcentuales: LE/LT, BE/LE, BE/AT, LT/AT, LA/LT y LUA/LT. Las rádulas se prepararon según el protocolo de Holznagel (1998) y se revisaron bajo el microscopio electrónico de barrido (MEB) (JEOL/JSMT 6360 LV, Tokyo, Japan) del Museo de La Plata (FCNyM-UNLP). En el análisis y caracterización de las rádulas se siguió a Hershler & Ponder (1998) y Davis et al. (1986). La caracterización anatómica se realizó siguiendo a Davis et al. (1986), Hershler & Landye (1988) y Hershler & Ponder (1998). Se tomaron las siguientes medidas anatómicas: largo ctenidio (LC), largo osfradio (LO), número de filamentos del ctenidio, ancho borde del manto (BM), largo cavidad del manto (LCM= BM + LC), largo bulbo radular, largo masa visceral (LVM), largo oviducto paleal (LOP), largo glándula albumen, largo glándula cascara, largo *bursa copulatrix* (LBC), ancho *bursa copulatrix*, largo receptáculo seminal, ancho receptáculo seminal, nodo nuczal, largo próstata (LPr), ancho próstata, largo pene (LPe), largo pene hasta collar prepucial, ancho medio pene, ancho extremo terminal pene, ancho base pene y ancho máximo pene (AMPe). Se calcularon las siguientes relaciones porcentuales: AMB/LCM, LO/LC, LC/LVM, LBC/LOP, LPr/LVM, AMPe/LPe y LPe/LVM. Para las medidas del sistema nervioso se siguió a Davis et al. (1976). También se calculó la concentración del sistema nervioso (RPG): longitud del conectivo pleuro-supraesofágico /

(longitud del ganglio supraesofágico + longitud del conectivo pleuro-supraesofágico + longitud del ganglio pleural derecho). Para la identificación de los ejemplares se utilizaron los trabajos de las descripciones originales, las fotografías de los holotipos y trabajos que trataran la anatomía del género (Frauenfeld, 1865; Pilsbry, 1911; Davis & Silva, 1984; López Armengol, 1985, 1996; Silva, 2003; Núñez, 2017; de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2017a, 2017b; de Lucía et al., 2021).

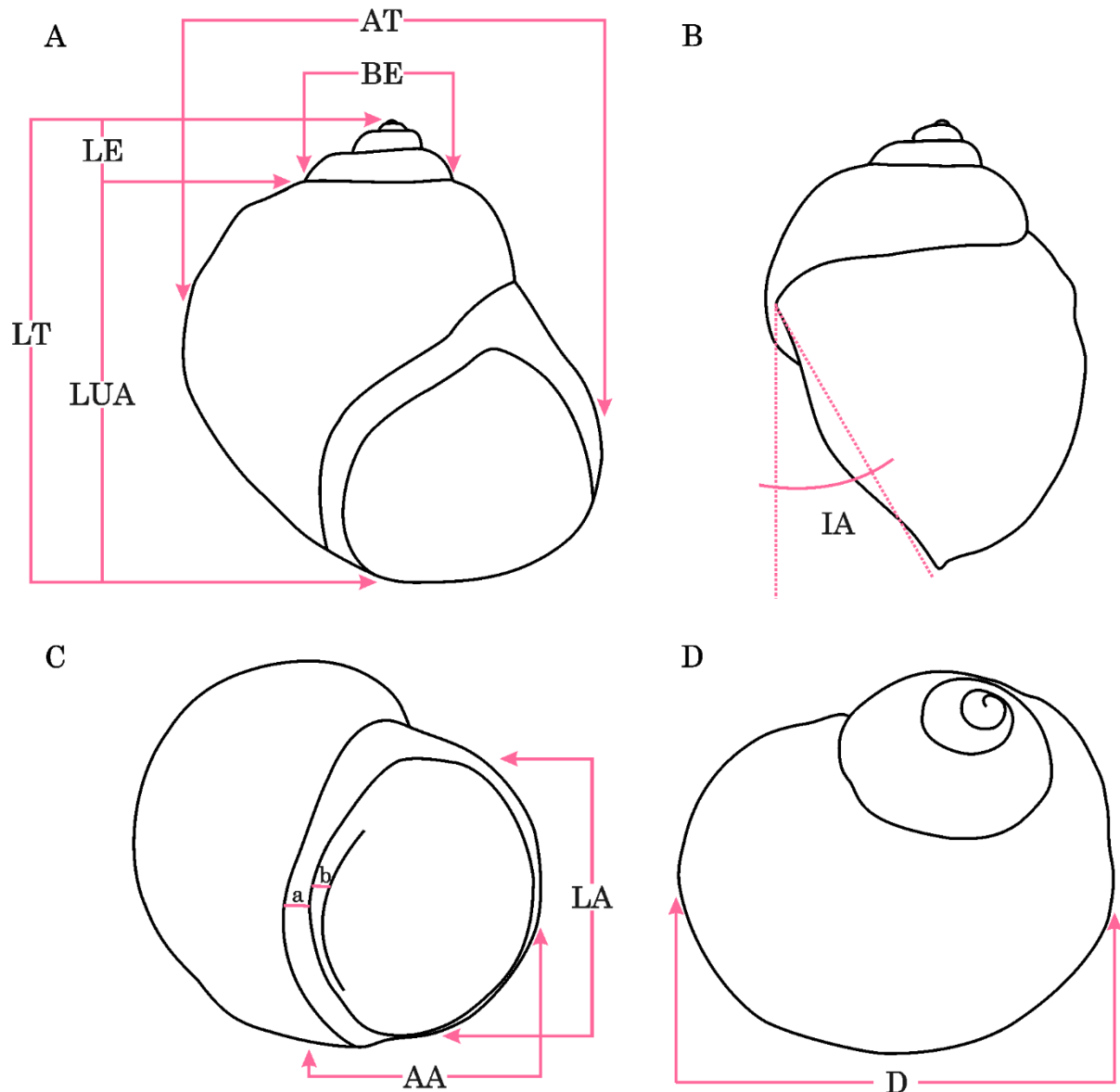


Figura 1.10. Medidas de la concha del género *Potamolithus*. **A:** Vista ventral, **B:** Vista lateral, **C:** Vista umbilical, **D:** Vista dorsal. Abreviaturas: a: Ancho área adcolumnelar (en vista umbilical), b: Ancho columela (en vista umbilical), AA: Ancho abertura, AT: Ancho total, BE: Base espira, D: Diámetro mayor, IA: Ángulo inclinación abertura, LA: Largo abertura, LE: Largo espira, LT: Largo total, LUA: Largo del último anfracto.

En las descripciones de las especies de *Potamolithus* solo se comentan las características que difieren de la descripción general de un *Potamolithus* típico, o alguna característica única de esa especie.

Además, se consultaron lotes del género *Potamolithus* de la colección malacológica del Museo de La Plata (MLP-Ma), de la colección de invertebrados del Museo Argentino de Ciencias Naturales Bernardino Rivadavia (MACN-In), fototipos de *The Academy of Natural Sciences of Philadelphia, USA* (ANSP), de *Naturhistorisches Museum, Wien, Austria* (NHMW) y de *Natural History Museum of London, UK* (NHMUK) (Fig. 1.11), para realizar comparaciones y determinar los ejemplares colectados.

A continuación, se listan los lotes del género *Potamolithus* que fueron consultados en los distintos museos; los datos fueron tomados de la etiqueta de los lotes y la base de datos de los museos.

Argentina:

- MACN-In 604: Isla Martín García (34°11' S, 58°15' O). 02/1935. Col. Siciliano, S. & Daguerre, J. B.
- MACN-In 8431-1: Olivos, Vicente López (34°30' S, 58°27' O). 11/1913. Col. Doello-Jurado, M.
- MACN-In 9511-1. Olivos, Vicente López. 12/1918.
- MACN-In 9515: San Isidro (34°29' S, 58°32' O). 11/1918. Col. Doello-Jurado, M.
- MACN-In 9890 (= 12434-1): Olivos, Vicente López (34°30' S, 58°27' O). 06/1914. Col. Doello-Jurado, M.
- MACN-In 9891: Anchorena, San Isidro. 15/09/1959. Col. Carcelles, A.
- MACN-In 10369: Anchorena, San Isidro. 25/01/1920. Col. Doello-Jurado, M.
- MACN-In 10438: Anchorena, San Isidro (34°29' S, 58°28' O). 10/02/1920. Col. Henning, F.
- MACN-In 12945: Isla Martín García (34°11' S, 58°15' O). 04/11/1921. Col. Doello-Jurado, M.
- MACN-In 13994: Arroyo Barca Grande, delta del Paraná. 27/07/1923. Col. Doello-Jurado, M.; Carcelles, A. & Migoya, J.
- MACN-In 14735: Olivos, Vicente López, Río de la Plata (34°30' S, 58°27' O) 25/12/1924. Col. Doello-Jurado, M. & Carcelles, A.
- MACN-In 27291: Islas del Delta, Tigre. 01/1967. Col. Graeffe.
- MACN-In 37749: Isla Martín García (34°11' S, 58°15' O). 05/1995. Col. Cortés, C. N.

- MACN-In 30233: Isla Martín García (34°11' S, 58°15' O). 01/1935. Col. Siciliano, S. & Daguerre, J B.
- MACN-In 30234: Balneario Municipal. 07/1931. Col. Cordero, E. H. & Doello-Jurado, M.
- MLP-Ma 4651: Anchorena, San Isidro (34°29' S, 58°28' O). 30/4/1984. Col. López Armengol, M. F.
- MLP-Ma 4652: Anchorena, San Isidro (34°29' S, 58°28' O). 30/4/1984. Col. López Armengol, M. F.
- MLP-Ma 4984: Balneario Atalaya, Río de la Plata (35°01' S, 57°32' O). 15/4/1987. Col. Darrigran, G. & Ituarte, C.
- MLP-Ma 4985: Balneario Atalaya, Río de la Plata (35°01' S, 57°32' O). 18/4/1988. Col. Darrigran, G.
- MLP-Ma 9946: Vicente López (34°31' S, 58°27' O).
- MLP-Ma 9947: Olivos, Vicente López (34°30' S, 58°28' O).
- MLP-Ma 9957: Vicente López. 26/6/1949. Col. Bachman.
- MLP-Ma 13806: Isla Martín García (34°11' S, 58°15' O). 21/02/2014. Col. Martín, S.
- MLP-Ma 13811: Isla Martín García (34°11' S, 58°15' O). 21/02/2014. Col. Martín, S.

Uruguay:

- ANSP 69683: Isla San Gabriel. 03/11/1896. Col. Rush, W. H.
- ANSP 69688: Paysandú, Río Uruguay (32°21' S, 58°05' O). 03/11/1896. Col. Rush, W. H.
- ANSP 69690: Paysandú, Río Uruguay (32°21' S, 58°05' O). 03/11/1896. Col. Rush, W. H.
- ANSP 69702: Isla San Gabriel (34°29' S, 57°54' O). 03/11/1896. Col. Rush, W. H.
- NHMW MO13196, desembocadura del río San Juan, Uruguay.

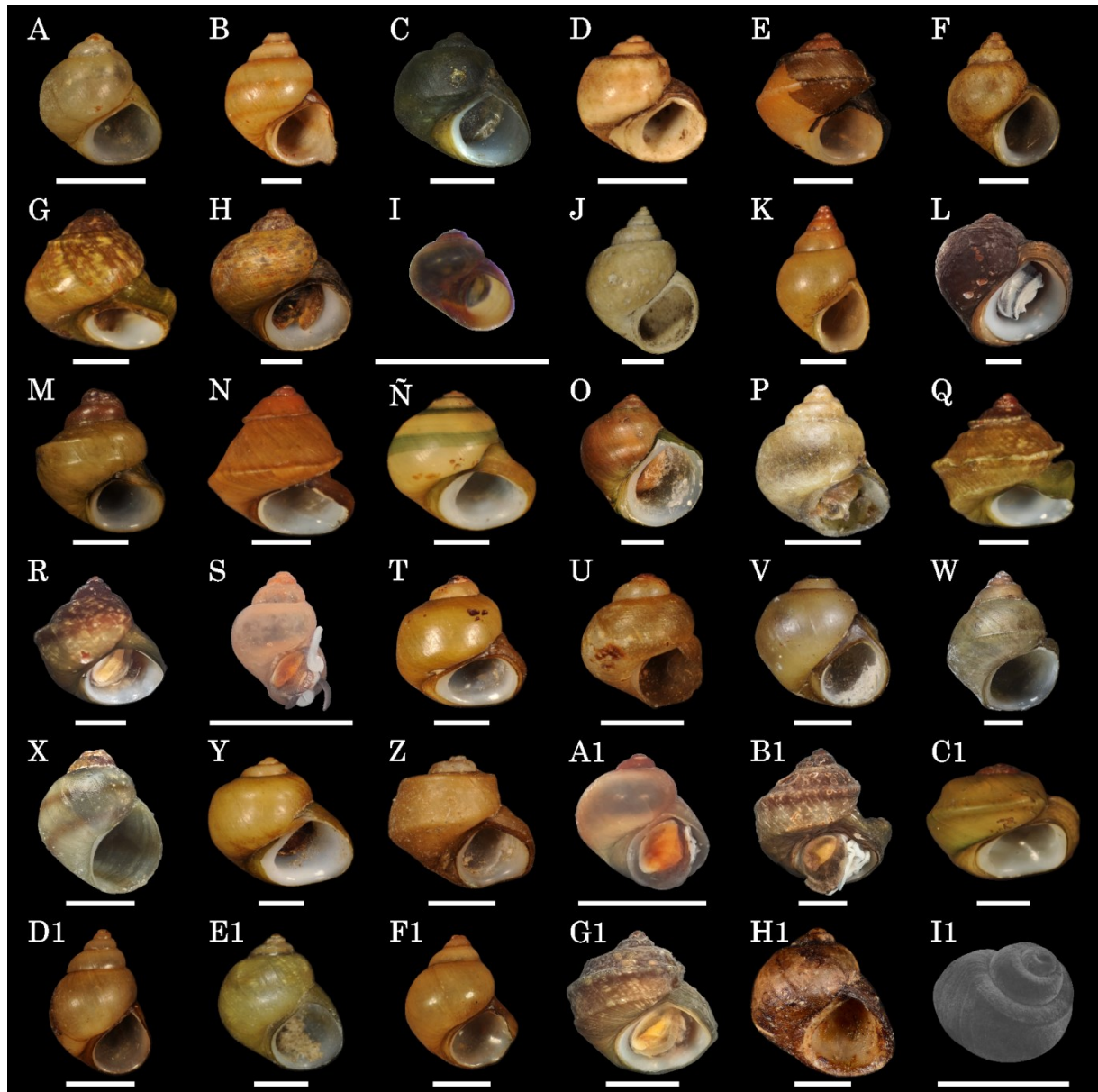


Figura 1.11. Conchas del género *Potamolithus* consultadas. **A:** *P. agapetus* (cotipos ANSP 69683), **B:** *P. bisinuatus* (lectotipo ANSP 69688), **C:** *P. buschii* (holotipo NHMW MO13196), **D:** *P. callosus* (lectotipo ANSP 139984), **E:** *P. carinifer* (ANSP 103073), **F:** *P. catharinae* (holotipo ANSP 103048), **G:** *P. dinochilus* (lectotipo ANSP 69695), **H:** *P. doeringi* (lectotipo ANSP 103074), **I:** *P. elenae* (holotipo MLP-Ma 14202), **J:** *P. fosase* (holotipo ANSP 139982), **K:** *P. gracilis* (lectotipo ANSP 69693), **L:** *P. grossus* (holotipo MLP-Ma 15066), **M:** *P. hatcheri* (holotipo ANSP 90218), **N:** *P. hidalgoi* (lectotipo ANSP 69687), **Ñ:** *P. iheringi* (lectotipo ANSP 69698), **O:** *P. jacuhyensis* (holotipo ANSP 61820), **P:** *P. lapidum* (lectotipo NHMUK 1854.12.4.339), **Q:** *P. microthauma* (lectotipo ANSP 69689), **R:** *P. nelidae* (holotipo MLP-Ma 15075), **S:** *P. nezibrus* (holotipo MLP-Ma 15056), **T:** *P. orbigny* (lectotipo ANSP 69696), **U:** *P. paranensis* (ANSP 103049), **V:** *P. paysanduanus* (lectotipo ANSP 103070), **W:** *P. peristomatus* (lectotipo NHMUK 1854.12.4.338), **X:** *P. petitianus* (lectotipo NHMUK 1854.12.4.353), **Y:** *P. philippianus* (holotipo ANSP 103050), **Z:** *P. quadratus* (holotipo ANSP 103075), **A1:** *P. rauli* (holotipo MLP-Ma 15053), **B1:** *P. recurvatus* (holotipo MLP-Ma 15064), **C1:** *P. rushii* (lectotipo ANSP

69686), **D1:** *P. simplex* (lectotipo ANSP 63433), **E1:** *P. supersulcatus* (lectotipo ANSP 70129), **F1:** *P. sykesi* (lectotipo ANSP 69690), **G1:** *P. tricarinatus* (holotipo MLP-Ma 15061), **H1:** *P. tricostatus* (sintipos ANSP 27086), **I1:** *P. valchetensis*. Escala: 2 mm. Imágenes tomadas con permiso de: ANSP (A-B, D-H, J-K, M-O, Q, T-V, Y-Z, C1-F1, H1), MLP-Ma (I, L, R, S, A1, B1, G1), NHMW (C), NHMUK (P, W-X) y de Miquel (1998) (I1). La imagen C fue tomada por S. Schnedl (NHMW) y la imagen W por K. Webb (NHMUK).

v. Análisis molecular

v.i. Elección de los genes:

El genoma mitocondrial animal es una molécula circular cerrada, de aproximadamente 15 a 20 kilobases (Kb) de longitud y está compuesta por 37 genes, de los cuales 22 son genes de ARN de transferencia, 2 son genes ribosomales y 13 son genes codificantes para proteínas (Avice, 2004; Yang & Rannala, 2012). Algunas de las características que hacen útil a esta molécula son su fácil extracción y manipulación, su simplicidad y la falta de recombinación y alta tasa de mutación (Simon, 1991). La tasa de evolución acelerada del ADN mitocondrial implica, que se podrían observar cantidades significativas de variación de secuencia en especies estrechamente relacionadas, una característica útil para los estudios a nivel de especies (identificación de especies) y poblaciones (Simon, 1991; Yang & Rannala, 2012). Además, las mitocondrias contienen varias moléculas de ADN y, debido a que en una célula existen varias mitocondrias, cuando la muestra de tejido es limitada, la mitocondria ofrece una fuente relativamente abundante de ADN (Purty & Chatterjee, 2016).

Dos motivos fueron tenidos en cuenta al momento de la elección de genes mitocondriales y no nucleares; uno en relación con la tasa de evolución y su utilidad en la identificación de especies y el otro debido a la existencia de secuencias en GenBank de estos genes en relación con los grupos estudiados. Los dos genes seleccionados para este trabajo fueron:

Gen Citocromo Oxidasa subunidad I (COI): Codifica para una subunidad del complejo citocromo oxidasa que forma parte de la cadena transportadora de electrones (Palumbi, 1996). COI es uno de los genes utilizados para la identificación de especies en animales por el *DNABarcoding*.

Gen ribosomal 16S (ARNr 16S): Corresponde a la subunidad grande en el ADN mitocondrial. Su estructura secundaria está compuesta de tallos helicoidales conectados por

bucles no apareados. El núcleo estructural secundario del ribosoma está altamente conservado, pero no lo están los elementos periféricos (Simon et al., 1994), razón por la cual, si bien está bastante conservado en secuencia y estructura secundaria, hay suficiente variación en algunas especies como para ser utilizado en estudios a nivel poblacional (Palumbi, 1996).

v.ii. *Extracción del ADN:*

Para realizar el análisis molecular, previo a la fijación de los ejemplares, se cortó un fragmento de pie a 34 ejemplares del género *Potamolithus* y 26 ejemplares del género *Chilina*, y luego fueron conservados en alcohol 96%. Inicialmente, se realizó la extracción del ADN genómico total por el método CTAB (*cetyltrimethyl ammonium bromide*; Winnepennickx et al., 1993) para todos los ejemplares. Sin embargo, en algunos este método no funcionó y se utilizó la extracción con kit comercial *Qiagen DNeasy® Blood & Tissue Kit*. Como resultado se extrajo ADN genómico total con el método CTAB a 13 ejemplares del género *Potamolithus* y 19 ejemplares del género *Chilina*; y con el Kit Qiagen a 19 del género *Potamolithus* y a siete del género *Chilina*. La extracción se verificó y semicuantificó por electroforesis en gel de agarosa 1,5% con GelRed. Los geles se visualizaron en un transiluminador UV y fueron fotodocumentados.

v.iii. *Elección de los primers, amplificación en cadena de la Polimerasa y purificación:*

Los *primers* utilizados para realizar la amplificación en cadena de la Polimerasa (PCR) de la secuencia parcial del gen COI y la secuencia del gen 16S se seleccionaron teniendo en cuenta bibliografía existente para la familia Tateidae y Chilinidae: Wilke et al. (2013), Collado (2014), Gutiérrez Gregoric et al. (2014), Zielske & Hasse (2015), Koch et al. (2015) y Gutiérrez Gregoric & de Lucía (2016).

En algunas PCR fue necesario adicionar albúmina sérica bovina (BSA), la cual estabiliza la enzima (Palumbi, 1996), debido a que el fragmento de pie de los ejemplares era pequeño y, pruebas iniciales demostraron que, sin este aditivo las PCR resultaban negativas.

La secuencia parcial del gen COI se amplificó por los *primers* universales de Folmer et al. (1994): LCO1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3') y HCO2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'), que amplifica aproximadamente una secuencia de 710 pb. La amplificación se realizó en un volumen final de 50 µl, siguiendo el

protocolo utilizado por Gutiérrez Gregoric et al. (2013): 1X Buffer, 2,5 mM MgCl₂ (Taq Platinum Invitrogen y Taq Pegasus PBL Productos Bio-Lógicos) y 1,5 mM MgCl₂ (Taq KAPA2G Robust), 50 μM dNTPs, 0,1 μM de cada primer, 1,2 U/μl Taq y 50-100 ng de ADN. La PCR se llevó a cabo en el termociclador Perkin Elmer Cetus con el perfil de ciclado de Gutiérrez Gregoric et al. (2013): desnaturalización inicial de 3 min a 94°C, 5 ciclos de 30 s a 94°C, 40 s a 45 °C y 1 min a 72°C, 35 ciclos de 30 s a 94°C, 40 s a 51°C y 1 min a 72°C, seguido de una extensión final de 10 min a 72°C.

La secuencia del gen 16S se amplificó con los primers de Palumbi (1996): 16Sar-L (5'-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3') y 16Sbr-H (5'-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3'), que amplifica una secuencia de aproximadamente 550 pb. La PCR se realizó en un volumen final de 27 μl, utilizando el protocolo que se usó para COI pero con modificaciones: 1X Buffer, 0,69 mM MgCl₂, 46 μM dNTPs, 0,185 μM de cada primer, 0,6 U/μl Taq KAPA2G Robust y 50-100 ng de ADN. La PCR se llevó a cabo en un termociclador Ivema T21 siguiendo el perfil de ciclado de Kantor et al. (2012): desnaturalización inicial de 4 min a 94°C, 35 ciclos de 30 s a 94°C, 30 s a 52°C y 1 min a 72°C, seguido de una extensión final de 5 min a 72°C.

Los productos de PCR se verificaron por electroforesis en gel de agarosa 1,5% con GelRed y se visualizaron en un transiluminador UV. Aquellos que dieron positivo fueron purificados con un kit Puro ADN-Clean Up (PB-L Productos Bio-Lógicos) (44 ejemplares) y con el kit ADN PuriPrep-GP (Inbio HighWay) (11 ejemplares), verificados con electroforesis en gel de agarosa con GelRed y visualizados en transiluminador UV.

v.iv. *Obtención y edición de la secuencia:*

Los productos de PCR purificados (volumen final de 25 μl) fueron enviados a Macrogen Inc., Seoul, Korea para su secuenciación en ambos sentidos. Las secuencias resultantes de ambos genes fueron editadas mediante el software Chromas Lite y Bioedit; luego se recortaron para eliminar los primers. Las secuencias consenso se compararon con bases de datos de secuencias depositadas en GenBank³ a través de un BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). Debido a que las secuencias del gen COI codifican secuencias de aminoácidos, se buscaron los marcos de lectura abiertos (ORF, Open Reading Frame) y su traducción a proteínas, utilizando el código genético mitocondrial para invertebrados a través del programa online ORF Finder⁴.

³ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>

⁴ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/orffinder/>

v.v. *Análisis bioinformáticos:*

Estos análisis se realizaron solo con los datos del gen COI, debido a que para el gen 16S se obtuvieron pocas secuencias, las cuales fueron editadas pero no se realizaron los alineamientos con estructura secundaria. Para los análisis se buscaron y descargaron de GenBank las secuencias existentes del gen COI para los géneros *Potamolithus* y *Chilina*, teniendo en cuenta bibliografía sobre el tema. Como outgroup del análisis del género *Potamolithus* se eligió a dos especies del género *Tatea* y para el análisis del género *Chilina* a dos especies de la familia Lymnaeidae; estos fueron seleccionados con base en trabajos recientes de filogenia (Gutiérrez Gregoric & de Lucía, 2016; Collado et al., 2019a; de Lucía et al., 2021). En el [Anexo 1.1](#) se muestran los números de referencia de las secuencias analizadas (números de lote del MLP-Ma para ejemplares secuenciados en este trabajo y números de acceso de GenBank para las secuencias descargadas). Las secuencias se alinearon con el software Clustal Xv2.0.12 (Larkin et al., 2007); luego se optimizaron mediante inspección visual y se editaron con un procesador de textos.

v.v.i. *Análisis filogenéticos:*

Los análisis filogenéticos se utilizan fundamentalmente para inferir las relaciones evolutivas de las especies. La manera más fácil de medir la divergencia entre dos secuencias de ADN es contar el número de sitios en los que difieren; este valor está basado en la fracción de posiciones en las que las dos secuencias difieren y se define como *distancia genética no corregida* o *distancia-p*. Sin embargo, esta distancia puede diferir de la verdadera distancia genética ya que algunos nucleótidos pueden haber sufrido múltiples eventos de sustitución. Debido a esto, se utilizan *modelos evolutivos* que son conjuntos de suposiciones sobre el proceso de sustitución de nucleótidos o aminoácidos y consisten en una matriz de tasas de sustitución entre los 4 nucleótidos (A, C, G, T). Así, la *distancia genética corregida* entre dos secuencias surge de estimar, utilizando un modelo de evolución, cuántas mutaciones habrían ocurrido desde la divergencia entre dos especies.

Existen distintos modelos evolutivos, el más general, y uno de los más usados, es *General Time Reversible* (GTR) el cual considera seis tasas relativas de sustitución diferentes y cuatro frecuencias nucleotídicas distintas. A partir de este se pueden obtener los demás modelos limitando los valores que los distintos parámetros pueden tomar. Así, por ejemplo, si se supone que todas las transiciones y las transversiones tienen la misma tasa el modelo se reduce al modelo Hasegawa-Kishino-Yano (HKY). Por último, se puede llegar al modelo más simple, Jukes y Cantor (JC69), en el cual cualquier base cambia a

cualquier otra base con la misma probabilidad. Además, para demostrar que algunos caracteres no cambian a lo largo del tiempo y para incorporar la heterogeneidad de las tasas de cambio entre los sitios, los programas utilizados para la búsqueda de modelos evolutivos estiman dos factores adicionales: la proporción de sitios invariantes (I) y la distribución Gamma (G). La proporción de sitios invariantes estima aquellos sitios que muestran el mismo estado para todas las secuencias, las cuales parece que nunca han cambiado, pero pudieron haberlo hecho en algún momento (por ejemplo $A \rightarrow T \rightarrow A$). Mientras que la distribución Gamma supone que la probabilidad de que un sitio particular evolucione con una tasa de sustitución determinada se rige por una distribución gamma (G) de media 1, con un parámetro de forma (α) que varía entre poco más de 0 (tasas muy diferentes) e infinito (la misma tasa para todos los caracteres).

Los métodos de reconstrucción filogenética se clasifican en *métodos de distancia* y *métodos en base a caracteres*. En los métodos de distancia se calcula la distancia entre cada par de secuencias y la matriz de distancia se utiliza para la reconstrucción del árbol (ej. *Neighbor-Joining* NJ y UPGMA *Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean*). Los métodos basados en caracteres usan directamente la matriz de estados y luego permiten localizar los diferentes cambios en distintas partes del árbol (ej. Máxima Parsimonia MP, Máxima Verosimilitud MV e Inferencia Bayesiana IB). En este trabajo se realizaron análisis filogenéticos a través de un método de distancia (NJ) y dos métodos en base a caracteres (MV e IB).

Neighbor-Joining (NJ): Método de reconstrucción filogenética desarrollado por Saitou & Nei (1987), que utiliza un algoritmo particular para la rápida reconstrucción de un árbol a partir de una matriz de distancias. Agrupa los taxones más cercanos de manera sucesiva, minimizando la longitud de todas las ramas internas y, por lo tanto, la longitud total del árbol. Comienza asumiendo un árbol en forma de estrella que no tiene ramas internas en el cual todos los taxones están unidos a un único nodo central. En este trabajo se utilizó el programa MEGA X (Kumar et al., 2018) para obtener las distancias genéticas no corregidas (distancia p), las distancias genéticas corregidas con el modelo Kimura 2 Parámetros (K2P) y el árbol de Neighbor-Joining (NJ).

Máxima Verosimilitud (MV): Método de reconstrucción filogenética que elige como mejor solución el o los árboles que maximizan la probabilidad de observar estados de los caracteres, dada una topología de árbol y un modelo de evolución. El primer algoritmo para el análisis de máxima verosimilitud de los datos de la secuencia de ADN fue desarrollado por Felsenstein (1981). El método MV elige el árbol más verosímil. Los análisis

filogenéticos MV se realizaron con el programa PhyML (Guindon et al., 2010) por medio de la plataforma bioinformática ATGC⁵. La búsqueda del mejor modelo evolutivo la realizó el propio análisis usando el programa SMS (Lefort et al., 2017) bajo el Criterio de Información de Akaike (AIC). El soporte estadístico de los nodos se evaluó mediante 1.000 réplicas de Bootstrap.

Inferencia Bayesiana (IB): Método de reconstrucción filogenética basado en la probabilidad posterior de los árboles dados los datos. El mejor árbol es el que tiene la mayor *probabilidad a posteriori*, que es la probabilidad de un árbol dado un modelo de evolución determinado y los datos observados. La IB se basa en el teorema de Bayes, que establece que la probabilidad posterior de un árbol depende de la verosimilitud o probabilidad de los datos dado ese árbol y de su probabilidad a priori. Los análisis IB se llevaron a cabo a través de MrBayes v3.1.2 (Ronquist et al., 2012), buscando previamente el mejor modelo evolutivo a través del programa jModelTest 2 (Darriba et al., 2012), bajo el Criterio de Información Bayesiano (BIC). Los análisis de IB se corrieron con 5 millones de generaciones, muestreando los árboles cada 1.000 generaciones y usando un *burnin* del 25%. Los árboles resultantes fueron inspeccionados con el visor gráfico de árboles filogenéticos FigTree v1.4 (Rambaut, 2012), para comparar las topologías de los distintos análisis y los valores de soporte.

v.v.ii. *Delimitación de especies:*

Existen varios métodos para la delimitación de especies utilizando datos moleculares (Kapli et al., 2017). Algunos métodos requieren una matriz de distancias genéticas, como el ABGD (*Automatic Barcode Gap Discovery*; Puillandre et al., 2012); otros requieren tanto una matriz de distancias genéticas como un árbol filogenético, como K/θ (Birky et al., 2010; Birky, 2013); mientras que otros solo requieren un árbol filogenético, como GMYC (*Generalized Mixed Yule–Coalescent*; Pons et al., 2006; Fujisawa y Barraclough, 2013) y PTP (*Poisson Tree Process*; Zhang et al., 2013) (Fontaneto et al., 2015). Si bien el uso de varios de estos métodos puede aumentar la confianza en el resultado, debido a que utilizan diferentes criterios para delimitar las especies, se pueden generar ciertas incongruencias (Fontaneto et al., 2015). Para explorar alguno de estos métodos, en este trabajo se decidió utilizar como métodos de delimitación de especies: ABGD, ASAP, mPTP y K/θ, explicados a continuación.

⁵ <http://www.atgc-montpellier.fr/>

ABGD, se utilizó para la detección estadística de los espacios del código de barras (“*barcode gap*”), los cuales marcan los límites entre las distancias intraespecíficas más pequeñas y las distancias intraespecíficas más grandes, a través de la interfaz web⁶. El conjunto de datos se divide en el número máximo de grupos (es decir, especies) de modo que la distancia entre dos secuencias tomadas de grupos distintos siempre será mayor que una distancia umbral determinada (es decir, *barcode gap*) (Pulliandre et al., 2012). Se calcula primero $P_{\text{máximo}}$ que es la divergencia máxima previa de la diversidad intraespecífica. Luego el programa encuentra los espacios del código de barras que se producen a una distancia mayor que algún valor del límite, por debajo del cual son estadísticamente más probables de ser distancias intraespecíficas, y estima en una partición preliminar del conjunto de datos con el umbral de distancia genética $P_{\text{máximo}}$. Luego calcula una partición primaria, donde los grupos son las primeras especies candidatas, tomando el umbral igual a la distancia del código de barras calculada primero. La detección de distancias se aplica de forma recursiva a los grupos obtenidos previamente, dividiendo la partición primaria en particiones secundarias, y así sucesivamente hasta que no se produzcan más divisiones. Debido a que para los géneros en estudio los parámetros, hasta este momento no estaban definidos en la bibliografía, los mismos se fueron modificando a partir de los parámetros por defecto establecidos en el programa. Los valores umbrales de distancia genética utilizados fueron, género *Potamolithus*: $P_{\text{mínimo}}= 0,001$, $P_{\text{máximo}}= 0,04$ y $X= 1,1$; género *Chilina*: $P_{\text{mínimo}}= 0,001$, $P_{\text{máximo}}= 0,01$ y $X= 1,5$.

ASAP (*Assemble Species by Automatic Partitioning*; Pulliandre et al., 2021), surge debido a que el método ABGD puede tener un desempeño deficiente cuando el contraste de las divergencias intraespecíficas versus las interespecíficas es leve; y también dado que no proporciona una puntuación para cada partición que ayude a identificar las “mejores” particiones (Pulliandre et al., 2021). Es por esto que se realizó un análisis también con este método, a través de la interfaz web⁷, el cual se basa en distancias genéticas por pares y proporciona varias particiones pero, con una puntuación para cada partición definida. Cuanto más baja sea la puntuación, llamada *asap-score*, mejor será la partición.

PTP, modela los procesos de ramificación en función del número de sustituciones esperadas acumuladas entre eventos de especiación posteriores. Supone que las sustituciones intraespecíficas e interespecíficas siguen dos procesos de Poisson distintos, y que las sustituciones intraespecíficas son menos perceptibles que las sustituciones

⁶ <https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/abgd/abgdweb.html>

⁷ <https://bioinfo.mnhn.fr/abi/public/asap>

interespecíficas porque tienen menos tiempo para acumularse. El modelo **mPTP** (*Multi-rate Poisson tree processes*; Kapli et al., 2017), a diferencia del PTP, ajusta los eventos de ramificación de cada especie delimitada a una distribución exponencial distinta, lo que aumenta la flexibilidad y la capacidad de ajuste a conjuntos de datos más realistas. Este método se utilizó a través de su servidor web⁸. Para el análisis de delimitación de especies del género *Potamolithus* se cargó como árbol de partida el árbol obtenido en el análisis de IB, y para el género *Chilina* se cargó el árbol de MV.

K/θ, es un método que utiliza el concepto de especie genética evolutiva, en el que las especies son poblaciones que evolucionan independientemente unas de otras, ya sea porque están aisladas reproductivamente o porque están separadas por factores ambientales o físicos, barreras o ambos. Propone que, para clados hermanos de un marcador dado, una divergencia entre clados (**K**) al menos cuatro veces mayor que la variación intraclado (**θ**) significa que estos clados tienen más del 95% de posibilidades de corresponder a especies diferentes. Como se comentó anteriormente, este método utiliza una matriz de distancias genéticas y un árbol filogenético y requiere de varios pasos: 1- Generar un árbol filogenético a través de NJ, MV o IB; 2- Determinar los pares de clados a ser testeados utilizando aquellos clados que tengan altos valores de soporte de Bootstrap o de probabilidad posterior (> 70%); 3- Se calcula para cada clado y su clado hermano, o el más cercano, la distancia genética media no corregida d y a partir de este parámetro se calcula la diversidad nucleotídica $\pi = dn / (n - 1)$, donde n es el número de secuencias en el clado. Cuando las distancias en un clado son idénticas y $d = 0$, este parámetro se obtiene manualmente a través de la fórmula $d = 2/Ln$, donde L es el largo de la secuencia; 4- Se calcula el parámetro $\theta = \pi / (1 - 4\pi / 3)$; 5- Se calcula la distancia media entre los dos clados; si esta distancia no está corregida con ningún modelo evolutivo se denomina D , y si es corregida por un modelo evolutivo se denomina K ; 6- Por último, se calcula la relación K / θ (debido a que el parámetro θ de los clados puede ser distinto, siempre es recomendable utilizar el más grande). Si la relación K / θ es superior a 4 significa que los clados hermanos tienen más del 95% de posibilidades de ser especies distintas. En este trabajo se utilizaron como árboles de partida para este método los árboles de NJ. Si bien este método se aplica a aquellos clados que estén bien soportados (> 70%), a modo exploratorio se testearon también aquellos clados que poseían soportes por debajo de 70%. Además, se consideraron los dos θ calculados (tomados como θ_1 y θ_2 , y sus respectivas relaciones con el parámetro K). Cuando se testeó un clado con secuencias únicas, estas fueron duplicadas para poder realizar el análisis a

⁸ <https://mptp.h-its.org/#/tree>

través de este método. En el análisis del género *Potamolithus* se duplicaron las secuencias de las siguientes especies: “*Heleobia*” *hatcheri*, *P. ribeirensis*, “*Heleobia*” sp. y *Potamolithus* sp4; mientras que en el análisis del género *Chilina* se duplicaron las secuencias de las especies: *C. gallardoi*, *C. nicolasi*, *C. santiagoi*, *C. luciae*, *C. megastoma*, *C. sanjuanina* y *C. mendozana*.

RESULTADOS

El género *Potamolithus* fue hallado solo en el sitio IMG, mientras que el género *Chilina* fue hallado en todos los sitios, excepto RNPED. En cuanto a los datos moleculares, se obtuvieron 47 secuencias en total, 34 para el género *Potamolithus* (28 COI y seis 16S) y 18 para el género *Chilina* (17 de COI y una 16S).

Género *Potamolithus*

Los análisis anatómicos revelaron la presencia de cuatro especies de *Potamolithus*: *Potamolithus agapetus*, *P. bisinuatus*, *P. buschii* y *Potamolithus* sp.; mientras que los análisis moleculares (gen COI) revelaron la presencia de cinco posibles especies (*P. agapetus*, *P. bisinuatus*, *P. buschii* y *Potamolithus* sp.1 y *Potamolithus* sp.2). Dentro de la IMG, estas especies fueron halladas en los sub-sitios Casa de Bombas y Punta Cañón (sitios con abundante sustrato rocoso).

Análisis anatómicos

Descripción general del género *Potamolithus* Pilsbry, 1896 (modificado de de Lucía, et al., 2021):

Concha y opérculo. Concha pequeña (<10 mm), sólida, trocoide, globosa o cónica, peristoma completo en ejemplares sexualmente maduros. Opérculo córneo, elíptico, con núcleo submarginal, paucispiral, sin clavija o mancha blanca interna, color marrón claro, translúcido.

Rádula. Taenioglossa. Diente central ancho, con varias cúspides anteriores y basales. Las cúspides basales surgen del lado externo de la cara del diente y las internas son más grandes que las externas.

Cabeza-pie y anatomía no genital. Tentáculos cefálicos largos, finos, generalmente pigmentados en el lado dorsal, sin pigmentación ventralmente. Cabeza generalmente pigmentada; labios y alrededor de los ojos sin pigmentación. Lóbulo del ojo generalmente bien desarrollado. En hembras de algunas especies puede existir un nodo nucal, ubicado en el cuello generalmente desplazado hacia la derecha, el cual puede estar o no pigmentado (se desconoce su función). Manto dorsalmente puede estar pigmentado, ventralmente sin pigmentación. Ctenidio con filamentos branquiales triangulares. Osfradio elongado y

ovalado, generalmente ubicado frente a la zona media posterior del ctenidio. Glándula hipobranquial poco visible, cubre casi todo el recto. Intestino curvo, pellets fecales orientados transversalmente, ano cerca del borde de la cavidad del manto del lado derecho. Órgano renal detrás de la cavidad paleal. Pericardio detrás de la cavidad del manto y conectado con el ctenidio por un corto vaso sanguíneo.

Anatomía genital. Hembra. Ovario generalmente ramificado y lobulado. Oviducto, en general, primero hace contacto con el receptáculo seminal y luego con la *bursa copulatrix*, para finalmente contactar con el canal ventral del oviducto paleal. Oviducto paleal formado por dos glándulas: la glándula del albumen de posición posterior y la glándula de la cáscara de posición anterior; la abertura genital se encuentra cercana al ano. Ovíparos. Cápsulas de los huevos hemisféricos, lisos, cementados a rocas o conchas de ejemplares del género *Potamolithus* u otros caracoles de agua dulce como los géneros *Heleobia*, *Anisancylus* o *Chilina*.

Macho. Testículo en general ramificado y lobulado. Vaso deferente posterior abandona el testículo, alcanza la pared de la cavidad del manto y entra en la próstata ventralmente. El vaso deferente anterior puede tener un recorrido en espiral, ondulado o recto y puede ser de un grosor mayor, igual o menor que el vaso deferente posterior. El vaso deferente anterior sale de la próstata, atraviesa la pared de la cavidad del manto y entra en la pared del cuerpo, cerca del músculo columelar; luego se dirige al cuello, hasta entrar al pene por la base, donde se vuelve más delgado. Pene ubicado en el lado derecho del cuello, cerca del centro. Distalmente, suele haber una papila terminal eversible, rodeada de un collar prepucial bien definido. En unas pocas especies, no se puede distinguir el collar prepucial ni la papila terminal.

Sistema nervioso. Típico de Truncatelloidea. Ganglios separados por conectivos y comisuras alargadas. Ganglios cerebrales y pleurales fusionados, no se distingue el conjuntivo cerebro-pleural. Ganglio pleural izquierdo separado del ganglio subesofágico por un corto conectivo pleuro-subesofágico. Los ganglios pueden tener pigmentación o ser no pigmentados.

Ecología. Micrófagos. Habitan ambientes epigeos (lóticos) como hipogeos, preferiblemente rocosos, pero se los ha encontrado en la arena e incluso sobre vegetación acuática (e.g. *Schoenoplectus californicus* (C.A.Mey.) Sojak).

***Potamolithus agapetus* Pilsbry, 1911**

Potamolithus agapetus Pilsbry, 1911 en Pilsbry, 1911: 578; Parodiz, 1965: 9; López Armengol, 1985: 63; Martorelli, 1994: 15; López Armengol, 1996: 4; Rumi et al., 1996: 11; López Armengol & Martorelli, 1997: 99; Darrigran & López Armengol, 1998: 81; López Armengol & Darrigran, 1998: 71; Darrigran, 1999: 4; César et al., 2000: 44; Silva, 2003: 132; Silva & Veitenheimer-Mendes, 2004: 87; Darrigran & Lagreca, 2005: 9; Rumi et al., 2006: 205; Rumi et al., 2008: 81; Núñez et al., 2010: 50; César et al., 2012: 125; Clavijo & Scarabino, 2013: 87; de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2017a: 217; de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2017b: 202; Núñez, 2017: 1; Collado et al., 2019a: 8; Collado et al., 2019b: 7; de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2019: 14; de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2020: 15; Collado et al., 2021: 3; de Lucía et al., 2021: 107.

Potamolithus buschii (Frauenfeld, 1865) en Koch et al, 2015: 73.

Holotipo y localidad tipo. Academy of Natural Sciences of Philadelphia ANSP 69683. Río de la Plata, Isla San Gabriel, Uruguay.

Descripción original. The shell is imperforate, globular-conic, of a rather light green color. The surface is smoothish, faintly marked with growth-lines. Spire short and conic, the apex obtuse. Whorls 4, convex, the last evenly rounded, without keels or angles, the suture shortly deflexed at the aperture. There is a moderate or narrow and usually rather conspicuous columellar area. The aperture is oblique, rather broadly ovate. The peristome is thickened within, the basal and outer margins are evenly and strongly arcuate, the outer becoming straightened near the upper angle of the aperture. The inner lip is heavily calloused; columella rather wide and flattened. Length 3, diam. 2.8 mm.

Material analizado. MLP-Ma 15206 Isla Martín García, Casa de Bombas (16/01/2018), Col. de Lucía y Zivano; MLP-Ma 15207 Isla Martín García, Punta Cañón (17/01/2018), Col. Zivano, Lenguas Francavilla y Negrete; MLP-Ma 15208 Isla Martín García, Casa de Bombas (02/11/2018), Col. de Lucía y Zivano.

Descripción ampliada

Concha ($n=24$) (Fig. 1.12; Tabla 1.1). Globosa, gruesa, de tamaño medio, marrón claro, de superficie lisa. Generalmente con surco superior en la última vuelta y banda media marrón (se dan las combinaciones: con banda y sin surco; sin surco ni banda; con surco y sin banda). LT 4,10 - 5,10 mm; AT 3,80 - 5,00 mm; 4,08 - 4,98 vueltas. Espira corta (14% del

LT) y ápice redondeado. Abertura oval y oblicua (66% del LT), peristoma color marrón oscuro. Columela plana con área adcolumnelar (ubicada a la derecha de la columela).

Rádula ($n=1$) (Fig. 1.13). Cinta radular: tamaño medio (30% del LT de la concha); largo: 1,45 mm; ancho: 0,22 mm. Total de hileras: 80 (13 en formación). Central: 11 - 12 cúspides anteriores y 2 ó 3 pares de cúspides basales de cada lado, forma trapezoidal (ancho superficie anterior: 28 μm ; ancho superficie basal: 50 μm), superficie dorsal cóncava, con excavación profunda de la base (63%). Lateral: 9 - 10 cúspides, mesocono más desarrollado y en forma de daga (puntiagudo). Marginal interno: 16 - 18 cúspides. Marginal externo: 20 - 23 cúspides.

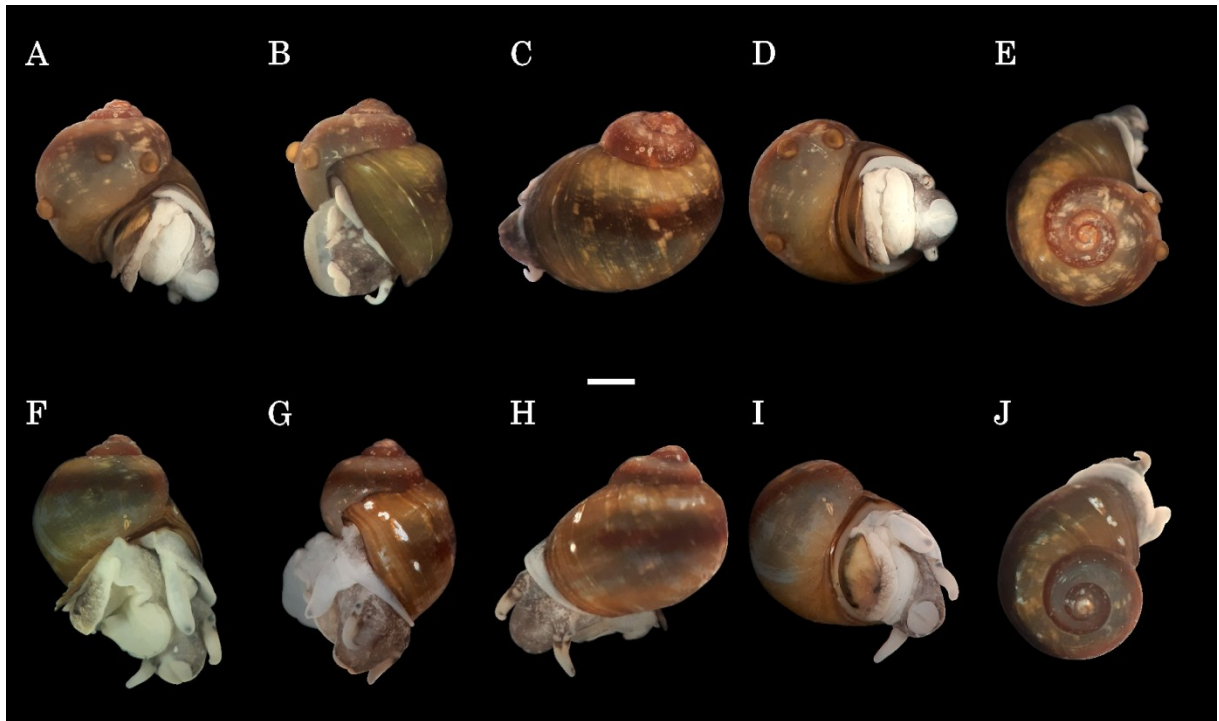


Figura 1.12. Concha de *Potamolithus agapetus*. A-E: Hembra, F-J: Macho. A, F: Vista ventral, B, G: Vista lateral, C, H: Vista dorsal, D, I: Vista umbilical, E, J: Vista apical. Escala: 1 mm.

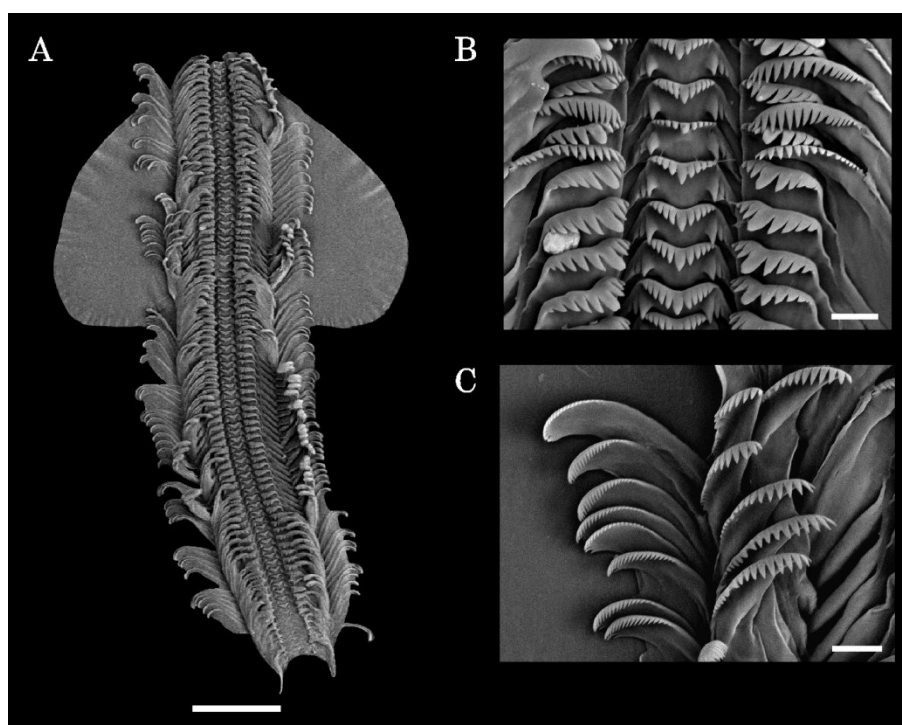


Figura 1.13. Rádula de *Potamolithus agapetus*. **A:** Cinta radular, **B:** Dientes centrales y laterales, **C:** Dientes marginales internos y externos. Escala: A: 200 μm ; B-C: 20 μm .

Tabla 1.1. Medidas de concha (mm) de *Potamolithus agapetus*. N= 24 (10♀, 14♂). Media, desvío estándar (DS), mínimo (Min) y máximo (Máx.).

	Media	DS	Min	Máx.
Número de vueltas	4,66	0,24	4,08	4,98
Largo total (LT)	4,69	0,29	4,10	5,10
Largo espira (LE)	0,66	0,10	0,50	0,85
Largo último anfracto (LUA)	4,02	0,24	3,50	4,42
Base espira (BE)	1,59	0,12	1,40	1,89
Ancho total (AT)	4,38	0,33	3,80	5,00
Largo abertura (LA)	3,10	0,20	2,75	3,60
Ancho abertura (AA)	2,48	0,15	2,30	2,90
Ancho columela	0,26	0,09	0,15	0,45
Ancho área adcolumnelar	0,25	0,17	0,00	0,50
Ángulo inclinación abertura	35	4,79	26	45
Rel. LE/LT	0,14	0,02	0,11	0,17
Rel. BE/LE	2,43	0,30	1,88	3,00
Rel. BE/AT	0,35	0,03	0,30	0,43
Rel. LT/AT	1,07	0,06	0,98	1,20
Rel. LA/LT	0,66	0,03	0,59	0,72
Rel. LUA/LT	0,86	0,02	0,83	0,89

Cabeza-pie y anatomía no genital (n=10) (Fig. 1.14; Tabla 1.2). Cabeza gris (con tres tonalidades (oscura, media o claro), labios sin pigmentación. Tentáculos con banda perpendicular gris (oscura, media o claro) cerca de los ojos, luego dos bandas grises (oscura, media o claro) paralelas con una banda blanca media. Hacia el extremo distal estas bandas se hacen más claras hasta desaparecer; mancha gris en el extremo distal; ventralmente sin pigmentación. Pie oscuro, algunas zonas más oscuras que otras, sin patrón definido. Manto dorsalmente negro, más claro hacia los costados y ventralmente sin pigmentación. Hembras con nodo nucal ubicado en la zona media del cuello, en algunas posee pigmentación negra en otras sin pigmentación. El ctenidio ocupa el 30% del LMV, con 32-37 filamentos. Osfradio alargado y de posición media posterior, ocupa el 46% del LC.

Anatomía genital (Fig. 1.14, Tabla 1.2). *Hembra (n= 5)*: Receptáculo seminal con forma alargada-elongada, apoyada contra la pared ventral y anterior de la *bursa copulatrix*, con canal largo. La *bursa copulatrix* es alargada-elongada, se ubica en la zona media posterior de la glándula del albumen, tiene un conducto largo que se pone en contacto con el ducto del receptáculo seminal y terminan en un ducto que entra en el canal ventral. El límite de la cavidad paleal pasa por el medio del oviducto paleal (entre las dos glándulas), la glándula de la cáscara queda en la cavidad del manto, pero la glándula del albumen no. La glándula del albumen es un poco más grande que la glándula de la cáscara.

Macho (n= 7): Pene blanco (ocupa el 30% del LMV), con dos bandas de pigmentación interna negra (puntos) desde el medio hacia el extremo distal además pigmentación interna negra (puntos) en el collar prepucial, con papila terminal. El vaso deferente posterior ingresa en la próstata por la zona ventral. El vaso deferente anterior abandona la próstata en la zona anterior y superior, es de mayor grosor que el vaso deferente posterior, hace un recorrido espiral y ondulado, para dirigirse cercano al musculo columelar, hacerse más fino e ingresar en la base del pene.

Sistema nervioso (n= 4). Ganglio cerebral con pigmentación oscura, ganglio pedal con leve pigmentación. El conectivo pleuro-subesofágico corresponde al 50% del conectivo pleuro-supraesofágico. Valores medios: RPG: 0,52 (DS 0,07); ganglio cerebral: 0,30 mm (DS 0,02); comisura cerebral: 0,24 mm (DS 0,03); ganglio pleural derecho: 0,16 mm (DS 0,04); ganglio pleural izquierdo: 0,19 mm (DS 0,05); ganglio supraesofágico: 0,20 mm (DS 0,02); ganglio subesofágico: 0,21 mm (DS 0,03); ganglio pedal: 0,42 mm (DS 0,03); comisura pedal: 0,09 mm (DS 0,04).

Información genética. Se obtuvieron cuatro secuencias del gen COI, de 658 pares de bases de longitud, y una secuencia del gen 16S de 506 pares de bases de longitud.

Distribución histórica. Argentina: Buenos Aires (islas del Delta, Isla Martín García, San Isidro, Vicente López y Atalaya). Uruguay: departamento de Colonia (Isla San Gabriel).

Observaciones. Según López Armengol (1996) esta especie posee dimorfismo sexual en cuanto al tamaño y la forma de la concha (siendo las hembras más grandes); 19 a 28 filamentos del ctenidio y una rádula con un diente central con 3 o 4 pares de cúspides basales. En los análisis llevados a cabo, no se observó dimorfismo sexual en ningún carácter analizado. Además, los ejemplares analizados aquí alcanzan tamaños mayores que los reportados por López Armengol (1985, 1996); los filamentos del ctenidio varían de 32 a 37 y en el diente central se observan de 2 a 4 pares de cúspides basales. La morfología de los dientes radulares (central y lateral) es igual a la descrita por López Armengol (1996). Por los tamaños documentados según López Armengol (1985), los ejemplares analizados en este trabajo podrían pertenecer a lo que ella determina como *P. lapidum*. Sin embargo, la forma de la concha y la coloración de la cabeza-pie no corresponden a la determinada por d'Orbigny (1835-1840) y Silva & Davis (1983) para *P. lapidum*. Lamentablemente la información sobre *P. lapidum* es escasa y controversial, con lo cual en este trabajo se toma a los ejemplares encontrados en IMG como pertenecientes a la especie *P. agapetus*.

Las secuencias del gen COI obtenidas se corresponden con la secuencia KM220909 de GenBank identificada como *P. buschii* (MLP-Ma 13811). En el lote MLP-Ma 13811 no se encuentra el ejemplar al cual se le extrajo ADN y se obtuvo dicha secuencia, ya que el mismo fue utilizado en su totalidad para la extracción de ADN (Koch com. pers). El lote MLP-Ma 13811 fue analizado anatómicamente y se identificaron ejemplares pertenecientes a la especie *P. agapetus*. Además, en el lote MLP-Ma 13806 (identificado como *P. agapetus*) se registraron dos especies, *P. agapetus* y *P. buschii*. Por lo tanto, la secuencia KM220909 depositada en GenBank (identificada como *P. buschii*) es considerada aquí como *P. agapetus*.

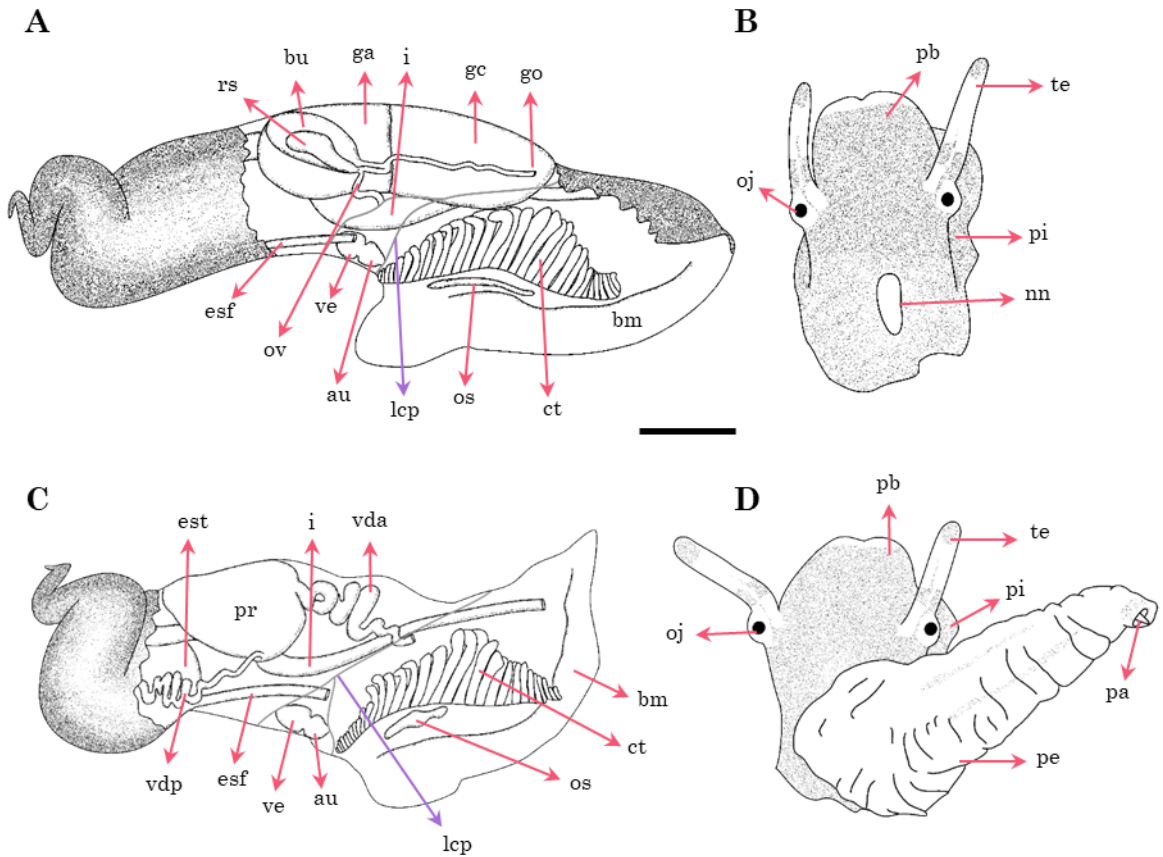


Figura 1.14. Esquema de anatomía externa e interna de *Potamolithus agapetus*. **A-B:** Hembra, **C-D:** Macho. Escala: 1 mm. Abreviaturas: au: aurícula, bm: borde del manto, bu: *bursa copulatrix*, ct: ctenidio, esf: esófago, est: estómago, ga: glándula del albumen, gc: glándula de la cáscara, go: gonoporo, i: intestino, lcp: límite de la cavidad paleal, nn: nodo nocal, oj: ojo, os: osfradio, ov: oviducto, pa: papila terminal, pb: proboscis, pe: pene, pi: pie, pr: próstata, rs: receptáculo seminal, te: tentáculo, vda: vaso deferente anterior, vdp: vaso deferente posterior, ve: ventrículo. Flecha violeta: marca el límite de la cavidad paleal, delimitado como una línea gris.

Tabla 1.2. Medidas anatómicas (mm) de *Potamolithus agapetus*. N= 12 (5♀, 7♂). Media, desvío estándar (DS), mínimo (Min), máximo (Máx.), número de ejemplares (N).

	Media	DS	Min	Máx.	N
Largo ctenidio (LC)	3,17	0,44	2,58	4,13	12
Largo osfradio (LO)	1,40	0,22	1,05	1,87	12
Ancho borde del manto (BM)	0,36	0,09	0,27	0,53	12
Número filamentos del ctenidio	34,67	1,50	32	37	12
Largo cavidad manto (LCM)	3,53	0,45	2,85	4,44	12
Rel. BM/LCM	0,10	0,03	0,07	0,16	12
Rel. LO/LC	0,44	0,06	0,32	0,52	12
Rel. LC/LMV	0,31	0,04	0,27	0,40	12
Largo bulbo radular	1,44	0,12	1,24	1,60	6
Largo masa visceral (LMV)	10,45	0,96	9,18	11,96	12
Largo oviducto paleal (LOP)	2,96	0,25	2,57	3,20	5
Largo glándula albumen	1,57	0,19	1,32	1,79	5
Largo glándula cascara	1,40	0,13	1,25	1,60	5
Largo <i>bursa copulatrix</i> (LBC)	0,89	0,09	0,81	1,00	5
Ancho <i>bursa copulatrix</i>	0,28	0,06	0,19	0,36	5
Largo receptáculo seminal	0,51	0,08	0,41	0,60	5
Ancho receptáculo seminal	0,15	0,06	0,11	0,25	5
Rel. LBC/LOP	0,30	0,05	0,27	0,39	5
Nodo nucal	0,74	0,05	0,67	0,78	5
Largo próstata (LPr)	1,51	0,11	1,40	1,71	7
Ancho próstata	1,02	0,10	0,94	1,19	7
Rel. LPr/LMV	0,14	0,02	0,12	0,17	7
Largo pene (LPe)	3,19	0,50	2,35	3,83	7
Largo pene hasta collar prepucial	3,13	0,48	2,31	3,73	7
Ancho medio pene	1,17	0,15	0,96	1,35	7
Ancho extremo terminal pene	0,18	0,06	0,11	0,29	7
Ancho base pene	1,12	0,22	0,84	1,49	7
Ancho máx. pene (AMPe)	1,69	0,15	1,48	1,85	7
Rel. AMPe/LPe	0,54	0,07	0,46	0,63	7
Rel. LPe/LMV	0,30	0,05	0,22	0,38	7

***Potamolithus bisinuatus* Pilsbry, 1896**

Potamolithus bisinuatus Pilsbry, 1896 en Pilsbry, 1896: 88; Formica Corsi, 1900; Pilsbry, 1911: 576; Parodiz, 1965: 22; López Armengol, 1985: 70; Darrigran & López Armengol, 1998: 88; López Armengol & Darrigran, 1998: 71; Silva, 2003: 135; Darrigran & Lagreca, 2005: 9; de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2020: 15.

Holotipo y localidad tipo. Academy of Natural Sciences of Philadelphia ANSP 69688. Río Uruguay, Paysandú, Uruguay.

Descripción original. The shell is imperforate, globose-conic, moderately solid, green or pale yellowish-green, sometimes one-colored, but usually begirt with three narrow reddish-brown bands, one bordering the suture, another above the periphery, and on the penultimate whorl visible above the suture, and the third band below the periphery. The nearly smooth surface is weakly marked with lines of growth. The spire is conic and rather high, truncated at the summit in all adult shells seen, by the erosion of the early whorls, about 3.5 remaining. These are strongly convex, the last one globose, without keels or angles of any kind, and with no expansion or varix behind the outer lip. There is a distinct and concave but quite small columellar area. The aperture is moderately oblique, round-ovate, white or brownish inside. Its posterior angle is more or less filled with a callous deposit. The peristome is edged with a black line. The thin outer lip has a deep rounded sinus near its posterior insertion, and there is a second sinus, wider and not so deep, at the base, the lip projecting as a broad truncated lobe between the two embayments. The columella is concave, narrowly calloused and the parietal callus is rather thick. Length 5, diam. 3.9, length of aperture 2.8 mm.

Material analizado. MLP-Ma 15191 Isla Martín García, Casa de Bombas (10/05/2019), Col. de Lucía y Zivano; MLP-Ma 15192 Isla Martín García, Punta Cañón (10/05/2019), Col. de Lucía y Zivano; MLP-Ma 15193 Isla Martín García, Casa de Bombas (16/01/2018), Col. de Lucía y Zivano; MLP-Ma 15194 Isla Martín García, Casa de Bombas (05/06/2018), Col. de Lucía y Zivano; MLP-Ma 15195 Isla Martín García, Casa de Bombas (21/08/2018), Col. de Lucía y Zivano; MLP-Ma 15196 Isla Martín García, Casa de Bombas (09/02/2019), Col. de Lucía y Zivano; MLP-Ma 15197 Isla Martín García, Casa de Bombas (10/05/2019), Col. de Lucía y Zivano; MLP-Ma 15198 Isla Martín García, Casa de Bombas (26/08/2019), Col. de Lucía y Zivano; MLP-Ma 15199 Isla Martín García, Casa de Bombas (08/10/2019), Col. de Lucía y Zivano; MLP-Ma 15200 Isla Martín García, Punta Cañón

(05/06/2018), Col. de Lucía y Zivano; MLP-Ma15201 Isla Martín García, Punta Cañón (26/08/2019), Col. de Lucía y Zivano.

Descripción ampliada

Concha ($n= 25$) (Fig. 1.15; Tabla 1.3). Concha globosa-cónica, color marrón-verde, traslúcida, superficie lisa. Puede tener tres bandas color marrón (superior, media e inferior), o ser de un solo color. LT: 2,60 - 4,89 mm; AT: 1,95 - 4,05 mm; 4,04 - 5,72 vueltas. Espira media, cónica (18% del LT). El ápice en los juveniles empieza a erosionarse. Abertura deformada, oblicua, con una saliente media (que forma una sinuosidad), pudiendo tener forma de U o W horizontal (59% del LT). El peristoma está bordeado por una línea fina color verde oscuro o marrón oscuro. Columela pequeña, plana, con área adcolumnelar.

Rádula ($n= 3$) (Fig. 1.16). Cinta radular: tamaño medio (21% del LT de la concha); largo: 0,88 mm; ancho: 0,15 mm. Total de hileras: 91 (16 en formación). Central: 13 - 15 cúspides anteriores y 3 ó 4 pares de cúspides basales de cada lado, forma trapezoidal (ancho superficie anterior: 16,86 μm ; ancho superficie basal: 26,16 μm), superficie dorsal cóncava, con excavación profunda de la base (54%). Lateral: 13 - 16 cúspides, mesocono más desarrollado y en forma de daga (puntiagudo). Marginal interno: 38 - 44 cúspides. Marginal externo: 30 - 40 cúspides.

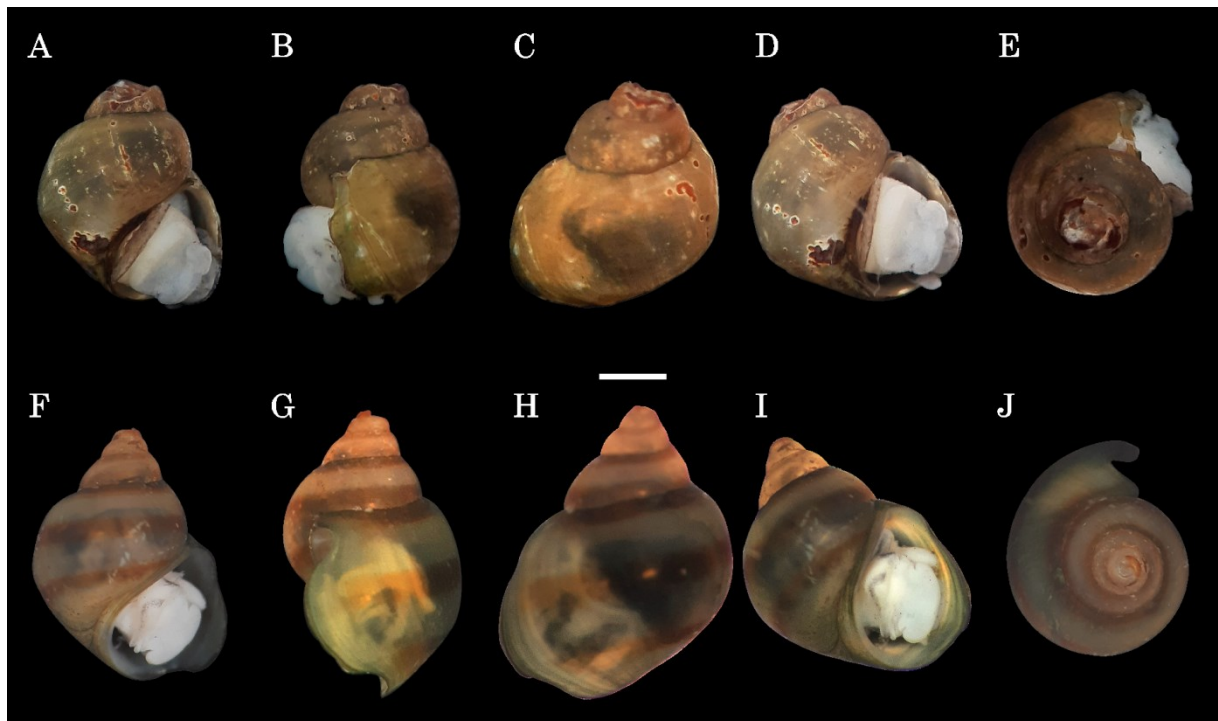


Figura 1.15. Concha de *Potamolithus bisinuatus*. A-E: Hembra, F-J: Macho. A, F: Vista ventral, B, G: Vista lateral, C, H: Vista dorsal, D, I: Vista umbilical, E, J: Vista apical. Escala: 1 mm.

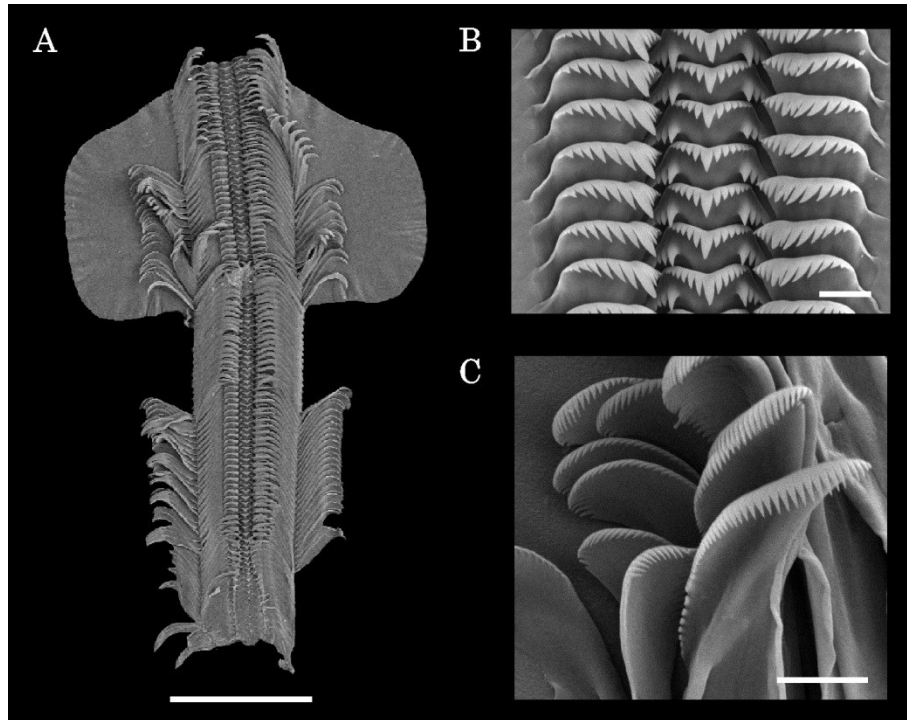


Figura 1.16. Rádula de *Potamolithus bisinuatus*. **A:** Cinta radular, **B:** Dientes centrales y laterales, **C:** Dientes marginales internos y externos. Escala: A: 200 µm, B-C: 10 µm.

Cabeza-pie y anatomía no genital (n= 9) (Fig. 1.17; Tabla 1.4). Cabeza negra o gris oscura, con patrón en V, quedando el área donde está el bulbo bucal y el cuello sin pigmentación. Tentáculos blancos, con una banda media negra. Pie con áreas de pigmentación gris claro y oscuro, sin patrón definido. Manto dorsalmente negro o con manchas negras, ventralmente sin pigmentación. Hembras sin nodo nual. El ctenidio ocupa el 28% del LMV, con 29 - 41 filamentos. Osfradio alargado de posición media posterior, ocupa el 46% de LC.

Anatomía genital (Fig. 1.17; Tabla 1.4). *Hembra (n= 3)*: receptáculo seminal con forma ovalada, apoyada contra la pared media de la *bursa copulatrix*, con canal largo. La *bursa copulatrix* es ovalada, ubicada en la zona media posterior de la glándula del albumen, con conducto largo que se pone en contacto con el ducto del receptáculo seminal y terminan en un ducto que entra en el canal ventral. El límite de la cavidad paleal no pasa entre las dos glándulas del oviducto paleal, con lo cual parte de la glándula del albumen queda en la cavidad del manto. La glándula del albumen es más grande que la glándula de la cáscara.

Macho (n= 6): Pene blanco (ocupa el 24% del LMV), con áreas de pigmentación interna negra en la zona media, con papila terminal. El vaso deferente posterior ingresa en la próstata por la zona media ventral. El vaso

deferente anterior abandona la próstata cerca del ingreso del vaso deferente posterior; es del mismo grosor que el vaso deferente posterior, hace un recorrido recto hacia la zona anterior, luego ondula, para dirigirse cercano al músculo columelar, hacerse más fino e ingresar en la base del pene.

Tabla 1.3. Medidas de concha (mm) de *Potamolithus bisinuatus*. N= 25 (3♀, 19♂, 3ss). ss= sexo sin identificar. Media, desvío estándar (DS), mínimo (Min) y máximo (Máx.).

	Media	DS	Min	Máx.
Número de vueltas	4,83	0,44	4,04	5,72
Largo total (LT)	4,12	0,49	2,60	4,89
Largo espira (LE)	0,75	0,15	0,47	0,96
Largo último anfracto (LUA)	3,37	0,40	2,12	4,23
Base espira (BE)	1,41	0,16	0,88	1,68
Ancho total (AT)	3,28	0,37	1,95	4,05
Largo abertura (LA)	2,43	0,31	1,39	2,89
Ancho abertura (AA)	1,84	0,20	1,26	2,16
Ancho columela	0,14	0,06	0,00	0,31
Ancho área adcolumnelar	0,16	0,11	0,00	0,37
Ángulo inclinación abertura	23	6,91	11	40
Rel. LE/LT	0,18	0,03	0,12	0,22
Rel. BE/LE	1,93	0,35	1,44	2,91
Rel. BE/AT	0,43	0,03	0,37	0,46
Rel. LT/AT	1,26	0,07	1,10	1,39
Rel. LA/LT	0,59	0,04	0,53	0,73
Rel. LUA/LT	0,82	0,03	0,78	0,88

Sistema nervioso (n= 5). Ganglios cerebrales, pedales y pleurales sin pigmentación. El conectivo pleuro-subesofágico corresponde al 14 % del conectivo pleuro-supraesofágico. Valores medios: RPG: 0,41 (DS 0,03); ganglio cerebral: 0,30 mm (DS 0,05); comisura cerebral: 0,10 mm (DS 0,01); ganglio pleural derecho: 0,14 mm (DS 0,03); ganglio pleural izquierdo: 0,16 mm (DS 0,03); ganglio supraesofágico: 0,16 mm (DS 0,03); ganglio subesofágico: 0,16 mm (DS 0,04); ganglio pedal: 0,27 mm (DS 0,04); comisura pedal: 0,03 mm (DS 0,01).

Información genética. Se obtuvieron siete secuencias del gen COI, de 658 pares de bases de longitud, y dos secuencias del gen 16S de 508 pares de bases de longitud.

Distribución histórica. Argentina: Misiones (arroyo Itacaruaré, San Javier), Corrientes (arroyo Ciriaco), Entre Ríos (Concordia, Colón), Buenos Aires (islas del Delta, Isla Martín García, San Isidro, Vicente López). *Uruguay:* Salto (Salto Grande, Salto Chico), Paysandú, Soriano (arroyo Víboras), Colonia (Isla San Gabriel), Montevideo.

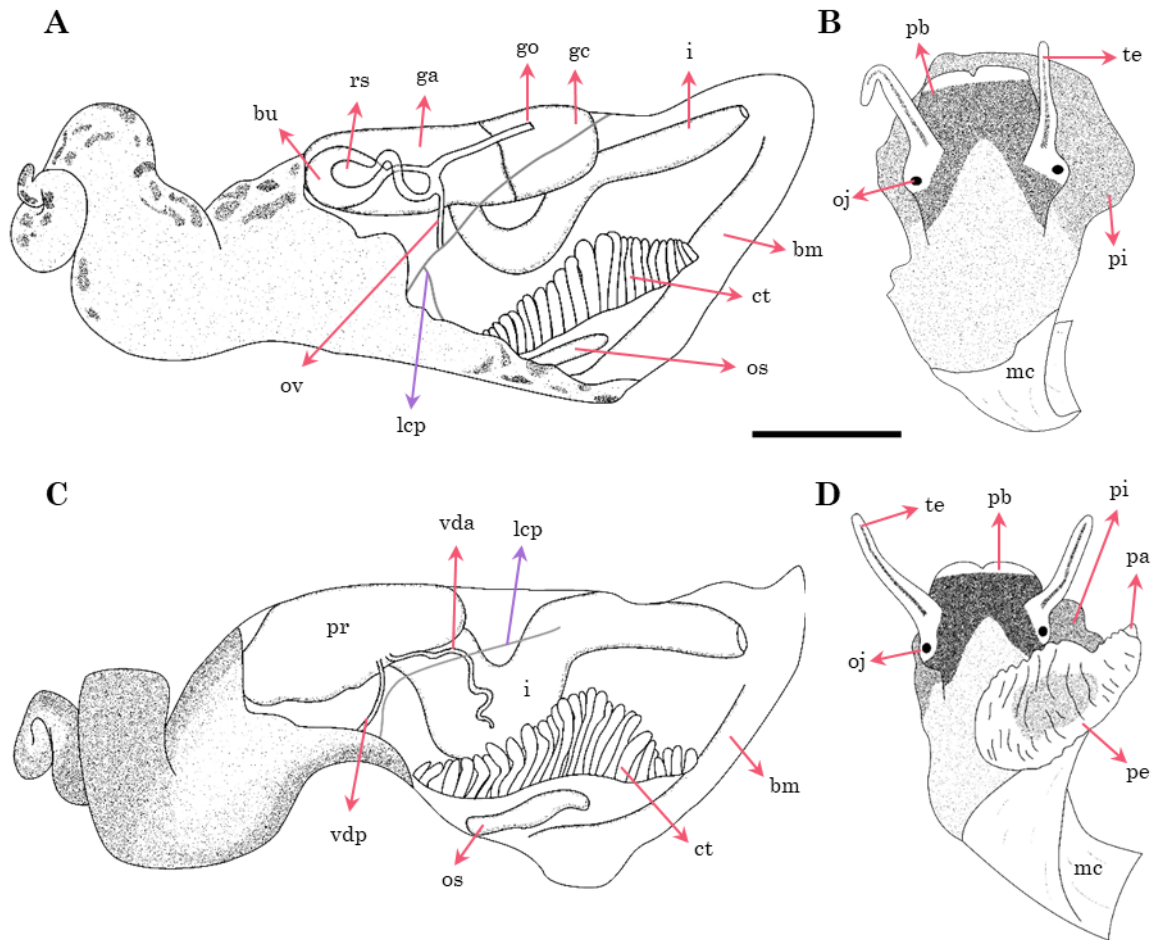


Figura 1.17. Esquema de anatomía externa e interna de *Potamolithus bisinuatus*. **A-B:** Hembra, **C-D:** Macho. Escala: 1 mm. Abreviaturas: bm: borde del manto, bu: *bursa copulatrix*, ct: ctenidio, ga: glándula del albumen, gc: glándula de la cáscara, go: gonoporo, i: intestino, lcp: límite de la cavidad paleal, mc: músculo columelar, oj: ojo, os: osfradio, ov: oviducto, pa: papila terminal, pb: proboscis, pe: pene, pi: pie, pr: próstata, rs: receptáculo seminal, te: tentáculo, vda: vaso deferente anterior, vdp: vaso deferente posterior. Flecha violeta: marca el límite de la cavidad paleal, delimitado como una línea gris.

Tabla 1.4. Medidas anatómicas (mm) de *Potamolithus bisinuatus*. N= 9 (3♀, 6♂). Media, desvío estándar (DS), mínimo (Min), máximo (Máx.), número de ejemplares (N).

	Media	DS	Min	Máx.	N
Largo ctenidio (LC)	2,03	0,41	1,55	3,00	9
Largo osfradio (LO)	0,94	0,30	0,52	1,58	8
Ancho borde del manto (BM)	0,23	0,05	0,14	0,29	9
Número filamentos del ctenidio	34,22	3,96	29	41	9
Largo cavidad manto (LCM)	2,26	0,41	1,79	3,24	9
Rel. BM/LCM	0,10	0,03	0,07	0,14	9
Rel. LO/LC	0,46	0,08	0,29	0,55	8
Rel. LC/LVM	0,28	0,04	0,24	0,38	9
Largo bulbo radular	0,94	0,16	0,70	1,21	8
Largo masa visceral (LMV)	7,29	0,86	5,67	8,43	9
Largo oviducto paleal (LOP)	2,01	0,18	1,88	2,13	2
Largo glándula albumen	1,29	0,05	1,25	1,32	2
Largo glándula cascara	0,72	0,13	0,63	0,81	2
Largo <i>bursa copulatrix</i> (LBC)	0,75	0,09	0,68	0,81	2
Ancho <i>bursa copulatrix</i>	0,45	0,13	0,35	0,54	2
Largo receptáculo seminal	0,43	0,01	0,42	0,43	2
Ancho receptáculo seminal	0,19	0,08	0,13	0,24	2
Rel. LBC/LOP	0,37	0,01	0,36	0,38	2
Largo próstata (LPr)	1,57	0,26	1,26	2,00	6
Ancho próstata	0,64	0,08	0,52	0,74	6
Rel. LPr/LMV	0,21	0,04	0,18	0,26	6
Largo pene (LPe)	1,77	0,51	1,31	2,76	6
Largo pene hasta collar prepucial	1,70	0,48	1,23	2,63	6
Ancho medio pene	1,13	0,68	0,66	2,42	6
Ancho extremo terminal pene	0,19	0,05	0,16	0,29	6
Ancho base pene	0,47	0,21	0,29	0,87	6
Ancho máx. pene (AMPe)	0,86	0,30	0,66	1,45	6
Rel. AMPe/LPe	0,43	0,17	0,10	0,61	6
Rel. LPe/LMV	0,24	0,06	0,18	0,35	6

Observaciones. No se observó dimorfismo sexual. De los 25 ejemplares adultos analizados (peristoma completo), dos presentaban el peristoma en forma de W horizontal, que es una característica de *Potamolithus bisinuatus obsoletus*. Estos ejemplares, en el análisis, no presentaron diferencias con respecto a los otros (con el peristoma con forma de U horizontal, característico de *Potamolithus bisinuatus bisinuatus*), razón por la cual en

este trabajo se toman como *P. bisinuatus bisinuatus*. López Armengol (1985) plantea como posibles morfos de *Potamolithus bisinuatus bisinuatus* a las siguientes subespecies y especies: *P. bisinuatus obsoletus*, *P. gracilis*, *P. gracilis viridis* y *P. sykesii*. Debido a que estas especies y subespecies hasta el momento solo poseen datos de concha, no se toma ninguna decisión con respecto a este planteamiento. Hacen falta estudios posteriores más detallados (anatomía interna y externa completa y estudios genéticos) para poder llegar a una conclusión.

***Potamolithus buschii* (Frauenfeld, 1865)**

Lithoglyphus Buschii Frauenfeld, 1865, ex Dunker en Frauenfeld, 1865: 530.

Lithoglyphus Buschiana Dunker en Frauenfeld, 1865: 530 (nom. nud.)

Potamolithus buschii (Frauenfeld, 1865) en Pilsbry, 1896: 88; Formica Corsi, 1900: 331; Pilsbry, 1911: 580; Parodiz, 1965: 28; López Armengol, 1985: 82; Silva, 2003: 136; López Armengol, 1996: 7; Rumi et al., 1996: 11; Darrigran & López Armengol, 1998: 81; López Armengol & Darrigran, 1998: 71; Darrigran, 1999: 4; César et al., 2000: 44; Silva & Veitenheimer-Mendes, 2004: 87; Darrigran & Lagreca, 2005: 10; Rumi et al., 2006: 205; Rumi et al., 2008: 81; Núñez et al., 2010: 50; César et al., 2012: 125; Clavijo & Scarabino, 2013: 87; de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2017a: 217; de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2017b: 202; Núñez, 2017: 1; Collado et al., 2019a: 8; Collado et al., 2019b: 7; de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2019: 15; de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2020: 15; Collado et al., 2021: 3; de Lucía et al., 2021: 107.

Potamolithus agapetus Pilsbry, 1911 en Koch et al, 2015: 73.

Holotipo y localidad tipo. Museum of Natural History Vienna NHMW-MO 13196. Desembocadura de Arroyo San Juan en el Río de la Plata, Uruguay.

Descripción original. Schale breit kugelig, an der basis flach, düster grün, undurchsichtig. 4 Windungen, oben vortretend, sanft gerundet, gerade aufsitzend; die letzte gross, an ihrem unteren Rande kantig abgebogen und ganz flach gepresst, gegen die spindel gewendet. Die innerhalb weisse mündung gross, sehr nach unten gerichtet, rundlich, oben etwas gewinkelt. Raum dick, an der spindel verbreitert, mit schwach eingedrückter breiter nabelfurche. Höhe 4 mm, breite 4,6 mm.

Material analizado. MLP-Ma 15202 Isla Martín García, Casa de Bombas (16/01/2018), Col. de Lucía, Zivano, Lenguas Francavilla y Negrete; MLP-Ma 15203 Isla Martín García, Punta Cañón (17/01/2018), Col. Zivano, Lenguas Francavilla y Negrete; MLP-Ma 15204 Gualeguaychú (19/04/2019), Col. Gutiérrez Gregoric; MLP-Ma 150205 Isla Martín García, Casa de Bombas (10/05/2019), Col. de Lucía y Zivano.

Descripción ampliada.

Concha ($n = 26$) (Fig. 1.18; Tabla 1.5). Concha globosa a trocoide, gruesa, color marrón-verde, superficie lisa. Generalmente con una angulación inferior en la última vuelta, en algunos ejemplares, además se presenta una angulación superior. Generalmente

con banda marrón superior sobre la sutura y una banda media en la anteúltima y última vuelta, que puede ser gruesa o fina. Pueden no presentar banda o angulación. LT: 3,30 - 4,30 mm; AT: 3,20 - 4,16; con 3,64 - 4,44 vueltas. Espira corta (12% del LT) y ápice redondeado. Abertura oval y oblicua (71% del LT), peristoma marrón oscuro a claro. Columela plana, con área adcolumnelar.

Rádula ($n=1$) (Fig. 1.19). Cinta radular: tamaño grande (51% del LT de la concha); largo: 1,85 mm; ancho: 0,19 mm. Total de hileras: 80 (13 en formación). Central: 10 - 11 cúspides anteriores y 2 pares de cúspides basales de cada lado, forma trapezoidal (ancho superficie anterior: 38 μm ; ancho superficie basal: 63 μm), superficie dorsal recta, sin excavación profunda de la base (22%). Lateral: 8 - 9 cúspides, mesocono más desarrollado con bordes paralelos tomando una forma cuadrada. Marginal interno: 18 cúspides. Marginal externo: 31 cúspides.

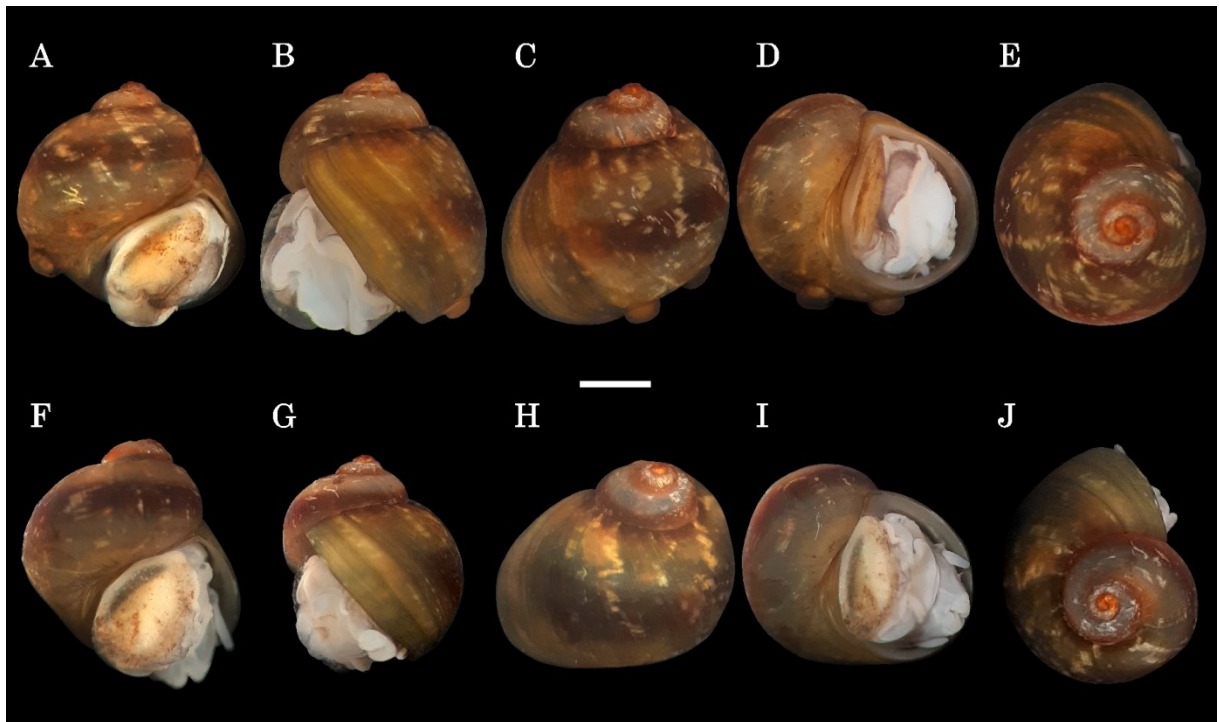


Figura 1.18. Concha de *Potamolithus buschii*. A-E: Hembra, F-J: Macho. A, F: vista ventral, B, G: Vista lateral, C, H: Vista dorsal, D, I: Vista umbilical, E, J: Vista apical. Escala: 1 mm.

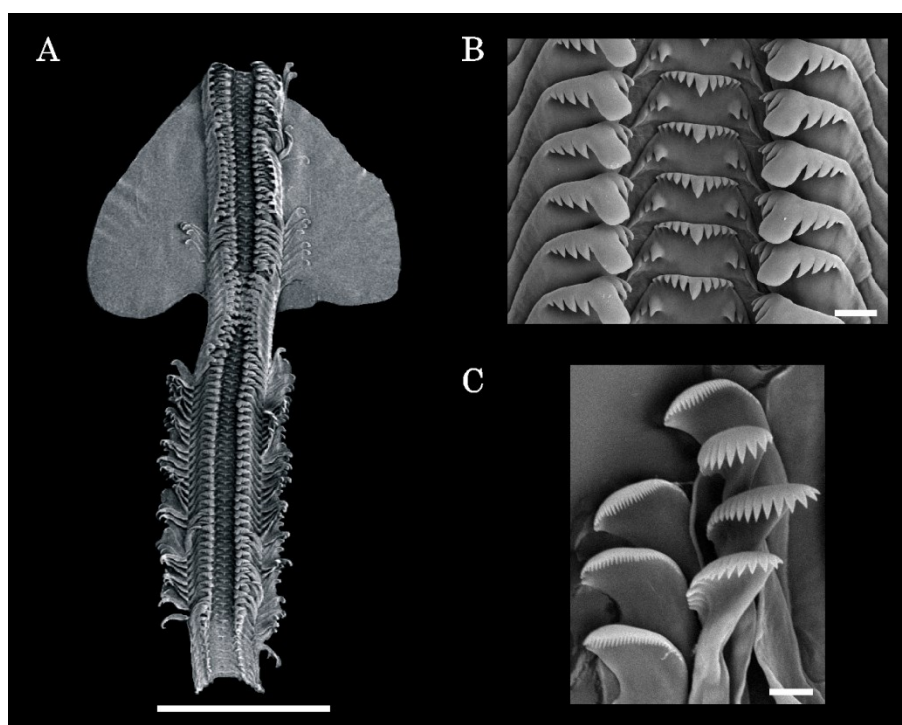


Figura 1.19. Rádula de *Potamolithus buschii*. **A:** Cinta radular, **B:** Dientes centrales y laterales, **C:** Dientes marginales internos y externos. Escala: A: 500 µm, B: 20 µm, C: 10 µm.

Tabla 1.5. Medidas de concha (mm) de *Potamolithus buschii*. N= 26 (12♀, 12♂, 2 ss). ss= sexo sin identificar. Media, desvío estándar (DS), mínimo (Min) y máximo (Máx.).

	Media	DS	Min	Máx.
Número de vueltas	4,06	0,20	3,64	4,44
Largo total (LT)	3,76	0,27	3,30	4,30
Largo espira (LE)	0,45	0,07	0,30	0,60
Largo último anfracto (LUA)	3,35	0,30	2,90	3,95
Base espira (BE)	1,19	0,11	1,00	1,58
Ancho total (AT)	3,71	0,25	3,20	4,16
Largo abertura (LA)	2,67	0,18	2,30	3,05
Ancho abertura (AA)	2,28	0,11	2,10	2,55
Ancho columela	0,29	0,07	0,18	0,45
Ancho área adcolumnelar	0,31	0,15	0,00	0,60
Ángulo inclinación abertura	36	6,94	25	51
Rel. LE/LT	0,12	0,02	0,08	0,16
Rel. BE/LE	2,73	0,48	1,92	4,05
Rel. BE/AT	0,32	0,02	0,29	0,40
Rel. LT/AT	1,02	0,06	0,92	1,17
Rel. LA/LT	0,71	0,04	0,62	0,81
Rel. LUA/LT	0,89	0,03	0,84	0,99

Cabeza-pie y anatomía no genital (n= 12) (Fig. 1.20; Tabla 1.6). Cabeza negra (en algunos casos puede ser gris), perdiendo pigmentación hacia el cuello. Tentáculos oscuros, con línea media blanca que parte desde la base y conforme se acerca a la zona distal se hace negra. Pie con áreas de pigmentación gris claro y oscuro, sin patrón definido. Manto dorsalmente negro, más claro hacia los costados y ventralmente sin pigmentación. Hembras con nodo nuchal oval, pequeño, sin pigmentación, ubicado en la zona media del cuello hacia la derecha. El ctenidio ocupa el 29% del LMV, con 27 - 32 filamentos. Osfradio elíptico de posición media posterior, ocupa el 44% del LC.

Anatomía genital (Fig. 1.20; Tabla 1.6). *Hembra (n= 6)*: Receptáculo seminal con forma alargada-ovalada, apoyada contra la pared ventral y anterior de la *bursa copulatrix*, con canal largo. La *bursa copulatrix* es piriforme-oval, ubicada en la zona media posterior de la glándula del albumen, con conducto largo que se pone en contacto con el ducto del receptáculo seminal y terminan en un ducto que entra en el canal ventral. El límite de la cavidad paleal pasa por el medio del oviducto paleal (entre las dos glándulas), la glándula de la cáscara queda en la cavidad del manto, pero la glándula del albumen no. La glándula del albumen es un poco más grande que la glándula de la cáscara.

Macho (n= 6): Pene blanco (ocupa el 26% del LMV), con dos bandas de pigmentación interna negra (puntos) desde el medio hacia el extremo distal, además pigmentación con mancha interna negra en todo el collar prepucial y la papila terminal. El vaso deferente posterior ingresa en la próstata por la zona anterior ventral. El vaso deferente anterior abandona la próstata en la zona anterior media (cercano al punto de ingreso del vaso deferente posterior) y es de mayor grosor que el vaso deferente posterior; hace un recorrido espiral y enredado, para dirigirse cercano al músculo columelar, hacerse más fino e ingresar en la base del pene.

Sistema nervioso (n= 4). Ganglios cerebrales con muy leve pigmentación, ganglios pedales y pleurales sin pigmentación. El conectivo pleuro-subesofágico corresponde al 27% del conectivo pleuro-supraesofágico. Valores medios: RPG: 0,49 (DS 0,06); ganglio cerebral: 0,27 mm (DS 0,03); comisura cerebral: 0,20 mm (DS 0,02); ganglio pleural derecho: 0,13 mm (DS 0,02); ganglio pleural izquierdo: 0,19 mm (DS 0,02); ganglio supraesofágico: 0,15 mm (DS 0,01); ganglio subesofágico: 0,17 mm (DS 0,01); ganglio pedal: 0,31 mm (DS 0,02); comisura pedal: 0,10 mm (DS 0,03).

Información genética. Se obtuvieron ocho secuencias del gen COI de 658 pares de bases de longitud, y una secuencia del gen 16S de 508 pares de bases de longitud.

Distribución histórica. Argentina: Entre Ríos (Salto Chico, Gualeguaychú, Colón), Buenos Aires (islas del Delta, Isla Martín García, San Isidro, Vicente López). Uruguay: Artigas, Salto (Salto Grande, Salto Chico), Paysandú, Río Negro, Soriano, Colonia (Isla San Gabriel).

Observaciones. No se observó dimorfismo sexual en ningún carácter analizado. La concha de esta especie es confundida con la de *P. agapetus* debido a que son similares en cuanto a forma y tamaño. Sin embargo, *P. buschii* alcanza tamaños máximos menores que *P. agapetus*, posee una espira más corta y es una concha más angulosa.

La morfología de la rádula de los ejemplares aquí analizados es igual a la descrita por López Armengol (1996), variando levemente el número de cúspides en los dientes.

Las secuencias del gen COI obtenidas se corresponden con la secuencia KM220910 de GenBank determinada como *P. agapetus* (MLP-Ma 13806). Este ejemplar fue utilizado en su totalidad para la extracción de ADN (Koch com. pers). En el lote MLP-Ma 13806 se registraron las especies *P. buschii* y *P. agapetus*. Por lo tanto, la secuencia KM220910 depositada en GenBank (identificada como *P. agapetus*) es considerada aquí como *P. buschii*.

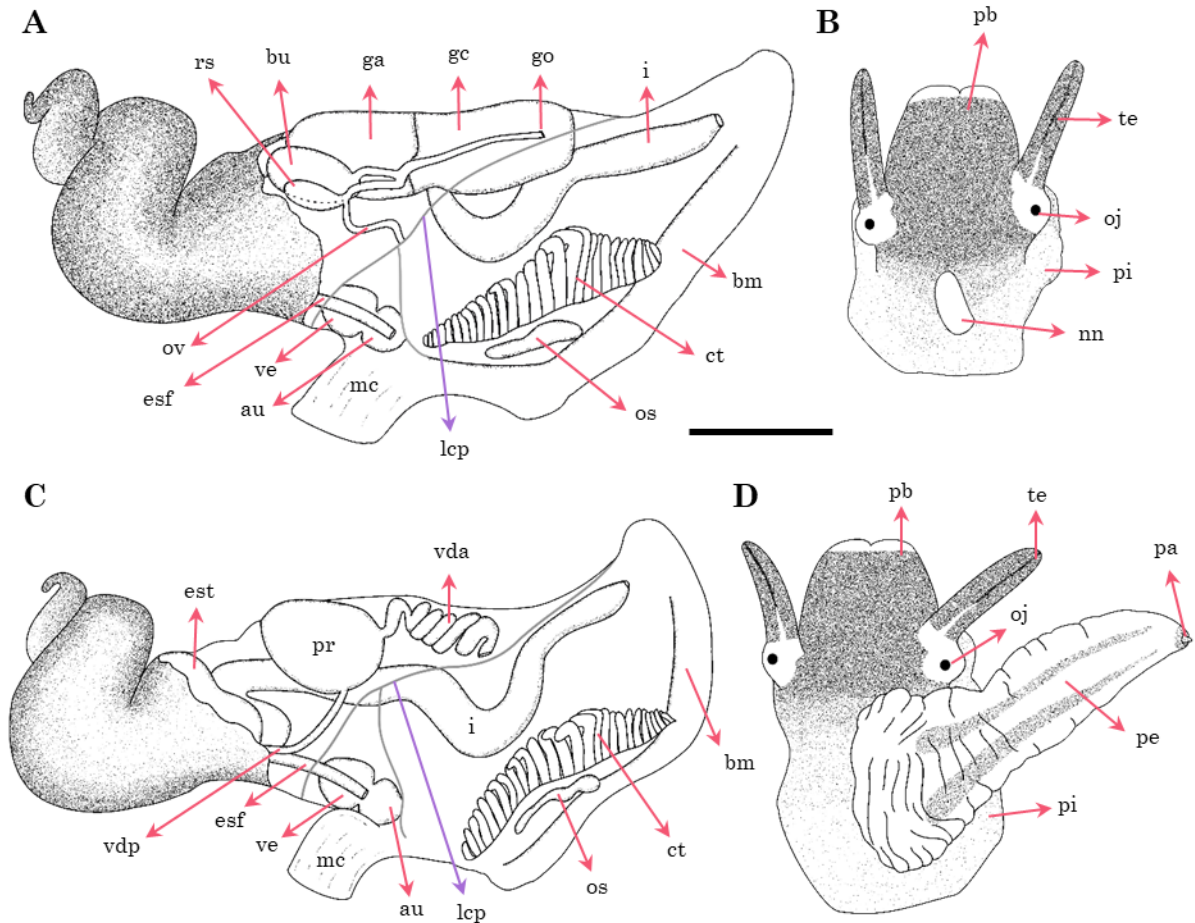


Figura 1.20. Esquema de anatomía externa e interna de *Potamolithus buschii*. **A-B:** Macho, **C-D:** Hembra. Escala: 1 mm. Abreviaturas: au: aurícula, bm: borde del manto, bu: *bursa copulatrix*, ct: ctenidio, esf: esófago, est: estómago, ga: glándula del albumen, gc: glándula de la cáscara, go: gonoporo, i: intestino, lcp: límite de la cavidad paleal, mc: músculo columelar, nn: nodo nuczal, oj: ojo, os: osfradio, ov: oviducto, pa: papila terminal, pb: proboscis, pe: pene, pi: pie, pr: próstata, rs: receptáculo seminal, te: tentáculo, vda: vaso deferente anterior, vdp: vaso deferente posterior, ve: ventrículo. Flecha violeta: marca el límite de la cavidad paleal, delimitado como una línea gris.

Tabla 1.6. Medidas anatómicas (mm) de *Potamolithus buschii*. N= 12 (6♀, 6♂). Media, desvío estándar (DS), mínimo (Min), máximo (Máx.), número de ejemplares (N).

	Media	DS	Min	Máx.	N
Largo ctenidio (LC)	2,32	0,22	1,81	2,60	11
Largo osfradio (LO)	1,02	0,19	0,71	1,28	11
Ancho borde del manto (BM)	0,39	0,09	0,29	0,56	11
Número filamentos del ctenidio	30,00	1,41	27,00	32,00	11
Largo cavidad manto (LCM)	2,72	0,24	2,13	2,95	11
Rel. BM/LCM	0,14	0,03	0,10	0,20	11
Rel. LO/LC	0,44	0,08	0,30	0,58	11
Rel. LC/LMV	0,29	0,03	0,25	0,35	11
Largo bulbo radular	1,47	0,43	1,20	2,33	6
Largo masa visceral (LMV)	8,05	0,66	7,10	9,28	12
Largo oviducto paleal (LOP)	2,11	0,45	1,64	2,95	6
Largo glándula albumen	1,13	0,19	0,93	1,44	5
Largo glándula cascara	1,08	0,25	0,90	1,51	5
Largo <i>bursa copulatrix</i> (LBC)	0,64	0,12	0,50	0,84	6
Ancho <i>bursa copulatrix</i>	0,38	0,08	0,30	0,48	6
Largo receptáculo seminal	0,41	0,13	0,29	0,65	6
Ancho receptáculo seminal	0,14	0,03	0,11	0,19	6
Rel. LBC/LOP	0,31	0,08	0,23	0,44	6
Nodo nual	0,31	0,05	0,26	0,38	6
Largo próstata (LPr)	0,97	0,05	0,88	1,01	6
Ancho próstata	0,77	0,09	0,71	0,92	5
Rel. LPr/LMV	0,12	0,01	0,10	0,14	6
Largo pene (LPe)	2,05	0,15	1,76	2,19	6
Largo pene hasta collar prepucial	1,82	0,42	1,03	2,13	6
Ancho medio pene	0,69	0,30	0,19	1,11	6
Ancho extremo terminal pene	0,24	0,15	0,13	0,53	6
Ancho base pene	0,99	0,26	0,84	1,52	6
Ancho máx. pene (AMPe)	0,96	0,16	0,74	1,18	6
Rel. AMPe/LPe	0,47	0,06	0,37	0,54	6
Rel. LPe/LMV	0,26	0,03	0,22	0,30	6

Potamolithus sp.

Material analizado. MLP-Ma 15210 Isla Martín García, Casa de Bombas (16/01/2018), Col. de Lucía, Zivano, Lenguas Francavilla y Negrete; MLP-Ma 15211 Isla Martín García, Punta Cañón (17/01/2018), Col. Zivano, Lenguas Francavilla y Negrete; MLP-Ma 15212 Isla Martín García, Casa de Bombas (09/09/2019), Col. de Lucía; MLP-Ma 15213 Isla Martín García, Casa de Bombas (10/05/2019), Col. de Lucía y Zivano.

Diagnosis. Concha pequeña, globosa, gruesa. $LT_{\text{♀}}$: 2,71-3,35 mm; $LT_{\text{♂}}$: 1,81-2,79 mm; $vuelta_{\text{♀}}$: 3,00-4,42; $vuelta_{\text{♂}}$: 3,12-4,26. Filamentos branquiales $_{\text{♀}}$: 21-24; filamentos branquiales $_{\text{♂}}$: 11-19. Hembras con nodo nocal.

Descripción ampliada.

Concha ($n=12_{\text{♀}}, 12_{\text{♂}}$) (Fig. 1.21; Tabla 1.7). Globosa, gruesa, pequeña, color marrón claro, superficie lisa. Las hembras poseen un tamaño mayor que los machos. En la última vuelta, algunos ejemplares pueden tener una banda marrón de posición media, otros poseen un ángulo inferior. $LT_{\text{♀}}$: 2,71-3,35 mm; $LT_{\text{♂}}$: 1,81-2,79 mm; $AT_{\text{♀}}$: 2,71-3,32; $AT_{\text{♂}}$: 1,77-2,68; $vuelta_{\text{♀}}$: 3,00 - 4,42; $vuelta_{\text{♂}}$: 3,12 - 3,76. Espira corta (12% hembra, 11% macho) y ápice redondeado. Abertura oval y oblicua (71% del $LT_{\text{♀}}$, 77% del $LT_{\text{♂}}$), peristoma color marrón claro. Columela plana; hembras con área adcolumnelar (área ubicada a la derecha de la columela), ausente en machos.

Rádula ($n=2$) (Fig. 1.22). Cinta radular: tamaño medio (36% del LT de la concha); largo: 0,80 mm; ancho: 0,13 mm. Total de hileras: 82 (10 en formación). Central: 13 cúspides anteriores y 3 o 4 pares de cúspides basales de cada lado, forma trapezoidal (ancho superficie anterior: 12,39 μm ; ancho superficie basal: 20,62 μm), superficie dorsal cóncava, con excavación superficial de la base (39%). Lateral: 11 - 13 cúspides, mesocono más desarrollado y en forma de daga (puntiagudo). Marginal interno: 24 - 31 cúspides. Marginal externo: 25 - 30 cúspides.

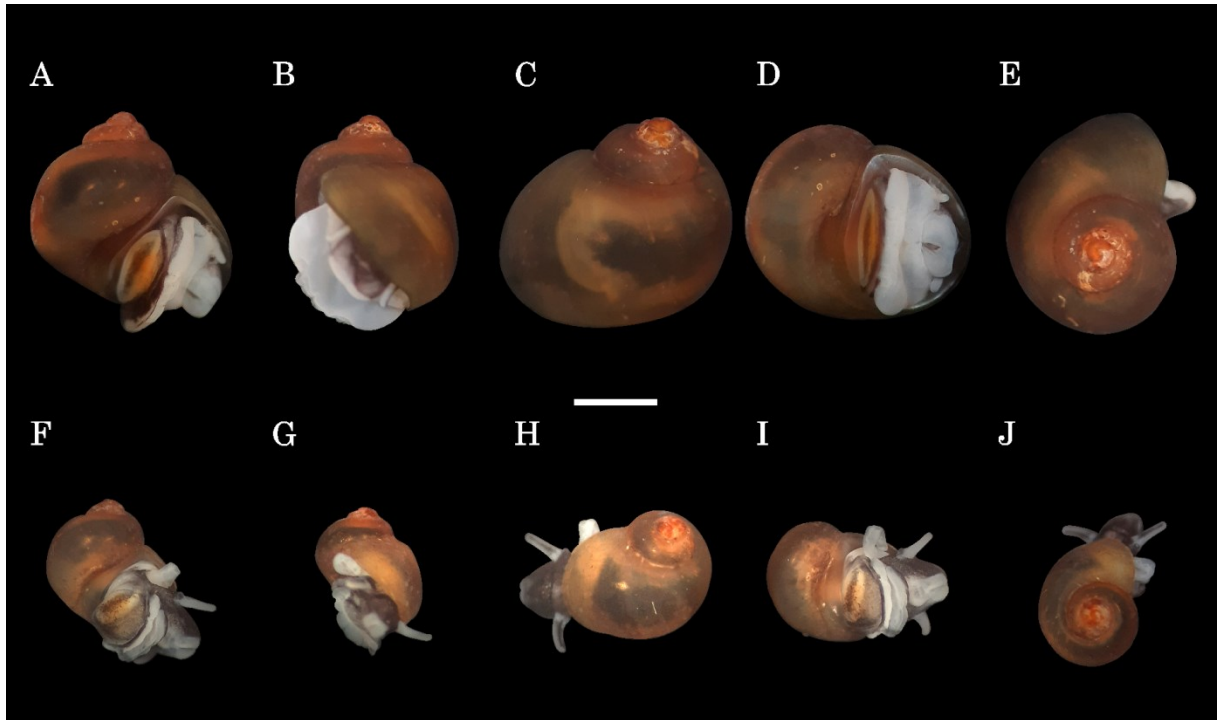


Figura 1.21. Concha de *Potamolithus* sp. A-E: Hembra, F-J: Macho. A, F: Vista ventral, B, G: Vista lateral, C, H: Vista dorsal, D, I: Vista umbilical, E, J: Vista apical. Escala: 1 mm.

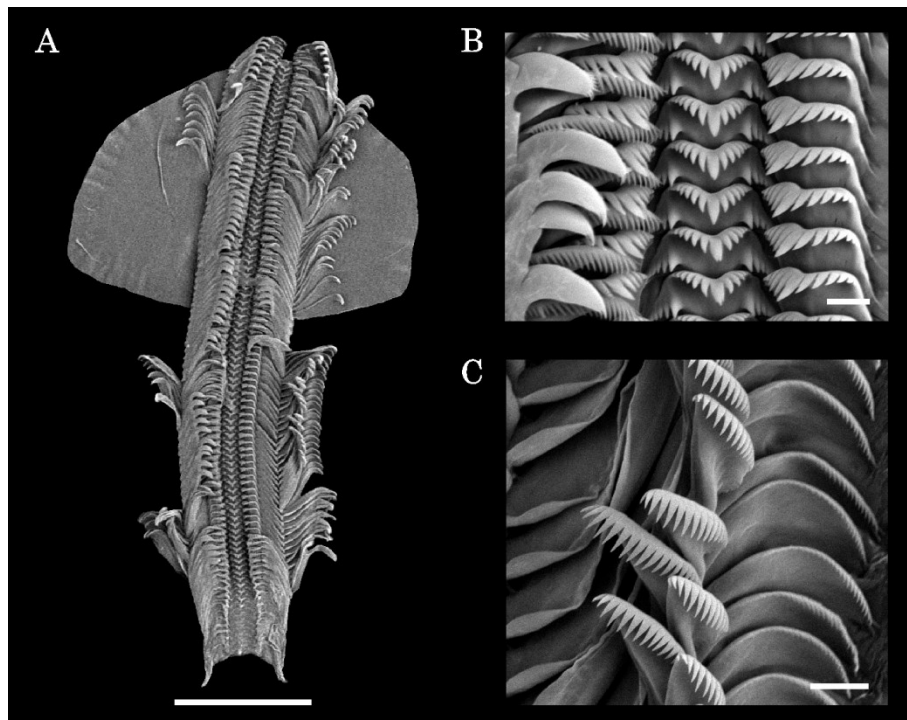


Figura 1.22. Rádula de *Potamolithus* sp. A: Cinta radular, B: Dientes centrales y laterales, C: Dientes marginales internos y externos. Escala: A: 200 μ m, B-C: 10 μ m.

Tabla 1.7. Medidas de concha (mm) de *Potamolithus* sp. N= 24 (12♀, 12♂). Media, desvío estándar (DS), mínimo (Min) y máximo (Máx.).

	Hembra				Macho			
	Media	DS	Min	Máx.	Media	DS	Min	Máx.
Número de vueltas	3,97	0,37	3,00	4,42	3,61	0,31	3,12	4,26
Largo total (LT)	3,09	0,22	2,71	3,35	2,05	0,27	1,81	2,79
Largo espira (LE)	0,39	0,08	0,26	0,48	0,23	0,05	0,19	0,32
Largo último anfracto (LUA)	2,70	0,19	2,38	3,06	1,82	0,24	1,61	2,48
Base espira (BE)	0,98	0,09	0,84	1,13	0,70	0,09	0,58	0,90
Ancho total (AT)	3,01	0,18	2,71	3,32	2,06	0,22	1,77	2,68
Largo abertura (LA)	2,18	0,17	1,89	2,39	1,57	0,19	1,35	2,05
Ancho abertura (AA)	1,83	0,15	1,61	2,00	1,37	0,13	1,11	1,66
Ancho columela	0,36	0,06	0,26	0,45	0,32	0,04	0,22	0,39
Ancho área adcolumnelar	0,22	0,08	0,13	0,38	0,03	0,08	0,00	0,26
Ángulo inclinación abertura	33	3,60	27	38	31	3,16	27	35
Rel. LE/LT	0,12	0,02	0,08	0,15	0,11	0,02	0,09	0,14
Rel. BE/LE	2,63	0,45	2,15	3,46	3,07	0,46	2,23	3,74
Rel. BE/AT	0,33	0,03	0,29	0,37	0,34	0,04	0,29	0,41
Rel. LT/AT	1,03	0,04	0,97	1,08	1,00	0,04	0,92	1,06
Rel. LA/LT	0,71	0,04	0,65	0,78	0,77	0,03	0,72	0,82
Rel. LUA/LT	0,88	0,02	0,85	0,92	0,89	0,02	0,86	0,91

Cabeza-pie y anatomía no genital (n= 6♀, 6♂) (Fig. 1.23; Tabla 1.8). Cabeza negra (excepto los labios). Dorsalmente tentáculos oscuros (un poco más claros que la cabeza) con línea media negra, distalmente la coloración se hace más clara. Pie oscuro, algunas zonas más oscuras que otras, sin patrón definido. Manto dorsalmente negro, más claro hacia los costados y ventralmente sin pigmentación. Hembras con nodo nuczal ubicado en la zona media del cuello, en algunas no posee pigmentación, en otras posee pigmentación negra en la zona media o en la zona posterior. El ctenidio ocupa el 33% del LMV en hembra y 32% en machos, con 21 - 24 filamentos en hembras y 11 - 19 en machos. Osfradio alargado de posición media posterior, ocupa el 48% de LC en hembras y 44% en machos.

Anatomía genital (Fig. 1.23; Tabla 1.8). *Hembra* (n= 6): Receptáculo seminal con forma alargada-elongada, apoyada contra la pared ventral y anterior de la *bursa copulatrix*, con canal corto. La *bursa copulatrix* es alargada-elongada, se ubica en la zona media posterior de la glándula del albumen, tiene un conducto corto que se pone en contacto con el ducto del receptáculo seminal y terminan en un ducto que entra en el canal ventral. El

límite de la cavidad paleal pasa por el medio del oviducto paleal (entre las dos glándulas), la glándula de la cáscara queda en la cavidad del manto, pero la glándula del albumen no. No se evidencian diferencias entre los tamaños de las glándulas.

Macho (n= 6): Pene blanco (ocupa el 38% del LMV), con pigmentación (puntos negros) en el collar prepucial, con papila terminal. El vaso deferente posterior ingresa en la próstata por la zona ventral de la misma. Cercano a este ingreso, el vaso deferente anterior abandona la próstata, es de mayor grosor que el vaso deferente posterior, hace un recorrido hacia adelante, una curva y vuelve hacia atrás (como una U de costado), luego comienza a hacerse más fino para bajar e ingresar en la base del pene.

Sistema nervioso (n= 4♀, 2♂). Ganglios cerebrales, pleurales y pedales con pigmentación negra leve o intensa. El conectivo pleuro-subesofágico corresponde al 21% en hembras y 36% en machos del conectivo pleuro-supraesofágico. Valores medios: RPG: 0,24 (DS 0,00) en hembras y 0,23 (DS 0,03) en machos; ganglio cerebral: 0,27mm (DS 0,01) en hembras y 0,21 mm (DS 0,03) en machos; comisura cerebral: 0,13 mm (DS 0,03) en hembras y 0,08 mm (DS 0,03) en machos; ganglio pleural derecho: 0,14 mm (DS 0,01) en hembras y 0,09 mm (DS 0,01) en machos; ganglio pleural izquierdo: 0,16 mm (DS 0,01) hembras y 0,10 mm (DS 0,03) machos; ganglio supraesofágico: 0,13 mm (DS 0,00) en hembras y 0,06 mm (DS 0,00) en machos; ganglio subesofágico: 0,13 mm (DS 0,02) en hembras y 0,10 mm (DS 0,03) en machos; ganglio pedal: 0,25 mm (DS 0,01) en hembras y 0,18 mm (DS 0,04) en machos; comisura pedal: 0,06 mm (DS 0,02) en hembras y 0,05 mm (DS 0,02) en machos.

Información genética. Se obtuvieron nueve secuencias del gen COI, de 658 pares de bases de longitud, y dos secuencias del gen 16S de 507 pares de bases de longitud.

Observaciones. Hay dimorfismo sexual en tamaño de la concha, cantidad de filamentos del ctenidio y tamaño corporal. La coloración de cabeza, tentáculos, manto y pie es igual en ambos sexos. Esta especie identificada anatómicamente, según el gen COI se corresponde con dos posibles nuevas especies, *Potamolithus* sp1 (dos secuencias) y *Potamolithus* sp2 (siete secuencias), sin embargo, anatómicamente no se pudieron distinguir. Debido a la forma globosa de la concha, al pequeño tamaño hallado en los machos, la coloración de la cabeza-tentáculos y la forma y cantidad de cúspides en la rádula, esta especie se asemeja a *P. elenae* de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2017 y *P. rauli* de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2021. Las principales diferencias radican en el pene, ya que *P. elenae* presenta una papila media-ventral y, *P. rauli* presenta una papila terminal larga y una expansión izquierda en el collar prepucial, ninguna de estas características es observada en

Potamolithus sp. Además, hay diferencias en las distancias genéticas, siendo de 9,23% (distancia *p*) y 10,06% (distancia corregida) con *P. elenae*; y de 6,55% (distancia *p*) y 6,98% (distancia corregida) con *P. rauli*.

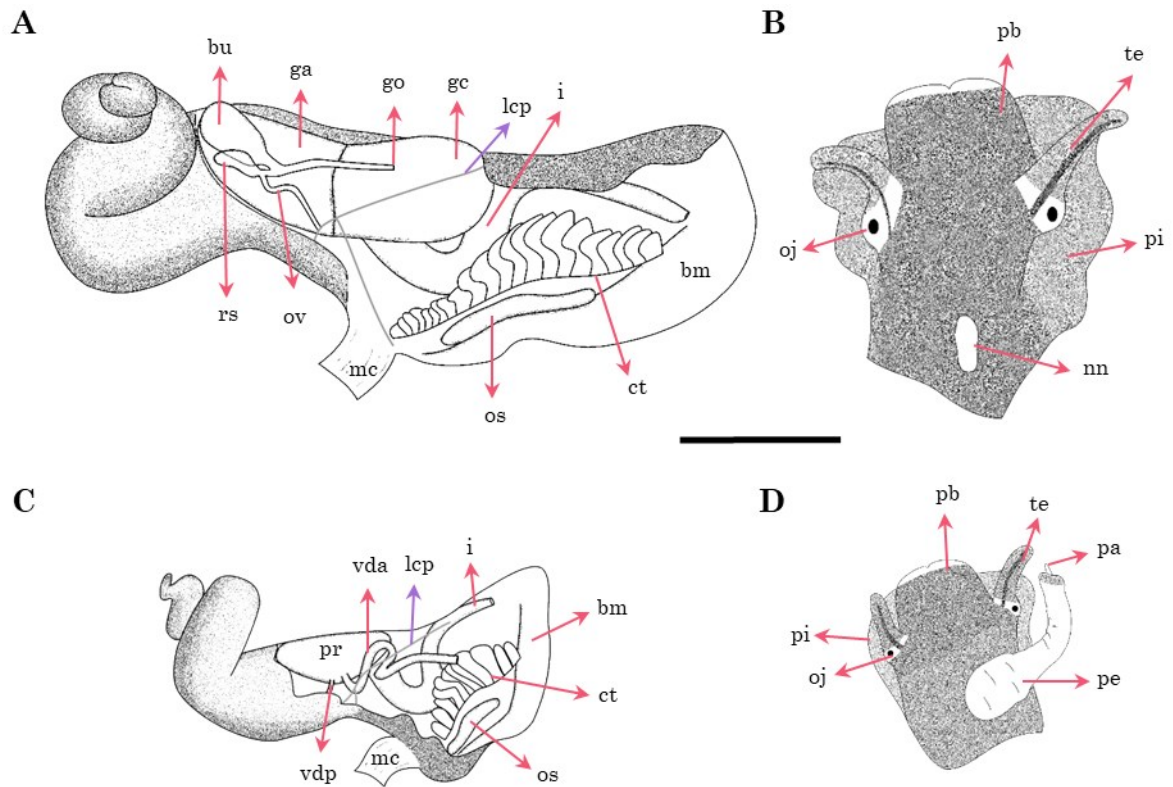


Figura 1.23. Esquema de anatomía externa e interna de *Potamolithus* sp. **A-B:** Hembra, **C-D:** Macho. Escala: 1 mm. Abreviaturas: bm: borde del manto, bu: *bursa copulatrix*, ct: ctenidio, ga: glándula del albumen, gc: glándula de la cáscara, go: gonoporo, i: intestino, lcp: límite de la cavidad paleal, mc: músculo columelar, nn: nodo nocal, oj: ojo, os: osfradio, ov: oviducto, pa: papila terminal, pb: proboscis, pe: pene, pi: pie, pr: próstata, rs: receptáculo seminal, te: tentáculo, vda: vaso deferente anterior, vdp: vaso deferente posterior. Flecha violeta: marca el límite de la cavidad paleal, delimitado como una línea gris.

Tabla 1.8. Medidas anatómicas (mm) de *Potamolithus* sp. N= 12 (6♀, 6♂). Media, desvío estándar (DS), mínimo (Min), máximo (Máx.), número de ejemplares (N).

	Hembra					Macho				
	Media	DS	Min	Máx.	N	Media	DS	Min	Máx.	N
Largo ctenidio (LC)	1,74	0,25	1,31	1,98	6	1,08	0,22	0,85	1,37	5
Largo osfradio (LO)	0,83	0,08	0,72	0,92	6	0,47	0,05	0,40	0,53	5
Ancho borde del manto (BM)	0,20	0,06	0,14	0,29	6	0,19	0,04	0,15	0,24	5
Número filamentos del ctenidio	22,50	1,22	21	24	6	14,50	3,56	11	19	6
Largo cavidad manto (LCM)	1,94	0,29	1,45	2,17	6	1,27	0,25	1,00	1,57	5
Rel. BM/LCM	0,10	0,02	0,08	0,13	6	0,15	0,01	0,13	0,16	5
Rel. LO/LC	0,48	0,05	0,43	0,55	6	0,44	0,07	0,34	0,54	5
Rel. LC/LMV	0,33	0,06	0,24	0,41	6	0,32	0,06	0,27	0,41	5
Largo bulbo radular	0,86	0,08	0,74	0,94	5	0,49	0,18	0,29	0,65	3
Largo masa visceral (LMV)	5,26	0,56	4,27	5,87	6	3,32	0,34	2,97	3,82	6
Largo oviducto paleal (LOP)	1,40	0,15	1,24	1,59	5					
Largo glándula albumen	0,67	0,10	0,51	0,77	5					
Largo glándula cascara	0,73	0,09	0,59	0,82	5					
Largo <i>bursa copulatrix</i> (LBC)	0,40	0,06	0,33	0,46	5					
Ancho <i>bursa copulatrix</i>	0,14	0,02	0,12	0,17	5					
Largo receptáculo seminal	0,24	0,04	0,19	0,29	5					
Ancho receptáculo seminal	0,07	0,01	0,06	0,09	5					
Rel. LBC/LOP	0,29	0,05	0,21	0,35	5					
Nodo nocal	0,36	0,12	0,25	0,52	6					
Largo próstata (LPr)						0,57	0,09	0,44	0,67	6
Ancho próstata						0,30	0,03	0,27	0,34	6
Rel. LPr/LMV						0,23	0,14	0,14	0,51	6
Largo pene (LPe)						1,26	0,24	0,85	1,55	6
Largo pene hasta collar prepucial						1,15	0,22	0,80	1,38	5
Ancho medio pene						0,18	0,05	0,09	0,23	6
Ancho extremo terminal pene						0,10	0,02	0,06	0,13	6
Ancho máx. pene (AMPe)						0,32	0,10	0,19	0,49	6
Rel. AMPe/LPe						0,26	0,08	0,12	0,34	6
Rel. LPe/LMV						0,38	0,09	0,27	0,52	6

Análisis molecular:

Las secuencias consenso del gen 16S tuvieron un largo de 507 pb. Mientras que las secuencias consenso del gen COI tuvieron un largo de 658pb con un marco de lectura (ORF) +2 ([Anexo 1.2](#)); luego del alineamiento quedaron de 511pb ([Anexo 1.3](#)).

Las mayores distancias genéticas en el gen COI (Tabla 1.9 y [Anexo 1.4](#)) entre las especies se establecen entre *Potamolithus* sp2 y “*Heleobia*” *hatcheri* con 13,08% en términos de distancia *p* y 14,71% en términos de distancias corregidas. Las menores distancias ocurren entre *Potamolithus* sp1 y *Potamolithus* sp2 4,29% en términos de distancia *p* y 4,47% en términos de distancias corregidas.

Tabla 1.9. Matriz de distancias genéticas entre especies del género *Potamolithus*. Margen inferior izquierdo: distancias *p*; margen superior derecho: distancias corregidas con K2P. En negrita y con color se resaltan las especies registradas en este trabajo.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 <i>P. santiagensis</i>		1,7	5,3	5,5	7,5	9,5	9,6	11,5	11,5	11,6
2 <i>Potamolithus</i> sp3	1,7		4,5	4,7	7,7	9,3	8,9	10,3	10,0	10,6
3 <i>Potamolithus</i> sp4	5,0	4,3		0,2	6,1	8,6	8,0	8,8	9,8	9,9
4 “ <i>Heleobia</i> ” sp	5,2	4,5	0,2		6,3	8,8	8,2	9,1	10,0	10,1
5 <i>P. australis</i>	7,0	7,1	5,8	6,0		5,8	7,7	9,9	8,8	9,4
6 “ <i>Heleobia</i> ” <i>hatcheri</i>	8,8	8,6	8,0	8,2	5,6		9,5	12,6	11,6	10,8
7 <i>P. bisinuatus</i>	8,8	8,2	7,4	7,6	7,1	8,8		11,5	8,4	9,7
8 <i>P. supersulcatus</i>	10,4	9,4	8,2	8,4	9,1	11,4	10,4		7,1	8,7
9 <i>P. agapetus</i>	10,4	9,2	9,0	9,2	8,1	10,6	7,8	6,7		9,0
10 <i>P. nelidae</i>	10,5	9,7	9,1	9,3	8,6	9,9	8,9	8,1	8,3	
11 <i>P. tricarinatus</i>	9,4	9,0	8,8	9,0	7,7	9,8	9,0	6,7	7,2	4,4
12 <i>P. buschii</i>	9,8	9,8	8,8	9,0	8,9	11,2	8,5	7,9	7,5	8,6
13 <i>P. elenae</i>	8,8	7,8	6,9	7,1	6,4	9,0	7,6	8,8	6,9	8,3
14 <i>P. grossus</i>	11,3	10,6	9,6	9,8	9,0	12,1	9,2	8,9	9,0	10,6
15 <i>Potamolithus</i> sp2	12,0	10,9	10,0	10,2	9,8	13,1	8,8	10,0	9,4	9,9
16 <i>Potamolithus</i> sp1	10,9	10,5	8,5	8,7	7,8	11,3	8,1	9,9	9,3	9,2
17 <i>P. rauli</i>	10,2	9,6	8,0	8,2	8,3	11,6	8,8	10,8	10,2	12,0
18 <i>P. nezibrus</i>	9,6	9,2	7,4	7,6	7,0	9,0	8,4	9,8	8,6	9,3
19 <i>P. simplex</i>	10,3	9,6	8,0	8,2	7,9	9,2	8,8	9,2	8,4	9,9
20 <i>P. ribeirensis</i>	10,6	9,8	9,4	9,6	9,9	12,1	9,8	10,4	10,2	10,9
21 <i>T. huonensis</i>	15,4	14,7	14,3	14,5	14,4	15,9	13,5	15,9	14,5	16,0
22 <i>T. rufilabris</i>	15,4	14,7	14,1	14,3	14,4	16,1	13,5	15,1	14,1	15,8

Tabla 1.9 (Continuación)

	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
1	10,3	10,8	9,6	12,5	13,4	12,1	11,2	10,5	11,4	11,7	17,4	17,4
2	9,8	10,8	8,4	11,7	12,1	11,5	10,4	10,0	10,5	10,7	16,5	16,5
3	9,5	9,5	7,3	10,5	10,8	9,1	8,6	7,9	8,6	10,2	16,0	15,7
4	9,8	9,8	7,5	10,7	11,1	9,4	8,8	8,2	8,9	10,4	16,3	16,0
5	8,4	9,8	6,8	9,7	10,7	8,4	9,0	7,4	8,6	10,8	16,1	16,1
6	10,7	12,5	9,7	13,5	14,7	12,4	12,7	9,7	9,9	13,5	17,9	18,2
7	9,8	9,2	8,2	10,0	9,5	8,7	9,5	9,1	9,6	10,7	15,0	15,0
8	7,0	8,5	9,6	9,6	10,9	10,8	11,9	10,7	10,0	11,4	18,0	17,0
9	7,7	8,0	7,3	9,7	10,2	10,1	11,1	9,3	9,1	11,1	16,2	15,7
10	4,6	9,3	9,0	11,7	10,9	10,0	13,5	10,1	10,8	12,0	18,2	18,0
11		8,0	8,4	10,2	11,2	10,1	11,9	10,0	10,5	11,6	16,8	15,8
12	7,5		9,3	10,7	11,8	10,1	11,2	11,0	11,0	11,8	16,9	15,8
13	7,8	8,6		8,1	10,7	9,4	7,9	7,3	8,6	10,2	14,7	14,7
14	9,3	9,7	7,6		8,8	7,4	8,1	10,7	10,1	10,3	16,2	16,0
15	10,2	10,7	9,8	8,1		4,5	6,8	11,8	12,6	11,8	20,1	19,6
16	9,3	9,3	8,7	6,9	4,3		7,2	9,4	12,0	11,7	17,6	17,6
17	10,8	10,2	7,4	7,5	6,4	6,8		9,1	11,1	10,4	17,5	17,0
18	9,2	10,0	6,9	9,7	10,7	8,7	8,4		9,7	11,9	16,2	16,2
19	9,6	10,0	8,0	9,3	11,3	10,9	10,2	9,0		10,7	15,5	14,8
20	10,6	10,8	9,4	9,5	10,7	10,7	9,6	10,8	9,8		17,0	15,7
21	14,9	14,9	13,3	14,5	17,4	15,6	15,5	14,5	13,9	15,1		1,0
22	14,1	14,1	13,3	14,3	17,0	15,6	15,1	14,5	13,3	14,1	1,0	

Los modelos evolutivos seleccionados fueron GTR+G en el análisis de MV y HKY+G en el análisis de IB. Se obtuvieron tres árboles filogenéticos, con topologías similares, por lo que en la Figura 1.24 se opta por mostrar la topología del análisis de IB con sus valores de soporte más los soportes del análisis de MV (los árboles NJ y MV se muestran en el [Anexo 1.5](#) y el [Anexo 1.6](#)). Se observa a *P. ribeirensis* en la base del árbol. El Clado 1 disgrega a *P. simplex* del resto de las especies, quedando también en la base del árbol. Luego se encuentran dos grandes clados, los cuales no tienen un alto valor de soporte (por debajo del 60%). Por un lado, el Clado 2 que agrupa a *P. bisinuatus* con las especies presentes en Chile, “*Heleobia*” *hatcheri* y “*Heleobia*” sp., encontrándose estas últimas tres más relacionadas. El Clado 3 está compuesto por el resto de las especies presentes en la Argentina. Dentro del Clado 3 se observan dos grandes clados (con valores de soporte mayores al 60%), el Clado 4 y el 5. El Clado 4 disgrega a la especie de la Meseta de Somuncurá (*P. elenae*), basal en este

clado, de las especies que se encuentran en las provincias malacológicas Río Uruguay y Paraná Inferior - Río de la Plata. En este último subclado se observa a *Potamolithus* sp1 y *Potamolithus* sp2 como las especies más relacionadas. En el Clado 5, también las especies presentes en las provincias malacológicas Río Uruguay y Paraná Inferior - Río de la Plata se encuentran relacionadas. Por un lado *P. supersulcatus* se encuentra relacionada con *P. agapetus*; mientras que por el otro se observa a *P. buschii* relacionada con *P. tricarinatus* y *P. nelidae*.

Los análisis realizados a través del método ABGD y el método ASAP arrojaron 18 grupos (especies), colocando dentro de un mismo grupo a *P. santiagensis* y *Potamolithus* sp3; mientras que el método mPTP arrojó 19 grupos separando como dos especies distintas a *P. santiagensis* y *Potamolithus* sp3. Sin embargo, en los tres métodos, el resto de las especies siguen manteniendo los mismos grupos presentados en los árboles filogenéticos.

El análisis llevado a cabo con el método K/θ se realizó entre 37 grupos, pertenecientes a los clados formados por el análisis de NJ, y un grupo más (entre las especies *P. simplex* y *P. nezibrus*) debido a que *P. simplex* quedaba en la base de este análisis (Tabla 1.10). Los resultados demostraron que la mayoría de las especies enfrentadas serían especies distintas, excepto "*Heleobia*" sp. la cual formaría un grupo (una misma especie) con *Potamolithus* sp4, demostrado en las relaciones de $K/\theta = 0,50$ (tomando ambos θ). Además, se observó que para los clados *P. nelidae* – *P. tricarinatus* y *Potamolithus* sp1 – *P. grossus*, tomando el θ_1 que es el mayor, resultan en la misma especie, pero tomando el θ_2 resultan en especies distintas. Si bien *P. nelidae* y *P. tricarinatus* poseen una distancia genética relativamente pequeña, poseen diferencias morfológicas lo que llevó a designarlas como especies distintas; mientras que *P. grossus* y *Potamolithus* sp1 poseen distancias genéticas y diferencias morfológicas muy marcadas.

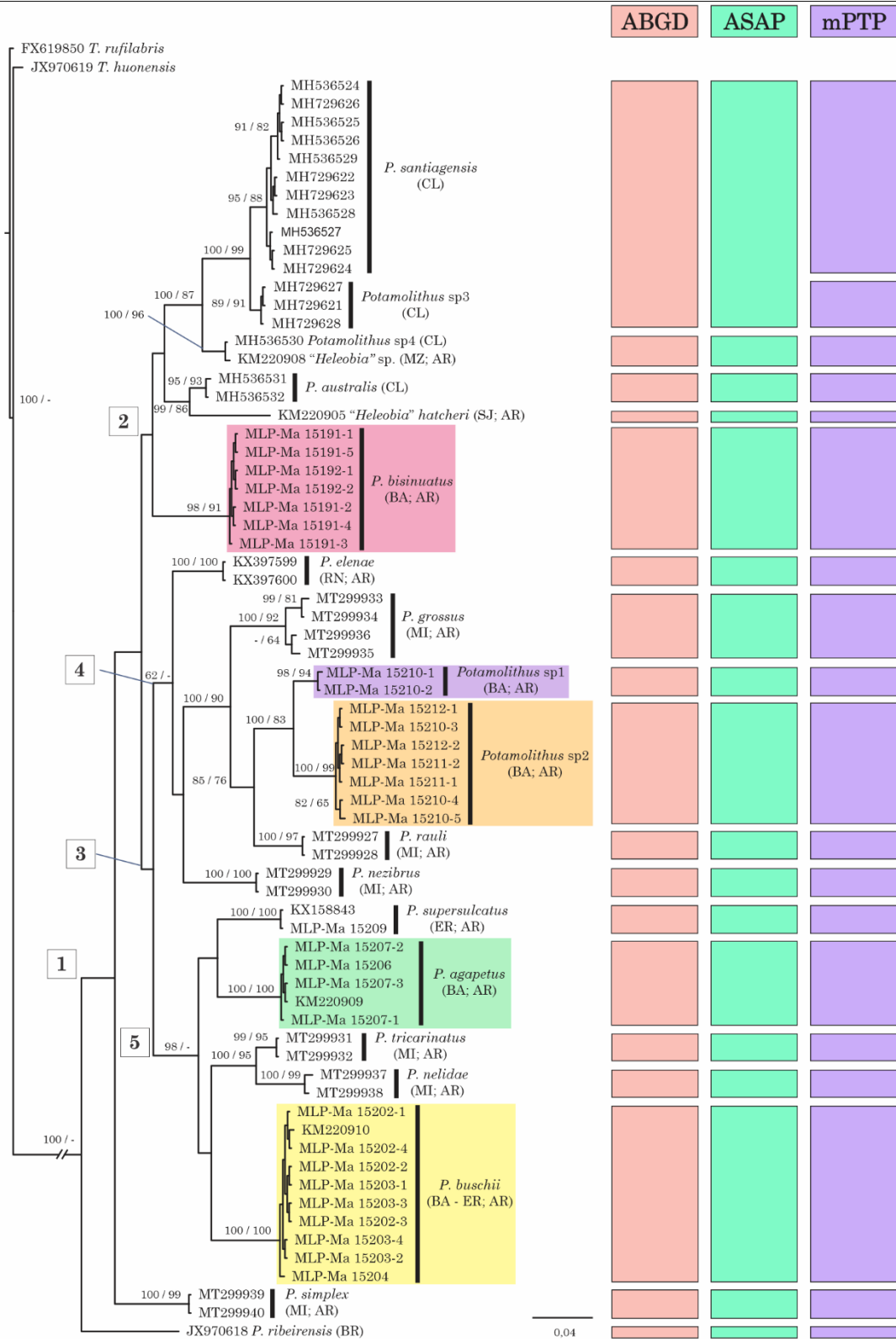


Figura 1.24. Relaciones filogenéticas y delimitación de especies en el género *Potamolithus*. Topología y largo de ramas de Inferencia Bayesiana, valores de soporte (>60) dados como probabilidad posterior y porcentaje de bootstrap de Máxima Verosimilitud (valores detrás de la barra). Rectángulos coloreados: especies registradas en este trabajo. Números arábigos: grandes clados. Abreviaturas: ABGD: *Automatic Barcode Gap Discovery*, AR: Argentina, ASAP: *Assemble Species by Automatic Partitioning*, BA: Buenos Aires, BR: Brasil, CL: Chile, ER: Entre Ríos, MI: Misiones, mPTP: *Multi-rate Poisson Tree Processes*, MZ: Mendoza, RN: Río Negro, SJ: San Juan.

Tabla 1.10. Delimitación de especies del género *Potamolithus* por el método K/θ . K: diferencia media de secuencia entre clados; θ_1 : diferencia media mayor de secuencia dentro de un clado; θ_2 : diferencia media menor de secuencia dentro de un clado; K/θ_1 : relación tomando el parámetro θ mayor; K/θ_2 : relación tomando el parámetro θ menor; n1, n2: número de secuencias dentro de cada uno de los clados comparados.

Clado - Clado	K	θ_1	θ_2	K/θ_1	K/θ_2	n1; n2
<i>P. santiagensis</i> – <i>Potamolithus</i> sp3	0,0171941	0,0036972	0,0019621	4,65	8,76	11; 3
<i>Potamolithus</i> sp4 – “ <i>Heleobia</i> ” sp.	0,0019608	0,0039344	0,0039344	0,50	0,50	2; 2
<i>Potamolithus</i> sp4/“ <i>Heleobia</i> ” sp – <i>P. santiagensis</i>	0,0535630	0,0036972	0,0017436	14,49	30,72	4; 11
<i>Potamolithus</i> sp4/“ <i>Heleobia</i> ” sp – <i>Potamolithus</i> sp3	0,0457644	0,0019621	0,0017436	23,32	26,25	4; 3
<i>P. australis</i> – “ <i>Heleobia</i> ” <i>hatcheri</i>	0,0583565	0,0039344	0,0039344	14,83	14,83	2; 2
<i>P. australis</i> – <i>P. santiagensis</i>	0,0749738	0,0039344	0,0036972	19,06	20,28	2; 11
<i>P. australis</i> – <i>Potamolithus</i> sp3	0,0766164	0,0039344	0,0019621	19,47	39,05	2; 3
<i>Potamolithus</i> sp4/“ <i>Heleobia</i> ” sp. – <i>P. australis</i>	0,0618817	0,0039344	0,0017436	15,73	35,49	2; 4
<i>P. australis</i> – <i>P. bisinuatus</i>	0,0767634	0,0039344	0,0006529	19,51	117,58	2; 7
<i>P. santiagensis</i> – “ <i>Heleobia</i> ” <i>hatcheri</i>	0,0951886	0,0039344	0,0036972	24,19	25,75	11; 2
<i>Potamolithus</i> sp3 – “ <i>Heleobia</i> ” <i>hatcheri</i>	0,0926643	0,0039344	0,0019621	23,55	47,23	3; 2
<i>Potamolithus</i> sp4/“ <i>Heleobia</i> ” sp. – “ <i>Heleobia</i> ” <i>hatcheri</i>	0,0867188	0,0039344	0,0017436	22,04	49,74	4; 2
<i>P. bisinuatus</i> – “ <i>Heleobia</i> ” <i>hatcheri</i>	0,0951121	0,0039344	0,0006529	24,17	145,68	7; 2
<i>P. santiagensis</i> – <i>P. bisinuatus</i>	0,0963338	0,0036972	0,0006529	26,06	147,55	11; 7
<i>Potamolithus</i> sp3 – <i>P. bisinuatus</i>	0,0889129	0,0019621	0,0006529	45,32	136,18	3; 7
<i>Potamolithus</i> sp4/“ <i>Heleobia</i> ” sp. – <i>P. bisinuatus</i>	0,0806085	0,0017436	0,0006529	46,23	123,47	4; 7
<i>P. supersulcatus</i> – <i>P. agapetus</i>	0,0705059	0,0039344	0,0009798	17,92	71,96	2; 5
<i>P. nelidae</i> – <i>P. tricarinatus</i>	0,0458757	0,0119284	0,0039344	3,85	11,66	2; 2
<i>P. nelidae</i> – <i>P. buschii</i>	0,0929505	0,0119284	0,0008708	7,79	106,75	2; 10
<i>P. nelidae</i> – <i>P. supersulcatus</i>	0,0872500	0,0119284	0,0039344	7,31	22,18	2; 2

Tabla 1.10 (Continuación)

Clado - Clado	K	θ_1	θ_2	K/ θ_1	K/ θ_2	n1; n2
<i>P. nelidae</i> – <i>P. agapetus</i>	0,0896882	0,0119284	0,0009798	7,52	91,54	2; 5
<i>P. tricarinatus</i> – <i>P. buschii</i>	0,0803366	0,0039344	0,0008708	20,42	92,26	2; 10
<i>P. tricarinatus</i> – <i>P. supersulcatus</i>	0,0704041	0,0039344	0,0039344	17,89	17,89	2; 2
<i>P. tricarinatus</i> – <i>P. agapetus</i>	0,0772174	0,0039344	0,0009798	19,63	78,81	2; 5
<i>P. supersulcatus</i> – <i>P. buschii</i>	0,0846178	0,0039344	0,0008708	21,51	97,18	2; 10
<i>P. agapetus</i> – <i>P. buschii</i>	0,0801939	0,0009798	0,0008708	81,85	92,10	5; 10
<i>P. elenae</i> – <i>P. nezibrus</i>	0,0728464	0,0039344	0,0039344	18,52	18,52	2; 2
<i>Potamolithus</i> sp1 – <i>Potamolithus</i> sp2	0,0447820	0,0039344	0,0017436	11,38	25,68	2, 7
<i>Potamolithus</i> sp1 – <i>P. rauli</i>	0,0722384	0,0039344	0,0039344	18,36	18,36	7; 2
<i>Potamolithus</i> sp2 – <i>P. rauli</i>	0,0674697	0,0039344	0,0017436	17,15	38,70	2; 4
<i>Potamolithus</i> sp1 – <i>P. grossus</i>	0,0739365	0,0187207	0,0039344	3,95	18,79	7; 4
<i>Potamolithus</i> sp2 – <i>P. grossus</i>	0,0881113	0,0187207	0,0017436	4,71	50,54	2; 2
<i>Potamolithus</i> sp1 – <i>P. ribeirensis</i>	0,1171022	0,0039344	0,0039344	29,76	29,76	2, 2
<i>Potamolithus</i> sp2 – <i>P. ribeirensis</i>	0,1177904	0,0039344	0,0017436	29,94	67,56	7; 2
<i>P. grossus</i> – <i>P. ribeirensis</i>	0,1034431	0,0187207	0,0039344	5,53	26,29	4; 2
<i>P. grossus</i> – <i>P. rauli</i>	0,0804663	0,0187207	0,0039344	4,30	20,45	4; 2
<i>P. rauli</i> – <i>P. ribeirensis</i>	0,1037488	0,0039344	0,0039344	26,37	26,37	2; 2
<i>P. simplex</i> – <i>P. nezibrus</i>	0,0972940	0,0039344	0,0039344	24,73	24,73	2; 2

Género *Chilina*

Los análisis anatómicos del género *Chilina* revelaron dos especies: *C. fluminea* hallada en los sitios IMG (los tres sub-sitios muestreados), ANC, RNPL, BAG, BAL y PP; y *C. rushii* que fue hallada en IMG (Casa de Bombas y Punta Cañón) (Fig. 1.25). Sin embargo, los análisis moleculares no presentaron a estas especies como separadas.

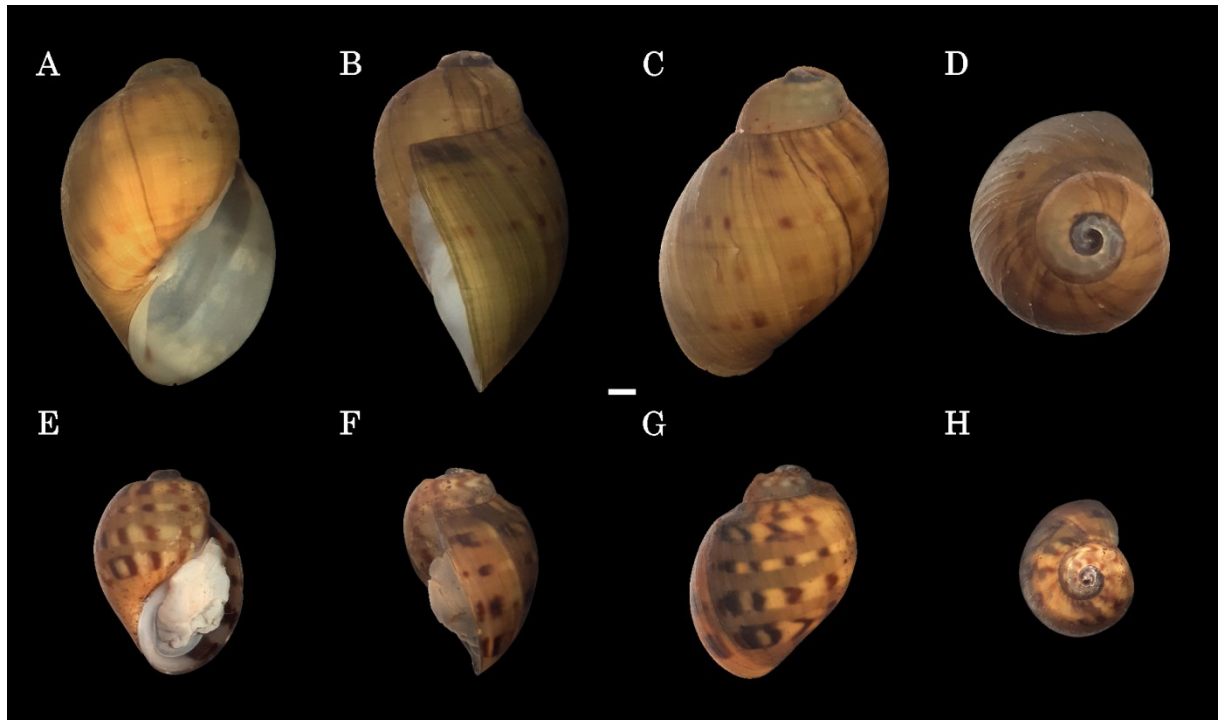


Figura 1.25. Conchas del género *Chilina* en diferentes vistas. **A-D:** *Chilina fluminea*, **E-H:** *Chilina rushii*. **A, E:** Vista ventral, **B, F:** Vista lateral, **C, G:** Vista dorsal, **D, H:** Vista apical. Escala: 1 mm.

Análisis molecular:

La secuencia consenso del gen 16S obtenida para *C. fluminea* tuvo un largo de 438 pb, mientras que las secuencias consenso del gen COI tuvieron un largo de 655pb con un marco de lectura (ORF) +2 (luego del alineamiento el largo de la secuencia se mantuvo igual; [Anexo 1.7](#)).

Las mayores distancias genéticas en el gen COI se establecen entre *C. megastoma* y *C. sanjuanina* con 12,39% en términos de distancia *p* y 13,83% en términos de distancias corregidas. Las distancias más bajas ocurren entre *C. nicolasi* y *C. santiagoi* con 1,22% en términos de distancia *p* y 1,23% en términos de distancias corregidas (Tabla 1.11 y [Anexo 1.8](#)).

Tabla 1.11. Matriz de distancias genéticas entre especies del género *Chilina*. Margen inferior izquierdo: distancias p; margen superior derecho: distancias corregidas con K2P. En negrita y con color se resaltan las especies registradas en este trabajo.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1 <i>C. sanjuanina</i>		3,6	12,1	11,6	11,6	11,8	11,2	12,0	10,4	13,8	23,5	23,0
2 <i>C. mendozana</i>	3,5		10,6	10,7	11,4	11,2	10,7	10,7	11,0	12,9	22,3	21,7
3 <i>C. rushii</i>	10,9	9,7		1,4	2,7	3,2	3,2	5,5	8,6	9,0	26,5	23,6
4 <i>C. fluminea</i>	10,6	9,8	1,3		3,0	3,0	3,0	5,3	7,8	8,6	26,5	23,3
5 <i>C. gallardoi</i>	10,5	10,4	2,7	2,9		2,3	2,7	4,3	7,5	9,6	26,2	23,8
6 <i>C. nicolasi</i>	10,7	10,2	3,1	3,0	2,3		1,2	3,8	7,1	8,9	26,6	23,8
7 <i>C. santiagoi</i>	10,2	9,8	3,1	3,0	2,6	1,2		3,8	6,5	8,7	26,6	24,6
8 <i>C. luciae</i>	10,8	9,8	5,3	5,1	4,1	3,7	3,7		8,4	9,6	27,1	24,9
9 <i>C. iguazuensis</i>	9,6	10,0	8,0	7,3	7,0	6,7	6,2	7,8		7,7	26,1	23,6
10 <i>C. megastoma</i>	12,4	11,6	8,3	8,0	8,9	8,3	8,1	8,9	7,2		25,4	22,1
11 <i>L. diaphana</i>	20,2	19,2	22,2	22,3	22,0	22,3	22,3	22,6	21,9	21,4		13,2
12 <i>G. viator</i>	19,7	18,8	20,2	19,9	20,3	20,3	20,9	21,1	20,2	19,1	12,1	

Los modelos evolutivos seleccionados fueron GTR+G+I en el análisis de MV y HKY+G en el análisis de IB. Se obtuvieron tres árboles filogenéticos, con topologías similares, por lo que en la Figura 1.26 se opta por mostrar la topología del análisis de IB con sus valores de soporte más los soportes del análisis de MV (los árboles NJ y MV se muestran en el [Anexo 1.9](#) y el [Anexo 1.10](#)). Se observa en la base del árbol a la especie *C. mendozana*. El Clado 1 segrega a la provincia malacológica Cuyo, con la especie *C. sanjuanina*, de aquellas especies que habitan la Cuenca del Plata. El Clado 2 disgrega a las especies con respecto a las provincias malacológicas que habitan, formando el Clado 3 y 4. El Clado 3 se compone de las especies *C. megastoma* y *C. iguazuensis* las cuales habitan la provincia malacológica Misionera. Mientras que el Clado 4 se encuentra compuesto por especies que pertenecen a las provincias malacológicas Río Uruguay y Paraná Inferior - Río de la Plata: *C. luciae*, *C. santiagoi*, *C. nicolasi*, *C. gallardoi*, *C. rushii* y *C. fluminea*. Las cuatro primeras especies habitan solo la provincia Río Uruguay; la especie *C. rushii* habita ambas provincias, mientras que *C. fluminea* solo habita la provincia Paraná Inferior - Río de la Plata. Siendo estas dos últimas especies las más relacionadas entre sí.

Las principales diferencias entre los tres árboles se dan en las relaciones de *C. nicolasi*, *C. santiagoi* y *C. gallardoi*.

Los cuatro métodos utilizados para la delimitación de especies ubicaron dentro de un mismo grupo a *C. fluminea* y *C. rushii*. Tres de los métodos utilizados, que se muestran en

la Figura 1.26, agruparon en un mismo grupo a *C. nicolasi* y *C. santiagoi*. El método ABGD generó ocho grupos de especies; el método ASAP generó siete grupos, debido a que juntó en uno solo a *C. nicolasi*, *C. santiagoi* y *C. gallardoi*. El método mPTP generó seis grupos, uniendo en uno solo a *C. nicolasi*, *C. santiagoi*, *C. gallardoi*, *C. rushii* y *C. fluminea*, mientras que el método K/θ separó a la mayoría de los clados enfrentados (generando nueve grupos), excepto a *C. fluminea* – *C. rushii*, los cuales resultaron en ambas relaciones K/θ muy por debajo de 4 (Tabla 1.12).

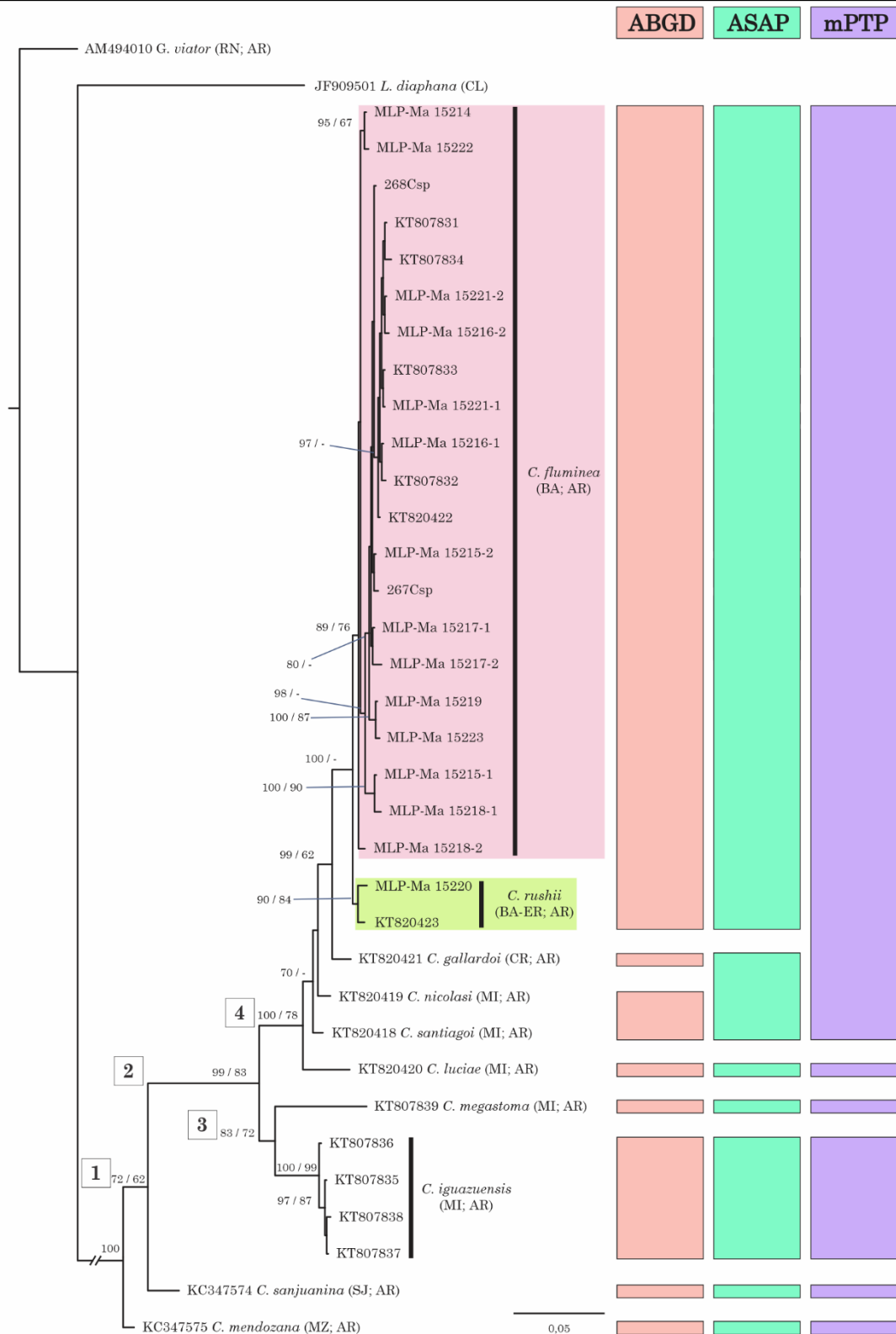


Figura 1.26. Relaciones filogenéticas y delimitación de especies en el género *Chilina*. Topología y largo de ramas de Inferencia Bayesiana, valores de soporte (>60) dados como probabilidad posterior y porcentaje de bootstrap de Máxima Verosimilitud (valores detrás de la barra). Rectángulos coloreados: especies registradas en este trabajo. Números arábigos: grandes clados. Abreviaturas: ABGD: *Automatic Barcode Gap Discovery*, AR: Argentina, ASAP: *Assemble Species by Automatic Partitioning*, BA: Buenos Aires, CL: Chile, ER: Entre Ríos, MI: Misiones, mPTP: *Multi-rate Poisson Tree Processes*, MZ: Mendoza, RN: Río Negro, SJ: San Juan.

Tabla 1.12. Delimitación de especies del género *Chilina* por el método K/θ. K: diferencia media de secuencia entre clados; θ₁: diferencia media mayor de secuencia dentro de un clado; θ₂: diferencia media menor de secuencia dentro de un clado; K/θ₁: relación tomando el parámetro θ mayor; K/θ₂: relación tomando el parámetro θ menor; n1, n2: número de secuencias dentro de cada uno de los clados comparados.

Clado – Clado	K	θ ₁	θ ₂	K/θ ₁	K/θ ₂	n1, n2
<i>C. fluminea</i> – <i>C. rushii</i>	0,0135644	0,0155844	0,0057382	0,87	2,36	21; 2
<i>C. nicolasi</i> – <i>C. santiagoi</i>	0,0123343	0,0030659	0,0030659	4,02	4,02	2; 2
<i>C. megastoma</i> – <i>C. iguazuensis</i>	0,0769621	0,0030659	0,0030659	25,10	25,10	2; 4
<i>C. sanjuanina</i> – <i>C. mendozana</i>	0,0363527	0,0030659	0,0030659	11,86	11,86	2; 2
<i>C. fluminea</i> / <i>C. rushii</i> – <i>C. gallardoi</i>	0,0298161	0,0071330	0,0030659	4,18	4,18	21; 2
<i>C. fluminea</i> / <i>C. rushii</i> – <i>C. nicolasi</i>	0,0305230	0,0071330	0,0030659	4,28	4,28	21; 2
<i>C. fluminea</i> / <i>C. rushii</i> – <i>C. santiagoi</i>	0,0304528	0,0071330	0,0030659	4,27	4,27	21; 2
<i>C. fluminea</i> / <i>C. rushii</i> – <i>C. luciae</i>	0,0533649	0,0071330	0,0030659	7,48	7,48	21; 2
<i>C. gallardoi</i> – <i>C. nicolasi</i>	0,0233242	0,0030659	0,0030659	7,61	7,61	2; 2
<i>C. gallardoi</i> – <i>C. santiagoi</i>	0,0265140	0,0030659	0,0030659	8,65	8,65	2; 2
<i>C. gallardoi</i> – <i>C. luciae</i>	0,0428312	0,0030659	0,0030659	13,97	13,97	2; 2
<i>C. nicolasi</i> – <i>C. luciae</i>	0,0378888	0,0030659	0,0030659	12,36	12,36	2; 2
<i>C. santiagoi</i> – <i>C. luciae</i>	0,0378888	0,0030659	0,0030659	12,36	12,36	2; 2
<i>C. fluminea</i> / <i>C. rushii</i> – <i>C. megastoma</i>	0,0861613	0,0071330	0,0030659	12,08	28,10	21; 2
<i>C. fluminea</i> / <i>C. rushii</i> – <i>C. iguazuensis</i>	0,0785026	0,0071330	0,0030659	11,01	25,60	21; 4
<i>C. gallardoi</i> – <i>C. megastoma</i>	0,0963065	0,0030659	0,0030659	31,41	31,41	2; 2
<i>C. gallardoi</i> – <i>C. iguazuensis</i>	0,0744894	0,0030659	0,0030659	24,30	24,30	2; 4
<i>C. nicolasi</i> – <i>C. megastoma</i>	0,0890468	0,0030659	0,0030659	29,04	29,04	2; 2
<i>C. nicolasi</i> – <i>C. iguazuensis</i>	0,0711848	0,0030659	0,0030659	23,22	23,22	2; 4
<i>C. santiagoi</i> – <i>C. megastoma</i>	0,0872483	0,0030659	0,0030659	28,46	28,46	2; 2

Tabla 1.12 (Continuación)

Clado – Clado	K	θ_1	θ_2	K/ θ_1	K/ θ_2	n1, n2
<i>C. santiagoi</i> – <i>C. iguazuensis</i>	0,0652414	0,0030659	0,0030659	21,28	21,28	2; 4
<i>C. luciae</i> – <i>C. megastoma</i>	0,0961806	0,0030659	0,0030659	31,37	31,37	2; 2
<i>C. luciae</i> – <i>C. iguazuensis</i>	0,0834504	0,0030659	0,0030659	27,22	27,22	2; 4

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Este capítulo provee información valiosa acerca de la presencia de los géneros *Potamolithus* y *Chilina* en la costa bonaerense del Río de la Plata. Además, a partir de este estudio, se generó una descripción detallada de la anatomía del género *Potamolithus*, completando lo realizado previamente por López Armengol (1985, 1996). Asimismo, se brinda información sobre el gen COI para ambos géneros estudiados, además de los primeros datos de los análisis del gen 16S tal como el protocolo para su amplificación.

De acuerdo con López Armengol & Darrigran (1998), en los años 1987-1988 el género *Potamolithus* se encontraba sobre la costa continental bonaerense del Río de la Plata representado por cuatro especies. Sin embargo, nuestros resultados indican que, durante el período estudiado (2018-2020), este género no se encuentra sobre la costa continental, limitándose solamente a la Isla Martín García. Esto podría estar indicando que, al menos en los sitios estudiados, las poblaciones de *Potamolithus* han sido desplazadas. Esto no ocurre con el género *Chilina*, la cual se encontró en casi todos los sitios muestreados; sin embargo, el área donde se encuentra solo es extenso en la IMG, donde se la registró a lo largo de casi toda la costa. Esta discusión se retomará en el capítulo 4.

Los análisis anatómicos sobre el género *Potamolithus* demuestran que habría cuatro especies presentes en la IMG, de las cuales la única que es posible diferenciar del resto es *Potamolithus bisinuatus*, ya que presenta una concha muy distinta a las otras especies. Sin embargo, entre *P. agapetus* y *P. buschii*, es muy difícil la diferenciación simplemente analizando la concha, ya que ambas presentan una gran variedad de morfologías, pudiendo presentar o no una banda marrón media, un surco y a veces una angulación suave. Esta variación pudo haber llevado a confusión de estas especies a lo largo de los años. Por esta razón, se utilizan algunos caracteres anatómicos para la segregación de estas dos especies, siendo los más distintivos la coloración del tentáculo (si es que la conserva) y la morfología del mesocono del diente lateral de la rádula. Además, estas especies pueden haber sido identificadas como *P. lapidum*, especie que estaba citada para la IMG. Sin embargo, para esta última especie no hay información anatómica que permita realizar una identificación más fidedigna (como pasa con la mayoría de las especies del género), con lo cual las comparaciones se limitaron a la descripción original y a las imágenes del material tipo.

López Armengol (1996) reportó un marcado dimorfismo sexual en la forma y el tamaño de *P. agapetus*, siendo las hembras de mayor tamaño en comparación con los machos. Sin embargo, este dimorfismo no fue evidenciado en los ejemplares analizados. De

las cuatro especies analizadas, la única que presentó un dimorfismo sexual fue *Potamolithus* sp., dado por el tamaño de la concha (que conduce a una diferencia en la cantidad de filamentos branquiales y tamaño corporal).

Según la evidencia molecular del gen COI, habría cinco especies de *Potamolithus* presentes en la costa bonaerense del Río de la Plata. De acuerdo con de Lucía et al. (2021), una distancia genética del 3 o 4% en este gen es suficiente para considerar especies diferentes, con lo cual *Potamolithus* sp1 y *Potamolithus* sp2, desde el punto de vista genético, se pueden considerar especies distintas. Sin embargo, desde el punto de vista anatómico, como se explicó en el párrafo anterior, ambas especies no se pudieron separar. Por lo tanto, estas entidades podrían ser especies crípticas que solo pueden diferenciarse a nivel molecular, como ocurre en otros gasterópodos dulceacuícolas (por ejemplo de la familia Lymnaeidae; Alda et al., 2021). Para el resto de las especies de *Potamolithus* de la costa bonaerense del Río de la Plata, los datos moleculares y anatómicos permiten la segregación de las especies. En cuanto a la implementación de distintos métodos de delimitación de especies para el género *Potamolithus*, se ha demostrado que, en su mayoría, arrojan resultados similares. Una excepción es el grupo *P. santiagensis* – *Potamolithus* sp3 al cual los métodos ABGD, ASAP y mPTP agruparon como una misma especie mientras que K/θ los separó (además de lo comentado en resultados con respecto a las especies *P. tricarinatus*, *P. nelidae*, *P. grossus* y *Potamolithus* sp1).

Con respecto al género *Chilina*, según los trabajos de Darrigran (1999), Gutiérrez Gregoric (2008, 2010), Gutiérrez Gregoric et al. (2012) y César et al. (2012), habría cuatro especies de *Chilina* en la costa bonaerense del Río de la Plata. Sin embargo, durante los muestreos realizados en este trabajo de tesis solo se hallaron dos especies, en base al análisis morfológico y anatómico y solo una según los datos moleculares. Además, se evidenciaron incongruencias entre los métodos de separación de especies de este género, en particular entre *C. gallardoi*, *C. nicolasi* y *C. santiagoi*, donde los diferentes métodos de delimitación de especies las agruparon desde las tres en la misma especie a las tres en especies distintas. Sin embargo, estudios anatómicos sugieren que se trata de especies distintas (Gutiérrez Gregoric & de Lucía, 2016). Con respecto a las especies *C. fluminea* y *C. rushii*, si bien presentan diferencias morfológicas (Gutiérrez Gregoric, 2008), los métodos de delimitación de especies las presentan como una misma especie.

Los resultados obtenidos con los distintos métodos de delimitación de especies, ya sea en el caso del género *Potamolithus* o del género *Chilina*, podrían estar sugiriendo que, o bien el gen COI no es suficiente para este fin, o que dichas especies se han separado hace

muy poco tiempo. Nuevos análisis moleculares, incorporando más genes y más ejemplares, podrían llegar a dilucidar esta incertidumbre para la especie en conflicto de *Potamolithus* y para el género *Chilina*. Los análisis filogenéticos del género *Potamolithus* no mostraron una separación de las especies por provincias malacológicas, ya que las especies de la provincia malacológica Río Uruguay quedan en clados junto con especies de la provincia malacológica Paraná Inferior - Río de la Plata. Algo similar ocurre con estas dos provincias malacológicas en el caso del género *Chilina*, donde quedan muy relacionadas, pero sí se observó separación entre las provincias de Cuyo y la Misionera, ya mencionado por Gutiérrez Gregoric & de Lucía (2016). De los sitios muestreados, el que posee mayor cantidad de especies y mayor variabilidad genética para ambos géneros es la IMG. Esta discusión se retomará en el capítulo 5.

CAPÍTULO 2

**Estudios poblacionales de *Potamolithus* spp.
y *Chilina fluminea* en la costa
bonaerense del Río de la Plata**



CAPÍTULO 2

ESTUDIOS POBLACIONALES DE *POTAMOLITHUS* SPP. Y *CHILINA FLUMINEA* EN LA COSTA BONAERENSE DEL RÍO DE LA PLATA

INTRODUCCIÓN

El conocimiento sobre la biología, ecología y dinámica de poblaciones en moluscos es de vital importancia desde varios puntos de vista. Por un lado, algunas especies son utilizadas para el consumo humano, de manera que se requiere una evaluación de especies por localidad, conocimiento de la dinámica de sus poblaciones y ciclos reproductivos que permitan determinar volúmenes de captura, tallas mínimas y períodos de explotación para que se lleve a cabo una administración responsable (Cárdenas & Aranda, 2003). Por el otro, varias especies de caracoles de agua dulce son vectores de enfermedades y sirven como huéspedes intermediarios de una serie de infecciones para las cuales los seres humanos o el ganado son huéspedes definitivos. Debido a esto, estudios sobre la biología y la ecología de poblaciones son importantes al momento de definir y evaluar posibles medidas de control de parasitosis (Gutiérrez Gregoric, 2008). Finalmente, desde el punto de vista de la conservación, varios autores coinciden en que los estudios sobre la estimación de las tasas demográficas (supervivencia y fecundidad), tendencias poblacionales, biología básica, fisiología, sistemática y distribución, entre otros, son de vital importancia para poder llevar a cabo un buen manejo de las especies (Lydeard et al., 2004; Strong et al., 2008; Frick et al., 2010; Cuttelod et al., 2011; Johnson et al., 2013). Además, estos parámetros poblacionales son necesarios para una adecuada clasificación del estado de conservación (UICN, 2016), ya que la falta de esa información produce que muchas especies queden clasificadas como con Datos Insuficientes (DD).

Estudios sobre ecología, dinámica de poblaciones y biología reproductiva, son escasos dentro de la familia Tateidae. Ponder et al. (1991) comentan para el género *Tatea* que, si bien sus especies son abundantes en Australia, no hay publicaciones de su ecología ni de su historia de vida y esto es debido a que no existe resolución acerca del número de especies presentes. Clark et al. (2003) argumentan que no se han realizado estudios detallados sobre la biología del género *Austropyrgus*, pero la observación casual sugiere que, al menos algunas especies, pueden reproducirse durante gran parte del año (debido a la presencia de cápsulas de huevos y juveniles de varios tamaños durante diferentes estaciones del año) y

porque sus sistemas reproductivos generalmente parecen estar maduros independientemente de la temporada. El género *Potamolithus* no es la excepción a esta falta de información, y son necesarios estudios sobre su ecología, crecimiento, dinámica poblacional y biología reproductiva. La mayoría de los trabajos sobre estos temas en la familia Tateidae están realizados sobre el género *Potamopyrgus*, con la especie invasora *Potamopyrgus antipodarum* (Gray, 1843), la cual es ovovivípara y partenogénica, con una proporción de machos muy baja o nula (Schreiber et al., 1998; Broekhuizen et al., 2001; Coulaud et al., 2013; Verhaegen et al., 2021).

En el sitio web “Australian Freshwater Molluscs”¹ (Ponder et al., 2020) se detallan datos sobre las cápsulas de huevos de nueve géneros de la familia Tateidae, los cuales en su mayoría poseen forma hemisférica u ovalada, son transparentes, con un solo embrión (excepto el género *Fluvidona* que puede tener uno o dos), con incrustaciones de arena, se encuentran adheridos sobre sustratos duros (madera, vegetación, en algunos casos sobre conchas) y poseen desarrollo directo (excepto el género *Tatea* que posee desarrollo indirecto a través de una larva veliger nadadora). En relación a estudios poblacionales sobre la familia Tateidae, dos trabajos se tomarán como referentes: Winterbourn (2016), que analiza la estructura de tallas, los cambios temporales en la densidad de población y la proporción de sexos de *Potamopyrgus estuarinus* Winterbourn, 1970 en ríos de Nueva Zelanda; y Bichuette & Trajano (2003), que realizan un estudio poblacional en cuatro especies del género *Potamolithus* (*P. ribeirensis*, *P. troglobius* y dos no identificadas) en cuatro sitios de Brasil.

Como representante de los Caenogastropoda, el género *Potamolithus* presenta branquias y un opérculo con el cual puede resguardarse dentro de su concha cuando se encuentra en condiciones de aire atmosférico. Relacionado a esto, Winterbourn (1970, 2016) menciona que *Potamopyrgus estuarinus*, si bien se resguarda en su concha cuando la marea desciende, puede sobrevivir por más de 50 días en una atmósfera saturada de humedad e incluso hasta 42 días en sustrato seco con poca humedad. Sin embargo, no existen estudios que demuestren si las densidades de *Potamolithus* varían entre un área que queda expuesta al aire atmosférico (cercanas a la línea de costa, o de menor profundidad) y un área que nunca queda expuesta (de mayor profundidad o más lejanas a la línea de costa), durante el régimen diario de marea.

En relación a la familia Chiliniidae, existe más bibliografía en lo que respecta a estudios poblacionales. Algunos estudios sobre su biología y ecología son: Miquel (1986) que

¹ https://keys.lucidcentral.org/keys/v3/freshwater_molluscs/

estudia el ciclo de vida y la evolución gonadal de *Chilina fluminea*; Bosnia et al. (1990) que analizan el ciclo de vida, el crecimiento y la densidad de *Chilina gibbosa* Sowerby, 1841; Quijón et al. (2001) que analizan el crecimiento y la distribución espacial de *Chilina ovalis* (Sowerby, 1841); Gutiérrez Gregoric et al. (2010) que estudian la densidad, la tasa de crecimiento individual y los tiempos de reclutamiento de *Chilina megastoma*; Gutiérrez Gregoric (2008) y Gutiérrez Gregoric et al. (2012) que proporcionan información sobre patrones poblacionales (densidad, tasa de crecimiento individual y tiempos de reclutamiento) de *Chilina fluminea*. Los últimos estudios en *Chilina fluminea* son bastante recientes (2000-2003), sin embargo, en las recomendaciones realizadas por la UICN (2012b) para evaluar el estado de amenaza de una especie, se recomienda realizar estudios poblacionales cada 10 años. Además, los últimos estudios realizados sobre *Chilina fluminea* se ubican en un solo sitio de la costa del Río de la Plata y, debido a que este río sufre continuos cambios en la costa, es necesario llevar a cabo estudios sobre densidad y crecimiento individual a lo largo de la misma para determinar el estado en que se encuentran las poblaciones.

El objetivo de este capítulo es proporcionar datos sobre la ecología e historia de vida, densidad, cambios temporales en la densidad de población, tasa de crecimiento individual, tiempos de reclutamiento y distribución de *Potamolithus* spp. y *Chilina fluminea* en la costa bonaerense del Río de la Plata. Además, como un objetivo secundario, se pretende evaluar si el gradiente de profundidad tiene alguna influencia en las densidades del género *Potamolithus*. Los análisis poblacionales no se realizaron en *Chilina rushii* debido a que su densidad en el único sitio en el cual se la encontró (IMG) fue demasiado baja, no permitiendo realizar dichos análisis.

MATERIALES Y MÉTODOS

i- Sitios de muestreo, colecta y relajación del material

Para alcanzar el objetivo propuesto se realizaron colectas de ejemplares en diferentes sitios. La colecta se realizó en los diferentes ambientes (rocas, arena, caliche, sustrato artificial) cuando la marea se encontraba en bajante (aproximadamente 0,30 metros). Si bien en todos los sitios muestreados se buscaron representantes de los dos géneros en estudio, se utilizó un muestreo diferente en la IMG (subsitio Casa de Bombas) al empleado en los demás sitios, ya que este sitio por sus características de fácil acceso lo hacían propicio para llevar a cabo el análisis de densidad del género *Potamolithus*.

Isla Martín García (IMG): Los muestreos se realizaron desde el otoño 2018 a la primavera 2019. El muestreo de primavera 2018 no se tuvo en cuenta en los análisis debido a que, por el viento del sudeste, el río estaba demasiado alto. El muestreo de verano 2020 no se pudo llevar a cabo debido a problemas con la lancha para llegar a la IMG.

Casa de bombas: Para evaluar la densidad en un gradiente de profundidad, se llevaron a cabo dos transectas perpendiculares a la línea de costa (T1: 34°11'24" S, 58°14'58" O; T2: 34°11'24" S, 58°14'57" O) tomando un árbol ubicado en la misma como punto de referencia cero. A partir del mismo se realizaron siete puntos hacia el interior del río, separados por dos pasos (1,80 m aproximadamente) (Fig. 2.1). Los puntos 1, 2 y 3 (más cercanos a la línea de costa) quedan expuestos al aire atmosférico durante la bajante normal diaria (excluyendo a las superbajantes), mientras que los puntos 4, 5, 6 y 7 (más lejanos a la línea de costa) permanecen sumergidos. En cada punto se levantaron 3 rocas (21 réplicas en total) de las cuales se colectaron los moluscos y se colocaron en frascos rotulados con agua del ambiente y se dejaron en la costa junto a su roca correspondiente. Las rocas se colocaron en un balde con agua y por volumetría indirecta se calculó su volumen; luego se devolvieron al área aproximada donde se habían retirado. Los frascos con los ejemplares se trasladaron al camping donde se los separó por género. Los ejemplares del género *Potamolithus* colectados en dos de los frascos de cada punto de las transectas se contabilizaron y fueron devueltos. El tercer frasco (7 para cada transecta) se llevó al laboratorio para realizar los análisis bajo microscopio estereoscópico Leica S4E. Los ejemplares fueron contabilizados y se observó: coloración de tentáculo, forma y aspecto de la concha (para determinar la especie, cuando fue posible), sexo (cuando se pudo identificar), peristoma (completo o incompleto) y

cantidad de huevos sobre la concha (siempre y cuando tuvieran embrión dentro). El resto de los géneros encontrados fueron llevados al laboratorio para su identificación (solo en los primeros muestreos, en los demás solo se comprobó su presencia y fueron devueltos).

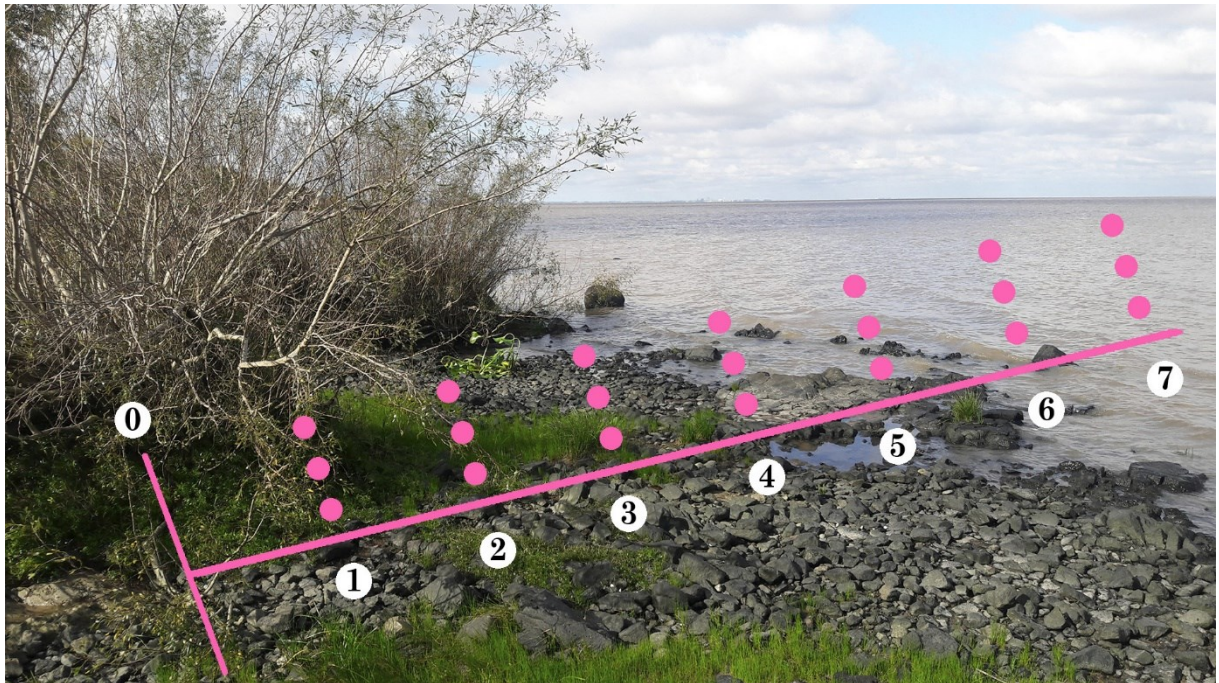


Figura 2.1. Esquema de muestreo de una transecta, mostrando el árbol como punto 0 y los siguientes 7 puntos con sus respectivas réplicas, perpendiculares a la línea de costa. Los puntos presentados en este esquema no reflejan el lugar exacto de la colecta del material.

Punta Cañón (PuC): Se realizaron muestreos manuales inspeccionando el sustrato (arena) y las rocas (15 a 30 minutos por persona). Los ejemplares de la especie *Chilina fluminea* fueron medidos con calibre digital de acuerdo con 18 intervalos de talla de 1 mm (T1: 0-0,99; T2: 1-1,99; T3: 2-2,99; T4: 3-3,99; T5: 4-4,99; T6: 5-5,99; T7: 6-6,99; T8: 7-7,99; T9: 8-8,99; T10: 9-9,99; T11: 10-10,99; T12: 11-11,99; T13: 12-12,99; T14: 13-13,99; T15: 14-14,99; T16: 15-15,99; T17: 16-16,99; T18: 17-17,99) en el sitio de muestreo y luego fueron devueltos al medio. La medida tomada fue la longitud del último anfracto, debido a que el ápice en estos caracoles queda erosionado. Además, se contabilizaron las puestas de *Chilina* y los demás géneros se trataron como en Casa de Bombas.

Playa Anchorena (ANC), Reserva Natural Punta Lara (RNPL) y Balneario Bagliardi (BAG): El muestreo se llevó a cabo de la misma manera que en Punta Cañón, a diferencia del sustrato que varió según el sitio muestreado (“rocas artificiales” en ANC, murallón caído en la desembocadura del arroyo Boca Cerrada en RNPL y pozas en BAG).

La relajación y conservación del material se llevó a cabo de acuerdo con lo explicado en el capítulo 1.

ii- **Ensayo de crecimiento en *Potamolithus***

Se realizó un ensayo de crecimiento y reclutamiento en el laboratorio solo para el género *Potamolithus*, ya que para *Chilina fluminea* existían datos de estudios poblacionales en el área estudiada. Se tomaron nueve peceras de 10x10x10cm, se les colocó agua declorada con anticloro para peces (Aquamed) y una o dos rocas con el fin de que se genere un sustrato alimenticio. En cada una se colocaron 6 ejemplares adultos, colectados en el subsitio Casa de Bombas, los cuales poseían huevos embrionados sobre sus conchas. Una vez que los huevos eclosionaron, se retiraron 5 ejemplares adultos, y se dejó un solo adulto para que al desplazarse y alimentarse de las algas generadas, cree un ambiente adecuado para los caracoles recién eclosionados. A partir de ese momento se comenzó a medir cada individuo eclosionado en intervalos de una semana utilizando un microscopio óptico binocular Leica Wild M37. La medida que se tomó fue el diámetro mayor en vista dorsal (posición en la cual se desplazan). Se utilizó esta medida no convencional, debido a que los ejemplares morían luego de ser colocados en posición ventral. Esta forma de medición fue adquirida luego de un ensayo de prueba realizado en el año 2015, donde se probaron varias estrategias de medición. A partir de estos ensayos se llegó a la conclusión, que los ejemplares son muy frágiles y si se los manipula demasiado durante las primeras semanas de vida no sobreviven. Para manipularlos de manera segura se utilizaron pinceles finos y pipetas de bulbo.

iii- **Análisis de los datos**

***Potamolithus* spp.**

Se tratará a *Potamolithus* sp. como una misma especie, considerando la mirada morfológica, y no la molecular que los separa en *Potamolithus* sp1 y sp2.

Análisis de densidades

Se calculó la densidad para: el género en su totalidad, cada especie, los machos, las hembras, los juveniles, los adultos y las puestas. En todos los casos se calculó la densidad de ejemplares en 1.000 cm³ (= litro; D= número de ind./l), ya que el volumen de la roca fue calculado en campo por volumetría indirecta. Además, se tuvieron en cuenta las diferentes estaciones del año y el gradiente de profundidad.

Los análisis estadísticos se realizaron en el software R (versión 4.0.2, R Core Team, 2020), con los paquetes pwr (Champely, 2020) y MultNonParam (Jankowski, 2021).

Previo a la realización de cada análisis, se evaluó la normalidad de los datos a través de la prueba de Shapiro Wilk y de gráficos qqplot, además de la homogeneidad de varianzas. Cuando los datos presentaron una distribución no normal y/o las varianzas no homogéneas, se utilizaron pruebas no paramétricas para analizar los datos (Mann Whitney y Kruskal Wallis); en caso contrario se utilizaron pruebas paramétricas (t de Student y ANOVA). Además, cuando estos análisis presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) se realizó un ensayo de potencia (Cálculos de potencia para pruebas t de medias; Potencia para la prueba de Kruskal-Wallis) para determinar la probabilidad de haber aceptado la hipótesis alternativa cuando en realidad era cierta (Rigalli et al., 2019). Cuando los ensayos de potencia demostraron que existían diferencias significativas, es decir, cuando la potencia resultó en un valor $> 0,8$ se aplicó una prueba de comparación múltiple dependiendo de los niveles del factor de interés (prueba suma de rangos de Wilcoxon por pares). En cada análisis se utiliza VR para nombrar a la variable respuesta y FF para nombrar al factor fijo (o variable predictora).

Para el análisis de gradiente de profundidad, se consideró como profundidad a la distancia desde la línea de costa (punto cero), quedando con datos los puntos del 1 al 7. Las tres rocas tomadas en cada punto (en cada transecta) se tomaron como réplicas, quedando un total de seis réplicas para cada punto muestreado.

a) Densidad total de individuos del género *Potamolithus*: Se utilizaron los datos de las seis réplicas de cada punto, sin separar especies. Se evaluó si existían diferencias en la densidad total de individuos del género *Potamolithus* entre las distintas estaciones del año muestreadas (otoño2018, otoño2019, invierno2018, invierno2019, verano2019, primavera2019) y entre los siete puntos (profundidad). VR: Densidad total de *Potamolithus* (en ambos análisis) FF: Estación (con 6 niveles) para el análisis estacional, y Punto (con 7 niveles) para el análisis de profundidad.

b) Densidad de individuos por especie: Se utilizaron los datos del año 2019 (verano, otoño, invierno y primavera), analizando solo el frasco que se llevó al laboratorio, es decir, una réplica de cada punto de muestreo. Se determinó la densidad por especie: *P. agapetus*, *P. bisinuatus*, *P. buschii* y *Potamolithus* sp. Los individuos que no pudieron ser identificados a nivel de especie no se tomaron en cuenta para este análisis. Se evaluó si existían diferencias en las densidades entre las distintas especies; VR: Densidad de *Potamolithus*. FF: Especie (con 4 niveles). Además, se evaluó si existían diferencias en la densidad de cada especie en las distintas estaciones del año; VR: Densidad de cada una de las especies. FF: Estación (con 4 niveles).

c) Densidad de hembras vs. densidad de machos: Los datos utilizados fueron los mismos que en el análisis b, pero no se discriminó por especie. Se evaluó si existían diferencias significativas en las densidades totales de machos y hembras, y en las densidades para cada estación del año muestreada. VR: Densidad de *Potamolithus*; FF: Sexo (con 2 niveles: hembra y macho).

d) Densidad de juveniles vs. adultos: Los datos utilizados fueron los mismos que en el análisis b. No se discriminó por especie, sino que se tuvo en cuenta si eran juveniles (peristoma incompleto= inmadurez sexual) o adultos (peristoma completo= madurez sexual). Se evaluó si existían diferencias en las densidades totales de juveniles y de adultos y en las densidades para cada estación del año muestreada. VR: Densidad de *Potamolithus*. FF: Peristoma (con 2 niveles: incompleto y completo). Además, se evaluó si existían diferencias en las densidades de *Potamolithus* juveniles (y lo mismo para adultos) en cada una de las estaciones del año muestreadas. VR: Densidad de juveniles; densidad de adultos. FF: Estación (con 4 niveles). Se compararon las proporciones de juveniles con adultos, con el fin de detectar picos reproductivos.

e) Puestas: Los datos utilizados fueron los mismos que en el análisis b. Se contó la cantidad de individuos del género *Potamolithus* que tenían cápsulas de huevos (llamado de ahora en adelante “huevos”) sobre sus conchas y la cantidad de huevos, considerando como huevo a aquellos que presentaban embrión. Luego se calculó la cantidad de huevos por ejemplar y se evaluó si existían diferencias en las distintas estaciones a lo largo del año. VR: Cantidad de huevos por *Potamolithus*. FF: Estación (con 4 niveles: verano, otoño, invierno y primavera).

Análisis de crecimiento en laboratorio

En gasterópodos suele observarse un crecimiento determinado, que es definido como aquel crecimiento que se detiene cuando un organismo alcanza un cierto tamaño (Karkach, 2006). Los modelos utilizados en los estudios de crecimiento individual de moluscos son, en general, el modelo exponencial de von Bertalanffy (1938) y el modelo de crecimiento logístico (Plorin & Gilbertson, 1984; Rumi et al., 2007; Martín, 2008; Núñez, 2010; Gutiérrez Gregoric et al., 2012).

Para el análisis de crecimiento individual en laboratorio se empleó el crecimiento logístico de Robertson (1923), el cual se representa con una curva sigmoidea y se divide en 4 fases: 1- Establecimiento inicial en el cual el crecimiento de la población es relativamente lento; 2- Aceleración rápida o crecimiento exponencial; 3- Desaceleración, donde la tasa de crecimiento se hace más lenta porque la población se aproxima a la capacidad de carga del ambiente; 4- Estabilidad, el crecimiento se estabiliza aunque puede haber fluctuaciones alrededor de la capacidad de carga. Este modelo de crecimiento es representado por la ecuación:

$$L_t = \frac{L_0 L_\infty}{L_\infty + (L_\infty - L_0) e^{-kt}}$$

donde L_t es el tamaño (diámetro mayor en vista dorsal) a la edad t , L_∞ es el tamaño máximo, L_0 es el tamaño inicial y k describe la tasa de crecimiento. El parámetro k en la función logística no es constante, razón por la cual se lo hace variar hasta obtener el mejor ajuste a los datos. Este modelo ha sido empleado en otras especies de moluscos cuando se estudia su crecimiento en laboratorio, ya que explica mejor los primeros estadios del crecimiento (Plorin & Gilbertson, 1984) que los modelos exponenciales.

Previo al cálculo de la curva teórica se calculó la media y el desvío, considerando tiempo en semanas. Se calculó L_∞ a través del método de Walford (1946), el cual consiste en hallar una ecuación de la recta proveniente de la gráfica de los pares de valores de la longitud de una fecha y la de la fecha siguiente, resultando en la ecuación:

$$L_\infty = a / (1 - b)$$

donde a es el intercepto y b la pendiente. Luego se graficaron las longitudes observadas en el tiempo (semanas) y se calculó la curva teórica haciendo variar el valor del parámetro k hasta que se ajustara a los datos. Para verificar si lo observado se correspondía con lo calculado se realizó una prueba de Chi^2 y una regresión simple entre ambas variables.

Chilina fluminea

Análisis de densidades

Se calculó la densidad para: el total de individuos, los juveniles y los adultos. En todos los casos se calculó la densidad de ejemplares recolectados en 30 minutos ($D = \text{número de ind.}/30\text{min}$), y se tuvieron en cuenta las diferentes estaciones del año.

Se realizaron los mismos análisis estadísticos que para el género *Potamolithus*. Se llevaron a cabo distintos análisis estadísticos para evaluar estacionalidad y densidad entre los sitios muestreados. Los muestreos de cada estación del año del 2018 - 2020 se tomaron como réplicas debido a la falta de diferencias significativas en sus densidades (Mann Whitney, $p > 0,05$).

a) Densidad total de individuos de *Chilina fluminea*: Se evaluó si existían diferencias significativas en la densidad total de *Chilina fluminea* entre los distintos sitios muestreados, entre las estaciones del año en total (tomando todos los sitios) y entre las estaciones del año para cada sitio muestreado. VR: densidad total de *Chilina fluminea*. FF: Sitio (IMG: PuC, ANC, BAG, RNPL) y Estación (otoño, invierno, primavera, verano).

b) Distribución de tallas y densidad de juveniles vs. adultos: Para determinar la presencia de cada talla en las distintas estaciones del año, se graficaron las densidades de las 18 tallas en cada sitio muestreado. Se evaluó la madurez, considerando como juveniles (inmaduros) a los ejemplares que presentaron una talla entre la 1 y la 9, mientras que se consideraron adultos (maduros) a los ejemplares que presentaron una talla entre la 10 y la 18. Esta clasificación se realizó siguiendo a Gutiérrez Gregoric (2008), donde menciona que al año alcanzan ~78% de su tamaño (llegando a los 9 - 10 mm) y son ejemplares reproductivos. Se graficaron las proporciones de juveniles versus adultos para determinar estaciones del año reproductivas. Se evaluó si existían diferencias en las densidades totales de juveniles y de adultos en cada sitio muestreado. VR: Densidad de *Chilina fluminea*. FF: Madurez (con 2 niveles: juvenil y adulto). Además, se contabilizaron las puestas de *Chilina fluminea*.

Análisis de crecimiento en campo

Para el análisis de crecimiento individual en campo se utilizaron los datos de los sitios Playa Anchorena y del Balneario Bagliardi, y se empleó el modelo de crecimiento

exponencial de von Bertalanffy (1938), como ya fue utilizado por otros autores (Gutiérrez Gregoric, 2008; Gutiérrez Gregoric et al., 2012). Este modelo está representado por:

$$L_t = L_\infty (1 - e^{-k(t-t_0)})$$

donde L_t es el tamaño (longitud del último anfracto) a la edad t , L_∞ es el tamaño máximo, k es la tasa constante de crecimiento, t es el tiempo y t_0 es el tiempo hipotético donde la longitud es igual a cero.

Previo al cálculo de la curva teórica con la ecuación de von Bertalanffy, se realizó la descomposición polimodal de cada uno de los muestreos (con intervalo de talla de 0,5 mm), y para cada moda se calculó la media y el desvío estándar. El tiempo de cada muestreo se tomó como partes del año, según Basso & Kher (1991), considerando $t = 1$ año y obteniéndose a través de la siguiente ecuación:

$$t = ((\text{mes} - 1) * 30 + \text{día del muestreo}) / 360$$

En la escala de tiempo el valor 0 equivale al 1° de enero, mientras que el valor de 1 equivale al 31 de diciembre. Con los valores medios que se obtuvieron del ajuste de una curva normal de cada descomposición polimodal, se calculó L_∞ como el promedio de los 10 tamaños mayores por sitio (no se calculó por el método de Walford (1946) ya que las fechas de muestreo no fueron equidistantes). Luego de obtener L_∞ , se realizó una transformación lineal de la ecuación logarítmica y se obtuvo:

$$\ln(1 - L_t / L_\infty) = -k t + k t_0$$

Donde “ $k t_0$ ” es el intercepto a ($t_0 = a / k$) y la pendiente b es $-k$. Al igual que en el análisis del género *Potamolithus*, para verificar si lo observado se correspondía con lo calculado se realizó una prueba de χ^2 y una regresión simple entre ambas variables.

RESULTADOS

En campo se observó que cuando baja la marea dejando el sustrato expuesto, los ejemplares de *Potamolithus* spp. se dispersan, es decir, no quedan expuestos al aire atmosférico, sino que se esconden debajo de rocas y en sus oquedades buscando refugio (donde puede quedar agua o humedad). Además, al poseer opérculo pueden cerrarse guardando el cuerpo dentro de la concha y esperar a que la marea suba nuevamente. Mientras que, los ejemplares de *Chilina fluminea* se desplazan debajo de las rocas, pero además pueden enterrarse en la arena para evitar la desecación (no poseen opérculo, razón por la cual no pueden quedar expuestos mucho tiempo).

***Potamolithus* spp.**

A lo largo de este estudio se contabilizaron y midieron un total de 11.920 individuos de este género; los organismos se encontraron presentes en el ambiente durante todas las estaciones del año.

Análisis de densidades

a) Densidad total de individuos del género *Potamolithus*: Se hallaron diferencias significativas entre las distintas estaciones muestreadas ($p < 0,0001$; potencia = 1), siendo el verano 2019 el que presentó la mayor densidad con $215,61 \pm 151,02$ ind./l, y el invierno 2019 el que presentó la menor densidad con $47,78 \pm 34,02$ ind./l (Tabla 2.1). En cuanto al análisis de profundidad, se hallaron diferencias significativas ($p = 0,02$; potencia = 1) entre los puntos 1 y 5, cuyas densidades medias fueron $90,07 \pm 70,23$ ind./l y $188,87 \pm 147,44$ ind./l, respectivamente.

b) Densidad de individuos por especie: Se encontraron diferencias significativas ($p < 0,0001$; potencia = 1) entre las densidades de las especies de *P. agapetus* y *P. bisinuatus* respecto de *P. buschii* y *Potamolithus* sp., siendo *P. agapetus* y *P. bisinuatus* las especies que presentaron las menores densidades (Tabla 2.2). Además, se hallaron diferencias significativas para *P. buschii* ($p < 0,0001$; potencia = 0,99) y para *Potamolithus* sp. ($p < 0,0001$; potencia = 0,99) entre las distintas estaciones del año muestreadas.

Tabla 2.1. Media (\pm) desvío estándar de la densidad total (ind./l) del género *Potamolithus*. Las mismas letras (a, b, c) indican pertenencia a un grupo según la prueba de comparación múltiple (Prueba suma de rangos de Wilcoxon por pares; $p < 0,05$).

<i>Potamolithus</i>	
Total	155,41 ($\pm 134,75$)
Otoño 2018	206,47 ($\pm 138,86$) ^a
Invierno 2018	152,66 ($\pm 76,59$) ^a
Verano 2019	215,61 ($\pm 151,02$) ^a
Otoño 2019	196,35 ($\pm 163,71$) ^a
Invierno 2019	47,78 ($\pm 34,02$) ^b
Primavera 2019	113,54 ($\pm 116,12$) ^c

Tabla 2.2. Media (\pm) desvío estándar de la densidad (ind./l) de cada especie del género *Potamolithus* durante el año 2019. Las mismas letras (a, b, c) indican pertenencia a un grupo según la prueba de comparación múltiple (Prueba suma de rangos de Wilcoxon por pares; $p < 0,05$).

	<i>P. agapetus</i>	<i>P. bisinuatus</i>	<i>P. buschii</i>	<i>Potamolithus</i> sp.
Total	0,23 ($\pm 0,78$)	1,02 ($\pm 2,68$)	62,85 ($\pm 70,78$)	73,89 ($\pm 74,51$)
Verano	0,64 ($\pm 1,34$) ^a	2,57 ($\pm 4,50$) ^a	98,50 ($\pm 54,50$) ^a	117,43 ($\pm 75,27$) ^a
Otoño	0,00 ^a	0,93 ($\pm 2,23$) ^a	90,00 ($\pm 103,16$) ^{a, c}	102,50 ($\pm 83,36$) ^a
Invierno	0,00 ^a	1,92 ($\pm 0,80$) ^a	12,28 ($\pm 7,65$) ^b	17,64 ($\pm 11,59$) ^b
Primavera	0,28 ($\pm 0,73$) ^a	0,36 ($\pm 0,93$) ^a	50,64 ($\pm 49,48$) ^c	58,00 ($\pm 64,31$) ^{a, b}

c) Densidad de hembras vs. densidad de machos: No se hallaron diferencias significativas entre las densidades totales de hembras y de machos (Fig. 2.2), ni entre las distintas estaciones del año muestreadas (Tabla 2.3).

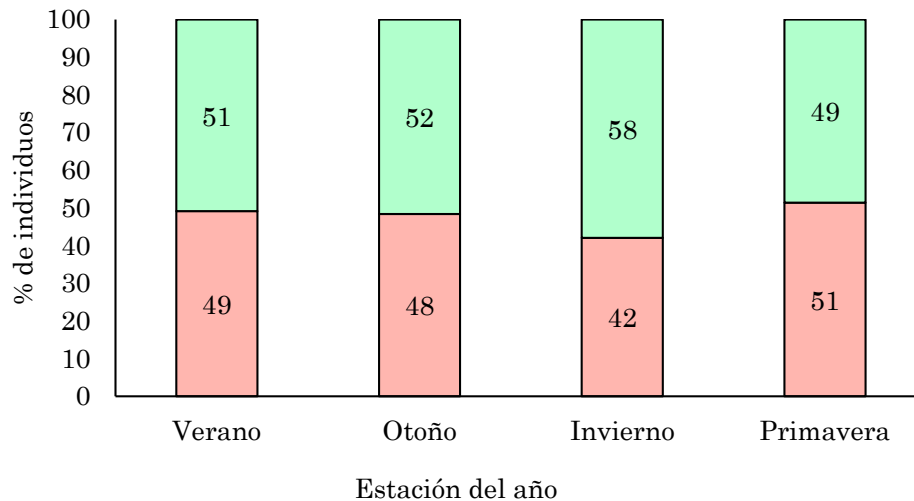


Figura 2.2. Porcentaje de ejemplares de *Potamolithus* hembras versus machos en las distintas estaciones del año. La parte inferior rosa de la columna corresponde a hembras y la superior verde a machos.

Tabla 2.3. Media (\pm) desvío estándar de la densidad (ind./l) de ejemplares del género *Potamolithus* hembras y machos.

	Hembra	Macho	p
Total	35,26 (\pm 45,49)	36,83 (\pm 45,87)	0,75
Verano	54,77 (\pm 57,32)	56,71 (\pm 37,35)	0,32
Otoño	51,96 (\pm 45,70)	55,43 (\pm 60,50)	0,97
Invierno	6,35 (\pm 5,98)	8,75 (\pm 8,66)	0,43
Primavera	27,98 (\pm 38,64)	26,46 (\pm 42,68)	0,53

d) Densidad de juveniles vs. adultos: Se hallaron diferencias significativas entre las densidades totales de juveniles y de adultos (potencia = 0,8), y entre las densidades para cada estación del año muestreada (potencia = 1) (Tabla 2.4). Cuando se analizaron las densidades de los juveniles y adultos por separado entre las distintas estaciones del año, también se hallaron diferencias. En la Figura 2.3 se observan las diferencias en las proporciones, evidenciando un pico de juveniles en verano justo cuando los adultos presentaron las menores densidades.

Tabla 2.4. Media (\pm) desvío estándar de la densidad (ind./l) de juveniles y adultos del género *Potamolithus*. Las mismas letras (a, b, c) indican pertenencia a un grupo según la prueba de comparación múltiple (Prueba suma de rangos de Wilcoxon por pares; $p < 0,05$).

	Juvenil	Adulto	p
Total	31,52 (\pm 44,89)	40,59 (\pm 46,02)	0,001
Verano	76,25 (\pm 55,13) ^a	35,23 (\pm 27,77) ^a	0,0008
Otoño	39,46 (\pm 39,81) ^b	67,93 (\pm 61,24) ^b	0,016
Invierno	3,36 (\pm 3,75) ^c	11,75 (\pm 7,95) ^c	< 0,0001
Primavera	7,00 (\pm 7,74) ^c	47,45 (\pm 49,07) ^{a, b}	< 0,0001

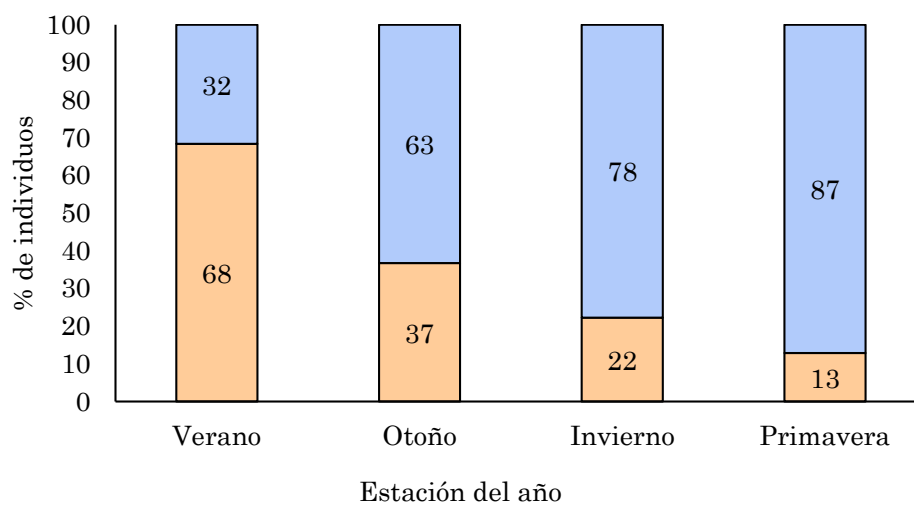


Figura 2.3. Porcentaje de ejemplares de *Potamolithus* juveniles versus adultos en las distintas estaciones del año. La parte inferior naranja de la columna corresponde a juveniles y la superior azul a adultos.

e) Puestas de *Potamolithus* spp.: Se observó la presencia de huevos de *Potamolithus* en todas las estaciones del año muestreadas. Los huevos se encontraron pegados a superficies duras (conchas o rocas) siempre bajo agua; se observaron sobre ejemplares de *Potamolithus*, *Chilina*, *Heleobia piscium*, *Anisancylus obliquus* y rocas, pero nunca sobre *Limnoperna fortunei*. El análisis de puestas reveló que existen diferencias entre las cantidades de huevos adheridos por individuos del género *Potamolithus* entre las cuatro estaciones del año ($p < 0,0001$; potencia = 0,99), siendo la primavera la estación de mayor actividad reproductiva, mientras que el verano y el otoño las de menor actividad (Tabla 2.5). Esto se corresponde con la densidad de hembras maduras, más abundantes en primavera y menos abundantes en verano.

Tabla 2.5. Media (\pm) desvío estándar de la densidad de huevos adheridos por individuos del género *Potamolithus*.

	Huevos
Total	2,05 (\pm 1,59)
Verano	1,47 (\pm 0,63)
Otoño	0,62 (\pm 0,57)
Invierno	2,12 (\pm 1,18)
Primavera	3,98 (\pm 1,42)

Análisis de crecimiento en laboratorio

Por la coloración del tentáculo, la forma de la concha y los tamaños alcanzados se determinó que los ejemplares criados en el laboratorio ($N_{\text{♀}}= 19$; $N_{\text{♂}}= 22$) pertenecían a la especie *Potamolithus* sp. y se observó que:

- Copulan cuando el peristoma se completa y se consideran adultos maduros sexualmente (a partir de los 3 mm en las hembras y de los 2 mm en machos). Pevio a esto el aparato reproductor no se encuentra desarrollado completamente.
- El nodo nual en las hembras, y el pene en machos, no está presente en los individuos recién eclosionados; comienza a aparecer como una mancha blanca, luego va adquiriendo tamaño, hasta que el individuo alcanza la madurez sexual (cuando el peristoma se completa).
- Las hembras almacenan el esperma (observado en dos ejemplares) durante al menos 3 semanas; esto se evidenció por los huevos encontrados.
- Las hembras, en ausencia de machos, ponen huevos no fecundados cuando llegan a la adultez que al cabo de una semana comienzan a degradarse.
- Las puestas son de un solo huevo y, por transparencia, se observa un solo embrión. Los huevos son semiesféricos (tipo domo) de color amarillo claro, con una falda o reborde en la base (Fig. 2.4), de un tamaño aproximado de 0,5 mm, adheridos sobre la parte plana. Recién puestos presentan una coloración blanca-transparente, a los 20 minutos adquieren un color rosado y luego van tomando una tonalidad amarilla conforme se van endureciendo (Fig. 2.5).



Figura 2.4. Huevos del género *Potamolithus* sobre un ejemplar juvenil en alcohol, colectado en campo. Escala: 1 mm.

○ Ciclo de vida: Inicialmente, ni bien el huevo es puesto, se observa una masa única blanca. Luego de ~ 7 días se observa una pequeña concha blanco-transparente, la cual al cabo de 7 días toma una tonalidad marrón claro-transparente, aumenta de tamaño (~ 0,44 mm) y el cuerpo del animal adquiere una coloración más oscura (en esta especie). La eclosión ocurre ~ 20 días luego de la puesta (Fig. 2.4). Las primeras 8 semanas (~ 60 días) de vida son los más críticos, hasta que alcanzan el milímetro de longitud. Luego de 22 semanas (~ 153 días) llegan a la madurez sexual (adultez), evidenciada por el peristoma completo y la cópula. Al cabo de 95 semanas (~ 665 días) mueren.

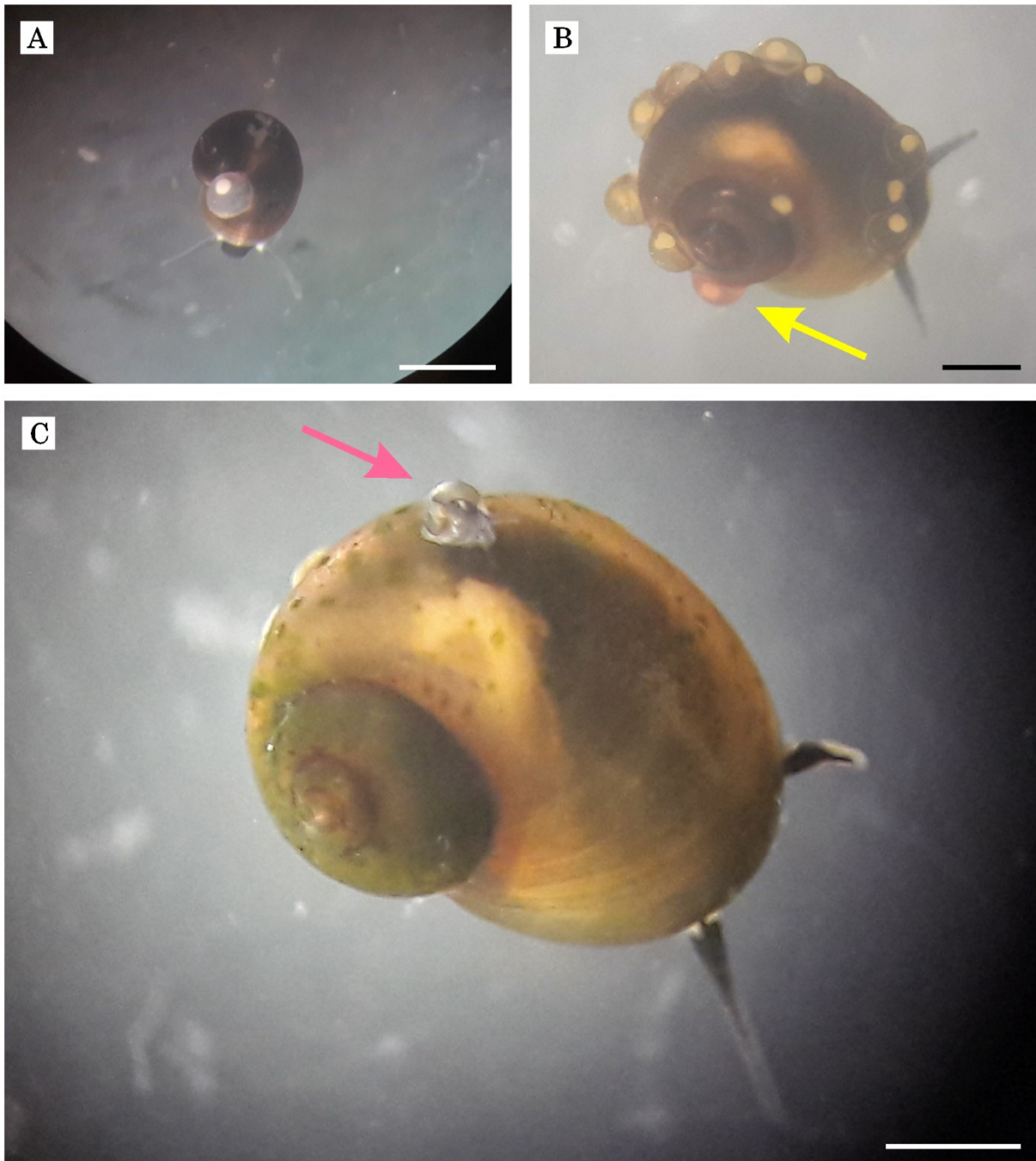


Figura 2.5. Estadios de los huevos de *Potamolithus* sp. **A:** Huevo recién puesto (color blanco) sobre un ejemplar juvenil, **B:** Huevos puestos sobre un ejemplar adulto hembra, **C:** Ejemplar juvenil de reciente eclosión sobre un ejemplar adulto hembra. Flechas: amarilla: señala un huevo color rosa, puesto hace ~ 20 minutos; rosa: señala el juvenil. Imágenes tomadas en el microscopio óptico con ejemplares vivos. Escala: 1 mm.

Para el análisis de crecimiento individual, utilizando el método de Walford, se obtuvo un valor de L_{∞} para las hembras de 3,97 mm (Fig. 2.6) y para los machos de 2,68 mm (Fig. 2.7). Al nacer, las hembras poseen una longitud de 0,51 mm y los machos de 0,47 mm.

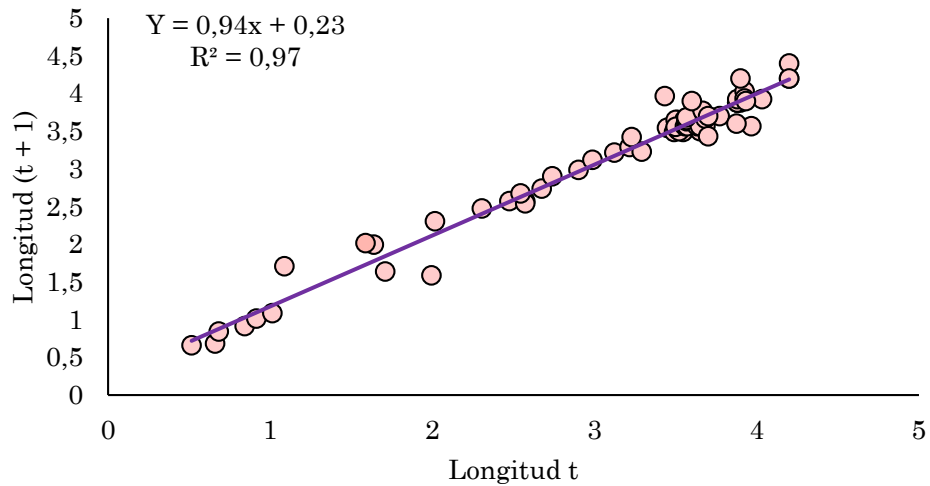


Figura 2.6. Método gráfico de Walford para obtener el valor de L_{∞} para hembras de *Potamolithus* sp. Relación lineal de la longitud en el tiempo $t+1$ en función de la longitud en el tiempo t , siendo $L_{\infty} = 0,23 / (1 - 0,94)$.

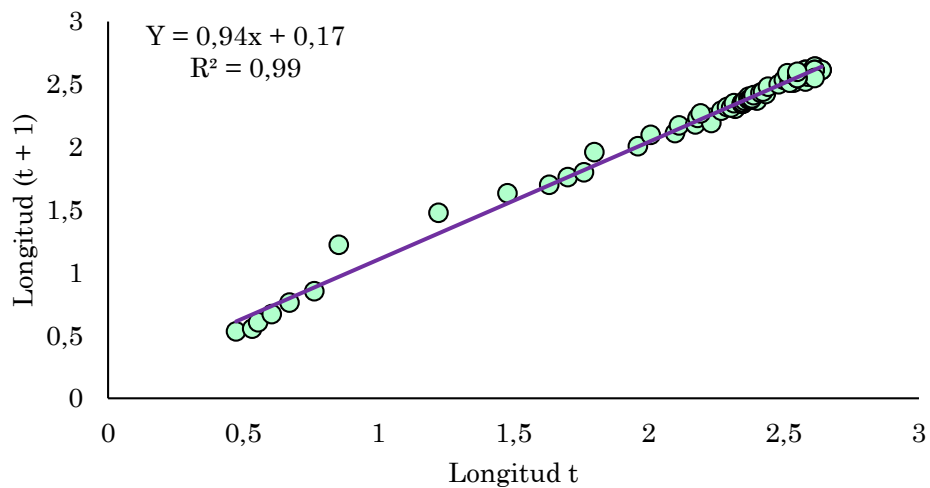


Figura 2.7. Método gráfico de Walford para obtener el valor de L_{∞} para machos de *Potamolithus* sp. Relación lineal de la longitud en el tiempo $t+1$ en función de la longitud en el tiempo t , siendo $L_{\infty} = 0,17 / (1 - 0,94)$.

Aproximadamente en la semana 22, las hembras con longitudes de ~3,23 mm y los machos con longitudes de ~ 2,23 mm, entran en edad reproductiva (el peristoma se completa y los órganos sexuales han madurado) y la curva de crecimiento se aproxima a la asíntota (Fig. 2.8). El crecimiento de *Potamolithus* sp. responde al modelo logístico de Robertson. La constante de crecimiento (k) para las hembras fue de 0,155 y para los machos de 0,135. Las ecuaciones de crecimiento, dadas por el modelo logístico, para cada sexo son:

$$\text{Hembra} \quad L_t = \frac{0,51 \text{ mm} * 3,97 \text{ mm}}{3,97 \text{ mm} + (3,97 \text{ mm} - 0,51 \text{ mm}) e^{-0,155 * t}}$$

$$\text{Macho} \quad L_t = \frac{0,47 \text{ mm} * 2,68 \text{ mm}}{2,68 \text{ mm} + (2,68 \text{ mm} - 0,47 \text{ mm}) e^{-0,135 * t}}$$

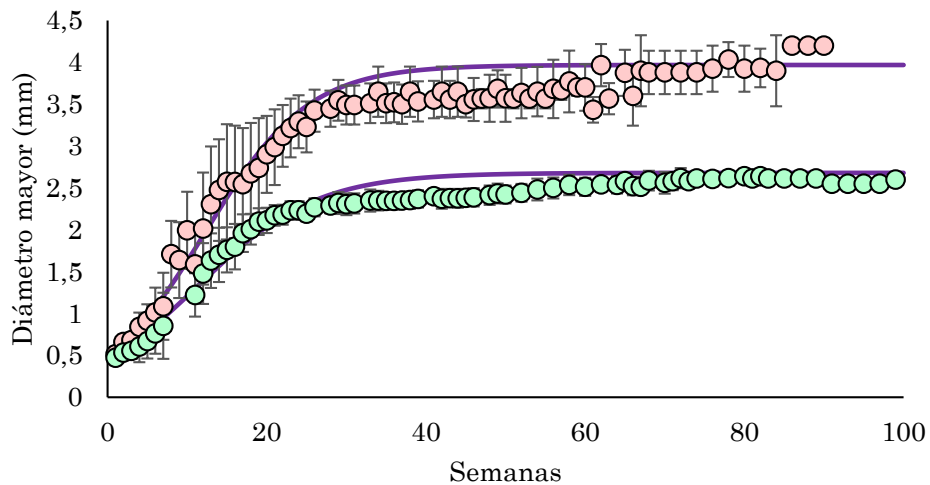


Figura 2.8. Curvas de crecimiento teórico (líneas violetas) de *Potamolithus* sp. (hembras círculos rosa, machos: círculos verdes). Círculo y barra: media (\pm) desvío estándar.

A través del análisis de regresión lineal simple entre la longitud observada y la longitud estimada, se verificó el ajuste para cada sexo: hembras mostró una pendiente de 1,12 y un R^2 de 0,96 (Fig. 2.9); machos mostró una pendiente de 1,12 y un R^2 de 0,92 (Fig. 2.10); lo cual indica un ajuste adecuado.

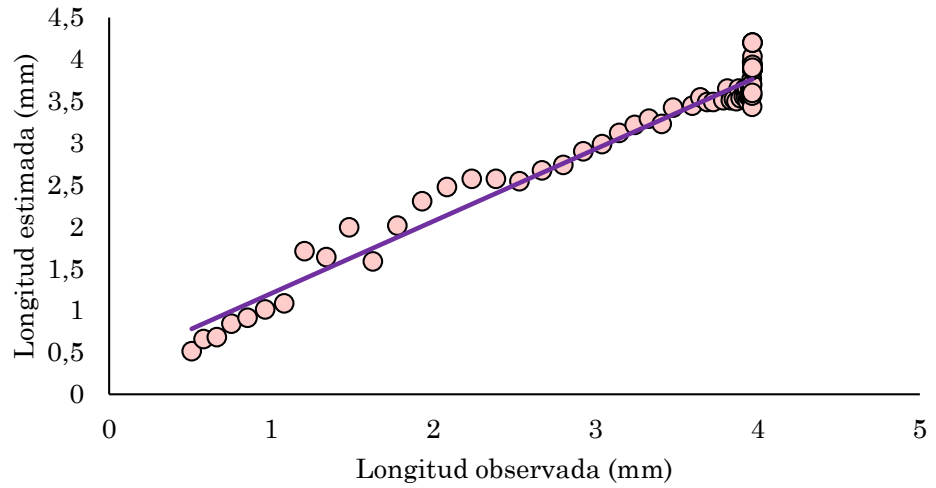


Figura 2.9. Regresión lineal simple entre la longitud observada versus estimada (esperada) de *Potamolithus* sp. hembras.

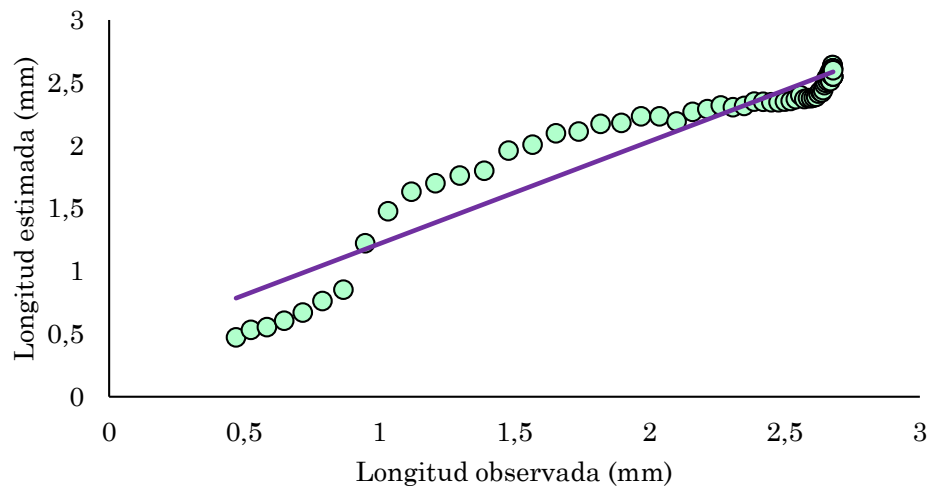


Figura 2.10. Regresión lineal simple entre la longitud observada versus estimada (esperada) de *Potamolithus* sp. machos.

Chilina fluminea

A lo largo de este estudio se contabilizaron y midieron un total de 4.205 individuos de *Chilina fluminea*.

Análisis de densidades

a) Densidad total de individuos de *Chilina fluminea*: La densidad media total de *Chilina fluminea* hallada fue de $161,73 \pm 185,45$ ind./30min, siendo el sitio con la mayor densidad IMG (PuC) ($296,17 \pm 277,59$ ind./30min) y aquel con la menor densidad RNPL ($37 \pm 37,70$ ind./30min) (Tabla 2.6). Sin embargo, el análisis estadístico no reveló diferencias significativas entre los cuatro sitios muestreados ($p = 0,08$). En el análisis de densidad entre las distintas estaciones del año considerando todos los sitios, la mayor densidad se registró en invierno ($266,71 \pm 271,37$ ind./30min) y la menor en verano ($75,33 \pm 61,90$ ind./30min), aunque no se hallaron diferencias significativas ($p = 0,61$). El análisis para evaluar diferencias entre las estaciones del año dentro de cada sitio muestreado por separado, tampoco arrojó diferencias significativas ($p\text{-PuC} = 0,19$; $p\text{-ANC} = 0,88$; $p\text{-BAG} = 0,71$; $p\text{-PuL} = 0,48$).

Tabla 2.6. Media (\pm) desvío estándar de la densidad total (ind./30min) de *Chilina fluminea*, por sitios y estación del año. IMG (PuC): Isla Martín García (subsitio Punta Cañón); ANC: Playa Anchorena; RNLP: Reserva Natural Punta Lara; BAG: Balneario Bagliardi.

<i>Chilina fluminea</i>	
Total	161,73 (\pm 185,45)
IMG (PuC)	296,17 (\pm 277,59)
ANC	63,71 (\pm 40,82)
RNLP	37,00 (\pm 37,70)
BAG	251,43 (\pm 148,33)
Verano	75,33 (\pm 61,90)
Otoño	130,38 (\pm 142,91)
Invierno	266,71 (\pm 271,38)
Primavera	168,60 (\pm 177,28)

b) Distribución de tallas y densidad de juveniles vs. adultos: La talla que presentó mayor densidad fue la del intervalo 9 con $21,19 \pm 42,49$ ind./30min, mientras que las tallas que presentaron menores densidades fueron la talla 1 ($0,18 \pm 0,54$ ind./30min), la talla 17 ($0,18 \pm 0,40$ ind./30min) y la talla 18 ($0,12 \pm 0,34$ ind./30min). En IMG (PuC) se

hallaron puestas (Fig. 2.11) en las cuatro estaciones del año muestreadas (verano= 5; otoño= 10; invierno= 1; primavera= 3) además de ejemplares pertenecientes a las tallas 8 a 14, mientras que las tallas más pequeñas (3 y 4) se observaron en invierno (Fig. 2.12).

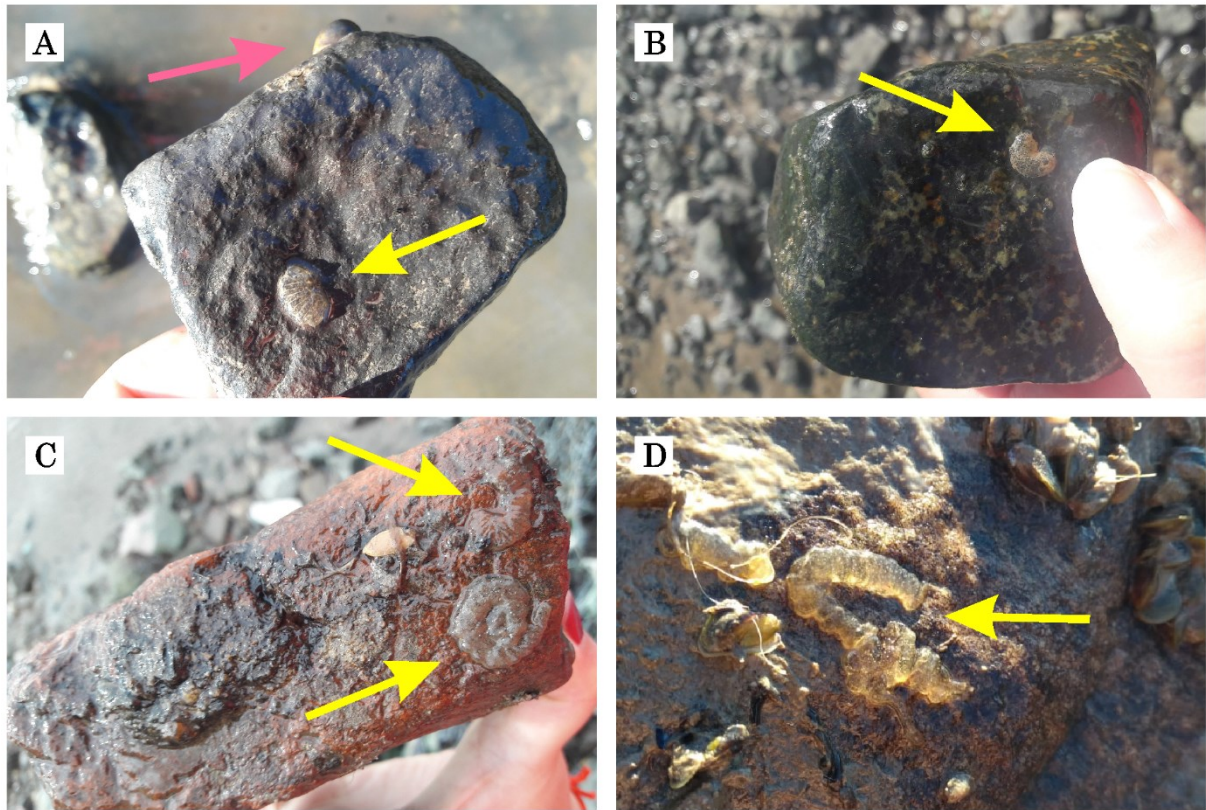


Figura 2.11. Puestas de *Chilina* sp. **A:** Isla Martín García subsitio Punta Cañón, **B:** Isla Martín García subsitio Casa de Bombas, **C:** Playa Anchorena, **D:** Balneario Bagliardi. Flechas: rosa señala un ejemplar de *Chilina fluminea*, amarilla: señalan las puestas.

En ANC se observaron ejemplares de las tallas 11 a 16, en las cuatro estaciones. En invierno se hallaron representantes de todas las tallas, mientras que en primavera y verano no se hallaron ejemplares por debajo de la talla 8 (Fig. 2.13). En este sitio se encontraron puestas en verano (n= 4), otoño (n= 28) e invierno (n= 18).

En RNPL no se hallaron ejemplares durante el muestreo de invierno. El otoño y el verano mostraron la misma distribución de tallas, con representantes de las tallas 9 a 17, mientras que en primavera se hallaron las tallas más pequeñas (talla 5) (Fig. 2.14). No se hallaron puestas en ninguna estación del año.

En BAG se hallaron ejemplares de las tallas 7 a 16 en las cuatro estaciones, mientras que en invierno y primavera se hallaron los ejemplares más pequeños (tallas 2 y 3) (Fig. 2.15). Se encontraron puestas en verano (n= 5), otoño (n= 27) e invierno (n= 49).

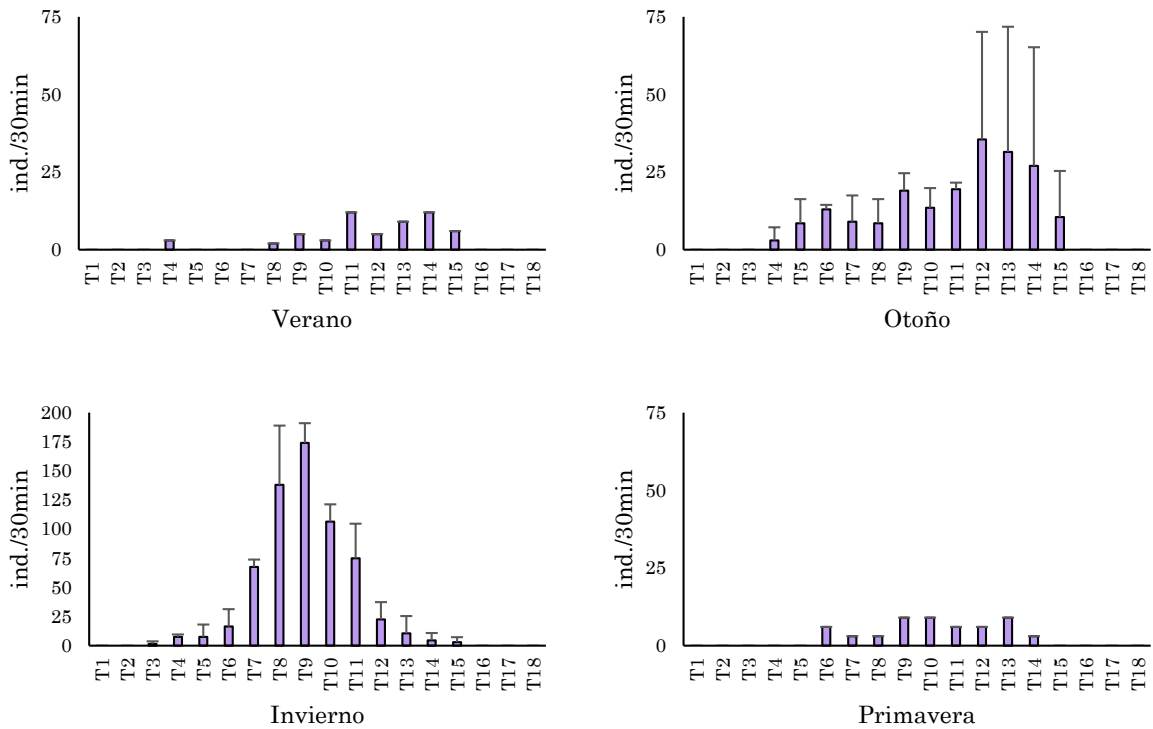


Figura 2.12. Distribución de tallas de *Chilina fluminea* en Isla Martín García (Punta Cañón). Columna: densidad media (ind./30min), barra: desvío estándar (el número de datos no fue suficiente en verano y primavera para estimar el desvío estándar).

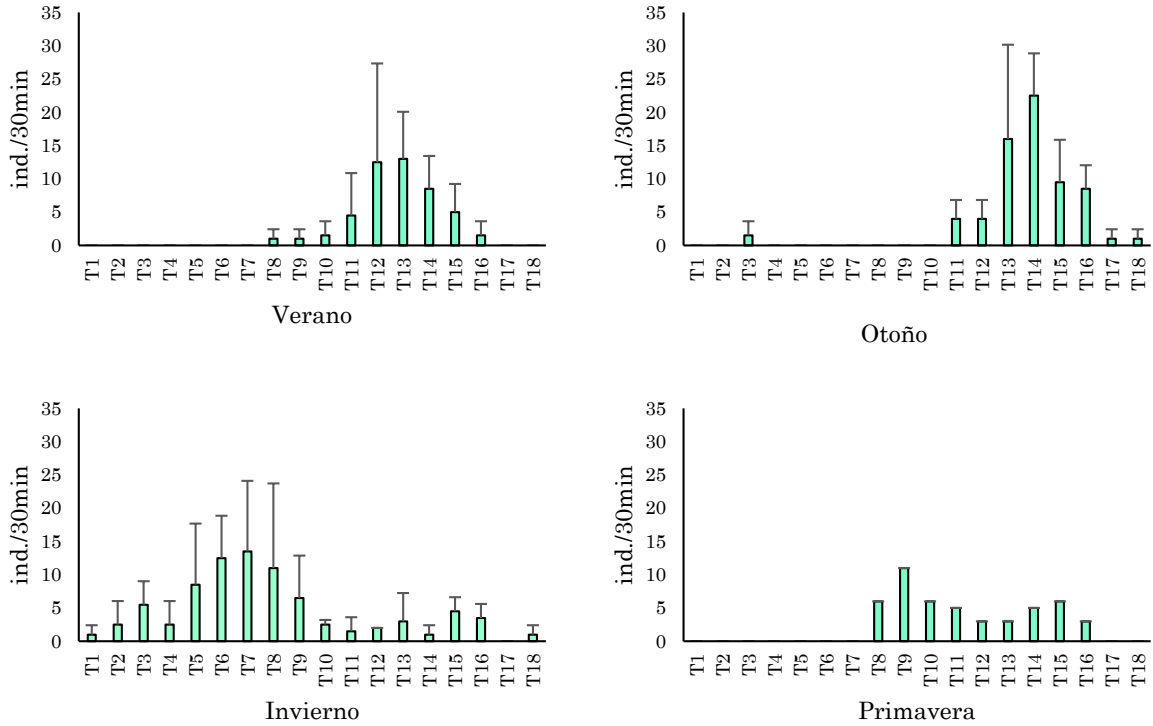


Figura 2.13. Distribución de tallas de *Chilina fluminea* en Playa Anchorena. Columna: densidad media (ind./30min), barra: desvío estándar (el número de datos no fue suficiente en primavera para estimar el desvío estándar).

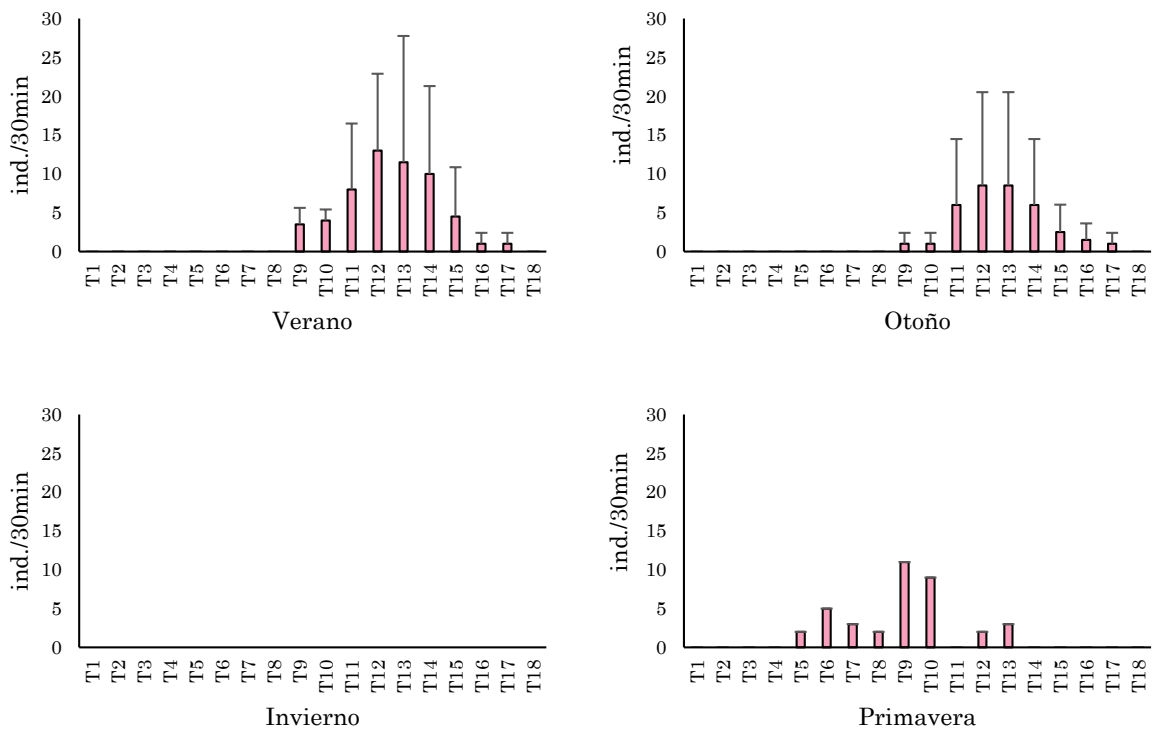


Figura 2.14. Distribución de tallas de *Chilina fluminea* en la Reserva Natural Punta Lara. Columna: densidad media (ind./30min), barra: desvío estándar (el número de datos no fue suficiente en primavera para estimar el desvío estándar).

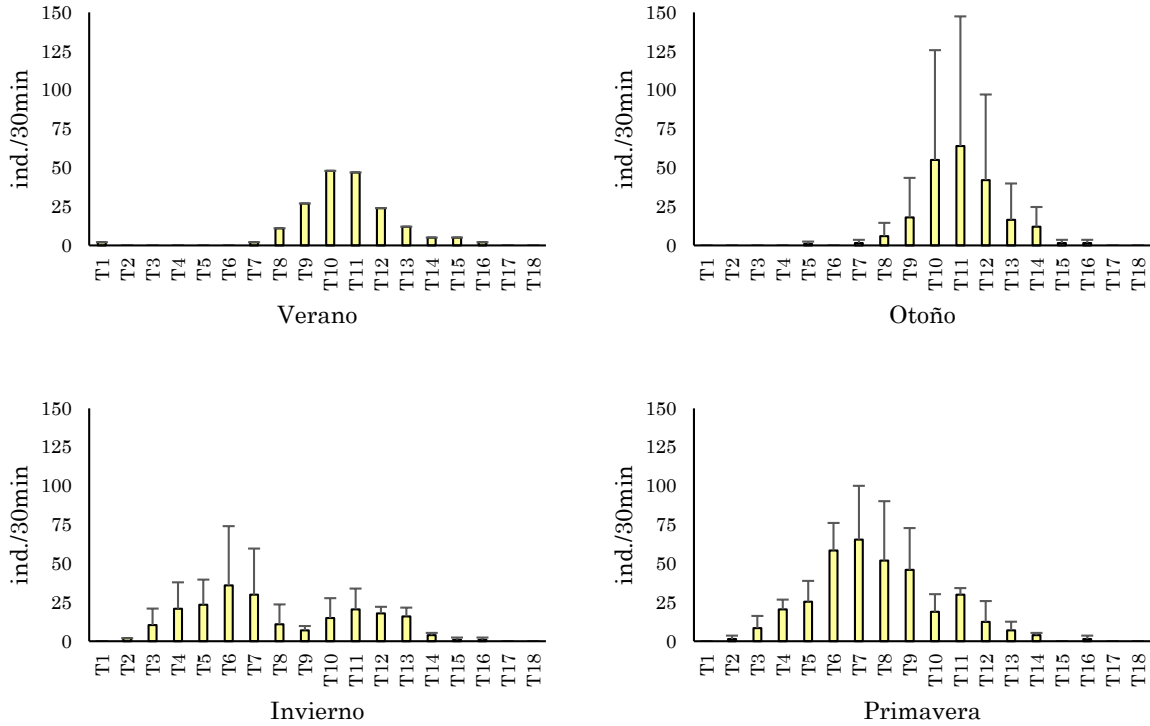


Figura 2.15. Distribución de tallas de *Chilina fluminea* en el Balneario Bagliardi. Columna: densidad media (ind./30min), barra: desvío estándar (el número de datos no fue suficiente en verano para estimar el desvío estándar).

La densidad media total de juveniles y de adultos, considerando todos los sitios muestreados, fue de $83,76 \pm 133,19$ ind./30min y $84,44 \pm 88,82$ ind./30min, respectivamente. Cuando se comparó la densidad total de juveniles y de adultos en cada sitio por separado, no se hallaron diferencias significativas ($p_{\text{PUC}} = 0,81$; $p_{\text{ANC}} = 0,08$; $p_{\text{BAG}} = 0,79$; $p_{\text{PuL}} = 0,14$) (Tabla 2.7). En los cuatro sitios se observó que en las estaciones de verano y otoño la proporción de adultos es mayor que la de juveniles, los cuales son predominantes en invierno (Fig. 2.16).

Tabla 2.7. Media (\pm) desvío estándar de la densidad total (ind./30min) de juveniles y adultos de *Chilina fluminea*, por sitios y estación del año. IMG (PuC): Isla Martín García (subsitio Punta Cañón); ANC: Playa Anchorena; RNLP: Reserva Natural Punta Lara; BAG: Balneario Bagliardi.

	IMG (PuC)		ANC		RNLP		BAG	
	Juvenil	Adulto	Juvenil	Adulto	Juvenil	Adulto	Juvenil	Adulto
Total	163,00 (\pm 199,22)	133,16 (\pm 99,23)	21,57 (\pm 37,42)	42,14 (\pm 30,72)	6,40 (\pm 9,45)	38,00 (\pm 39,08)	133,28 (\pm 133,38)	118,14 (\pm 117,50)
Verano	10,00 (\pm 0,00)	47,00 (\pm 0,00)	2,00 (\pm 2,83)	46,50 (\pm 41,72)	3,50 (\pm 2,12)	53,00 (\pm 53,74)	42,00 (\pm 0,00)	143,00 (\pm 0,00)
Otoño	61,00 (\pm 35,35)	137,50 (\pm 123,74)	1,50 (\pm 2,12)	66,50 (\pm 36,06)	1,00 (\pm 1,41)	35,00 (\pm 46,67)	26,50 (\pm 34,35)	192,50 (\pm 249,61)
Invierno	412,50 (\pm 91,21)	222,00 (\pm 25,45)	63,50 (\pm 57,27)	19,00 (\pm 14,14)	0,00 (\pm 0,00)	0,00 (\pm 0,00)	141,00 (\pm 127,28)	75,50 (\pm 34,65)
Primavera	21,00 (\pm 0,00)	33,00 (\pm 0,00)	17,00 (\pm 0,00)	31,00 (\pm 0,00)	23,00 (\pm 0,00)	14,00 (\pm 0,00)	278,00 (\pm 127,28)	74,00 (\pm 11,31)

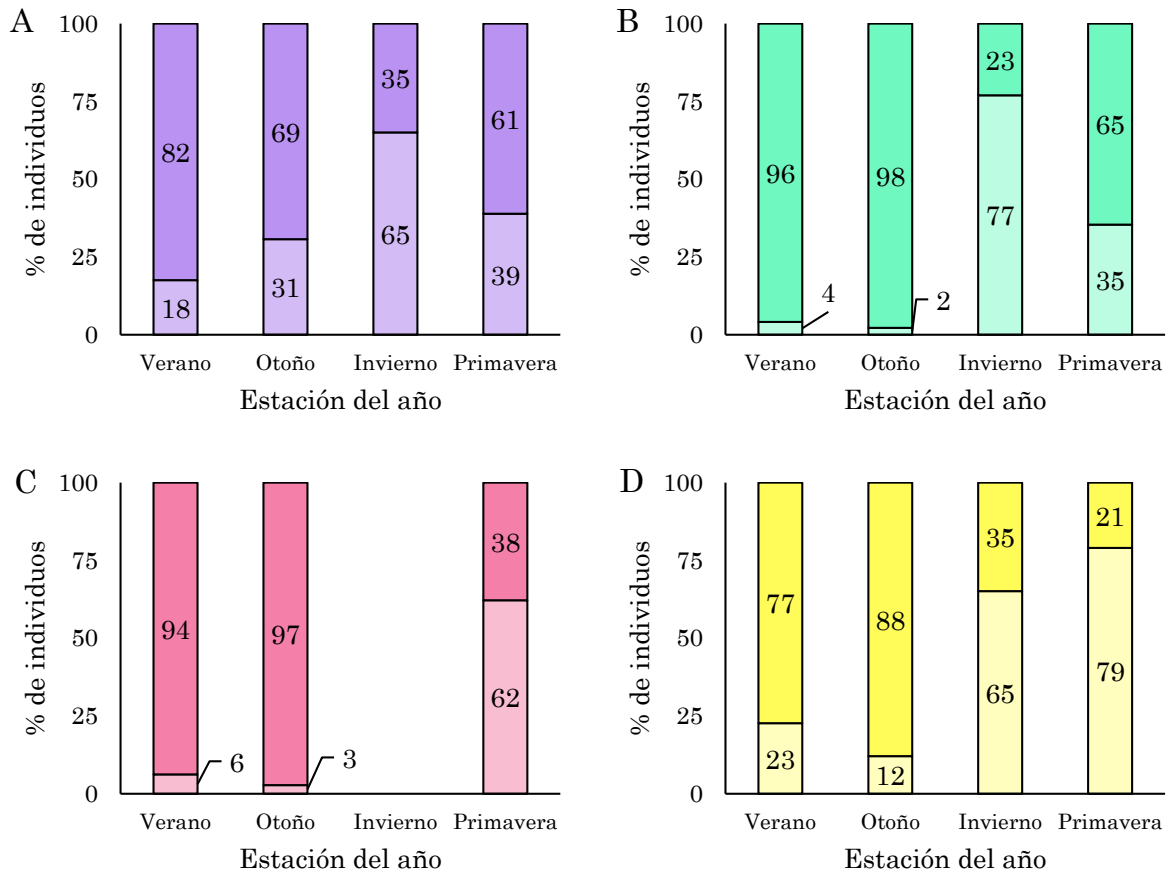


Figura 2.16. Porcentaje de *Chilina fluminea* juveniles versus adultos. Columna: parte inferior corresponde a juveniles, parte superior a adultos. **A:** Isla Martín García (subsitio Punta Cañón), **B:** Playa Anchorena, **C:** Reserva Natural Punta Lara, **D:** Balneario Bagliardi.

Análisis de crecimiento en campo

En el sitio Playa Anchorena, *Chilina fluminea* presentó una longitud estimada del último anfracto de 15,15 mm, una constante de crecimiento (k) de 2,32 y un t_0 de 0,36; mientras que en el sitio Balneario Bagliardi presentó una longitud del último anfracto de 13,50 mm, un k de 1,65 y un t_0 de 0,43. Ambos sitios presentaron tiempos de inicio estimados cercanos al otoño (t_0 0,36 - 0,43) (Fig. 2.17).

Las ecuaciones de crecimiento para cada sitio están dadas por:

Playa Anchorena $L_t = 15,15 \text{ mm} (1 - e^{-2,32(t-0,36)})$ (Fig. 2.18)

Balneario Bagliardi $L_t = 13,50 \text{ mm} (1 - e^{-1,65(t-0,43)})$ (Fig. 2.19)

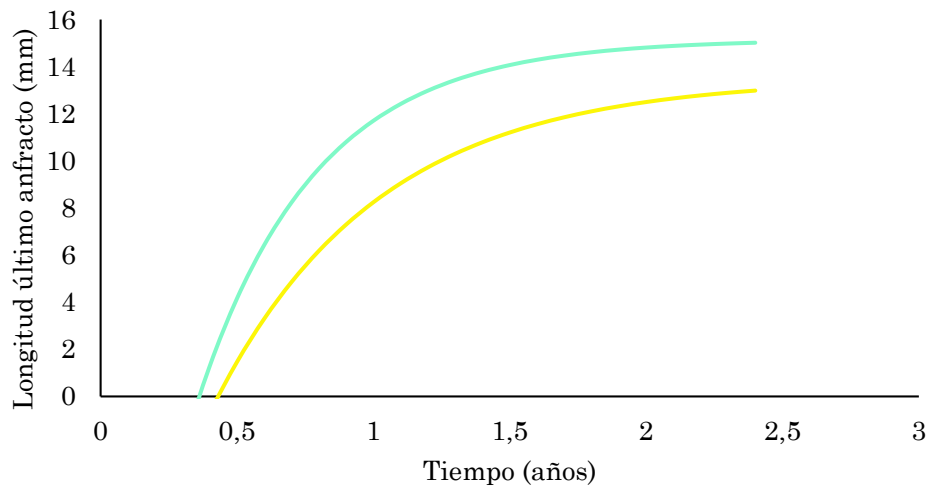


Figura 2.17. Curvas de crecimiento teórico de *Chilina fluminea* para los sitios analizados. Línea verde: Playa Anchorena, línea amarilla: Balneario Bagliardi.

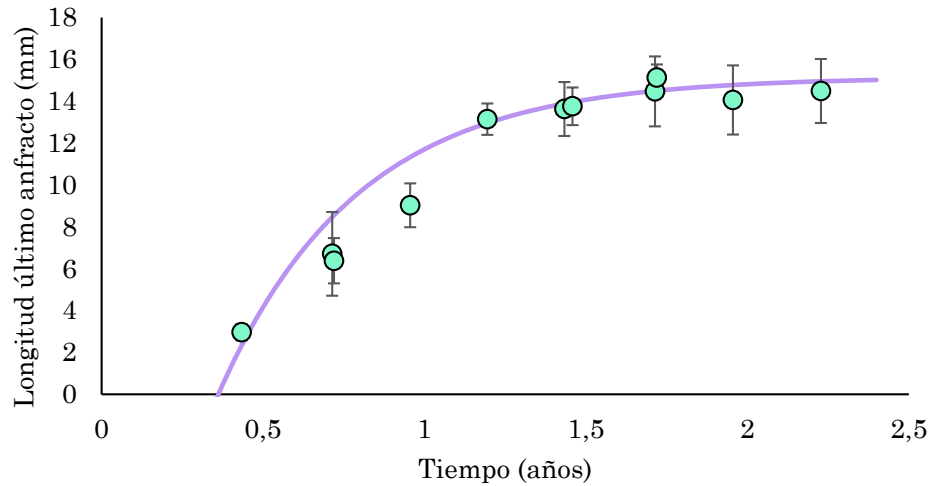


Figura 2.18. Curva de crecimiento teórico (línea violeta) de *Chilina fluminea* en Playa Anchorena. Círculo y barra: media y desvío estándar, obtenidos a partir del ajuste a una curva normal de cada una de las descomposiciones polimodales.

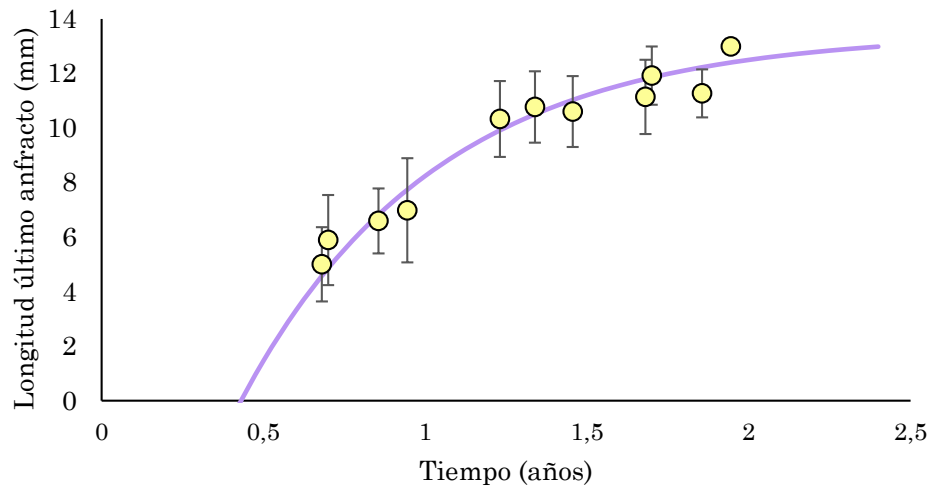


Figura 2.19. Curva de crecimiento teórico (línea violeta) de *Chilina fluminea* en el Balneario Bagliardi. Círculo y barra: media y desvío estándar, obtenidos a partir del ajuste a una curva normal de cada una de las descomposiciones polimodales.

A través del análisis de regresión lineal simple se verificó el ajuste entre lo observado y lo estimado, para cada sitio: Playa Anchorena mostró una pendiente de 1,05 y un R^2 de 0,95 (Fig. 2.20); el Balneario Bagliardi mostró una pendiente de 1,13 y un R^2 de 0,96 (Fig. 2.21), lo cual indica un buen ajuste. Estos resultados muestran, al igual que se observó en los análisis de densidades, que los eventos reproductivos se dan entre otoño e invierno.

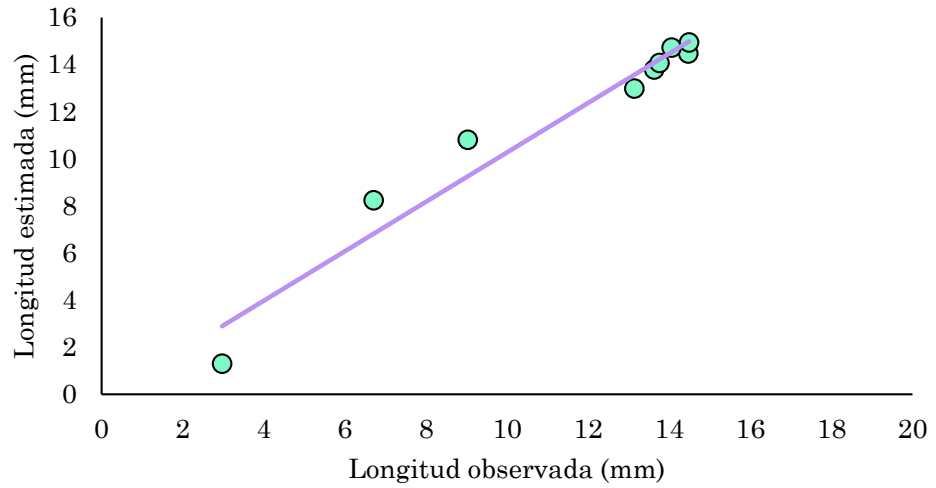


Figura 2.20. Valores de longitud del último anfracto observada versus estimada (esperada) de *Chilina fluminea* en el sitio Playa Anchorena.

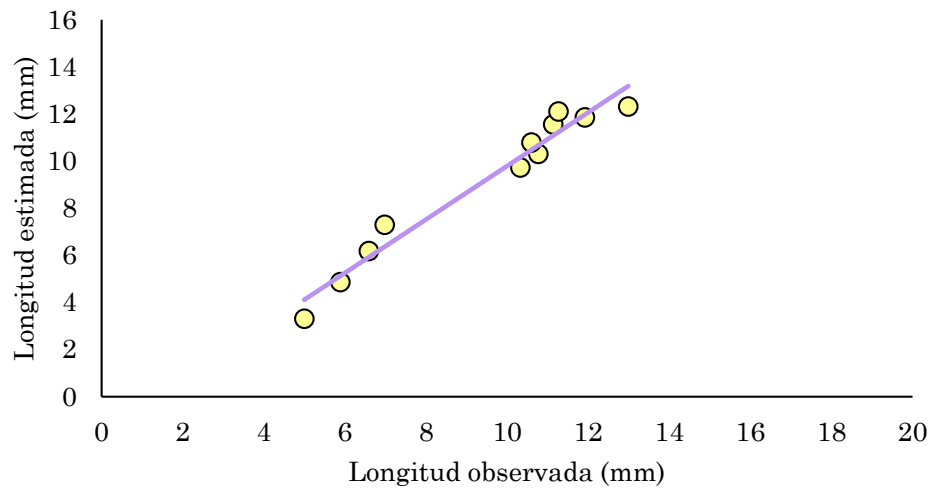


Figura 2.21. Valores de longitud del último anfracto observada versus estimada (esperada) de *Chilina fluminea* en el sitio Balneario Bagliardi.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Este capítulo aporta información valiosa sobre la ecología reproductiva, dinámica poblacional y crecimiento individual del género *Potamolithus* y de *Chilina fluminea*. Además, el aporte al conocimiento de las densidades es el primer paso para desarrollar herramientas eficaces para la conservación y manejo de las poblaciones de las especies en estudio.

Rumi et al. (1996) y César et al. (2012, 2000) citan la presencia de *Potamolithus* en la Isla Martín García. Sin embargo, no existían hasta la fecha estudios sobre densidades del género, ni de las especies allí presentes, así como tampoco trabajos sobre su relación con la estacionalidad o el gradiente de profundidad. Este capítulo demostró que, si bien actualmente pueden encontrarse cuatro especies de *Potamolithus* en las costas bonarenses del Río de la Plata, las densidades de *P. agapetus* y *P. bisinuatus* son bastante más bajas que las densidades de *P. buschii* y de *Potamolithus* sp.

Winterbourn (2016) menciona que *Potamopyrgus estuarinus* puede quedar en el sustrato expuesto al aire atmosférico cuando baja la marea encerrándose en su concha con el opérculo, lo cual no se observó en las especies del género *Potamolithus*. Si bien presentan opérculo y se resguardan dentro de la concha para evitar la desecación, en campo no se observaron ejemplares expuestos al aire atmosférico, sino que el sustrato queda vacío debido a que se esconden debajo de las rocas o en sus oquedades. En relación con esto, el análisis de gradiente de profundidad no evidenció una mayor densidad clara en sitios que se mantienen sumergidos (puntos 4, 5, 6 y 7) durante la bajante normal diaria (excluyendo a las super bajantes), en relación a aquellos que quedan expuestos al aire atmosférico (puntos 1, 2 y 3). Sin embargo, se registró una mayor densidad (significativa estadísticamente) en el punto 5 versus el punto 1, lo que indica que existe una mayor densidad en al menos uno de los puntos siempre sumergidos, respecto de los que quedan expuestos.

Al igual que lo presentado por Bichuette y Trajano (2003) para *Potamolithus* spp. y por Winterbourn (2016) para *Potamopyrgus estuarinus*, los resultados indican que la reproducción podría llevarse a cabo durante todo el año, debido a la presencia de hembras maduras y de huevos. Sin embargo, el pico reproductivo aquí observado para el género *Potamolithus* es en primavera, evidenciado por un mayor número de huevos y una mayor proporción de adultos, que se ven reflejados en verano con las mayores densidades de ejemplares de las cuatro especies analizadas, principalmente por el aporte de juveniles. Por

otro lado, contrariamente a lo observado por los dos trabajos antes mencionados, no se observaron diferencias en las densidades de machos y hembras a lo largo del estudio.

A diferencia de lo que mencionan Ponder et al. (2020) y Winterbourn (2016) para los huevos de otros Tateidae, los huevos de *Potamolithus* sp. tienen una coloración amarilla translúcida y no poseen incrustaciones de arena. Sin embargo, la forma y los tamaños son similares, además de que *Potamolithus* sp. presenta un solo embrión por cápsula al igual que ocurre en varios géneros de la familia.

En cuanto al crecimiento individual de *Potamolithus* sp., los resultados coinciden con lo reportado por Plorin & Gilbertson (1984) para *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) criados en laboratorio, es decir, la ecuación logística fue el modelo que mejor se ajustó a los datos. Por lo tanto, de acuerdo con estos resultados, se concluye que el tiempo generacional para *Potamolithus* sp. es de ~ 5 meses y su longevidad es de 95 semanas (1,8 años). Por el contrario, Winterbourn (2016) en su ensayo de crecimiento de *Potamopyrgus estuarinus* en laboratorio, concluye que el tiempo generacional es un poco menor a un año.

Con respecto a la especie *Chilina fluminea*, la mayor densidad se observó en la IMG (PuC), donde ocupan un área mucho mayor que en cualquiera de los otros sitios muestreados. En BAG también se hallaron en gran densidad, pero limitadas a unas pozas de pequeño tamaño, protegidas, que están sobre una contención de la costa y que se llenan de agua durante las crecidas. Sin embargo, estas pozas son propensas a secarse o quedar con poca cantidad de agua en situaciones de varios días muy calurosos o sin crecidas extremas. En los otros dos sitios (RNPL y ANC), se dan las densidades más bajas y esto puede estar relacionado con las pequeñas áreas que habitan. Si bien estas áreas pueden ser más amplia que las pozas en BAG, no están protegidas y quedan expuestas a una mayor interacción con el río, desecación, predación por parte de peces e incluso al tránsito humano. Hay que remarcar que, si bien RNPL es una reserva natural, el sitio donde se halla *Chilina fluminea* tiene una mayor influencia humana (es un murallón costero derrumbado con acceso de pescadores) que la que posee el subsitio Punta Cañón en la IMG (también reserva natural), ya que este subsitio forma parte del área Intangible (un área de la isla en el cual el acceso a las personas está prohibido).

Los análisis estacionales de la densidad de *Chilina fluminea*, ya sea tomando todos los sitios o en cada sitio por separado, no arrojaron diferencias significativas entre las estaciones. A diferencia de los resultados de Gutiérrez Gregoric et al. (2012), donde las mayores densidades se observan en verano, aquí se registraron durante el invierno. Esto se explica debido a que en Gutiérrez Gregoric et al. (2012) el inicio de la cohorte era a fines de

invierno-primavera llevando a mayores densidades de individuos en verano, mientras que en este trabajo el inicio de las cohortes fue en otoño concluyendo en mayores densidades hacia el invierno.

Estudios poblacionales en especies del género *Chilina* demuestran distintos resultados: *C. gibbosa* se reproduce durante el verano (Bosnia et al., 1990), *C. ovalis* lo hace durante la primavera (Quijón et al., 2001), mientras que *C. megastoma* se reproduce durante todo el año debido a la baja variación de la temperatura (Gutiérrez Gregoric et al., 2010). Según los estudios de Gutiérrez Gregoric et al. (2012), donde analizan la densidad, tasa de crecimiento individual y tiempos de reclutamiento de *C. fluminea* en un canal del Balneario La Balandra, esta especie se reproduce durante los meses de invierno. A lo largo de este trabajo de tesis dicho sitio fue muestreado, pero no se pudo reproducir el análisis de Gutiérrez Gregoric et al. (2012) debido a la escasa cantidad de ejemplares colectados ($n=4$) y a la dificultad de acceder al mismo. En este trabajo de tesis se observó que en tres de los cuatro sitios muestreados, si bien se encontraron puestas durante todo el año, la mayor cantidad de puestas se registraron en otoño e invierno; además, las menores tallas fueron halladas sobre todo en invierno, similar a lo planteado por Gutiérrez Gregoric et al. (2012). En RNPL no se hallaron puestas, lo que podría deberse a que los ejemplares de este género están muy restringidos en su distribución, a un área en la desembocadura del arroyo Boca Cerrada, sobre un murallón caído, y quizás las puestas están resguardadas en áreas no accesibles del murallón. Además, durante el muestreo de invierno no se hallaron individuos, aunque esto puede haberse sido resultado de que en esa ocasión el río estaba muy bajo.

Si bien los análisis de densidad de juveniles y de adultos no demostraron diferencias significativas entre los distintos sitios, la proporción de adultos resultó ser mayor en las estaciones de verano y de otoño, mientras que la de juveniles en invierno. Este análisis, junto con lo comentado en el párrafo anterior sobre la presencia de puestas, indica que esta especie podría tener eventos reproductivos a lo largo de todo el año, con un mayor esfuerzo en otoño-invierno.

El crecimiento individual de *Chilina fluminea* solo pudo analizarse en los sitios ANC y BAG. Los ejemplares alcanzan un tamaño un poco mayor en ANC, llegando a medir unos ~ 9 a 15 mm de longitud de última vuelta, mientras que en BAG alcanzaron tamaños menores (LUA= ~ 13 mm), similares a los hallado por Gutiérrez Gregoric et al., (2012) para el Balneario La Balandra (LUA= $13,5$ mm). El análisis en ANC indicó que se reproducen entre abril y mayo, mientras que en BAG lo hacen entre mayo y junio. Los valores de t_0 hallados por Gutiérrez Gregoric (2008) para el canal en el Balneario La Balandra indican

que se reproducen entre julio y agosto. Si bien, Gutiérrez Gregoric (2008) y Gutiérrez Gregoric et al. (2012) concluyen que *Chilina fluminea* tiene un mayor esfuerzo reproductivo en invierno, aquí se observó (a través de la presencia de puestas, de las proporciones juveniles/adultos y del análisis de crecimiento individual) que el mayor esfuerzo es entre otoño e invierno.

Los análisis de crecimiento individual en las especies estudiadas correspondieron a distintos modelos teóricos (Logístico para *Potamolithus* sp. y von Bertalanffy para *Chilina fluminea*). Esto se debe a que en el estudio llevado a cabo en laboratorio bajo condiciones controladas para el género *Potamolithus* con presencia continua de alimento, ausencia de predadores y medición de ejemplares de manera regular, fue posible determinar con exactitud el inicio de una cohorte (registrándose desde los primeros estadios del crecimiento) donde se observa la principal diferencia en ambos modelos. Por el contrario, en los estudios a campo es más difícil precisar los momentos iniciales de vida de los ejemplares (Plorin, 1984). Sería interesante realizar ensayos de crecimiento de *Chilina fluminea* en laboratorio, para evidenciar si bajo parámetros controlados ajusta a uno u otro modelo. Por otro lado, la realización de estudios a campo con el fin de determinar el crecimiento individual de *Potamolithus* no son posibles debido a su pequeño tamaño y a la difícil identificación específica de ejemplares juveniles; incluso en algunos casos es difícil la identificación de las especies en ejemplares adultos a nivel de concha.

Los datos poblacionales y ecológicos generados en este capítulo son importantes para los inicios de una evaluación del estado de amenaza bajo los criterios de la UICN. Se pudo determinar para ambos géneros nativos, los períodos de reclutamiento, su longevidad, distribución y densidad por estación climática. Esta información es utilizada en el capítulo 5 para establecer el grado de amenaza de ambos géneros a lo largo de la costa del Río de la Plata.

CAPÍTULO 3

Limnoperna fortunei
¿una amenaza para los géneros
Potamolithus y *Chilina*?



CAPÍTULO 3

***LIMNOPERNA FORTUNEI* ¿UNA AMENAZA PARA LOS GÉNEROS *POTAMOLITHUS* Y *CHILINA*?**

INTRODUCCIÓN

Las invasiones biológicas representan un importante problema ecológico y económico en el mundo globalizado (Alonso & Castro-Díez, 2012). Dentro de los moluscos, varias especies se han comportado como especies invasoras provocando daños ecológicos, sanitarios y económicos. Entre las especies de agua dulce se pueden mencionar a: *Pomacea canaliculata* (Lamarck, 1822) (Gastropoda, Ampullariidae) de origen Neotropical y que ha invadido muchos países Asiáticos (Carlsson & Brönmark, 2006); *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771) (Bivalvia, Dreissenidae), de origen asiático y que ha invadido los grandes lagos norteamericanos (Ward & Ricciardi, 2007); *Potamopygus antipodarum* (Gastropoda, Tateidae) oroginario de Oceanía y que ha invadido todos los continentes (Darrigran et al., 2020). En Sudamérica, y sobre todo en la Argentina, un molusco invasor muy importante es el mejillón dorado *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), el cual proviene del Sudeste de Asia y fue detectado por primera vez en el Balneario Bagliardi en el año 1991 (Pastorino et al., 1993). Presenta un modo de vida epifaunal bisado con un alto poder reproductivo y capacidad de adaptación (Darrigran & Pastorino, 1993, 2004). Desde su primer registro en América, este bivalvo se ha dispersado significativamente hacia el norte del continente, hacia un clima más tropical, alcanzando incluso cuencas inconexas (Cuenca del Guaiba y Cuenca de San Francisco -Brasil-, Córdoba y Tucumán -Argentina-; Darrigran et al., 2020). Cuando se detectó por primera vez en el Río de la Plata, la densidad de *L. fortunei* era de 4-5 ind./m² (Darrigran y Pastorino, 1993; Darrigran, 2000); para el año 1995, en el mismo sitio, alcanzó su punto máximo con ~ 150.000 ind./m², para luego estabilizarse en ~ 40.000 ind./m² (Darrigran et al., 2003).

A pesar de que los daños causados por esta especie a las instalaciones humanas por macrofouling (ensuciamiento o taponamiento de tuberías, sistemas de refrigeración y filtros de centrales hidroeléctricas, industrias y plantas potabilizadoras) han sido ampliamente registrados (Darrigran & Damborenea, 2005, 2011; Darrigran et al., 2007; Xu et al., 2015), los impactos sobre otros moluscos en ambientes naturales han mostrado resultados contradictorios. La presencia de *L. fortunei* sobre bivalvos nativos y no nativos (*Anodontites*

spp., *Diplodon* spp., *Corbicula* spp., *Leila* sp.) y gasterópodos (*Pomacea canaliculata*), impiden el cierre de sus conchas u opérculos, así como el entierro, dejándolos expuestos a la depredación (Darrigran & Ecurra de Drago, 2000; Mansur et al., 2003). Darrigran et al. (1998) realizaron el primer análisis de macroinvertebrados asociados a *L. fortunei*, en el que señalan un desplazamiento de gasterópodos nativos (Ancyliinae y Chilinidae) y la generación de un microambiente apropiado para la presencia de otros invertebrados nativos como anélidos, crustáceos, larvas de insectos y nematodos. Adicionalmente, Sylvester & Sardiña (2015), realizaron una síntesis de la relación entre la presencia del mejillón dorado y el bentos, indicando beneficios (mayor abundancia de meiofauna) y daños (disminución de especies de gasterópodos y efectos negativos sobre crustáceos). Asimismo, Sylvester et al. (2007), en un estudio con jaulas de PVC y Darrigran et al. (1998) en campo, han observado que la presencia de *L. fortunei* tuvo un efecto positivo sobre la abundancia del gasterópodo *Heleobia piscium* (d'Orbigny, 1835), mostrando un incremento del 80%. Ferraz et al. (2021) indican para algunos lagos en el sur de Brasil que la presencia de *L. fortunei* ha sido positiva para especies no nativas, aunque negativa para especies nativas. Debido a la falta de consenso, es necesario continuar con los estudios para dilucidar los efectos de *Limnoperna fortunei* sobre la malacofauna nativa. Es por esto por lo que el objetivo de este capítulo fue analizar si existe evidencia de que el bivalvo no nativo invasor *Limnoperna fortunei* incide negativamente sobre la presencia y densidad de los géneros *Potamolithus* y *Chilina* en las costas bonaerenses del Río de la Plata. Además de evaluar la malacofauna asociada a *Limnoperna fortunei* con énfasis en los géneros mencionados anteriormente.

MATERIALES Y MÉTODOS

i- Sitios de muestreo, colecta, relajación del material y análisis de los ejemplares

Los sitios y años de muestreo son los mismos que se mencionaron en el capítulo 1. Los subsitios de IMG, Casa de Bombas y Punta Cañón, se consideraron como un solo sitio debido a que los sitios muestreados son similares y las técnicas utilizadas son las mismas. Los muestreos en este capítulo están orientados a *Limnoperna fortunei*, debido a que para los géneros *Potamolithus* y *Chilina* se tomaran los datos analizados en el capítulo 2. Las muestras se tomaron sobre un sustrato duro natural (basalto y sustrato heterogéneo llamado “caliche”), o sustrato duro artificial (hormigón, ladrillos, murallón costero) con un cuadrado de 10x10 cm, con la ayuda de una espátula (Tabla 3.1; Fig. 3.1).

La relajación y conservación del material se realizó de la misma manera que lo explicado en el capítulo 1. Los ejemplares se separaron con ayuda de pinzas algodonerías y se contabilizaron.

Tabla 3.1. Sitios (localidades) y tipos de sustratos muestreados. IMG: Isla Martín García; ANC: Playa Anchorena; RNPL: Reserva Natural Punta Lara; BAG: Balneario Bagliardi; BAL: Balneario La Balandra; RNPED: Reserva Natural Privada “El Destino”; PP: Playa Punta Piedras.

Sitio	Tipo de sustrato
IMG (La Plata)	Natural (rocas basálticas)
ANC (San Isidro)	Natural (caliche)
RNPL (Berazategui - Ensenada)	Artificial (murallón)
BAG (Berisso)	Artificial (murallón)
BAL (Berisso)	Artificial (murallón)
RNPED (Magdalena)	Natural (arena - limo)
PP (Punta Indio)	Natural (caliche)

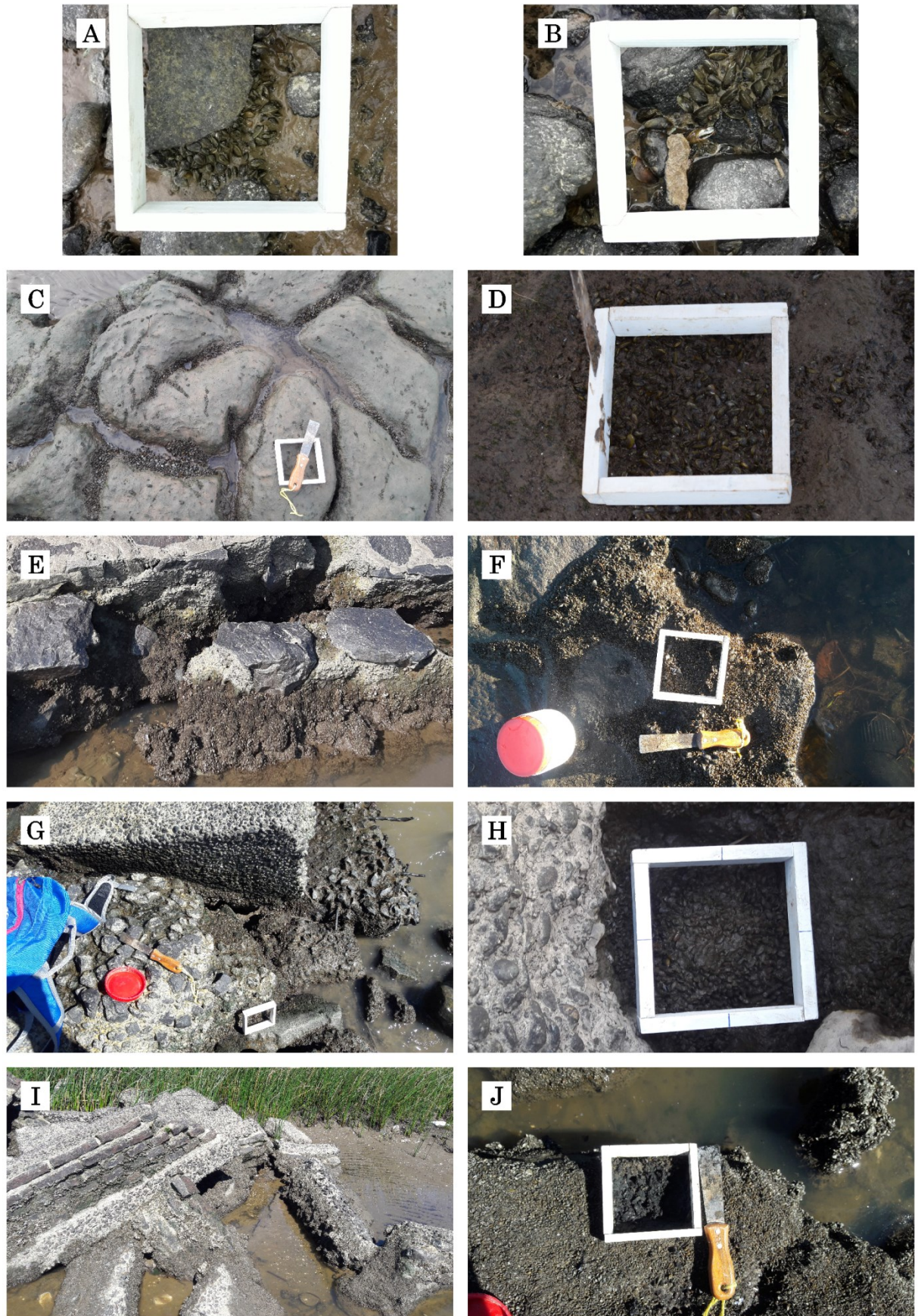


Figura 3.1. *Limnoperna fortunei*. A-B: Isla Martín García, C-D: Playa Anchorena, E-F: Reserva Natural Punta Lara, G-H: Balneario Bagliardi, I-J: Balneario La Balandra.

ii- Análisis de datos

Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el mismo software y paquetes que en el capítulo 2, además se utilizó el paquete agricolae (de Mendiburu, 2020). Al igual que lo mencionado en el capítulo 2, se evaluó la normalidad y la homogeneidad de varianzas y se utilizaron pruebas paramétricas (t de Student y ANOVA), o no paramétricas (Mann Wihtney y Kruskal Wallis), según el caso. Si los análisis presentaron diferencias significativas ($p < 0,05$) se realizó un ensayo de potencia (Cálculos de potencia para pruebas t de medias; Potencia para la prueba de Kruskal-Wallis) y una prueba de comparación múltiple dependiendo de los niveles del factor de interés (test suma de rangos de Wilcoxon por pares). Además, utilizando la misma nomenclatura que en el capítulo 2, en cada análisis se utiliza VR para nombrar a la variable respuesta y FF para nombrar al factor fijo (o variable predictora).

Se llevaron a cabo análisis estadísticos para evaluar la densidad de *Limnoperna fortunei* entre los sitios muestreados, con el fin de determinar su estado actual, y se evaluó si existían diferencias entre las densidades de moluscos acompañantes; la densidad se calculó por metro² (D= número de ind./m²).

a) Densidad total de individuos de *L. fortunei*: Se evaluó si existían diferencias en la densidad total de *L. fortunei* entre los distintos sitios muestreados. VR: Densidad total de *L. fortunei*. FF: Sitio con 5 niveles: IMG, ANC, RNPL, BAG, BAL.

b) Moluscos acompañantes: Son aquellos que se encontraron vivos dentro del cuadrado de 10x10 cm, sobre o entre los ejemplares de *Limnoperna fortunei*. Se evaluó si existían diferencias entre los distintos sitios en las densidades de *H. piscium* y de *Corbicula fluminea*. Los ejemplares de los géneros *Anisancylus*, *Chilina* y *Potamolithus* no se tuvieron en cuenta en el análisis porque solo se hallaron en un sitio.

RESULTADOS

Limnoperna fortunei fue encontrado en todos los sitios muestreados excepto en la Reserva Natural Privada “El Destino” (RNPED), donde el único sustrato disponible para su fijación eran árboles, pero estaban libres de bivalvos. Si bien se confirmó la presencia de *L. fortunei* en la Playa Punta Piedras (PP), este sitio no se tuvo en cuenta en los análisis debido a que la presencia de los individuos fue muy baja como para realizar muestreos con los cuadrados de 10x10 cm (n = 1 en 2018, n = 26 en 2019).

La densidad total registrada fue de 40.174,70 ± 34.004,54 ind./m² (Tabla 3.2). Las mayores densidades se hallaron en el Balneario La Balandra (BAL), mientras que las menores en la Isla Martín García (IMG). En cuanto al análisis de densidades totales de *L. fortunei* entre los sitios se hallaron diferencias significativas (p < 0,0001; potencia = 1); excepto entre la Reserva Natural Punta Lara (RNPL) y el Balneario La Balandra (BAL) (p = 0,42) (Tabla 3.2).

Tabla 3.2. Media (±) desvío estándar de la densidad (ind./m²) total de *Limnoperna fortunei*. Las mismas letras (a, b, c, d) indican pertenencia a un grupo según la prueba de comparación múltiple (Prueba suma de rangos de Wilcoxon por pares; p < 0,05). IMG: Isla Martín García; ANC: Playa Anchorena; RNPL: Reserva Natural Punta Lara; BAG: Balneario Bagliardi; BAL: Balneario La Balandra.

	<i>L. fortunei</i>
Total	40174,70 (± 34004,54)
IMG	12186,67 (± 9378,76) ^a
ANC	19414,29 (± 7816,03) ^b
RNPL	60483,33 (± 24658,28) ^c
BAG	36200,00 (± 19139,86) ^d
BAL	79450,00 (± 45439,22) ^c

Durante el estudio, se hallaron como moluscos acompañantes de *L. fortunei* a: *Potamolithus buschii*, *Chilina fluminea* y *Anisancylus obliquus* (Broderip & Sowerby, 1832) en la IMG, mientras que en los demás sitios se hallaron ejemplares de *H. piscium* y *Corbicula fluminea*. Debido a que *P. buschii*, *Chilina fluminea* y *A. obliquus* (todos en bajas densidades) solo se hallaron en un sitio no fueron incluidos en los análisis estadísticos. Se observó en campo que los individuos pertenecientes al género *Potamolithus* no oviponen sobre *L. fortunei* (pero sí sobre todos los demás moluscos que habitan en el mismo ambiente); además se observó que quedan atrapados en el biso, lo que conlleva a la muerte de los ejemplares. Los análisis estadísticos muestran que no existen diferencias significativas en la densidad de *Corbicula fluminea* en los distintos sitios muestreados. En cuanto a *H. piscium*, se hallaron diferencias significativas ($p < 0,0001$; potencia = 1) entre los distintos sitios (Tabla 3.3), siendo BAL el sitio con mayor densidad y ANC el de menor densidad.

Tabla 3.3. Media (\pm) desvío estándar de la densidad (ind./m²) de los moluscos acompañantes en los distintos sitios muestreados. Las mismas letras (a, b, c) indican pertenencia a un grupo según la prueba de comparación múltiple (Prueba suma de rangos de Wilcoxon por pares $p < 0,05$). IMG: Isla Martín García; ANC: Playa Anchorena; RNPL: Reserva Natural Punta Lara; BAG: Balneario Bagliardi; BAL: Balneario La Balandra.

	<i>Heleobia piscium</i>	<i>Corbicula fluminea</i>	<i>Potamolithus buschii</i>	<i>Anisancylus obliquus</i>	<i>Chilina fluminea</i>
IMG	0,00	0,00	213,33 (\pm 450,19)	26,67 (\pm 103,28)	26,67 (\pm 103,28)
ANC	76,19 (\pm 326,96) ^a	47,62 (\pm 60,16) ^a	0,00	0,00	0,00
RNPL	827,77 (\pm 1809,71) ^{b, c}	16,67 (\pm 38,35) ^a	0,00	0,00	0,00
BAG	100,00 (\pm 223,61) ^{a, b}	13,33 (\pm 51,64) ^a	0,00	0,00	0,00
BAL	4785,71 (\pm 12074,88) ^c	57,14 (\pm 139,86) ^a	0,00	0,00	0,00

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Este capítulo brinda información sobre la ausencia o presencia restringida de los géneros *Potamolithus* y *Chilina* en áreas habitadas por *Limnoperna fortunei*. A su vez se aporta información sobre el estado actual de este bivalvo, demostrando que la densidad media total (incluyendo todos los sitios muestreados) después de 30 años de invasión en las costas bonaerenses del Río de la Plata, es de ~40.000 ind./m². Si bien este valor de estabilización es el mismo que el hallado por Darrigran et al. (2003) después de 10 años de su introducción, se observaron patrones diferentes según su ubicación en el Río de la Plata, teniendo las densidades más bajas en los sitios internos (IMG y ANC) y las densidades más altas en los sitios intermedios (RNPL, BAG y BAL). Esta diferencia de densidades puede estar sujeta a la disponibilidad de sustratos duros sobre los que se asienta *L. fortunei*, la contaminación y la depredación por parte de los peces.

Según Darrigran & Damborenea (2006) el impacto que ocasionan las especies introducidas es mayor en los ambientes disturbados que en los prístinos. Esto puede observarse en los distintos sitios muestreados, donde el impacto de *L. fortunei* es mayor en sitios muy modificados como ANC, RNPL, BAG y BAL, mientras que es menor en sitios menos modificados como IMG y PP.

El sitio IMG tiene un abundante sustrato duro natural de rocas basálticas, donde *L. fortunei* se asienta en los márgenes laterales y aquí su densidad es la más baja, en comparación con el resto de los sitios muestreados. Esto puede deberse a que este sitio recibe mayor influencia del río Uruguay, donde la dispersión de dicho bivalvo ha sido más lenta que por el río Paraná (Darrigran & Pastorino, 2004; Boltovskoy et al., 2006; Oliveira et al., 2015) y las densidades del mismo son menores (Darrigran et al., 2012). Recientemente, Silva et al. (2020) realizaron pruebas de campo con jaulas metálicas y sus resultados sugieren que, ante la depredación por peces, *L. fortunei* se distribuye en márgenes o cavidades de rocas y sustratos duros, coincidiendo con la distribución observada en IMG. En este mismo trabajo Silva et al. (2020) destacan que la presencia de peces depredadores reduce las densidades de *L. fortunei*, provocando un aumento en las densidades de especies nativas de macroinvertebrados bentónicos. Esto mismo se observó en la IMG, donde las densidades de *L. fortunei* fueron bajas, mientras que las densidades del género *Chilina* fueron más abundantes (capítulo 2) y, además fue el único sitio donde se registró al género *Potamolithus* para la provincia de Buenos Aires.

En el sitio ANC hasta los años 1987-1988, previo a la invasión de *Limnoperna fortunei*, se registraba la presencia de los géneros *Potamolithus* y *Chilina* (López Armengol

& Darrigran, 1998), habitando el sustrato duro natural (caliche). En este sitio, el sustrato disponible para *L. fortunei* se limita a los sectores laterales y hendiduras de las pozas y de rocas artificiales, como lo mencionan Silva et al. (2020), lo que podría coincidir con la depredación de peces. Actualmente, en este sitio no se encuentra presente el género *Potamolithus*, mientras que el género *Chilina* posee una de sus densidades más bajas y se encuentra restringido al área de rocas artificiales sobre los gaviones. En todos los muestreos realizados en ANC solo se evidenciaron tres ejemplares del género *Chilina* desplazándose por el caliche, cercanos a los sitios ocupados por *L. fortunei*, pero nunca sobre sus ejemplares.

Los sitios intermedios (RNPL, BAG y BAL) presentan el mismo tipo de sustrato (sustrato duro artificial -murallón-), que se restringe al litoral en forma de parches aislados. Este tipo de sustrato es el más favorable para el asentamiento de *L. fortunei* y en el que fue registrado por primera vez en la Argentina (Pastorino et al., 1993). El sitio RNPL fue el que presentó la segunda densidad más alta de *L. fortunei*, cubriendo amplias superficies a lo largo del murallón caído (tanto en sustratos naturales como artificiales). Contrario a esto, el género *Chilina* presentó las densidades más bajas en este sitio, quedando restringido a una pequeña área cerca de la desembocadura del arroyo Boca Cerrada.

Si bien el sitio intermedio BAG presenta el mismo sustrato que los otros dos sitios intermedios, en éste la densidad del mejillón dorado registrada fue menor. Esto podría deberse a que este sitio presenta mayor contaminación (mayores recuentos de bacterias indicadoras de contaminación fecal) debido a los desagües cloacales que se descargan 900 metros al norte por el Río de la Plata (Pazos et al., 2020). Según Bonel et al. (2013), la contaminación afecta el crecimiento y el peso de *L. fortunei*. Con respecto al género *Potamolithus*, Spaccesi (2015) cita un solo ejemplar no identificado en este sitio (cuya discusión se retomará en el capítulo 4), y no fue hallado durante los muestreos de esta tesis. Si bien ejemplares del género *Chilina* fueron encontrados en este sitio en altas densidades, se encuentran restringidos al área de pozas. En el área donde se muestreó *L. fortunei*, solo se hallaron dos ejemplares de *Chilina fluminea*, lo que indica que la especie habita el área pero en densidades muy bajas. El sitio que presentó las mayores densidades de *L. fortunei* fue BAL, donde no se registraron representantes de los géneros *Potamolithus* y *Chilina*.

La presencia de *L. fortunei* crea un microambiente homogéneo (Darrigran & Damborenea, 2005) favorable para el desarrollo de los invertebrados en general y que unifica su fauna acompañante. Los resultados de la observación de los moluscos acompañantes concuerdan con lo propuesto por Darrigran et al. (1998) y Sylvester et al.

(2007), a mayor densidad de *L. fortunei*, mayor densidad de *H. piscium* (BAL), mientras que a menor densidad de *L. fortunei*, mayor riqueza de especies de moluscos (IMG).

En el sitio BAG, Darrigran et al. (1998) reportaron cuatro especies de gasterópodos sobre *L. fortunei*, indicando que en tres de ellos (*C. fluminea*, *U. concentricus* y *Biomphalaria straminea*) se observaron presencias esporádicas con disminución de densidad a lo largo de los muestreos realizados entre 1992 y 1995, mientras que *H. piscium* siempre está presente. Luego de 10 años de la invasión de *L. fortunei*, Spaccesi & Rodrigues Capítulo (2012), encontraron a *H. piscium* y *U. concentricus* como moluscos acompañantes. En este trabajo, para ese mismo sitio, se sigue contando con la presencia de *H. piscium*, pero ya no de *U. concentricus* asociado a *L. fortunei*, mientras que se detectó al bivalvo *Corbicula fluminea* (bivalvo no nativo citado para la Argentina en el año 1979; Ituarte, 1981). Además de encontrar menos especies de moluscos sobre *L. fortunei*, se observó que su densidad ha disminuido, lo que puede deberse a la contaminación mencionada, al desplazamiento de las otras tres especies de gasterópodos o a una combinación de ambas (contaminación y presencia de *L. fortunei*).

La presencia del mejillón dorado, por el solo hecho de favorecer la presencia de un mayor número de especies de macroinvertebrados bentónicos y el desplazamiento de solo unas pocas especies de moluscos asociados al bentos, no lo convierte a esta especie en un ingeniero del ecosistema beneficioso para la biodiversidad del ambiente invadido. Por el contrario, genera una homogeneización del entorno donde invade (e.g cuencas del Plata, Guaiba, San Francisco) (Darrigran & Damborenea, 2011). Pudiendo resultar en la eliminación de diferencias regionales en especies epifaunales (Darrigran, 2002), es decir que causa no solo una pérdida de especies sino también de ambientes heterogéneos previos a la invasión, que tenían especies con diferentes roles en el sistema.

Por lo expuesto anteriormente, se concluye que este bivalvo es una de las principales amenazas para la presencia de los géneros *Potamolithus* y *Chilina*, sumado a la modificación del hábitat.

CAPÍTULO 4

**Malacofauna en la costa bonaerense
del Río de la Plata,
identificación y distribución**



CAPÍTULO 4.

MALACOFAUNA EN LA COSTA BONAERENSE DEL RÍO DE LA PLATA, IDENTIFICACIÓN Y DISTRIBUCIÓN

INTRODUCCIÓN

La Cuenca del Plata, con sus 3,1 millones de km², es una de las más extensas del mundo ocupando una quinta parte de Sudamérica (ATD, 2016). La misma abarca territorio de cinco países (Argentina, Bolivia, Brasil, Paraguay y Uruguay) y se divide en siete subcuencas: Alto Paraguay, Bajo Paraguay, Alto Paraná, Bajo Paraná, Alto Uruguay, Bajo Uruguay y Río de la Plata (ATD, 2016). En la Argentina los sistemas hidrográficos más importante son la Cuenca del Plata y el Sistema Patagónico (Núñez et al., 2010). La subcuenca Río de la Plata forma parte de la provincia malacológica Paraná Inferior - Río de la Plata y es la segunda con el valor más alto en diversidad de gasterópodos de agua dulce y, la más densamente poblada del país (Núñez et al., 2010).

La costa bonaerense del Río de la Plata cuenta con doce áreas protegidas ([Anexo 4.1](#)), que promueven distintos objetivos de conservación. Los enfoques de protección abarcan desde proteger el patrimonio histórico, la conservación de especies y/o difusión y educación, proteger y conservar paisajes y procesos ecosistémicos, hasta sitios que incluyen no solo los objetivos conservacionistas, sino que también permiten diversos tipos de producción y explotación sustentable de los recursos naturales (Guerrero, 2019). En este sentido, algunas son Reservas Naturales, Parques Naturales, Reservas Ecológicas, Paisajes Protegidos y Sitios Ramsar y pueden ser de gestión municipal, provincial, nacional o privadas. Muchas de estas áreas son Reservas Naturales Urbanas, creadas y manejadas generalmente por municipios, para conservar un espacio de naturaleza con sus especies asociadas (Fundación Vida Silvestre, 2014). Se encuentran cercanas o dentro de las ciudades y, debido a esto, resultan significativas para proveer sitios de educación ambiental y esparcimiento, fomentar la relación del hombre de la ciudad con la naturaleza, sumar a la ciudad un valor estético especial; facilitar la participación ciudadana en la gestión del territorio y proteger recursos culturales de valor local dentro de su paisaje natural (APN, 2007). Al formar parte de las ciudades o sus cercanías, si bien son áreas protegidas, sufren en mayor o menor medida de interacción o modificación. Como mencionan Dudgeon et al. (2006), es necesario

llegar a una compensación entre la conservación de la biodiversidad de agua dulce y el uso humano de los bienes y servicios que brindan estos ecosistemas.

En cuanto a los moluscos dulceacuícolas, en la costa bonaerense del Río de la Plata se han citado, sobre la base de registros históricos, 72 especies ([Anexo 4.2](#)) (Carcelles, 1941; Castellanos, 1967; Ituarte, 1981, 2007; López Armengol, 1985; Castellanos & Landoni, 1990; Darrigran, 1991, 1995, 1999, 2015; Pastorino et al., 1993, 2000; Rumi et al., 1996; Darrigran & López Armengol, 1998; Darrigran et al., 1998; López Armengol & Darrigran, 1998; Rodríguez Capítulo, 2003; Cesar et al., 2000, 2012; Darrigran & Lagreca, 2005; Martín & Negrete, 2006; Cortelezzi et al., 2007; Gutiérrez Gregoric, 2008, 2010; Rumi et al., 2008; Núñez, 2011; Ovando et al., 2014; Spaccesi, 2015; Gutiérrez Gregoric & de Lucía, 2016; Díaz et al., 2017; Reshaid et al., 2017). La mayoría de estas especies de moluscos son nativas, mientras que cinco son no nativas: los bivalvos *Corbicula fluminea*, *Corbicula largillierti* (Philippi, 1844) y *Limnoperna fortunei*, y los gasterópodos *Physa acuta* (Draparnaud, 1805) y *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846), esté último registrado en la zona más externa del Río de la Plata. Dentro de estas especies invasoras, *L. fortunei* es la que produce más daños desde el punto de vista económico-ambiental y debido a su amplia distribución.

Además de la llegada de los moluscos no nativos el ambiente de la costa bonaerense del Río de la Plata ha sufrido modificaciones a lo largo del tiempo por la actividad humana, ya sea para evitar inundaciones, ampliar la ciudad o generar espacios recreativos para los ciudadanos. Según Marcomini & López (2004) la ribera de la Ciudad Autónoma de Buenos Aires es el sector de costa que ha sufrido más modificaciones de toda la Argentina (desde 1836) perdiendo totalmente sus características originales. En la provincia de Buenos Aires, un ejemplo de esto es la Playa Anchorena (San Isidro), donde en 1930 el sustrato era caliche, tosca, juncales y césped ribereño, el cual se utilizaba como balneario (Fig. 4.1). Hasta los años 1970 parte de las vías del tren de la Estación Anchorena pasaban cerca de la playa. A partir de estos años comenzaron los cambios, rellenando con escombros y tierra para ganarle terreno al río. En el año 2000 se hacen gaviones (armazones de alambre con piedras-escombros), se protegen los juncales, se retiran escombros para proporcionar 5° de inclinación, y se aporta arena para hacer una playa artificial (Bryant comun. pers.). La última modificación, se llevó a cabo en el 2013-2014, cuando se removieron escombros y caliche, se armaron gaviones nuevamente y se aportó más arena para la playa (Fig. 4.2 y 4.3). Actualmente, desde la Estación Anchorena se han ganado ~90 metros al río. Otro sitio que ha sufrido grandes modificaciones es Atalaya, donde se realizaron obras entre los años 2002 y 2019 (Fig. 4.4).

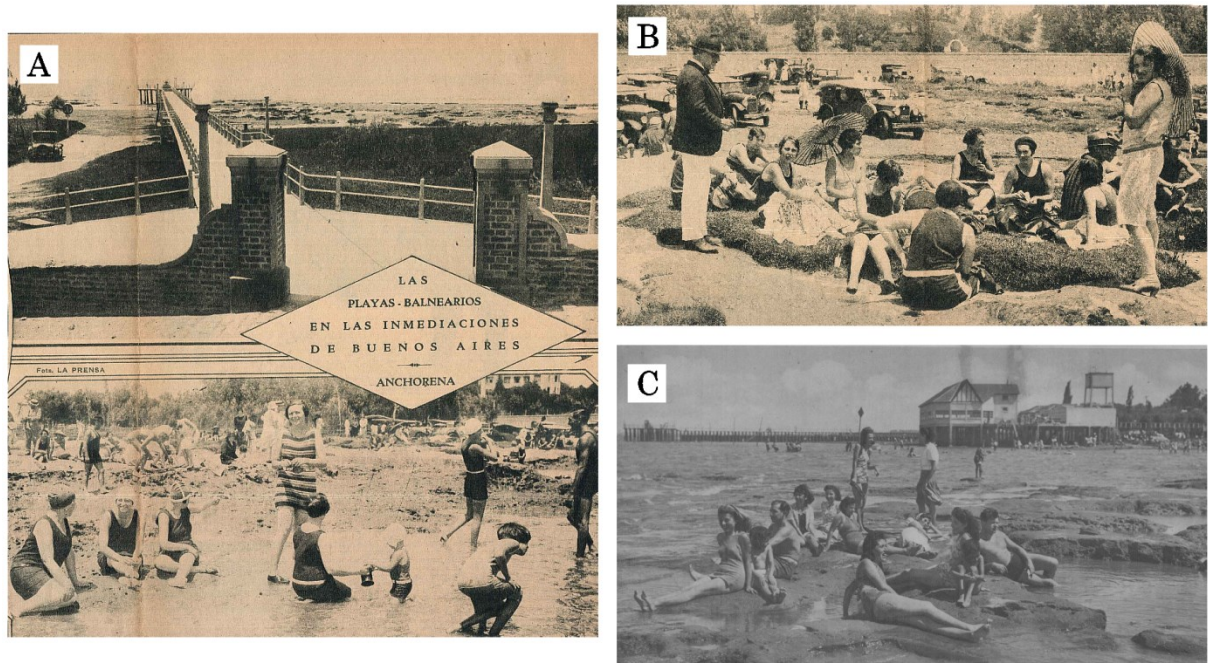


Figura 4.1. Playa Anchorena, imágenes de archivo. **A-B:** Año 1929, **C:** Año 1946. (Imágenes brindadas por el “Museo, Biblioteca y Archivo Histórico Municipal de San Isidro Dr. Horacio Beccar Varela”).



Figura 4.2. Modificaciones en Playa Anchorena. **A:** Vista desde Estación Anchorena, año 1960 (imagen brindada por el “Museo, Biblioteca y Archivo Histórico Municipal de San Isidro Dr. Horacio Beccar Varela”), **B-D:** Modificaciones en el año 2014 (imágenes tomadas de <https://www.youtube.com/watch?v=Fq5PzjFVPwo&t=122s>)



Figura 4.3. Cambios en Playa Anchorena a través de los años. **A:** 2004, **B:** 2005, **C:** 2009, **D:** 2012, **E:** 2014, **F:** 2015, **G:** 2017, **H:** 2019, **I:** 2021. (Imágenes tomadas de Google Earth).

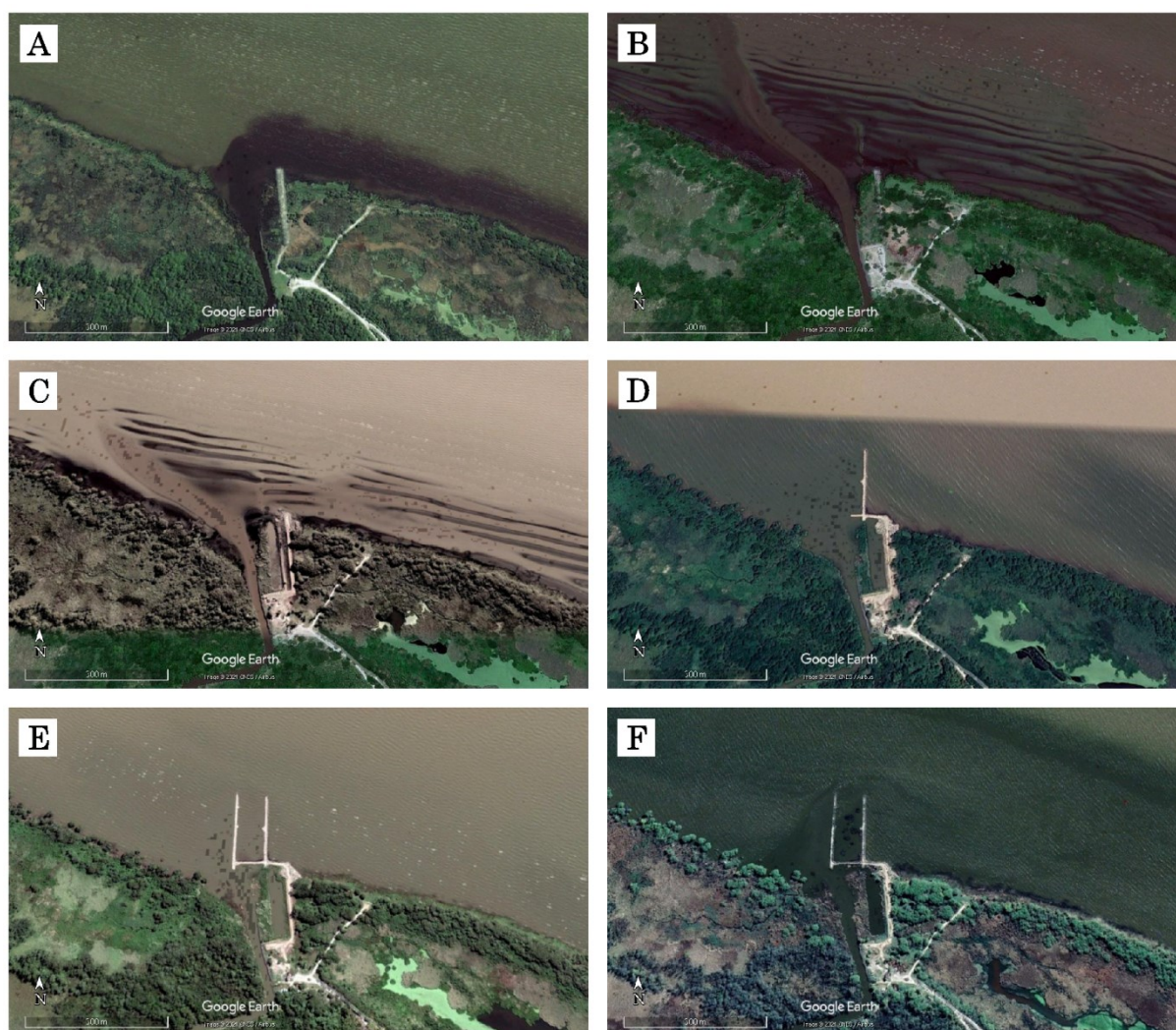


Figura 4.4. Cambios en Atalaya a través de los años. **A:** 2002, **B:** 2010, **C:** 2013, **D:** 2014, **E:** 2015, **F:** 2019. (Imágenes tomadas de Google Earth).

Los primeros registros documentados del género *Potamolithus* en la provincia de Buenos Aires datan de los años 1913-1914 para Olivos, 1918 para San Isidro (1920 específicamente para Playa Anchorena) y 1921 para la Isla Martín García (López Armengol, 1985), mientras que los últimos registros en los sitios continentales de la costa del Río de la Plata, corresponden a 1987-1988 para la Playa Anchorena (4 spp.) y para Atalaya (1 sp.) (López Armengol & Darrigran, 1998) y a los años 2002-2004 para el Balneario Bagliardi con una especie no identificada (Spaccesi, 2015). Por otra parte, el género *Chilina* todavía se encuentra presente en varios sitios muestreados, sin embargo, está restringido a pequeñas áreas dentro de esos sitios.

El objetivo de este capítulo es analizar la distribución y la riqueza específica de la malacofauna dulciacuícola presente en áreas protegidas y no protegidas de la costa bonaerense del Río de la Plata, con especial énfasis en los géneros *Potamolithus* y *Chilina*.

MATERIALES Y MÉTODOS

i. Sitios de muestreo, colecta y relajación del material

Los sitios de muestreo fueron los mismos que en los capítulos anteriores. La colecta y relajación del material se realizó según lo explicado en los capítulos 1 y 2.

ii. Análisis morfológico

La manipulación y análisis de los ejemplares se realizó con los mismos instrumentos explicados en el capítulo 1. La sistemática se consideró de acuerdo con Cuezco et al. (2020) y se tomó como referente el trabajo de César et al. (2000), que realiza una revisión de las especies de moluscos en la costa bonaerense del Río de la Plata.

Los ejemplares se determinaron hasta el nivel de especie, cuando fue posible, comparando las conchas y la anatomía interna, siguiendo bibliografía especializada: Paraense & Deslandes (1958); Gaillard (1974); Castellanos & Fernández (1976); Gaillard & Castellanos (1976); Cazzaniga (1980); Castellanos & Gaillard (1981); Fernández (1981a, 1981b); López Armengol (1985); Castellanos & Landoni (1990); Rumi (1991); López Armengol (1996); Santos (2003); Ituarte (2009); Ovando et al. (2014); Núñez (2011); Cuezco et al. (2020). En aquellos ejemplares para los cuales se tuvieron dudas respecto de su identidad, se les extrajo ADN y se secuenció el gen COI (con el mismo protocolo explicado en el capítulo 1 para los géneros *Potamolithus* y *Chilina*), para luego comparar la secuencia resultante a través de un Blast en la página de GenBank¹.

iii. Análisis de datos

Se calculó la riqueza específica para cada sitio. No se calcularon abundancias porque los muestreos estuvieron orientados a los géneros *Potamolithus* y *Chilina*, registrándose solamente la presencia de los demás géneros. Los moluscos se clasificaron según la frecuencia con la que aparecieron en los muestreos en: Poco Frecuente (PF) si aparecían en $\leq 25\%$ de los muestreos; Frecuente (F) si aparecían entre 26-74% de los muestreos; Muy Frecuente (MF) si aparecían en $\geq 75\%$.

¹ <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>

RESULTADOS

Se determinaron 11 géneros de gasterópodos (Fig. 4.5) y ocho de bivalvos (Fig. 4.6), pertenecientes a 12 familias de moluscos dulceacuícolas; las especies se detallan por sitio en la Tabla 4.1. Los ejemplares de los bivalvos *Erodona mactroides* Bosc, 1801 y de *Anodontites trapesialis* (Lamarck, 1819) nunca se hallaron con vida, solo se registró presencia de valvas. El sitio con mayor riqueza específica fue IMG (17) y el de menor riqueza fue PP (3).

Las especies más frecuentes y registradas en mayor cantidad de sitios fueron: *Chilina fluminea*, *Heleobia piscium* y *Limnoperna fortunei*. En el sitio IMG los ejemplares pertenecientes a los géneros *Chilina*, *Potamolithus*, *Limnoperna* Rochebrune, 1882 y *Anisancylus* Pilsbry, 1924 fueron los más frecuentes, mientras que los ejemplares del género *Pomacea* Perry, 1810 fueron los menos frecuentes. En el sitio ANC los géneros *Chilina*, *Heleobia* Stimpson, 1865, *Uncancylus* Pilsbry, 1914, *Limnoperna* y *Corbicula* Megerle von Mühlfeld, 1811 fueron muy frecuentes. En RNPL los géneros más frecuentes fueron *Heleobia*, *Chilina*, *Pomacea*, *Limnoperna* y *Corbicula*, y el menos frecuente fue *Musculium* Link, 1807. En BAG los géneros *Pomacea* y *Anodontites* Bruguière, 1792 fueron los menos frecuentes, mientras que el resto de los géneros encontrados fueron muy frecuentes. En BAL *Limnoperna*, *Heleobia*, *Chilina*, *Hebetancylus* Pilsbry, 1914 y *Uncancylus* fueron los géneros más frecuentes, mientras que *Asolene* d'Orbigny, 1838 fue el que se encontró en menor frecuencia. En RNPED los géneros más frecuentes fueron *Pomacea*, *Heleobia*, *Drepanotrema* Fischer & Crosse, 1880 y *Physa* Draparnaud, 1801, mientras que en PP los más frecuentes fueron *Heleobia* y *Limnoperna*.

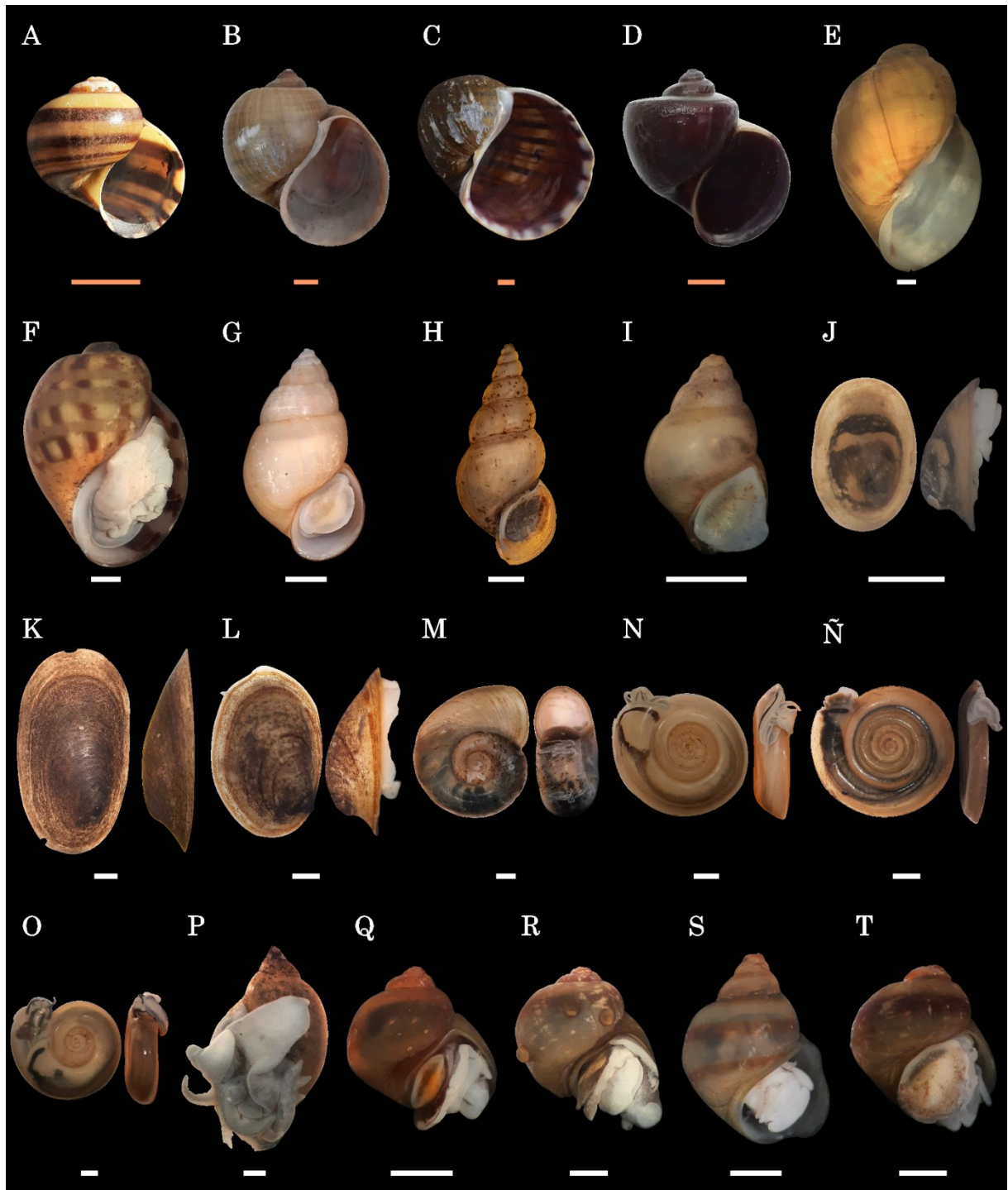


Figura 4.5. Especies de gasterópodos hallados en la costa bonaerense del Río de la Plata. **A:** *Asolene plataea*, **B:** *Pomacea canaliculata*, **C:** *P. megastoma*, **D:** *P. scalaris*, **E:** *Chilina fluminea*, **F:** *C. rushii*, **G:** *Heleobia charruana*, **H:** *H. parchappii*, **I:** *H. piscium*, **J:** *Anisancylus obliquus*, **K:** *Hebetancylus moricandi*, **L:** *Uncancylus concentricus*, **M:** *Biomphalaria* sp., **N:** *Drepanotrema cimex*, **Ñ:** *D. kermatoides*, **O:** *D. lucidum*, **P:** *Physa acuta*, **Q:** *Potamolithus* sp., **R:** *P. agapetus*, **S:** *P. bisinuatus*, **T:** *P. buschii*. Escala: barra naranja (A-D) = 1 cm, barra blanca (E-T) = 1 mm.

Tabla 4.1. Lista de especies, distribución y frecuencia en los sitios muestreados en la costa bonaerense del Río de la Plata. IMG: Isla Martín García (PC: Punta Cañón; CB: Casa de Bombas; BK: Bajada de Kayak); ANC: Playa Anchorena; RNLP: Reserva Natural Punta Lara (P: Poza; R: Río); BAG: Balneario Bagliardi (P: Poza; R: Río); BAL: Balneario La Balandra (C: Canal; R: Río); RNPED: Reserva Natural Privada “El Destino” (A: Arroyito; R: Río); PP: Playa Punta Piedras. PF: Poco frecuente; F: Frecuente; MF: Muy frecuente. S (subsitio): Riqueza específica por subsitio. S (sitio): Riqueza específica total del sitio. *: Especies no nativas. Entre paréntesis abajo de cada sitio o subsitio se detalla la cantidad de muestreos realizados.

	IMG			ANC		RNPL		BAG		BAL		RNPED		PP
	PC	CB	BK	(7)		(6)		(7)		C	R	A	R	(2)
				P	R	P	R	(2)	(7)					(1)
Gastropoda														
Ampullariidae Gray, 1824														
<i>Asolene platae</i> (Maton, 1811)	F	PF	F										PF	
<i>Pomacea canaliculata</i> (Lamarck, 1822)	PF	PF			MF	PF	PF	PF	F	F			MF	
<i>P. megastoma</i> (GB Sowerby I, 1825)		PF												
<i>P. scalaris</i> (d'Orbigny, 1835)	PF		PF											
Chilinidae Gray, 1828														
<i>Chilina fluminea</i> (Maton, 1809)	MF	MF	MF	MF	MF	MF	MF	MF	PF	MF				F
<i>C. rushi</i> Pilsbry, 1896	PF	PF												
Cochliopidae Tryon, 1866														
<i>Heleobia charruana</i> (d'Orbigny, 1841)														MF
<i>H. parchappii</i> (d'Orbigny, 1835)										MF				

Tabla 4.1 (Continuación)

	IMG			ANC	RNPL		BAG		BAL		RNPED		PP
	PC	CB	BK		P	R	P	R	C	R	A	R	
<i>H. piscium</i> (d'Orbigny, 1835)	F	F	PF	MF	MF	MF	MF	MF	MF	MF	MF	MF	
Planorbidae Rafinesque, 1815													
<i>Anisancylus obliquus</i> (Broderip & Sowerby, 1832)	F	MF											
<i>Hebetancylus moricandi</i> (d'Orbigny, 1837)	PF		F		F					MF			
<i>Uncancylus concentricus</i> (d'Orbigny, 1835)	PF		F	MF	F		MF			MF			
<i>Biomphalaria</i> sp.	PF		F		F		MF			F			
<i>Drepanotrema cimex</i> (Moricand, 1838)					F								
<i>D. lucidum</i> (Pfeiffer, 1839)					F								
<i>D. kermatoides</i> (d'Orbigny, 1835)												MF	
Physidae Fitzinger, 1833													
<i>Physa acuta</i> (Draparnaud, 1805)*					F		MF					MF	
Tateidae Thiele, 1925													
<i>Potamolithus</i> sp.	MF	MF											
<i>P. agapetus</i> Pilsbry, 1911	F	MF											

Tabla 4.1 (Continuación)

	IMG			ANC	RNPL		BAG		BAL		RNPED		PP
	PC	CB	BK		P	R	P	R	C	R	A	R	
<i>P. bisinuatus</i> Pilsbry, 1896	F	MF											
<i>P. buschii</i> (Frauenfeld, 1865)	MF	MF											
Bivalvia													
Cyrenidae Gray, 1840													
<i>Corbicula fluminea</i> (Müller, 1774)*	F		F	MF		MF	MF	MF	F	F			F
Corbulidae Lamarck, 1818													
<i>Erodona mactroides</i> Bosc, 1801													F
Hyriidae Swainson, 1840													
<i>Rhipidodonta burroughiana</i> (I. Lea, 1834)						PF			F				
Mycetopodidae Gray, 1840													
<i>Anodontites trapesialis</i> (Lamarck, 1819)						F		PF					
Mytilidae Rafinesque, 1815													
<i>Limnoperna fortunei</i> (Dunker, 1857)*	MF	MF		MF		MF	MF	MF	MF	MF			MF

Tabla 4.1 (Continuación)

	IMG			ANC	RNPL		BAG		BAL		RNPED		PP
	PC	CB	BK		P	R	P	R	C	R	A	R	
Sphaeriidae Deshayes, 1855 (1820)													
<i>Eupera platensis</i> Doello-Jurado, 1921										F			
<i>Musculium argentinum</i> (d'Orbigny, 1835)						PF							
<i>Pisidium</i> sp.										F			
S (subsitio)	16	12	8	5	9	9	8	6	12	5	4	2	3
S (Sitio)		17		5		14		9		13		6	3

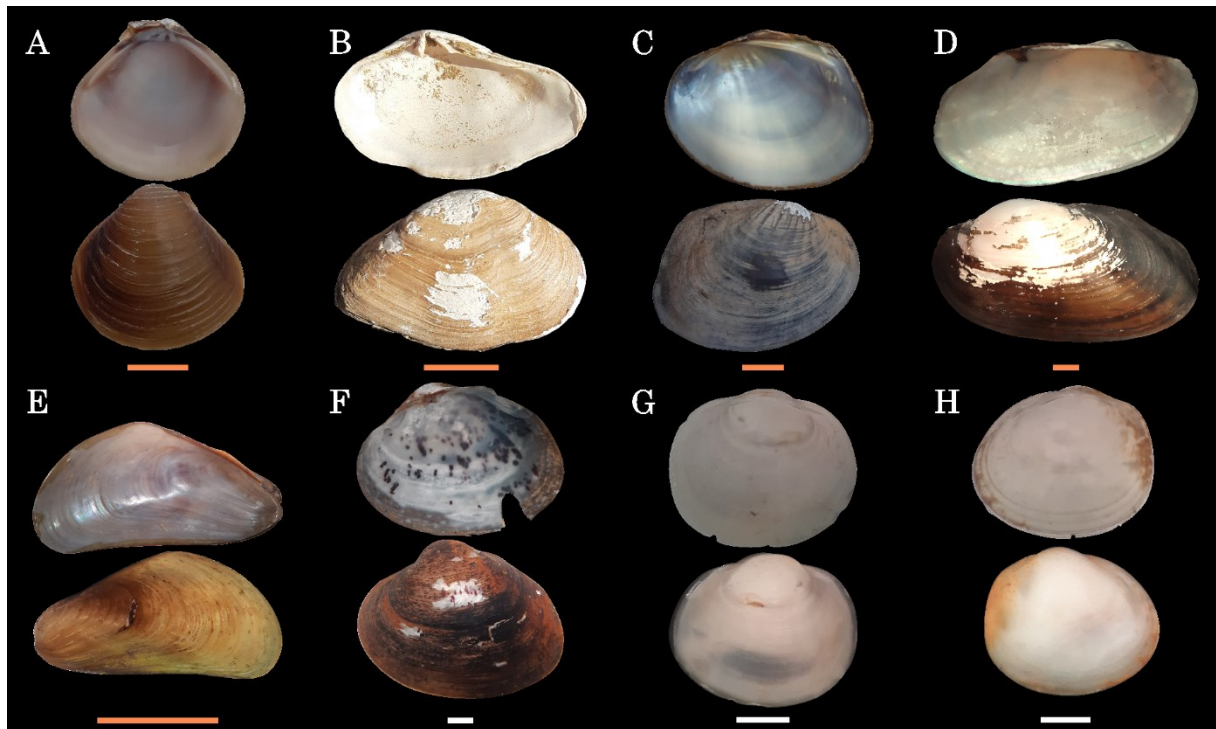


Figura 4.6. Especies de bivalvos hallados en la costa bonaerense del Río de la Plata. **A:** *Corbicula fluminea*, **B:** *Erodona mactroides*, **C:** *Rhipidodonta burroughiana*, **D:** *Anodontites trapesialis*, **E:** *Limnoperna fortunei*, **F:** *Eupera platensis*, **G:** *Musculium argentinum*, **H:** *Pisidium* sp. Escala: barra naranja (A-E) = 1 cm, barra blanca (F-H) = 1 mm. Para cada especie se muestra la misma valva en vista interna (superior) y vista externa (inferior).

Las riquezas específicas para cada sitio muestreado fueron las siguientes: IMG (35); ANC (14); RNPL (22); BAG (13); BAL (20); RNPED (12) y PP (9).

En la IMG, el subsitio Punta Cañón fue el de mayor riqueza específica (16) y, si bien los ejemplares registrados no fueron exclusivos de un sustrato en particular, se observó una mayor proporción de algunas especies en determinados sustratos. Por ejemplo: *Asolene platae* (Maton, 1811) y *Hebetancylus moricandi* (d'Orbigny, 1837) se registraron en el área de juncos, *Pomacea canaliculata* y *Pomacea scalaris* (d'Orbigny, 1835) en el área de playa y, los ejemplares del género *Potamolithus* se hallaron sobre el área de rocas (Fig. 4.7).

En ANC *Uncancylus concentricus* solo se observó en el área de rocas artificiales, mientras que *Chilina fluminea* se encontró en mayor cantidad en este sustrato, el resto de las especies se hallaron tanto en rocas artificiales como en el caliche.

En RNPL se observó una mayor riqueza en las pozas que en el río, en el cual *Chilina fluminea* queda restringida a un área pequeña limitada a la desembocadura del arroyo Boca Cerrada, donde antiguamente estaba el murallón.

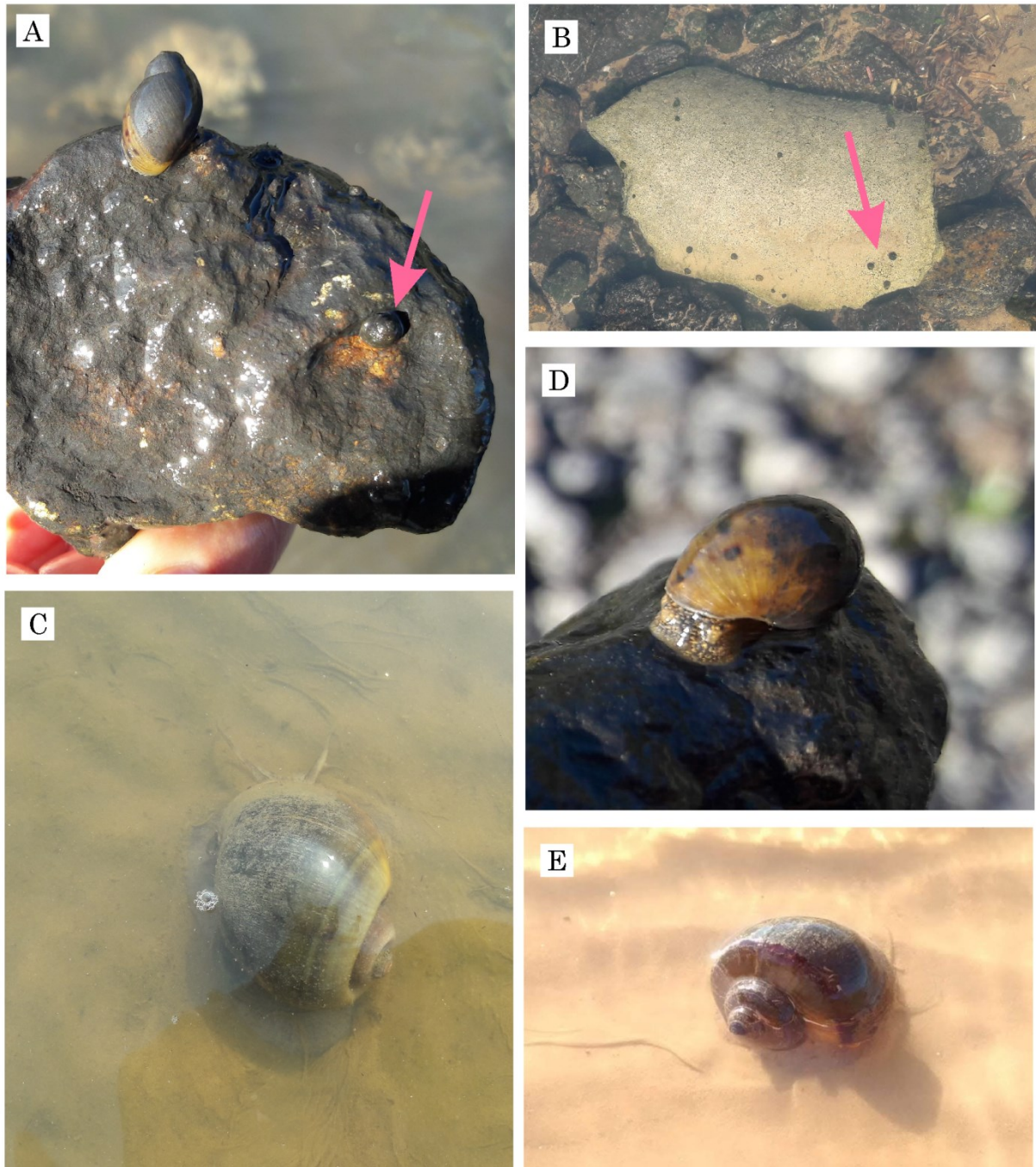


Figura 4.7. Isla Martín García, subsitio Punta Cañón; gasterópodos en su ambiente. **A:** *Chilina fluminea* y *Potamolithus*, **B:** *Potamolithus* spp., **C:** *Pomacea canaliculata*, **D:** *Chilina fluminea*, **E:** *Pomacea scalaris*. La flecha rosa señala los ejemplares del género *Potamolithus*.

En BAG, al igual que en el sitio anterior, se observó una mayor riqueza en las pozas que se llenan con agua del río cuando la marea está alta. Las especies de las familias Planorbidae y Physidae solo se hallaron en estas pozas, mientras que el bivalvo *A. trapesialis* solo se halló en el río. El resto de las especies se encontraron en ambos subsitios,

pero *Chilina fluminea* se presentó en mayor densidad en las pozas, donde se encuentra más protegida y con agua permanente (Fig. 4.8).



Figura 4.8. Pozas de Balneario Bagliardi, gasterópodos en su ambiente. **A:** *Physa acuta*, **B-D:** *Chilina fluminea*.

En BAL, se observaron ejemplares de *Chilina fluminea*, *Heleobia parchappii* (d'Orbigny, 1835), *U. concentricus*, *H. moricandi*, *Rhipidodonta burroughiana* (I. Lea, 1834), *Eupera platensis* y *Pisidium* sp. solo en el Canal, el cual tuvo una mayor riqueza. *Asolene platae* solo se halló en el río y el resto de las especies estuvieron presentes en ambos subsitios.

En RNPED los bivalvos solo se registraron en el río, mientras que en el arroyito se hallaron los gasterópodos, resultando este último en una mayor riqueza.

Por último, PP fue el sitio de menor riqueza, observándose pocos ejemplares de las especies *Chilina fluminea* (en las oquedades del sustrato, debido a que la marea estaba baja) y *Limnoperla fortunei*, mientras que la especie *Heleobia charruana* (d'Orbigny, 1841) fue

más abundante y se halló sobre el sustrato con mayor facilidad. Esta cita es la primera para esta especie en la Argentina.

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

El número total de especies de moluscos registradas es menor al registro histórico en el Río de la Plata, y esto puede deberse a dos motivos. Por un lado, los muestreos estuvieron enfocados en los géneros *Potamolithus*, *Chilina* y *Limnoperna* lo que significa que las demás especies encontradas quizás no sean representativas del total de especies que existen realmente en el sitio. Por otro lado, los muestreos solo se realizaron en la costa del río, no a profundidad ni con muestreadores diseñados para la colecta de bivalvos, motivos por los cuales los resultados obtenidos pueden ser una subestimación de la riqueza de especies que realmente habitan en el Río de la Plata.

En los siguientes párrafos se comparan las especies que estaban citadas para cada área muestreada (Anexo 4.2) y las especies que fueron registradas en este trabajo. No se tuvieron en cuenta a aquellas especies con registro determinado como “Río de la Plata”, ya que no hace referencia a un sitio específico.

Según los trabajos de López Armengol (1985), Darrigran (1995), Martín & Negrete (2006), Rumi et al. (2008), César et al. (2000, 2012) y Gutiérrez Gregoric (2010), en la región costera de la Isla Martín García habría presentes 33 especies de moluscos. Si bien este número es casi el doble de lo hallado en este capítulo (17), la IMG sigue siendo el sitio con mayor riqueza comparado con los otros sitios muestreados. Además, es el único sitio donde actualmente se registran poblaciones de *Potamolithus* en la costa bonaerense del Río de la Plata. Con respecto a este género, no se hallaron especies previamente citadas como, *P. lapidum* y *P. petitianus*, pero si se registró una posible nueva especie denominada en los capítulos 1 y 2 como *Potamolithus* sp. Como se mencionó en capítulos anteriores la mayor información acerca del género *Potamolithus* pertenece a sus conchas, y es necesaria la realización de nuevos análisis con datos anatómicos completos y moleculares de la mayor parte de las especies. Además, existe una gran variación en la coloración y la forma de las conchas, que pueden conducir a identificaciones erróneas. Dentro de este grupo de especies que requieren de una revisión completa, se encuentran las especies *P. lapidum* y *P. petitianus*. Debido a esto, es probable que los registros de las mismas para la IMG, se correspondan a especies como *P. agapetus* o *P. buschii*. En cuanto al género *Chilina*, la IMG fue el sitio donde se lo encontró ocupando un área más extensa en contraste con los otros sitios muestreados donde se encontraba restringido a un área pequeña y limitada (pozas).

Un punto importante a destacar, es que se registra por primera vez para la IMG, y para la provincia de Buenos Aires, la presencia de la especie *Anisancylus obliquus*. Esta especie ha sido reportada en los lagos cordilleranos de Neuquén y Río Negro y en la

provincia de Córdoba en la Argentina, y también en Uruguay y Brasil (Ovando et al., 2014). La distribución de esta especie en forma de parches tan lejanos resultaba extraño, pero esta subfamilia (Ancylinae) ha sido foco de pocos estudios en la Argentina. Estos nuevos datos junto con los aportados por Ovando et al. (2014) para toda la subfamilia, donde se registran nuevas citas de especies para la Argentina, demuestran lo importante que son los estudios focalizados en moluscos de pequeño tamaño. Además, estos resultados reafirman los programas de manejo de especies invasoras y la no modificación de sustratos naturales por sustratos artificiales, protegiendo así una mayor diversidad, en este caso, de moluscos.

En Playa Anchorena, según Darrigran (1995), Darrigran & López Armengol (1998) y César et al. (2000), hasta los años 1987-1988 había 13 especies de moluscos; actualmente en este sitio solo se hallaron cinco especies. Es importante mencionar que, en los muestreos realizados por estos autores, *Limnoperna fortunei* todavía no se registraba en la Argentina, mientras que en los muestreos realizados en esta tesis, no solo el ambiente había sido ocupado por *L. fortunei* sino que además había sufrido varias modificaciones por parte del municipio. Estas modificaciones y la presencia de este invasor, posiblemente llevó a la desaparición del género *Potamolithus* en esta área (y en áreas cercanas como Olivos y Vicente López). Además, la mayor parte del sustrato está ocupado por *L. fortunei* y las especies de gasterópodos halladas (entre ellas *Chilina fluminea*) se restringen mayormente a un sitio con sustrato artificial donde se arroja basura y en un paso continuo para las actividades recreativas que se realizan en el área.

Para la costa del río, dentro de la Reserva Natural Punta Lara, había citadas 18 especies de moluscos (Carcelles, 1941; Darrigran, 1995; Cesar et al., 2000; Ituarte, 2007; Gutiérrez Gregoric, 2008; Rumi et al., 2008; Núñez, 2011; Ovando et al., 2014; Gutiérrez Gregoric & de Lucía, 2016; Díaz et al., 2017) y en estos muestreos se hallaron 14 especies, aunque la mayoría se encontraron en pozas que son inundadas por el río.

Según los trabajos de Pastorino et al. (1993), Darrigran (1995), Darrigran et al. (1998), Cesar et al. (2000); Ovando et al. (2014), Spaccesi (2015) y Reshaid et al. (2017) en el Balneario Bagliardi hay presentes 11 especies de moluscos. Sin embargo, en este trabajo se hallaron nueve especies. El ejemplar de *Potamolithus* sp. hallado por Spaccesi (2015) probablemente haya sido confundido con un neonato de *Pomacea canaliculata* (Spaccesi com. pers.), ya que, en los muestreos llevados a cabo en este trabajo nunca se hallaron ejemplares del género *Potamolithus* pero sí de *Pomacea canaliculata*. Lamentablemente, esto no puede corroborarse debido a que el ejemplar de *Potamolithus* no se encuentra disponible en ninguna colección. Como citas nuevas para este sitio se mencionan a *Physa acuta* y *Pomacea canaliculata*.

De acuerdo con los trabajos de Darrigran (1995), César et al. (2000), Gutiérrez Gregoric (2008) y Núñez (2011) en el Balneario La Balandra, considerando como tal la costa del río y el canal, habría presentes 14 especies de moluscos. En este trabajo se hallaron 13 especies de moluscos, siendo nuevos, los registros de *Eupera platensis*, *Rhipidodonta burroughiana*, *Pisidium* sp., *Hebetancylus moricandi* y *Asolene platae*. Se observó que, si bien el canal es un ambiente bastante modificado por el hombre y por *Limnoperna fortunei* (que se asienta en los márgenes), posee una riqueza mayor que el río propiamente dicho.

En cuanto al sitio Reserva Natural y Privada “El Destino”, no se hallaron trabajos publicados sobre moluscos. Debido a que este sitio se encuentra dentro de la localidad de Magdalena, se toman las especies que tienen distribución para dicha localidad de acuerdo con los trabajos de César et al. (2000) y de Darrigran (2015), quedando citadas ocho especies. En este trabajo, tomando en cuenta no solo el río sino un pequeño arroyo costero se registraron seis especies de moluscos, siendo para *Erodona mactroides*, *Drepanotrema kermatoides*, *Physa acuta* y *Pomacea canaliculata* las primeras citas.

Con respecto a la Playa Punta Piedras, se encontraban citadas ocho especies de moluscos de acuerdo con los trabajos de Carcelles (1941), Castellanos (1967), Darrigran (1995), Gutiérrez Gregoric (2008) y Rumi et al. (2008). En los muestreos realizados solo se hallaron 3 especies (*Heleobia charruana*, *Chilina fluminea* y *Limnoperna fortunei*). *Heleobia charruana* no había sido citada hasta el momento para la Argentina. Esta especie, al ser conquiológicamente similar a *Heleobia conexa* (Gaillard, 1974) y a *Heleobia australis* (d'Orbigny, 1835), puede haber sido confundida con alguna de ellas. Por este motivo su identificación se realizó, no solo por la concha y la anatomía del pene, sino también a través del gen COI, cuya secuencia fue comparada con las secuencias obtenidas por van Haaren et al. (2021) corroborando la identidad de *H. charruana*.

De acuerdo con lo comentado en los párrafos anteriores, tomando la presencia de especies citadas y las encontradas actualmente, los sitios muestreados organizados de mayor a menor riqueza específica quedarían de la siguiente manera: IMG; RNPL; BAL; ANC; BAG; RNPED y por último PP. Estos datos demuestran que, aquel sitio que forma parte de un área protegida y que es el que ha sufrido menos modificaciones sobre sus costas, tanto antrópicos como por la presencia de *Limnoperna fortunei* (es el sitio donde se la encuentra en menor densidad), presenta la mayor riqueza de especies nativas de moluscos, convirtiéndolo en un área prioritaria para la conservación.

Los datos demuestran que el género *Potamolithus* no se registra en la costa bonaerense continental del Río de la Plata y que el género *Chilina* se encuentra desplazado.

Esto puede deberse a diversos motivos, entre ellos a los cambios generados en el sustrato, que pueden haber sido lo suficientemente importantes como para que las poblaciones no lograran recuperarse. Por otro lado, el ingreso y asentamiento de *Limnoperna fortunei* puede haber desplazado al género *Potamolithus*, ya que ha disminuido el sustrato que utilizan normalmente tanto para oviponer como para el ramoneo.

CAPÍTULO 5

Estado de amenaza de *Potamolithus*
spp. y *Chilina fluminea* en la
provincia de Buenos Aires



CAPÍTULO 5

ESTADO DE AMENAZA DE *POTAMOLITHUS* SPP. Y *CHILINA FLUMINEA* EN LA PROVINCIA DE BUENOS AIRES.

INTRODUCCIÓN

Los ecosistemas de agua dulce brindan servicios insustituibles tanto para la naturaleza como para la sociedad, así su calidad y cantidad afectan los procesos biogeoquímicos y la dinámica ecológica que determinan la biodiversidad, la productividad de los ecosistemas y la salud y bienestar humanos a escala local, regional y mundial (Albert et al., 2021). Los ecosistemas de agua dulce junto con sus hábitats ribereños asociados se encuentran entre los más diversos de la Tierra desde el punto de vista biológico y poseen inestimables valores económicos, sanitarios, culturales, científicos y educativos. Sin embargo, los impactos humanos en lagos, ríos, arroyos, humedales y aguas subterráneas están reduciendo drásticamente la biodiversidad y robando recursos y servicios naturales críticos de las generaciones actuales y futuras (Albert et al., 2021). En la actualidad, son muchos los estresantes o contaminantes fisicoquímicos que perturban los ecosistemas acuáticos, motivo por el cual no solo se deben tener en consideración las grandes catástrofes, sino también las afecciones cotidianas (vertidos de la limpieza de tanques, de aguas negras, liberación de aguas de lastre, aguas residuales no tratadas) que pueden ser aún más perjudiciales (Leturia & Nugoli, 2016). En este sentido en el Río de la Plata la contaminación química y por residuos sólidos del agua y los sedimentos, representa una importante amenaza a la diversidad biológica, alterando hábitats y especies valiosas (FREPLATA, 2005).

La biota de agua dulce se encuentra más aislada en comparación con la marina o terrestre y, por lo tanto, se considera más vulnerable a la alteración ecológica (Dudgeon, 2020). La comprensión profunda de los factores que impulsan la extinción de los animales de agua dulce es vital, no solo desde una perspectiva general, sino que también constituye la base para una adecuada coordinación de los esfuerzos de conservación (Neubauer & Georgopoulou, 2021). En este sentido, los moluscos dulceacuícolas representan uno de los grupos más diversos de organismos de agua dulce, pero se encuentran bajo altos niveles de amenaza, siendo los más frecuentes la contaminación, la modificación del sistema natural,

el desarrollo residencial y comercial, la producción de energía y la minería, las especies invasoras, la agricultura, la acuicultura y el uso de recursos biológicos (Böhm et al., 2021).

Dentro de los moluscos, los gasterópodos son candidatos ideales para estudiar procesos profundos en ecosistemas de agua dulce debido a su alta diversidad, alta abundancia individual, altas tasas de endemismo y buen potencial de conservación (Strong et al., 2008). Además, los grupos principales de gasterópodos de agua dulce con diferentes estilos de vida presentes en la actualidad, han existido desde el Mesozoico o el Cenozoico temprano (Gray, 1988; Strong et al., 2008; Taylor, 1988). En este sentido, los representantes de Caenogastropoda (ej. género *Potamolithus*) comprenden especies dioicas, que viven y se reproducen durante 4-5 años (Pyron & Brown, 2015). En cambio, los representantes de Hygrophila (ej. género *Chilina*), son hermafroditas y en su mayoría especies anuales de agua dulce con un ciclo de vida de 1 año (Pyron & Brown, 2015). Sus mayores tasas de reproducción y ciclos de vida más cortos les ayudan a sobrevivir en ambientes efímeros (ej. Brown et al., 1998). En promedio, los representantes de Hygrophila toleran rangos de temperatura más amplios y pueden hacer frente a una mayor variación en el oxígeno disuelto (Pyron & Brown, 2015). Además, se considera que los Hygrophila son competidores más efectivos cuando la comida es escasa (Pyron & Brown, 2015). Por todas estas cualidades, se los considera ecológicamente más flexibles, siendo colonizadores más rápidos y exitosos, motivo por el cual actualmente tienen distribuciones más amplias que los Caenogastropoda (Neubauer & Georgopoulou, 2021).

En cuanto a las evaluaciones sobre el potencial de extinción de organismos, la Unión Internacional para la Conservación de la Naturaleza (UICN) establece nueve categorías y cinco criterios que permiten clasificar a todos los taxones del planeta (excepto los microorganismos) (Fig. 5.1). Las categorías que encontramos son: Extinto (EX), Extinto en Estado Silvestre (EW), En Peligro Crítico (CR), En Peligro (EN), Vulnerable (VU), Casi Amenazado (NT), Preocupación menor (LC), Datos Insuficientes (DD) y No evaluados (NE). El término *Amenazado* se utiliza para identificar conjuntamente a los taxones clasificados en cualquiera de las categorías CR, EN y VU, los cuales se aplican en función de una serie de criterios cuantitativos (A - E) que reflejan distintos niveles de peligro de extinción. Criterio A: Reducción del tamaño poblacional; Criterio B: Distribución geográfica restringida; Criterio C: Pequeño tamaño de la población y disminución; Criterio D: Población muy pequeña o restringida; Criterio E: Análisis cuantitativo ([Anexo 5.1](#)).

Los datos sobre distribución geográfica, taxonomía, historia de vida y ecología son necesarios para poder evaluar el estado de amenaza de una especie y para planificar

acciones de conservación y gestión ambiental (Clavijo et al., 2010; Cuttelod et al., 2011; Johnson et al., 2013; Clavijo & Carranza, 2018). Con relación a esto, se necesita urgentemente más investigación sobre la sistemática, la ecología y el estado de los moluscos de agua dulce, particularmente en el Neotrópico y el Sudeste de Asia, para evaluar mejor su estado de conservación (Böhm et al., 2021). Para Europa, el 64,1% de los Caenogastropoda están amenazados (estado VU, EN o CR), en comparación con el 31,5% de Hygrophila. A su vez, el 64,4% de Hygrophila y solo el 23,9% de Caenogastropoda están evaluados como “Preocupación Menor” (Neubauer & Georgopoulou, 2021).

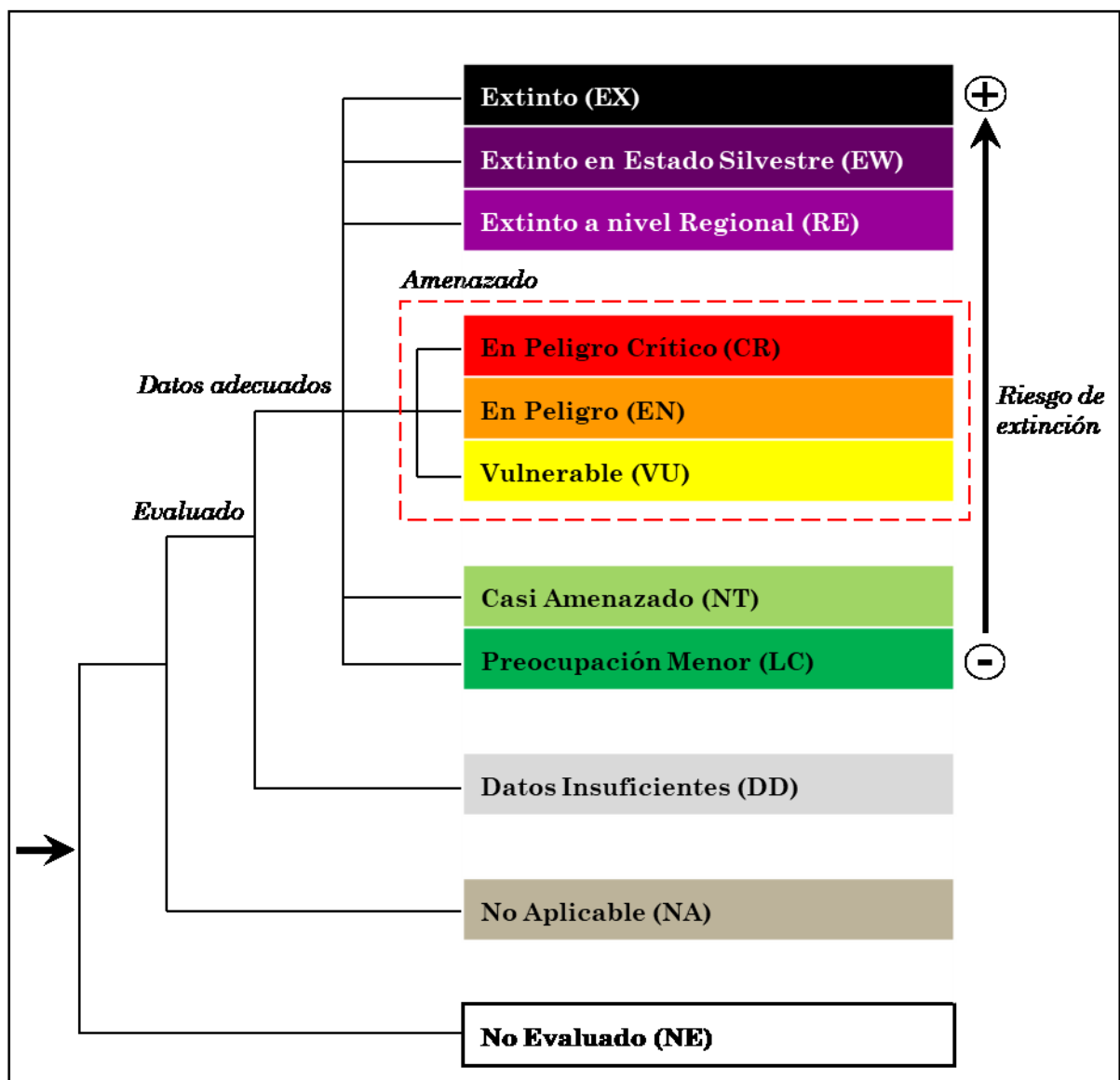


Figura 5.1. Estructura de las categorías usadas a nivel regional, tomado de UICN (2012b).

En la Argentina, la mayoría de las evaluaciones de conservación de especies bajo los criterios de la UICN que contemplan grandes grupos se han basado en vertebrados, siendo nulas las que involucran a los invertebrados (García Fernández et al., 1997; Díaz & Ojeda, 2000; Ojeda et al., 2012; MAyDS & AA, 2017). Sin embargo, existen evaluaciones para especies de invertebrados; 388 registros para artrópodos: insectos (364), malacostraca (21) y arácnidos (3); 92 registros para moluscos: gasterópodos (37), bivalvos (20) y cefalópodos (35); y 1 registro para equinodermos: holoturoideo (UICN, 2021)¹. Esto puede deberse a que los vertebrados en general poseen estudios taxonómicos completos, gran conocimiento de su distribución y ecología, estudios que en invertebrados son más escasos.

Como se mencionó en la Introducción General de este trabajo de tesis, los géneros en cuestión poseen muy pocas especies evaluadas según los criterios de la UICN, siendo 15% del total de especies para el género *Potamolithus* y el 12% para el género *Chilina*. Además, los datos que se conocen de estas especies evaluadas son insuficientes en la mayoría de los casos, teniendo solo datos de concha. La única especie para los dos géneros que tiene datos más completos es *Chilina fluminea*, la cual posee estudios poblacionales en campo y datos anatómicos y moleculares. El resto de las especies no poseen hasta el momento estudios poblacionales. Debido a la falta de este conocimiento, la UICN aclara que estas especies requieren de investigaciones adicionales.

El objetivo de este capítulo es categorizar a ambas entidades en la provincia de Buenos Aires de acuerdo con los criterios regionales de conservación definidos por la UICN, con la información obtenida en los capítulos anteriores y aquella obtenida a partir mapas de distribución geográfica histórica y actual.

¹ <https://www.iucnredlist.org>

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó una búsqueda bibliográfica y de lotes de colección de museos (MACN-In, MLP-Ma) con registros históricos para el género *Potamolithus* y para la especie *Chilina fluminea*. *Potamolithus* fue tomado como género debido a que es necesaria una revisión anatómica completa de los lotes depositados en los museos para poder atribuirlos de manera correcta a las especies correspondientes. Como datos históricos se tomaron aquellos hasta el año 2009 y a partir del año 2010 se consideraron como datos actuales, a los cuales se sumaron los datos de colecta llevados a cabo en este trabajo de tesis. El hecho de considerar el límite de corte entre histórico y actual en el año 2009 - 2010 es debido a que la UICN utiliza el plazo de 10 años o tres generaciones. A partir de estos datos, se confeccionaron dos mapas de distribución en la provincia de Buenos Aires: uno para *Potamolithus* y otro para la *Chilina fluminea*. Se consideraron como sitios internos de la provincia a aquellos que no están sobre la costa del Río de la Plata. Con los datos de distribución histórica y actual se estimó el área de ocupación (AOO) y la extensión de presencia (EOO) para cada entidad, utilizando la herramienta GeoCAT (Geospatial Conservation Assessment Tool; Bachman et al., 2011) a través de su servidor web². Como lo indica la UICN, las celdas de cuadrícula tomadas para realizar las estimaciones fueron de 4 km² (2 x 2 km).

Se realizó una lista de amenazas siguiendo el sistema de clasificación publicado por Salafsky et al. (2008) y utilizado en las evaluaciones de moluscos dulceacuícolas por Böhm et al. (2021) (Anexo 5.2).

² <http://geocat.kew.org/>

RESULTADOS

Género *Potamolithus* Pilsbry, 1896

Especies categorizadas por la UICN para la provincia de Buenos Aires. Preocupación menor (*P. lapidum*).

Distribución histórica en la provincia de Buenos Aires. Históricamente (1913 - 2009) el género *Potamolithus* se registró en siete localidades de la provincia de Buenos Aires: Tigre (islas del delta), Isla Martín García, San Isidro, Olivos, Vicente López, Ciudad Autónoma de Buenos Aires y Atalaya (Fig. 5.2), con las siguientes especies presentes: *P. agapetus*, *P. bisinuatus*, *P. buschii*, *P. lapidum*, *P. petitianus*, *P. orbignyi* y *Potamolithus* sp. La extensión de presencia (EOO) en esta distribución histórica era de 2.637,43 km², mientras que el área de ocupación (AOO) era de 40 km². De acuerdo a estos datos de distribución (sin especificar ninguna condición) el género podría estar categorizado bajo la categoría de amenaza En Peligro (EN) (Anexo 5.1).

Distribución actual en la provincia de Buenos Aires. Actualmente se lo registró solo en la Isla Martín García (Fig. 5.2), donde se distribuye sobre las costas norte-este-sur, las cuales poseen mayor influencia del Río Uruguay y los sustratos se caracterizan por la presencia de rocas. Las especies halladas fueron: *P. agapetus*, *P. bisinuatus*, *P. buschii* y *Potamolithus* sp., descriptas en el capítulo 1. La EOO actual es de 8 km² y el AOO de 8 km². De acuerdo a estos datos de distribución (sin especificar ninguna condición) el género podría estar categorizado bajo la categoría de amenaza En Peligro Crítico (CR) (Anexo 5.1).

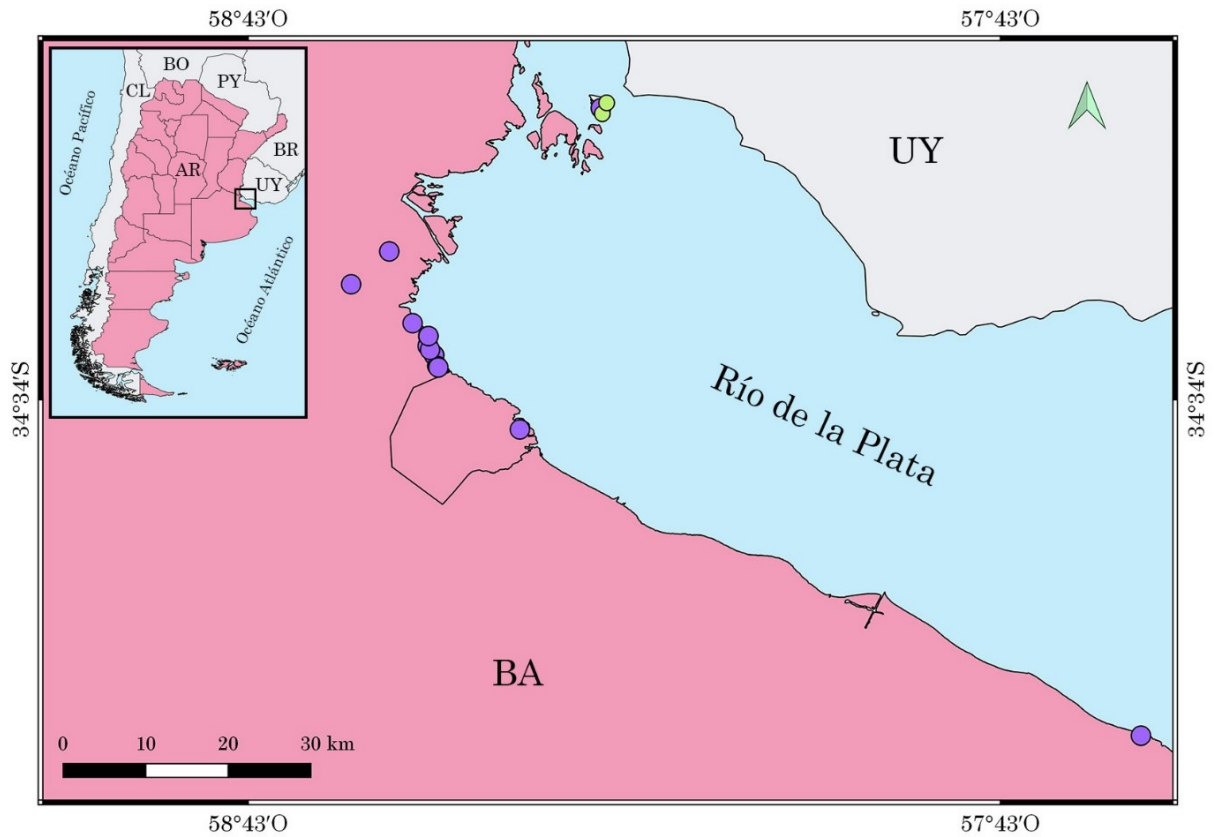


Figura 5.2. Mapa de distribución histórica (círculos violeta) y actual (círculos verdes) del género *Potamolithus* en la provincia de Buenos Aires.

Biología. Habita ríos y arroyos. Prefiere sustratos rocosos, pero se los ha encontrado sobre arena y juncos. Micrófagos. Ponen de a un huevo sobre superficies duras sumergidas (rocas u otros gasterópodos), la eclosión ocurre ~20 días luego de la puesta; alcanzan la madurez sexual a los ~153 días y al cabo de ~665 días mueren. Reproducción durante todo el año, con mayor esfuerzo reproductivo en primavera.

***Chilina fluminea* (Maton, 1809)**

Categorizada por la UICN. Datos Insuficientes.

Descripción. Concha oval oblonga, último anfracto dilatado, espesa, levemente estriada longitudinalmente. Espira corta, inflada, con ápice erosionado, formado de tres vueltas algo convexas. Abertura ovalada con labro cortante y el borde columelar fuertemente calloso, espeso, provisto de dos fuertes dientes, uno parietal y otro columelar. Coloración amarilla, con bandas transversas de color castaño. En algunas poblaciones se pueden encontrar individuos con ausencia total de estas bandas o con una disminución de estas a pequeños puntos que siguen una línea imaginaria de bandas (Castellanos & Gaillard, 1981; Gutiérrez Gregoric, 2008).

Distribución geográfica. Argentina (Buenos Aires, Entre Ríos), Brasil y Uruguay.

Distribución geográfica histórica en la Provincia de Buenos Aires. Entre 1934 – 2011 se registró en 15 localidades de la provincia de Buenos Aires (Fig. 5.3). Cinco de ellas pertenecen al interior de la provincia: San Pedro, Junín, Luján, Cañuelas y Castelli; el resto se encuentra sobre la costa del Río de la Plata: Tigre (islas del delta), Isla Martín García, Olivos, Vicente López, Quilmes, Ensenada (Punta Lara, Río Santiago), Berisso, Magdalena, Atalaya, Punta Indio (Punta Piedras). De acuerdo con los registros históricos, esta especie tenía una extensión de presencia (EOO) de 45.915,137 km² resultando en la categoría de Preocupación Menor (LC), mientras que el área de ocupación (AOO) era de 92 km². De acuerdo a estos datos de distribución (sin especificar ninguna condición) esta especie podría estar categorizado bajo el estado de amenaza En Peligro (EN) (Anexo 5.1).

Distribución actual en la provincia de Buenos Aires. Actualmente se registró a esta especie, solo sobre la costa del Río de la Plata en: Isla Martín García, Playa Anchorena, Olivos, Reserva Natural Punta Lara, Balneario Bagliardi, Balneario Balandra (sobre el canal, no sobre el río), Playa Punta Piedras (Fig. 5.3). Excepto en el sitio Isla Martín García, el área que ocupa esta especie es reducida, y la distribución a lo largo de la costa bonaerense del Río de la Plata no es continua, sino en parches. La EOO actual de esta especie es de 3.802,44 km² y el AOO de 60 km². De acuerdo a estos datos de distribución (sin especificar ninguna condición) esta especie podría estar categorizado bajo la categoría de amenaza En Peligro (EN) (Anexo 5.1).

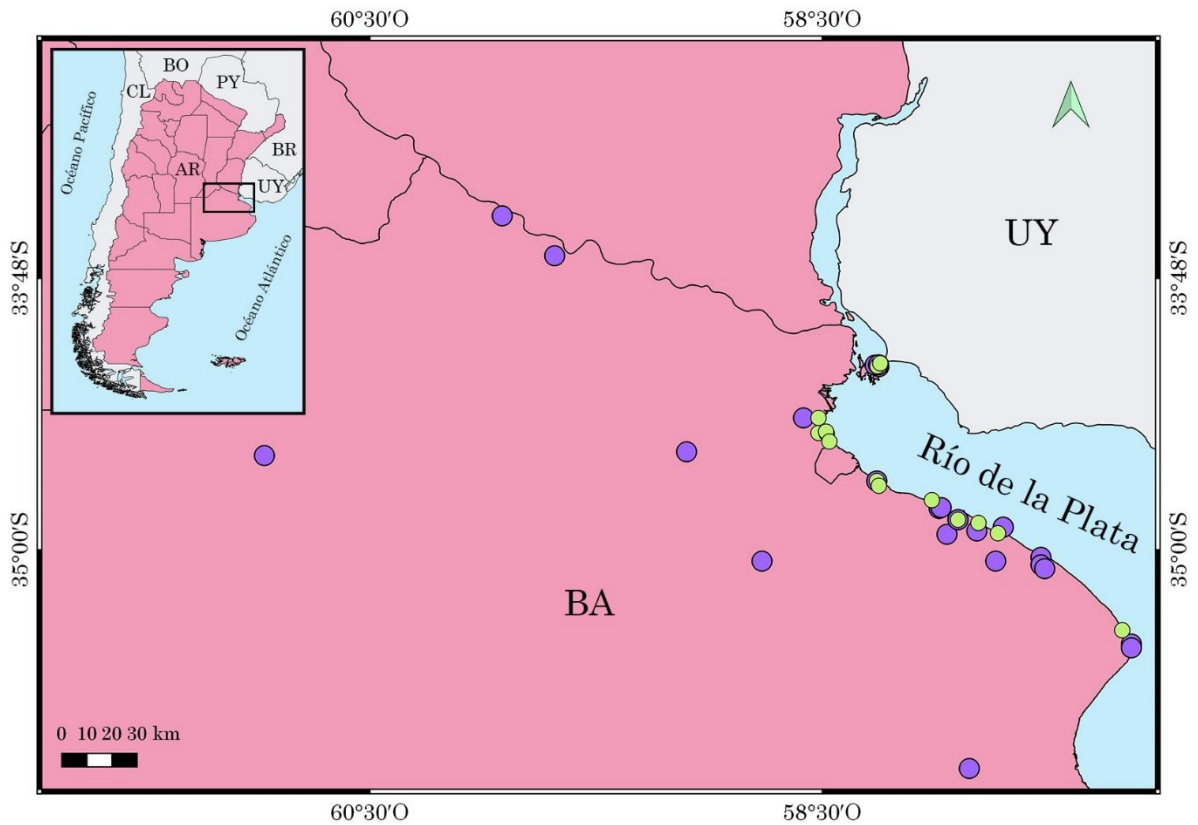


Figura 5.3. Mapa de distribución histórica (círculos violeta) y actual (círculos verdes) de *Chilina fluminea* en la provincia de Buenos Aires.

Biología. Habita las costas del Río de la Plata, preferentemente en sustratos duros de donde se alimenta y deposita sus oviposiciones. Eventualmente puede registrarse sobre vegetación o en playas de arena o limo, pero siempre cerca de pozones donde refugia durante las bajas mareas. Micrófagos. Ponen varios huevos en una única masa gelatinosa, sobre rocas siempre sumergidas. Reproducción durante todo el año, con mayor esfuerzo reproductivo en otoño e invierno.

Lista de amenazas verificadas para ambas entidades en la provincia de Buenos Aires:

1. Desarrollo residencial y comercial
 - 1.1. Viviendas y áreas urbanas
 - 1.2. Áreas comerciales e industriales
 - 1.3. Áreas de turismo y recreación
6. Intrusiones y disturbios humanos
 - 6.1. Actividades recreativas
7. Modificaciones del sistema natural
 - 7.2. Presas y gestión / uso del agua
 - 7.2.1. Extracción de agua superficial (uso doméstico)
 - 7.2.2. Extracción de agua superficial (uso comercial)
8. Especies invasoras y otras especies problemáticas, genes y enfermedades
 - 8.1. Enfermedades / especies exóticas / exóticas invasoras
 - 8.1.2. Especies con nombre
9. Contaminación
 - 9.1. Aguas residuales domésticas y urbanas
 - 9.1.1. Aguas residuales
 - 9.1.2. Escorrentía
 - 9.2. Efluentes industriales y militares
 - 9.2.1. Derrames de petróleo
 - 9.2.3. Tipo Desconocido / No registrado
 - 9.4. Basura y desechos sólidos

DISCUSIÓN Y CONCLUSIÓN

Como se demostró en el mapa de distribución del género *Potamolithus* para la provincia de Buenos Aires, su distribución histórica era más amplia, registrándose hasta el balneario Atalaya (Magdalena). Si bien esta distribución en la zona de San Isidro y Olivos era continua, debido a la cercanía de ambas localidades, la distribución del género no lo era a lo largo de la costa continental. Esto se evidencia por la falta de registros históricos en sitios como la Reserva Natural de Punta Lara y el Balneario Bagliardi, que han sido muestreados a lo largo de los años. Los últimos registros del género para la costa continental bonaerense del Río de la Plata son de los años 1987 y 1988, citados en los trabajos de Darrigran & López Armengol (1998) y López Armengol & Darrigran (1998).

En cuanto al mapa de *Chilina fluminea* no se encontraron en la bibliografía registros actuales de esta especie en el interior de la provincia de Buenos Aires. Los registros actuales corresponden a sitios costeros del Río de la Plata, siempre en disposiciones en parches.

La costa del Río de la Plata ha sufrido constantes cambios en toda su extensión. Se han mencionado en detalle las modificaciones en Anchorena y Atalaya, pero también han ocurrido en la ciudad Autónoma de Buenos Aires, destacándose el terreno “ganado” sobre la costa en la zona de Ciudad Universitaria, frente al aeroparque Jorge Newbery, y la construcción de los puertos. En estos sitios, alguna vez habitados por Chiliniidae, hoy ya no se registran ejemplares.

Otra modificación de las costas del Río de la Plata se observó en la localidad de Punta Lara, donde en 2020 se llevaron a cabo obras que modificaron el ambiente donde se registraron en esta tesis ejemplares de Chiliniidae. A pesar de que el sitio del arroyo Boca Cerrada se encuentra dentro de la Reserva Natural Punta Lara, los pozones costeros fueron rellenados para dar lugar a una calle para acceso de los pobladores (las obras pueden observarse en el link <https://www.youtube.com/watch?v=QaR67tY1gqI>). Nuevos muestreos (en años próximos) determinarán el estado de la población en dicha zona. Todos los cambios en las costas que impliquen la remoción de sustrato y el consecuente rellenado con escombros y restos de hormigonado generan nuevos espacios de sustratos duros vírgenes listos para ser ocupados por el bivalvo invasor *Limnoperna fortunei*, ya que el mismo se asienta sobre cualquier sustrato duro (natural o artificial).

Limnoperna fortunei es la especie invasora más influyente en la distribución y presencia de las entidades que se evaluaron en este trabajo de tesis. Sus densidades

actuales en la costa bonaerense del Río de la Plata se encuentran dentro del valor de estabilización encontrado por Darrigran et al. (2003) después de 10 años de la introducción. En todos los sitios donde se registran actualmente, o se registraban, las entidades analizadas se confirmó la presencia de *L. fortunei*, en mayores o menores densidades. Este bivalvo invasor, fue ocupando desde su llegada en los '90 los sustratos duros sobre los cuales se desplazaban, alimentaban y oviponían los géneros *Potamolithus* y *Chilina*, desplazando o reduciendo la presencia de estas entidades sobre la costa del Río de la Plata (ya mencionado por Darrigran et al. (1998) y por Sylvester & Sardiña (2015) para especies de gasterópodos nativos).

Según FREPLATA (2005), la franja costera acuática del área metropolitana de Buenos Aires y Gran La Plata (entre la línea de costa y los 2.000-2.500 m) posee un grado de contaminación muy alto que afecta significativamente la calidad del agua, sedimentos y biota. Durante los muestreos se observaron restos de contaminación cloacal y se detectaron olores fuertes en los sitios Playa Anchorena y Balneario Balgiardi. Este último posee la mayor contaminación fecal (Pazos et al., 2020), y podría afectar la presencia de los moluscos en sus costas. Es quizás debido a esta contaminación que en este sitio se observaron las menores densidades de *L. fortunei*, de acuerdo con Bonel et al. (2013) la contaminación puede afectar su crecimiento y peso. Además, en los sitios muestreados (excepto la IMG, RNPED y PP) se observó la presencia de basura y desechos (desde papeles, plásticos, vidrios, envolturas, gomas, entre otros).

Otra de las amenazas pertenecientes al ítem contaminación que fue verificada en las costas del Río de la Plata, es el derrame de hidrocarburos. En enero de 1999 se produjo un derrame de hidrocarburo de una extensión de 30 km, provocado por la colisión de dos buques, que afectó las costas de Magdalena y Berisso, principalmente en la zona de arroyos y humedales e ingresando hasta aproximadamente unos 2 km tierra adentro por efecto de las mareas. El impacto y la extensión fueron tan grandes que fue considerado el mayor derrame de petróleo, a nivel mundial, en agua dulce de la historia. Estudios posteriores en el bentos, realizados por Rodrigues Capítulo et al. (2003), demuestran que las zonas más afectadas sufrieron una significativa disminución de la diversidad y concluyendo que muy pocas estaciones de muestreo mostraron signos de recuperación mientras que el resto aún siguen afectadas debido a la permanencia de petróleo en el sedimento. Otro derrame ocurrió en febrero de 2019 en las costas de la localidad de Berisso (a 3,1 km del Balneario Bagliardi y a 7,8 km del Balneario La Balandra).

Si bien los Hygrophyta son considerados ecológicamente más flexibles a los cambios que los Caenogastropoda (Neubauer & Georgopoulou, 2021), dentro de estos últimos hay grupos, como por ejemplo algunos representantes de la familia Cochliopidae, que toleran condiciones más adversas. Esta familia posee una amplia distribución a lo largo del Neotrópico y Neártico, y en menor medida en el Paleártico y Afrotrópico (Clark, 2019). Es el caso de *Heleobia piscium*, la cual se determinó en la mayoría de los sitios muestreados, incluso en altas densidades sobre el bivalvo invasor *Limnoperna fortunei*. Si bien los géneros *Heleobia* y *Potamolithus* antiguamente formaban parte del mismo grupo y ocupan hábitats y sustratos similares, la evidencia sugiere que *Heleobia piscium* posee un rango de tolerancia y una capacidad para recuperarse mayor que *Potamolithus*. Esto se observó en lugares como Playa Anchorena, Olivos y Balneario Bagliardi, que son afectados por contaminación y modificaciones en el sustrato (por parte de la actividad humana y la especie *Limnoperna fortunei*) y, sin embargo, *Heleobia piscium* se registra en gran cantidad. Por el contrario, el género *Potamolithus* que históricamente se encontraba en varios de estos sitios, actualmente no se registra.

Los resultados hallados en estos en ambientes antropizados e influenciados por la acción de especies invasoras, coinciden con lo expuesto por Neubauer & Georgopoulou (2021), quienes mencionan que el elevado riesgo de extinción de los Caenogastropoda está vinculado a sus rangos geográficos más pequeños, lo que refleja su capacidad de colonización comparativamente pobre. Dichos autores concluyen que el tamaño de rango mínimo general por encima del cual las especies no se extinguen, es más alto en Caenogastropoda que en Hygrophyta. Los Hygrophyta incluye muchas especies con altas tolerancias ecológicas y, por lo tanto, un mayor potencial de dispersión y posibilidades de supervivencia en entornos recién colonizados (Johnson et al., 2013; van Leeuwen et al., 2013).

Por lo anteriormente mencionado se determina que:

- Las especies del género *Potamolithus* en la provincia de Buenos Aires se encuentran en la categoría **En Peligro Crítico (CR)**, poseyendo actualmente solo poblaciones en ambientes insulares; de acuerdo al criterio B: **CR B1ab(i, ii, iii), B2ab(i, ii, iii)**, expresando que el género tiene una extensión de presencia inferior a 100 km², un área de ocupación inferior a 10 km², con un número de localidades (área geográfica o ecológica distintiva en la cual un solo acontecimiento amenazante puede afectar rápidamente a todos los individuos del taxón presente) igual a 1; y que la extensión de presencia (i), el área de ocupación (ii) y el área, extensión y/o calidad de hábitat (iii) están experimentando una disminución continua. También se concluye que las especies del género

Potamolithus en las costas continentales del Río de la Plata de la provincia de Buenos Aires se encuentran **Extintas Regionalmente (RE)**.

○ En cuanto a *Chilina fluminea* en la provincia de Buenos Aires, se la encuentra en la categoría de amenaza **En Peligro (EN)**, con poblaciones actuales en varios sitios, pero en cada uno el área donde se la registra es muy pequeña de acuerdo con el criterio B. Queda expresado de la siguiente manera: **EN B1ab(i, ii, iii), B2a(i, ii, iii)**, expresando que tiene una extensión de presencia inferior a 5.000 km², un área de ocupación inferior a 500 km², que su población se encuentra severamente fragmentada y que la extensión de presencia (i), el área de ocupación (ii) y el área, extensión y/o calidad de hábitat (iii) están experimentando una disminución continua.

Según FREPLATA (2005), las actuales áreas protegidas son insuficientes para proteger a la biodiversidad acuática y costera del Río de la Plata, la cual es prácticamente desconocida y poco valorada. En relación a esto y a lo observado durante este trabajo de tesis, se recomienda intensificar los esfuerzos de conservación de estos ambientes, sobre todo en la Isla Martín García, sitio en el cual se hallaron representantes de ambos géneros y con mayor variabilidad genética. Otro sitio que merece atención y donde es necesario implementar medidas de conservación, es la costa de la Reserva Natural Punta Lara debido a que, si bien legalmente forma parte de la reserva, sus costas están siendo modificadas de manera continua sin estudios previos de los impactos en la diversidad.

CONCLUSIÓN



CONCLUSIÓN

De acuerdo con el objetivo 1 (completar y actualizar la descripción anatómica y genética de las especies de *Potamolithus* y *Chilina* presentes en la costa bonaerense del Río de la Plata, a efecto de estimar la contribución e importancia relativa de cada especie para su conservación, de acuerdo con la variabilidad que presenta), se concluye que:

- El género *Potamolithus* solo fue hallado en la Isla Martín García, mientras que el género *Chilina* fue hallado en todos los sitios, excepto en la Reserva Natural Privada “El Destino”.
- Desde el punto de vista anatómico se reconocieron cuatro especies del género *Potamolithus*: *P. agapetus*, *P. bisinuatus*, *P. buschii* y *Potamolithus* sp., mientras que desde el punto de vista genético se reconocieron cinco especies, dado que *Potamolithus* sp. queda dividido en *Potamolithus* sp1 y *Potamolithus* sp2.
- Desde el punto de vista anatómico se hallaron dos especies del género *Chilina*: *C. fluminea* y *C. rushii*; sin embargo, ambas no quedan como especies separadas en los análisis moleculares.
- *Potamolithus agapetus* y *Potamolithus buschii*, son muy difíciles de diferenciar únicamente a partir de caracteres de concha. El carácter anatómico externo distintivo a simple vista es el patrón de coloración en los tentáculos, mientras que los caracteres anatómicos internos más distintivos son el número de filamentos branquiales y la rádula (forma del mesocono del diente lateral).
- Se observó dimorfismo sexual solo en la especie *Potamolithus* sp., con hembras que alcanzan un tamaño mayor que los machos.

De acuerdo con el objetivo 2 (proporcionar datos sobre la ecología e historia de vida, densidad, cambios temporales en la densidad de población, tasa de crecimiento individual, tiempos de reclutamiento y distribución de *Potamolithus* spp. y *Chilina fluminea* en la costa bonaerense del Río de la Plata), se concluye que:

- Ambos géneros se reproducen a lo largo de todo el año, aunque la estación de mayor actividad reproductiva para el género *Potamolithus* es primavera, mientras que para el género *Chilina* es otoño.
- Los ejemplares del género *Potamolithus* oviponen sobre sustratos duros sumergidos, como rocas y moluscos (otros *Potamolithus*, *Chilina*, *Heleobia* y *Anisancylus*, pero nunca

sobre *Limnoperna fortunei*) mientras que, los ejemplares del género *Chilina* oviponen sobre rocas sumergidas.

- De las cuatro especies halladas del género *Potamolithus*, las que se encuentran en menor densidad son *P. agapetus* y *P. bisinuatus*.
- Ciclo de vida de *Potamolithus* sp.: la eclosión ocurre a las ~3 semanas de la oviposición. En ~22 semanas llegan a la madurez sexual y al cabo de ~95 semanas mueren.
- El sitio de mayor densidad del género *Chilina* es el subsitio Punta Cañón dentro de la Isla Martín García. En todos los sitios, excepto la IMG, este género queda restringido a áreas pequeñas de distribución.

De acuerdo con el objetivo 3 (analizar si existe evidencia de que el bivalvo no nativo invasor *Limnoperna fortunei* incide negativamente sobre la presencia y densidad de los géneros *Potamolithus* y *Chilina* en las costas bonaerenses del Río de la Plata, además de evaluar la malacofauna asociada a *Limnoperna fortunei* con énfasis en los géneros mencionados anteriormente), se concluye que:

- La mayor densidad del bivalvo invasor *Limnoperna fortunei* se registra en el Balneario La Balandra, mientras que las menores se registran para la Isla Martín García.
- Los moluscos acompañantes de *L. fortunei* (sobre este bivalvo) son cinco especies (*Chilina fluminea*, *Potamolithus buschii*, *Anisancylus obliquus*, *Heleobia piscium* y *Corbicula fluminea*), siendo *H. piscium* la especie hallada en mayor densidad.
- La presencia de *Limnoperna fortunei* favorece la presencia de *Heleobia piscium*, mientras que podría afectar de manera negativa a los géneros *Potamolithus* y *Chilina*, dado que el sitio con menor densidad de *L. fortunei* es el de mayor densidad de *Chilina* y el único donde se halló *Potamolithus*.

De acuerdo con el objetivo 4 (analizar la distribución y la riqueza específica de la malacofauna dulciacuícola presente en áreas protegidas y no protegidas de la costa bonaerense del Río de la Plata, con especial énfasis en los géneros *Potamolithus* y *Chilina*), se concluye que:

- De todos los sitios muestreados el que presenta mayor riqueza específica de moluscos es la Isla Martín García, mientras que el que presenta menor riqueza específica es la Playa Punta Piedras. Esta área de mayor riqueza forma parte de un área protegida y es la que

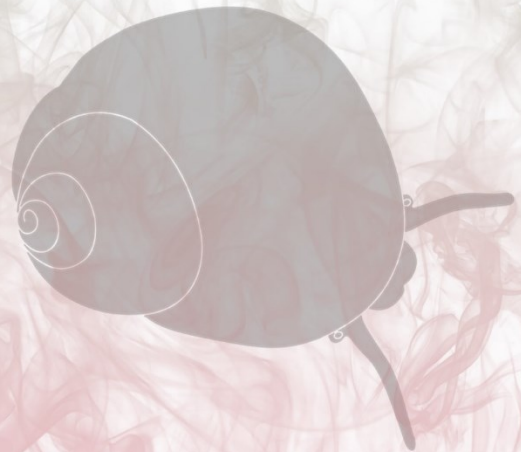
menos modificaciones ha sufrido sobre sus costas (tanto antrópicas, como en cuanto a densidades de *Limnoperna fortunei*).

- Primer registro de *Anisancylus obliquus* para la Isla Martín García y para la provincia de Buenos Aires.
- Primer registro de *Physa acuta* y *Pomacea canaliculata* en el sitio Balneario Bagliardi.
- Primer registro de *Eupera platensis*, *Rhipidodonta burroughiana*, *Pisidium* sp., *Hebetancylus moricandi* y *Asolene platae* en el Balneario La Balandra.
- Primer registro de *Erodona mactroides*, *Drepanotrema kermatoides*, *Physa acuta* y *Pomacea canaliculata* en el sitio Reserva Natural Privada “El Destino”.
- Primer cita de *Heleobia charruana* para la Argentina en el sitio Playa Punta Piedras.

De acuerdo con el objetivo 5 (categorizar a las especies de los géneros *Potamolithus* y *Chilina* en la costa bonaerense de acuerdo con los criterios regionales de conservación definidos por la UICN (2012b), sobre la base de los datos obtenidos en el presente trabajo de tesis), se concluye que:

- El género *Potamolithus* se encuentra en la categoría En Peligro Crítico *CR B1ab(i, ii, iii)*, *B2ab(i, ii, iii)* en la provincia de Buenos Aires y Extinto Regionalmente (*RE*) en las costas continentales del Río de la Plata de la provincia de Buenos Aires.
- *Chilina fluminea* en la provincia de Buenos Aires, se la encuentra en la categoría de amenaza En Peligro *EN B1ab(i, ii, iii)*, *B2a(i, ii, iii)*.

REFERENCIAS



REFERENCIAS

- Albert, JS; Destouni, G; Duke-Sylvester, SM; Magurran, AE; Oberdorff, T; Reis, RE; Winemiller, KO & Ripple, WJ. 2021. Scientists' warning to humanity on the freshwater biodiversity crisis. *Ambio* 50: 85-94. <https://doi.org/10.1007/s13280-020-01318-8>
- Alda, P; Lounnas, M; Vázquez, AA; Ayaqui, R; Calvopiña, M; Celi-Erazo, M;... & Hurtrez-Boussès, S. 2021. Systematics and geographical distribution of *Galba* species, a group of cryptic and worldwide freshwater snails. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 157: 107035. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2020.107035>
- Alonso, A & Castro-Díez, P. 2012. The exotic aquatic mud snail *Potamopyrgus antipodarum* (Hydrobiidae, Mollusca): state of the art of a worldwide invasion. *Aquatic Sciences* 74: 375-383. <https://doi.org/10.1007/s00027-012-0254-7>
- ADT, Análisis Diagnóstico Transfronterizo de la Cuenca del Plata. 2016. 1^{ra} ed. Ciudad Autónoma de Buenos Aires: Comité Intergubernamental Coordinador de los Países de la Cuenca del Plata - CIC; Estados Unidos: Organización de los Estados Americanos - OEA. 301 pp. https://cicplata.org/wp-content/uploads/2017/09/analisis_diagnostico_transfronterizo_de_la_cuenca_del_plata.pdf
- APN, Administración de Parques Nacionales. 2007. Las Áreas Protegidas de la Argentina. Herramienta superior para la conservación de nuestro patrimonio natural y cultural. Con la colaboración de Fundación Vida Silvestre Argentina. Buenos Aires. pp 83. https://sib.gob.ar/archivos/APs_Argentina_APN2007.pdf
- Avise, JC. 2004. Molecular markers, natural history and evolution 2nd edn. Sunderland: Sinauer.
- Bachman, S; Moat, J; Hill, AW, de la Torre, J & Scott, B. 2011. Supporting Red List threat assessments with GeoCAT: Geospatial Conservation Assessment Tool. En: Smith, V & Penev, L (Eds.) e-Infrastructures for data publishing in biodiversity science. *ZooKeys* 150: 117-126. <https://doi.org/10.3897/zookeys.150.2109>
- Balian, EV; Segers, H; Martens, K & Lévêque, C. 2008. The Freshwater Animal Diversity Assessment: an overview of the results. En: Balian, EV; Lévêque, C; Segers, H; Martens, K (Eds). Freshwater Animal Diversity Assessment. Developments in Hydrobiology, vol. 198. Springer, Dordrecht, pp. 627-637. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-8259-7_61

- Basso, NG & Kehr, AI. 1991. Postmetamorphic growth and population structure of the frog *Leptodactylus latinasus* (Anura: Leptodactylidae). *Studies on Neotropical Fauna and Environment* 26: 39-44. <https://doi.org/10.1080/01650529109360831>
- Bichuette, ME & Trajano, E. 2003. A population study of epigeal and subterranean *Potamolithus* snails from southeast Brazil (Mollusca: Gastropoda: Hydrobiidae). *Hydrobiologia* 505: 107-117. <https://doi.org/10.1023/B:HYDR.0000007299.26220.b8>
- Bichuette, ME & Trajano, E. 2018. Diversity of *Potamolithus* (Littorinimorpha, Truncatelloidea) in a highdiversity spot for troglobites in southeastern Brazil: role of habitat fragmentation in the origin of subterranean fauna, and conservation status. *Subterranean Biology* 25: 61-88. <https://doi.org/10.3897/subtbiol.25.23778>
- Birky, Jr CW. 2013. Species detection and identification in sexual organisms using population genetic theory and DNA sequences. *PLoS One* 8: e52544. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0052544>
- Birky, Jr CW; Adams, J; Gemmel, M & Perry, J. 2010. Using population genetic theory and DNA sequences for species detection and identification in asexual organisms. *PLoS One* 5(5): e10609. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0010609>
- Böhm, M; Dewhurst-Richman, NI; Seddon, M; Ledger, SEH; Albrecht, C; Allen, D;... & Collen, B. 2021. The conservation status of the world's freshwater molluscs. *Hydrobiologia* 848: 3231-3254 <https://doi.org/10.1007/s10750-020-04385-w>
- Boltovskoy, D; Correa, N; Cataldo, D & Sylvester, F. 2006. Dispersion and ecological impact of the invasive freshwater bivalve *Limnoperna fortunei* in the Río de la Plata watershed and beyond. *Biological Invasions* 8(4): 947-963. <https://doi.org/10.1007/s10530-005-5107-z>
- Bonel, N; Solari, LC & Lorda, J. 2013. Differences in density, shell allometry and growth between two populations of *Limnoperna fortunei* (Mytilidae) from the Río de la Plata Basin, Argentina. *Malacologia* 56(1-2): 43-58. <http://www.bioone.org/doi/full/10.4002/040.056.0203>
- Bosnia, AS; Kaisin, FJ & Tablado, A. 1990. Population dynamics and production of the freshwater snail *Chilina gibbosa* Sowerby 1841 (Chiliniidae, Pulmonata) in a North-Patagonian reservoir. *Hydrobiologia* 190: 97-110.
- Bowler, PA. 1991. The rapid spread of the freshwater hydrobiidae snail *Potamopyrgus antipodarum* (Gray) in the Middle Snake River, southern Idaho. En: Pister, E.P. (Ed.),

- Proceedings of the Desert Fishes Council, vol. 21. Desert Fishes Council, California, pp. 173-182.
- Broekhuizen, N; Parkyn, S & Miller, D. 2001. Fine sediment effects on feeding and growth in the invertebrate grazers *Potamopyrgus antipodarum* (Gastropoda, Hydrobiidae) and *Deleatidium* sp. (Ephemeroptera, Leptophlebiidae). *Hydrobiologia* 457: 125-132. <https://doi.org/10.1023/A:1012223332472>
- Brown, DS & Pullan, NB. 1987. Notes on the shell, radula and habitat of *Chilina* (Basommatophora) from the Falkland Islands. *Journal of Molluscan Studies* 53: 105-108. <https://doi.org/10.1093/mollus/53.1.105>
- Brown, KM; Alexander, JE & Thorp, JH. 1998. Differences in the ecology and distribution of lotic pulmonate and prosobranch gastropods. *American Malacological Bulletin* 14: 91-101.
- Carcelles, A. 1941. *Erodona mactroides* en el Río de la Plata. *Physis* 19(51): 11-21.
- Cárdenas, EB & Aranda, DA. 2003. Patrones en la biología poblacional de moluscos de importancia comercial en México. *Revista de Biología Tropical* 51(4): 97-107. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=44911590013>
- Carlsson, NO & Brönmark, C. 2006. Size-dependent effects of an invasive herbivorous snail (*Pomacea canaliculata*) on macrophytes and periphyton in Asian wetlands. *Freshwater Biology* 51(4): 695-704. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2427.2006.01523.x>
- Castellanos, ZA. 1967. Catálogo de los moluscos marinos bonaerenses. *Anales Comisión Investigaciones Científicas de la provincia de Buenos Aires* 3: 9-365.
- Castellanos, ZA & Fernández, D. 1976. Fauna de agua dulce de la República Argentina. Mollusca, Gasterópoda, Ampullaridae. PROFADU (CONICET), Buenos Aires. 15:1- 33.
- Castellanos, ZA & Gaillard, MC. 1981. Fauna de agua dulce de la República Argentina. Mollusca, Gasterópoda, Chiliniidae. PROFADU (CONICET), Buenos Aires. 15(4): 19-52.
- Castellanos, ZA & Landoni, N. 1990. Fauna de agua dulce de la República Argentina. Mollusca, Pelecípodos, Mycetopodidae. PROFADU (CONICET), Buenos Aires. 16: 1-87.
- Cazzaniga, NJ. 1980. Notas sobre Hidróbidos Argentinos. I (Gastropoda Rissoidea) Acerca de *Litoridina occidentalis* (Doering, 1884). *Neotrópica* 26(76): 187-191.
- Cazzaniga, NJ. 1981. Notas sobre Hidróbidos Argentinos. III (Gastropoda Rissoidea). *Strobeliella*, un nuevo género de la Patagonia. *Neotropica* 27(77): 3-10.

- Cazzaniga, NJ. 2017. *Strobelitatea*, a replacement name for *Strobeliella* Cazzaniga, 1981 (Gastropoda: Tateidae), non Nordsieck, 1977 (Gastropoda: Clausiliidae). *Zootaxa* 4216(2): 188-189. <https://doi.org/10.11646/zootaxa.4216.2.4>
- César, II; Martín, SM; Rumi, A y Tassara, M. 2012. Mollusks (Gastropoda and Bivalvia) of the Multiple-Use Reserve Martín García Island, Río de la Plata River: biodiversity and ecology. *Brazilian Journal of Biology* 72(1): 121-130.
- César, II; Ocón, C; Paggi, AC; Rodrigues Capítulo, A; Spaccesi, FG; Tangorra, M & Tassara, MP. 2000. Diversidad de invertebrados bentónicos del Río de la Plata. *Biología Acuática*. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/69062>
- Champely, S. 2020. pwr: Basic Functions for Power Analysis. R package version 1.3-0. <https://CRAN.R-project.org/package=pwr>
- Clark, SA. 2019. Cochliopidae Tryon, 1866. En: Lydeard, C; Cummings, KS (Eds.), *Freshwater Mollusks of the World: A Distribution Atlas*. JHU Press, Baltimore, 104-108 pp.
- Clark, SA; Miller, AC & Ponder, W. 2003. Revision Of The snail genus *Austropyrgus* (Gastropoda: Hydrobiidae): A morphostatic radiation of freshwater gastropods in southeastern Australia. *Records of the Australian Museum* 28: 1-109.
- Clavijo, C & Scarabino, F. 2013. Moluscos continentales. En: Soutullo, A; Clavijo, C; Martínez-Lanfranco, JA (Eds.). *Especies prioritarias para la conservación en Uruguay. Vertebrados, moluscos continentales y plantas vasculares*. SNAP / DINAMA / MVOTMA y DICYT / MEC, Montevideo. pp 222.
- Clavijo, C & Carranza, A. 2018. Critical reduction of the geographic distribution of *Cyanocyclas* (Cyrenidae: Bivalvia) in Uruguay. *Aquatic Conservation: Marine and Freshwater Ecosystems* 28(5): 1249-1252. <https://doi.org/10.1002/aqc.2941>
- Clavijo, C; Carranza, A; Scarabino, F & Soutullo, A. 2010. Conservation priorities for Uruguayan land and freshwater Molluscs. *Tentacle* 18: 14-16.
- Collado, GA. 2014. Out of New Zealand: molecular identification of the highly invasive freshwater mollusk *Potamopyrgus antipodarum* (Gray, 1843) in South America. *Zoological Studies*. 53: 1-70. <https://doi.org/10.1186/s40555-014-0070-y>
- Collado, GA; Aguayo, KP; Cazzaniga, NJ; Gutierrez Gregoric, DE; de Lucía, M & Haase, M. 2019. Systematic evaluation of cryptic freshwater snails from central Chile, including

- the enigmatic *Littoridina santiagensis* (Gastropoda, Truncatelloidea). *European Journal of Taxonomy* 524: 1-15. <https://doi.org/10.5852/ejt.2019.524>
- Collado, GA; Vidal, MA; Aguayo, KP; Méndez, MA; Valladares, MA; Cabrera, FJ;... & Puillandre, N. 2019. Morphological and molecular analysis of cryptic native and invasive freshwater snails in Chile. *Scientific Reports* 9: 1-11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-41279-x>
- Collado, GA; Torres-Díaz, C & Valladares, MA. 2021. Phylogeography and molecular species delimitation reveal cryptic diversity in *Potamolithus* (Caenogastropoda: Tateidae) of the southwest basin of the Andes. *Scientific Reports* 11: 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-94900-3>
- Cortelezzi, A; Rodriguez Capítulo, A; Boccardi, L & Arocena, R. 2007. Benthic assemblages of a temperate estuarine system in South America: transition from a freshwater to an estuarine zone. *Journal of Marine Systems* 68(3-4): 569-580. <https://doi.org/10.1016/j.jmarsys.2007.02.024>
- Coulaud, R; Mouthon, J; Quéau, H; Charles, S & Chaumot, A. 2013. Life-history phenology strongly influences population vulnerability to toxicants: A case study with the mudsnail *Potamopyrgus antipodarum*. *Environmental toxicology and chemistry* 32(8): 1727-1736. <https://doi.org/10.1002/etc.2235>
- Cowie, RH; Régnier, C; Fontaine, B & Bouchet, P. 2017. Measuring the Sixth Extinction: what do mollusks tell us? *The Nautilus* 131: 3-41.
- Cuezzo, MG. 2009. Mollusca Gastropoda. En: Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos, sistemática y biología. Domínguez, E; Fernández, H (Eds.). Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina. pp 595-654.
- Cuezzo, MG; Gutiérrez Gregoric, DE; Pointier, JP; Vázquez, AA; Ituarte, C; Mansur, MCD;... & Damborenea, C. 2020. Chapter 11 - Phylum Mollusca. En: Thorp and Covich's Freshwater Invertebrates (Fourth Edition). Rogers, DC; Damborenea, C; Thorp, J (Eds.), Academic Press, pp 261-430. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804225-0.00011-3>
- Cuttelod, A; Seddon, M & Neubert, E. 2011. European Red List of Non-marine Molluscs. Luxembourg: Publications Office of the European Union.
- Dalla Salda, L. 1981. El basamento de la isla Martín García. Río de La Plata. *Revista Asociación Geológica Argentina* 26: 29-43.

- Darriba, D; Taboada, GL; Doallo, R & Posada, D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature methods* 9(8): 772-772.
<https://doi.org/10.1038/nmeth.2109>
- Darrigran G. 1991. Aspectos ecológicos de la malacofauna litoral del Río de la Plata. República Argentina. Facultad de Ciencias Naturales y Museo. UNLP. Tesis Doctoral n° 563, 237 pp.
- Darrigran, G. 1995. Distribución de tres especies del género *Heleobia* Stimpson, 1865 (Gastropoda, Hydrobiidae) en el litoral argentino del Río de la Plata y arroyos afluentes. *Iheringia, Série Zoologia* 78: 3-8.
- Darrigran, G. 1999. Longitudinal distribution of molluscan communities in the Río de la Plata estuary as indicators of environmental conditions. *Malacological review* 8: 1-12.
- Darrigran, G. 2000. Invasive freshwater bivalves of the Neotropical region. *Dreissena* 11: 7-13.
- Darrigran, G. 2002. Potential impact of filter-feeding invaders on temperate inland freshwater environments. *Biological invasions* 4: 145-156.
- Darrigran, G. 2015. *Limnoperna fortunei*: ¿Un problema para los sistemas naturales de agua dulce del MERCOSUR? *Revista Museo* 85-87.
- Darrigran, G & Damborenea, C. 2005. A bioinvasion history in South America. *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), the golden mussel. *American Malacological Bulletin* 20:105-112.
- Darrigran, G & Damborenea, C. 2006. Bio-invasiones. En: Darrigran, G; Damborenea, C (Eds.). Bio-invasion del mejillón dorado en el continente americano. Edulp, La Plata. pp 220.
- Darrigran, G & Damborenea, C. 2011. Ecosystem engineering impact of *Limnoperna fortunei* in South America. *Zoological Science* 28: 1-7. <https://doi.org/10.2108/zsj.28.1>
- Darrigran, G & Ecurra de Drago, I. 2000. Invasion of the exotic freshwater mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia: Mytilidae) in South America. *The Nautilus* 114(2): 69-73.
- Darrigran, G & Lagreca, M. 2005. Moluscos Litorales del Estuario del Río de la Plata - Argentina. ProBiota, FCNyM, UNLP, Serie Técnica y Didáctica N° 8.
<http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/15863>

- Darrigran, G & López Armengol, MF. 1998. Distribución, estructura y composición de la malacofauna presentes en substrato duro de la costa argentina del Río de La Plata. *Gayana Zoología* 62: 79-89.
- Darrigran, G & Pastorino, G. 1993. Bivalvos invasores en el Río de la Plata, Argentina. *Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay* 7(64-65): 309-313.
- Darrigran, G & Pastorino, G. 2004. Distribution of the golden mussel *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857), (Bivalvia: Mytilidae) after 10 years invading America. *Journal of Conchology*, Special Publication 3: 95-102.
- Darrigran, G; Martín, SM; Gullo, B & Armendariz, L. 1998. Macroinvertebrates associated with *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) (Bivalvia, Mytilidae) in Río de la Plata, Argentina. *Hydrobiologia* 367: 223-230.
- Darrigran, G; Damborenea, C; Penchaszadeh, P & Taraborelli, C. 2003. Adjustments of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mytilidae) after ten years of invasion in the Americas. *Journal of Shellfish Research* 22: 141-146.
- Darrigran, G; Damborenea, C & Greco, N. 2007. Freshwater invasive bivalves in man-made environments: A case study of larvae biology of *Limnoperna fortunei* in a Hydroelectric Power Plant in South America. *AMBIO* 36(7):575-579.
- Darrigran, G; Damborenea, C; Drago, EC; Ezcurra de Drago, I; Paira, A & Archuby, F. 2012. Invasion process of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mytilidae): the case of Uruguay River and emissaries of the Esteros del Iberá Wetland, Argentina. *Zoologia (Curitiba)* 29(6): 531-539.
- Darrigran, G; Agudo-Padrón, I; Baez, P; Belz, C; Cardoso, F; Carranza, A;... & Damborenea, C. 2020. Non-native South American mollusks: emergent patterns in an understudied continent. *Biological Invasions* 22(3): 853-871.
<https://doi.org/10.1007/s10530-019-02178-4>
- Davis, GM; Kitikoon, V & Temcharoen, P. 1976. Monograph on "*Lithoglyphopsis*" *aperta*, the snail host of Mekong River schistosomiasis. *Malacologia* 15: 241-287.
- Davis, GM & Silva, MCPDa. 1984. *Potamolithus*: morfology, convergence, and relationships among Hydrobioid snails. *Malacologia* 25: 73-108.
- Davis, GM; Rao, NS & Hoagland, KE. 1986. In search of *Tricula* (Gastropoda: Prosobranchia): *Tricula* defined, and a new genus described. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 138: 426-442.

- <https://www.jstor.org/stable/4064915>
- Dayrat, B; Tillier, A; Lecointre, G & Tillier, S. 2001. New clades of euthyneuran gastropods (Mollusca) from 28S rRNA sequences. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 19(2): 225-235. <https://doi.org/10.1006/mpev.2001.0926>
- de Lucía, M & Gutiérrez Gregoric, DE. 2017a. Redescrición de *Potamolithus supersulcatus* Pilsbry, 1896 (Gastropoda, Tateidae) del sur de la Cuenca Del Plata. *Papéis Avulsos de Zoologia* 57: 207-219. <https://doi.org/10.11606/0031-1049.2017.57.17>
- de Lucía, M & Gutiérrez Gregoric, DE. 2017b. The genus *Potamolithus* Pilsbry, 1896 (Gastropoda: Tateidae) on the Somuncura plateau, Patagonia, Argentina. *Molluscan Research* 37: 202-211. <https://doi.org/10.1080/13235818.2017.1279476>
- de Lucía, M & Gutiérrez Gregoric, DE. 2019. Análisis conquiológica, anatómico y molecular de dos especies del género *Potamolithus*, en la Isla Martín García (Argentina). *Boletín de la Asociación Argentina de Malacología* 9(2): 14-17.
<http://malacoargentina.com.ar/blog/wp-content/uploads/2019/12/Volumen-9-n%C3%BAmero-2-2019.pdf>
- de Lucía, M & Gutiérrez Gregoric, DE. 2020. *Potamolithus* spp. in the Argentine Pampas. *Tentacle* 28: 15-17. https://www.hawaii.edu/cowielab/Tentacle/Tentacle_28.pdf
- de Lucía, M; Gonçalves, ICB; Santos, SB; Collado, G & Gutiérrez Gregoric, DE. 2021. Phylogenetic and morphological study of the genus *Potamolithus* (Truncatelloidea: Tateidae) in hotspots of diversity at the Paranaense Forest, Argentina, with the addition of six new species. *Zoologischer Anzeiger* 292: 92-110.
<https://doi.org/10.1016/j.jcz.2021.03.003>
- de Mendiburu, F. 2020. agricolae: Statistical Procedures for Agricultural Research. R package version 1.3-3. <https://CRAN.R-project.org/package=agricolae>
- Díaz, G & Ojeda, RA. 2000. Libro Rojo de los mamíferos amenazados de Argentina. Sociedad Argentina para el Estudio de los Mamíferos (SAREM), Mendoza. 106 pp.
- Díaz, AC; Guillén, C & Suárez Chávez, KL. 2017. Riqueza malacológica en distintos ambientes de la Reserva Natural Integral Punta Lara, provincia de Buenos Aires, Argentina. VII Jornada de Jóvenes Investigadores y Extensionistas. Libro de resúmenes, pág. 100.

- d'Orbigny, A. 1835. Terrestrium et fluviatilium molluscorum in suo per Americam meridionalem itinere. Ab. A. d'Orbigny, collectorum. *Magasin de Zoologie*. Class V. 62: 23-44.
- d'Orbigny, A. 1940. Voyage dans L'Amérique Méridionale. Tome Cinquième. 3rd Part: Mollusques, Paris, pp. 377-408.
- Dudgeon, D. 2020. Freshwater biodiversity: Status, threats and conservation. *Cambridge University Press*.
- Dudgeon, D; Arthington, AH; Gessner, MO; Kawabata, ZI; Knowler, DJ; Lévêque, C; Naiman, RJ; Prieur-Richard, AH; Soto, D; Stiassny, MLJ & Sullivan, CA. 2006. Freshwater biodiversity: importance, threats, status and conservation challenges. *Biological Reviews* 81: 163-182. <https://doi.org/10.1017/S1464793105006950>
- Felsenstein, J. 1981. Evolutionary trees from DNA sequences: a maximum likelihood approach. *Journal of Molecular Evolution* 17: 368-376.
- Fernández, D. 1981a. Fauna de agua dulce de la República Argentina. Mollusca, Gasterópoda, Physidae. PROFADU (CONICET), Buenos Aires. 15(6): 83-98.
- Fernández, D. 1981b. Fauna de agua dulce de la República Argentina. Mollusca, Gasterópoda, Ancyliidae. PROFADU (CONICET), Buenos Aires. 15(7): 99-114.
- Ferraz, JD; Gois, MV; Yabu, MHS; Garcia, DAZ; Marques, ACV; Casimiro, ACR; Vidotto-Magnoni AP & Orsi, ML. 2021. Malacofauna bentônica do Lago Igapó, Londrina (Paraná, Brasil), com ênfase na espécie invasora mexilhão-dourado *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857). *Semina: Ciências Biológicas e da Saúde* 42: 3-14. <https://doi.org/10.5433/1679-0367.2021v42n1p3>
- Folmer, O; Black, M; Hoeh, W; Lutz, R; Vrijenhoek, R. 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology* 3: 294-299.
- Fontaneto, D; Flot, JF & Tang, CQ. 2015. Guidelines for DNA taxonomy, with a focus on the meiofauna. *Marine Biodiversity* 45(3): 433-451. <https://doi.org/10.1007/s12526-015-0319-7>
- Formica Corsi, A. 1900. Moluscos de la República Oriental del Uruguay. *Anales del Museo Nacional de Montevideo* 2: 291-361.
- Frauenfeld, GR. 1865. Zoologische Miscellen, V, in: Veshandlungen der K. K. zoologisch-botanischen Gesellschaft in Wien, XV.

- FREPLATA. 2005. Análisis Diagnóstico Transfronterizo del Río de la Plata y su Frente Marítimo. Documento Técnico. Proyecto Protección Ambiental del Río de la Plata y su Frente Marítimo. Proyecto PNUD/GEF/RLA/99/G31
- Frick, WF; Reynolds, DS & Kunz, TH. 2010. Influence of climate and reproductive timing on demography of little brown myotis *Myotis lucifugus*. *Journal of Animal Ecology* 79: 128-136. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2656.2009.01615.x>
- Fujisawa, T & Barraclough, TG. 2013. Delimiting species using single-locus data and the Generalized Mixed Yule Coalescent (GMYC) approach: a revised method and evaluation on simulated datasets. *Systematic Biology* 62(5): 707-724. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syt033>
- Fundación Vida Silvestre. 2014. El desafío de las Reservas Naturales Urbanas. https://www.vidasilvestre.org.ar/sala_redaccion/noticias/vsol/?9112
- Gaillard, MC. 1974. Una nueva *Littoridina* de albufera. *Netrópica* 20(62): 104-106.
- Gaillard, MC & Castellanos, ZJA. 1976. Fauna de agua dulce de la República Argentina. Mollusca, Gasterópoda, Hydrobidae. PROFADU (CONICET), Buenos Aires. 15(2): 1-40.
- García Fernández, J; Ojeda, RA; Fraga, RM; Diaz, GB & Baigun, RJ. 1997. Libro Rojo de los Mamíferos y Aves Amenazados de Argentina. FUCEMA, Parques Nacionales, Buenos Aires. 221 pp.
- Gray, J. 1988. Evolution of the freshwater ecosystem: The fossil record. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 62: 1-214. [https://doi.org/10.1016/0031-0182\(88\)90054-5](https://doi.org/10.1016/0031-0182(88)90054-5)
- Guerrero, EL. 2019. Los opiliones (Arachnida: Opiliones) de las áreas protegidas de la provincia de Buenos Aires y la Ciudad Autónoma de Buenos Aires, Argentina. *Revista de la Sociedad Entomológica Argentina* 78(4): 4-13. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=322060737002>
- Guindon, S; Dufayard, JF; Lefort, V; Anisimova, M; Hordijk, W & Gascuel, O. 2010. New Algorithms and methods to Estimate maximum-Likelihood Phylogenies: Assessing the performance of PhyML 3.0. *Systematic Biology* 59: 307-321. <https://doi.org/10.1093/sysbio/syq010>
- Gutiérrez Gregoric, DE. 2008. Estudios morfoanatómicos y tendencias poblacionales en especies de la familia Chiliniidae Dall, 1870 (Mollusca: Gastropoda) en la Cuenca Del

- Plata. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Argentina. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/4375>
- Gutiérrez Gregoric, DE. 2010. Redescription of two endemic species of Chiliniidae (Gastropoda: Basommatophora) from Del Plata Basin (South America). *Journal of Conchology* 40: 321-332.
- Gutiérrez Gregoric, DE. 2019. Chiliniidae Dall, 1870. En: Lydeard, C.; Cummings, K.S. (Eds.), *Freshwater Mollusks of the World: A Distribution Atlas*. JHU Press, Baltimore, pp. 150-154.
- Gutiérrez Gregoric, DE. 2020. Phylum Mollusca, Chilinoidea, Chiliniidae. En: Thorp and Covich's *Freshwater Invertebrates (Fourth Edition)*. Rogers, DC; Damborenea, C; Thorp, J (Eds.). Academic Press, 5: 295-301.
- Gutiérrez Gregoric, DE & Rumi, A. 2008. *Chilina iguazuensis* (Gastropoda: Chiliniidae), new species from Iguazú National Park, Argentina. *Malacologia* 50: 321-330.
- Gutiérrez Gregoric, DE & Núñez, V. 2010. Método de colección de moluscos: gasterópodos continentales. División Zoología Invertebrados, FCNyM-UNLP, Serie Didáctica N° 1.
- Gutiérrez Gregoric, DE & de Lucía, M. 2016. Freshwater gastropods diversity hotspots: three new species from the Uruguay River (South America). *PeerJ* 4:e2138. <https://doi.org/10.7717/peerj.2138>
- Gutiérrez Gregoric, DE; Núñez, V & Rumi, A. 2010. Populational studies in a endemic gastropod species of waterfalls environment. *American Malacological Bulletin* 28(1-2): 159-165. <https://doi.org/10.4003/006.028.0210>
- Gutiérrez Gregoric, DE; Núñez, V & Rumi, A. 2012. Population Dynamics of Freshwater Gastropod *Chilina fluminea* (Chiliniidae) in a Temperate Climate Environment in Argentina. *The Veliger* 51(3):109-116.
- Gutiérrez Gregoric, DE; Beltramino, A; Vogler, RE; Cuezco, MG; Núñez, V; Gomez, S; Virgillito, M & Miquel, SE. 2013. First records of four exotic slugs in Argentina. *American Malacological Bulletin* 31: 245-256. <https://doi.org/10.4003/006.031.0204>
- Gutiérrez Gregoric, DE; Ciocco, NF; Rumi, A. 2014. Two new species of *Chilina* Gray from Cuyo malacological province, Argentina. (Gastropoda: Hygrophila: Chiliniidae). *Molluscan Research* 34: 84-97. <https://doi.org/10.1080/13235818.2013.866184>

- Hamada, K; Tatara, Y & Urabe, M. 2013. Survey of mitochondrial DNA haplotypes of *Potamopyrgus antipodarum* (Caenogastropoda: Hydrobiidae) introduced into Japan. *Limnology* 14: 223-228. <https://doi.org/10.1007/s10201-013-0405-0>
- Hershler, R & Landye, J. 1988. Arizona Hydrobiidae (Prosobranchia: Rissoacea). *Smithsonian Contributions to Zoology* 459: 1-63.
- Hershler, R & Ponder, WF. 1998. A review of morphological characters of hydrobioid snails. *Smithsonian Contributions to Zoology* 600: 1-55.
- Holznagel, WE. 1998. A non destructive method for cleaning gastropod radulae from frozen, alcohol-fixed, or dried material. *American Malacological Bulletin* 14: 181-183.
- Ituarte, CF. 1981. Primera noticia acerca de la introducción de pelecípodos asiáticos en el área rioplatense (Mollusca: Corbiculidae). *Neotropica* 27(77): 79-82.
- Ituarte, C. 2007. Las especies de *Pisidium* Pfeiffer de Argentina, Bolivia, Chile, Perú y Uruguay (Bivalvia-Sphaeriidae). *Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales nueva serie* 9(2): 169-203.
- Ituarte, C. 2009. Mollusca: Bivalvia. En: Macroinvertebrados bentónicos sudamericanos. Sistemática y biología. Dominguez, E; Fernandez, R. (Eds.) Fundación Miguel Lillo, Tucumán, Argentina. 567-594 pp.
- Jankowski, S. 2021. MultNonParam: Multivariate Nonparametric Methods. R package version 1.3.5. <https://CRAN.R-project.org/package=MultNonParam>
- Johnson, PD; Bogan, AE; Brown, KM; Burkhead, NM; Cordeiro, JR; Garner, JT;... & Strong, EE. 2013. Conservation status of freshwater gastropods of Canada and the United States. *Fisheries* 38(6): 247-282. <https://doi.org/10.1080/03632415.2013.785396>
- Kantor, YI; Strong, EE & Puillandre, N. 2012. A new lineage of Conoidea (Gastropoda: Neogastropoda) revealed by morphological and molecular data. *Journal of Molluscan Studies* 78(3): 246-255. <https://doi.org/10.1093/mollus/ey007>
- Kapli, P; Lutteropp, S; Zhang, J; Kobert, K; Pavlidis, P; Stamatakis, A & Flouri, T. 2017. Multi-rate Poisson tree processes for single-locus species delimitation under maximum likelihood and Markov chain Monte Carlo. *Bioinformatics* 33(11): 1630-1638. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btx025>
- Karkach, A. 2006. Trajectories and models of individual growth. *Demographic Research* 15: 347-400. <http://www.jstor.org/stable/26347916>

- Koch, E; Martín, SM & Ciocco, NF. 2015. A molecular contribution to the controversial taxonomical status of some freshwater snails (Caenogastropoda: Rissooidea, Cochliopidae) from the Central Andes desert to Patagonia. *Iheringia Série Zoologia* 105: 69-75. <https://doi.org/10.1590/1678-4766201510516975>
- Kumar, S; Stecher, G; Li, M; Knyaz, C & Tamura, K. 2018. MEGA X: molecular evolutionary genetics analysis across computing platforms. *Molecular Biology and Evolution* 35: 1547-1549. <https://doi.org/10.1093/molbev/msy096>.
- Landoni, NA. 1992. Inventario de los moluscos de agua dulce de la provincia de Buenos Aires. CIC, Buenos Aires.
- Larkin, MA; Blackshields, G; Brown, NP; Chenna, R; McGettigan, PA; McWilliam, H;... & Higgins, DG. 2007. Clustal W and Clustal X version 2.0. *Bioinformatics* 23: 2947-2948. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btm404>
- Lefort, V; Longueville, JE & Gascuel, O. 2017. SMS: Smart Model Selection in PhyML, *Molecular Biology and Evolution* 34(9): 2422-2424. <https://doi.org/10.1093/molbev/msx149>
- Leturia, MF & Nugoli, SC. 2016. La contaminación por hidrocarburos. *Anales de la Facultad de Ciencias Jurídicas y Sociales*, 13.
- López Armengol, MF. 1985. Estudio sistemático y bioecológico del género *Potamolithus* (Hydrobiidae) utilizando técnicas de taxonomía numérica. Tesis Doctoral N° 455, Facultad Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata. Argentina.
- López Armengol, MF. 1996. Taxonomic revision of *Potamolithus agapetus* Pilsbry, 1911 and *Potamolithus buschii* (Frauenfeld, 1865) (Gastropoda: Hydrobiidae). *Malacologia* 38: 1-17.
- López Armengol, MF & Darrigran, G. 1998. Distribución del género Neotropical *Potamolithus* Pilsbry y Rush, 1896 (Gastropoda: Hydrobiidae) en el estuario del Río de la Plata. *Iberus* 16 (2): 67-74.
- López Armengol, MF & Martorelli, SR. 1997. A new larval trematode (Haploporidae) in the hydrobiid snail *Potamolithus agapetus* Pilsbry, 1911: prevalence, intensity, distribution, and the effects on the snail morphology. *Neotropica* 43: 99-99.
- Lydeard, C & Cummings, KS. 2019. Introduction and Overview. En: Lydeard, C; Cummings, KS (Eds.), *Freshwater Mollusks of the World: A Distribution Atlas*. JHU Press, Baltimore, 1-6 pp.

- Lydeard, C; Cowie, RH; Ponder, WF; Bogan, AE; Bouchet, P; Clark, SA;... & Thompson, FG. 2004. The global decline of nonmarine mollusks. *BioScience* 54(4): 321-330.
[https://doi.org/10.1641/0006-3568\(2004\)054\[0321:TGDONM\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1641/0006-3568(2004)054[0321:TGDONM]2.0.CO;2)
- Mansur, MCD; Santos, CPD; Darrigran, G; Heydrich, I; Callil, CT & Cardoso, FR. 2003. Primeiros dados quali-quantitativos do mexilhão-dourado, *Limnoperna fortunei* (Dunker), no Delta do Jacuí, no Lago Guaíba e na Laguna dos Patos, Rio Grande do Sul, Brasil e alguns aspectos de sua invasão no novo ambiente. *Revista Brasileira de Zoologia* 20: 75-84.
- Marcomini, SC & López, RA. 2004. Generación de nuevos ecosistemas litorales por albardones de relleno en la costa de la ciudad de Buenos Aires. *Revista de la Asociación Geológica Argentina* 59(2): 261-272.
- Martín, PR. 2002. Evidence for parthenogenesis and natural imposex in the Patagonian freshwater snail *Heleobia hatcheri* (Gastropoda: Hydrobiidae). *Journal of Molluscan Studies* 68(3): 291-295. <https://doi.org/10.1093/mollus/68.3.291>
- Martín, SM. 2008. Individual growth of *Heleobia piscium* in natural populations (Gastropoda: Cochliopidae) from the multiple use natural Reserve Isla Martín García, Buenos Aires, Argentina. *Brazilian Journal of Biology* 68: 617-621.
<https://doi.org/10.1590/S1519-69842008000300020>
- Martín, SM & Darrigran, GA. 1994. *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) en el balneario Bagliardi, Río de la Plata. Alteración en la composición de la malacofauna litoral. I Congreso y III Reunión Argentina de Limnología. 164-166.
- Martín, SM & Negrete, LHL. 2006. Primer registro de *Heleobia guaranitica* (Doering, 1884) (Gastropoda: Cochliopidae) en la reserva natural de usos múltiples "Isla Martín García". *Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay* 9(89): 71-73.
- Martorelli, SR. 1994. Una nueva cercaria de tipo cystophorous (Digenea, Hemiuriformes) en *Potamolithus agapetus* (Mollusca, Hydrobiidae): comportamiento de atracción del hospedador. *Iheringia, Série Zoologia* 76: 15-19.
- MAyDS & AA (Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sustentable & Aves Argentina). 2017. Categorización de las Aves de la Argentina (2015). Informe del Ministerio de Ambiente y Desarrollo Sustentable de la Nación y de Aves Argentinas, edición electrónica. C. A. Buenos Aires, Argentina. 146 pp.

- Mittermeier, RA; Turner, WR; Larsen, FW; Brooks, TM & Gascon, C. 2011. Global biodiversity conservation: the critical role of hotspots. En: Zachos, FE; Habel, JC (Eds.). Biodiversity hotspots: distribution and protection of conservation priority areas. Springer Science & Business Media. Heidelberg Dordrecht London New York, pp. 3-22. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-20992-5>
- Miquel, SE. 1986. El ciclo de vida y la evolución gonadal de *Chilina fluminea fluminea* (Maton, 1809) (Gastropoda; Basommatophora; Chiliniidae). *Neotropica* 32: 23-34.
- Neubauer, TA & Georgopoulou, E. 2021. Extinction risk is linked to lifestyle in freshwater gastropods. *Diversity and Distributions*. <https://doi.org/10.1111/ddi.13404>
- Núñez, V. 2010. Differences on allocation of available resources, in growth, reproduction, and survival, in an exotic gastropod of Physidae compared to an endemic one. *Iheringia, Série Zoologia* 100: 275-279. <https://doi.org/10.1590/S0073-47212010000300014>
- Núñez, V. 2011. Revisión de dos especies de Physidae. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 82: 93-108.
- Núñez, V. 2017. Redescription of *Potamolithus paranensis* (Pilsbry, 1911) and *Potamolithus simplex* (Pilsbry, 1911) (Gastropoda: Tateidae). *Molluscan Research* 37; 17-30. <https://doi.org/10.1080/13235818.2016.1201038>.
- Núñez, V; Gutiérrez Gregoric, DE & Rumi, A. 2010. Freshwater gastropod provinces from Argentina. *Malacologia* 53: 47-60. <https://doi.org/10.4002/040.053.0103>
- Ojeda, RA; Chillo, V & Díaz Isenrath, GB. 2012. Libro rojo de mamíferos amenazados de la Argentina. Sociedad Argentina para el Estudio de los Mamíferos. 257pp.
- Oliveira, MD; Campos, MC; Paolucci, EM; Mansur, MC & Hamilton, SK. 2015. Colonization and spread of *Limnoperna fortunei* in South America. En: *Limnoperna fortunei* (pp. 333-355). Springer, Cham.
- Ovando XMC & Gutiérrez Gregoric, DE. 2012. Systematic Revision of *Chilina* Gray (Gastropoda: Pulmonata) from Northwestern Argentina and Description of a New Species. *Malacologia* 55: 117-134. <https://doi.org/10.4002/040.055.0108>
- Ovando, XMC; Macedo de Lacerda, LE & Santos, SB. 2014. Taxonomy, morphology and distribution of Ancylineae (Gastropoda: Pulmonata: Planorbidae) in Argentina. *Journal of Conchology* 41: 707-730.

- Palumbi, SR. 1996. Nucleic acids II: the polymerase chain reaction. *Molecular systematics* 205-247.
- Paraense, L & Deslandes, N. 1958. The brazilian species of “*Drepanotrema*”, IV, “*D. cimex*” (Moricand, 1837). *Brazilian Journal of Biological Sciences* 18(2): 187-192.
- Pastorino, G & Darrigan, G. 2011. The IUCN Red List of Threatened Species 2011. Acceso 04/02/2020
- Pastorino, G & Darrigan, G. 2012. The IUCN Red List of Threatened Species 2012. Acceso 04/02/2020.
- Pastorino, G & Darrigan, G. 2015. The IUCN Red List of Threatened Species 2015. Acceso 04/02/2020.
- Pastorino, G; Darrigran, G; Martín, SM & Lunaschi, L. 1993. *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1875) (Mytilidae), nuevo bivalvo invasor en aguas del Río de la Plata. *Neotrópica* 39(101-102): 34.
- Pastorino, G; Penchaszadeh, P; Schejter, L & Bremec, CS. 2000. *Rapana venosa* (Valenciennes, 1846) (Mollusca: Muricidae): A new gastropod in South Atlantic waters. *Journal of Shellfish Research* 19(2): 897-899.
- Parodiz, JJ. 1951. Metodos de conchiliometria. *Physis* 20: 241-248.
- Parodiz, JJ. 1965. The hydrobid snails of the genus *Potamolithus* (Mesogastropoda: Rissoacea). *Sterkiana* 20: 1-38.
- Pazos, RS; Suárez, JC & Gómez, N. 2020. Study of the plastisphere: biofilm development and presence of faecal indicator bacteria on microplastics from the Río de la Plata estuary. *Revista Ecosistemas* 29(3): 2069.
- Pilsbry, HA. 1896. Notes on new species of Amnicolidae collected by Dr. Rush in Uruguay. *Nautilus* 10(8): 86-89.
- Pilsbry, HA. 1899. *Potamolithus jacuhyensis* n. sp. *Nautilus* 12: 112-113.
- Pilsbry, HA. 1911. Non-marine Mollusca of Patagonia. In: Scott, W.B. (Ed.), Reports of the Princeton University Expeditions to Patagonia 1896-1899, vol. 3. Princeton University, USA, Princeton, NJ, pp. 513-633. Zoology, Part V.
- Pilsbry, HA. 1924. South American land and freshwater Mollusks: Notes and descriptions. I. Mollusks of lake Titicaca. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 76: 49-54.

- Pilsbry, HA. 1925. South American land and freshwater Mollusks: Notes and descriptions. V. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 77: 311-315.
- Plorin, GG & Gilbertson, DE. 1984. Equations for describing growth of the schistosome host snail *Biomphalaria glabrata*. *The Journal of Parasitology* 70: 43-47.
<https://doi.org/10.2307/3281923>
- Ponder, W. 1988. *Potamopyrgus antipodarum*, a molluscan colonizer of Europe and Australia. *Journal of Molluscan Studies* 54: 271-286.
<https://doi.org/10.1093/mollus/54.3.271>
- Ponder, W. 2019. Tateidae Thiele, 1925. En: Lydeard, C; Cummings, KS (Eds.), *Freshwater Mollusks of the World: A Distribution Atlas*. JHU Press, Baltimore, 134-138 pp.
- Ponder, W; Colgan, DJ & Clark, GA. 1991. The morphology, taxonomy and genetic-structure of *Tatea* (Mollusca, Gastropoda, Hydrobiidae), estuarine snails from temperate Australia. *Australian Journal of Zoology* 39(4): 447-497.
<https://doi.org/10.1071/ZO9910447>
- Ponder, W; Hallan, A; Shea, ME; Clark, SA; Richards, K; Klunzinger, MW & Kessner, V. 2020. *Australian Freshwater Molluscs* (Revision 1)
https://keys.lucidcentral.org/keys/v3/freshwater_molluscs/
- Pons, J; Barraclough, TG; Gomez-Zurita, J; Cardoso, A; Duran, DP; Hazell, S; Kamoun, S; Sumlin, WD & Vogler, AP. 2006. Sequence-based species delimitation for the DNA taxonomy of undescribed insects. *Systematic Biology* 55(4): 595-609.
<https://doi.org/10.1080/10635150600852011>
- Puillandre, N; Lambert, A; Brouillet, S & Achaz, G. 2012. ABGD, Automatic Barcode Gap Discovery for primary species delimitation. *Molecular Ecology* 21(8): 1864-1877.
<https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.2011.05239.x>
- Puillandre, N; Brouillet, S & Achaz, G. 2021. ASAP: Assemble Species by Automatic Partitioning. *Molecular Ecology Resources* 21(2): 609-620. <https://doi.org/10.1111/1755-0998.13281>
- Pujadas, JM; Farber, M; Pointier, JP; Giudici, C; Wisnivesky, C & Prepelitchi, L. 2015. New record for *Galba neotropica* (d'Orbigny, 1835) in Argentina, with a detailed analysis of its morphology and molecular characteristics. *Molluscan Research* 35(3): 153-160.
<https://doi.org/10.1080/13235818.2015.1044925>

- Purty, RS & Chatterjee, S. 2016. DNA Barcoding: An Effective Technique in Molecular Taxonomy. *Austin Journal of Biotechnology & Bioengineering* 3: 1059.
- Pyron, M & Brown, KM. 2015. Introduction to Mollusca and the class Gastropoda. En: Thorp, JH; Rogers, DC (Eds.). *Thorp and Covich's freshwater invertebrates: Ecology and general biology*. Elsevier 1: 383-421.
- Quijón, P; Contreras, H & Jaramillo, E. 2001. Population biology of the intertidal snail *Chilina ovalis* Sowerby (Pulmonata) in the Queule River Estuary, South-Central Chile. *Estuaries* 24: 69-77.
- R Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL <https://www.R-project.org/>
- Rambaut, A. 2012. FigTree v1.4. Institute of Evolutionary Biology, University of Edinburgh <http://tree.bio.ed.ac.uk/software/figtree/>
- Rannala, B & Yang, Z. 2020. Species Delimitation. En: Scornavacca, C; Delsuc, F; Galtier, N (Eds.). *Phylogenetics in the Genomic Era*. Chapter 5.5: 1-18 pp. <https://hal.inria.fr/PGE>
- Ravizza, GB. 1984. Principales aspectos geológicos del Cuaternario en la Isla Martín García, Río de la Plata superior. *Revista de la Asociación Geológica Argentina* 39(1-2): 125-130.
- Reshaid, Y; Cao, L; Brea, F; Blanche, MO, Torres, S & Darrigran, G. 2017. Variation in the distribution of *Corbicula* species (Mollusca: Bivalvia: Corbiculidae) after 25 years of its introduction in the Río de la Plata, Argentina. *Zoologia* 34:1-6. <https://doi.org/10.3897/zoologia.34.e22181>
- Rigalli, A; Lupo, M; Chulibert, ME; Lombarte, M & Lupión, P. 2019. Uso de herramientas informáticas para la recopilación, análisis e interpretación de datos de interés en las ciencias biomédicas: estadística básica con R. Libro digital. ISBN 978-987-86-0205-9
- Robertson, TB. 1923. *The chemical basis of growth and senescence*. JB. Lippincott Company. Philadelphia.
- Roesler, I & Agostini, MG. 2012. Inventario de los Vertebrados de la Reserva Natural Punta Lara, provincia de Buenos Aires, Argentina. *Temas de Naturaleza y Conservación, Monografía de Aves Argentinas N° 8*. Buenos Aires, Argentina.
- Rodriguez Capítulo, A; Ocón, CS; Tangorra, M; Paggi, AC; Cortelezzi, A & Spaccesi, FG. 2003. Estudios zoobentónicos recientes en el Río de la Plata. *Biología Acuática* 21: 19-30.

- Ronquist, F; Teslenko, M, Van Der Mark, P; Ayres, DL; Darling, A; Hohna, S;... & Huelsenbeck, JP. 2012. MrBayes 3.2: efficient bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* 61: 539-542.
<https://doi.org/10.1093/sysbio/sys029>
- Rumi, A. 1991. Fauna de agua dulce de la República Argentina. Mollusca, Gasterópoda, Planorbidae. PROFADU (CONICET), Buenos Aires. 15(8): 1-51.
- Rumi, A; Martín, SM; Tassara, M & Darrigran, G. 1996. Moluscos de agua dulce de la Reserva Natural e Histórica Isla Martín García, Río de la Plata, Argentina. *Comunicaciones de la Sociedad Malacológica del Uruguay* 8(70-71): 7-12.
- Rumi, A; Gutiérrez Gregoric, DE; Núñez, V; Cesar, II; Roche, MA; Tassara, MP; Martín, SM & López Armengol, MF. 2006. Freshwater Gastropoda from Argentina: species richness, distribution patterns, and an evaluation of endangered species. *Malacologia* 49: 189-208.
- Rumi, A; Gutiérrez Gregoric, DE & Roche, MA. 2007. Growth rate fitting using the von Bertalanffy model: analysis of natural populations of *Drepanotrema* spp. snails (Gastropoda: Planorbidae). *Revista de Biología Tropical* 55(2): 559-567.
<https://doi.org/10.15517/rbt.v55i2.6031>
- Rumi, A; Gutiérrez Gregoric, DE; Núñez, V & Darrigran, G. 2008. Malacología latinoamericana. Moluscos de agua dulce de la República Argentina. *Revista de Biología Tropical* 56: 77-111.
- Saadi, AJ; Davison, A & Wade, CM. 2020. Molecular phylogeny of freshwater snails and limpets (Panpulmonata: Hygrophila). *Zoological Journal of the Linnean Society* 190(2): 518-531. <https://doi.org/10.1093/zoolinlean/zlz177>
- Saitou, N & Nei, M. 1987. The Neighbor-Joining Method: A new method for reconstructing phylogenetic trees. *Molecular Biology and Evolution* 4(4): 406-425
<https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a040454>
- Salafsky, N; Salzer, D; Stattersfield, AJ; Hilton-Taylor, C; Neugarten, R; Butchart, SH;... & Wilkie, D. 2008. A standard lexicon for biodiversity conservation: unified classifications of threats and actions. *Conservation Biology* 22(4): 897-911.
<https://doi.org/10.1111/j.1523-1739.2008.00937.x>
- Santos, SB. 2003. Estado actual do conhecimento dos ancilídeos na América do Sul (Mollusca: Gastropoda: Pulmonata: Basomatophora). *Revista de Biologia Tropical* 51(3): 191-224.

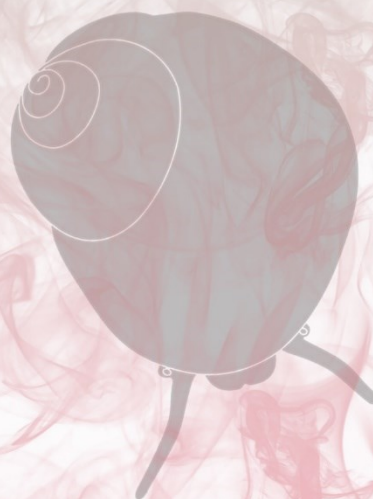
- Schreiber, ESG; Glaister, A; Quinn, GP & Lake, PS. 1998. Life history and population dynamics of the exotic snail *Potamopyrgus antipodarum* (Prosobranchia: Hydrobiidae) in Lake Purrumbete, Victoria, Australia. *Marine and Freshwater Research* 49: 73-78. <https://doi.org/10.1071/MF97113>
- Shimada, K & Urabe, M. 2003. Comparative ecology of the alien freshwater snail *Potamopyrgus antipodarum* and the indigenous snail *Semisulcospira* spp. *Venus* 62: 39-53.
- Silva, MCP Da. 2003. Hydrobiidae (Gastropoda, Neotaenioglossa, Risssooidea) da planície costeira do Rio Grande do Sul, Brasil. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Instituto de Biociências, Porto Alegre.
- Silva, MCP Da & Davis, GM. 1983. d'Orbigny's Type Specimens of *Paludestrina* (Gastropoda: Prosobranchia) from Southern South America. *Proceedings of the Academy of Natural Sciences of Philadelphia* 135: 128-146. <http://www.jstor.org/stable/4064799>
- Silva, MCP Da & Veitenheimer-Mendes, IL. 2004. Redescricao de *Potamolithus catharinae* combase em topotipos (Gastropoda, Hydrobiidae), rio Hercílio, Santa Catarina, Brasil. *Iheringia Série Zoologia* 94: 83-88. <https://doi.org/10.1590/S0073-47212004000100015>
- Silva, I; Naya, D; de Mello, FT; D'Anatro, A; Tesitore, G; Clavijo, C & González-Bergonzoni, I. 2020. Fish vs. Aliens: predatory fish regulate populations of *Limnoperna fortunei* mitigating impacts on native macroinvertebrate communities. *Hydrobiologia* 848: 2281–2301. <https://doi.org/10.1007/s10750-020-04421-9>
- Simon, C. 1991. Molecular systematics at the species boundary: exploiting conserved and variable regions of the mitochondrial genome of animals via direct sequencing from amplified DNA. In *Molecular techniques in taxonomy* (pp. 33-71). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Simon, C; Frati, F; Beckenbach, A; Crespi, B; Liu, H & Flook, P. 1994. Evolution, Weighting, and Phylogenetic Utility of Mitochondrial Gene Sequences and a Compilation of Conserved Polymerase Chain Reaction Primers. *Annals of the entomological Society of America* 87(6): 651-701. <https://doi.org/10.1093/aesa/87.6.651>
- Simone, LRL. 2021. Freshwater micro-gastropods from the Iguaçu National Park, Brazil: two new truncatelloid caenogastropods and anatomy of *Chilina megastoma* Hylton Scott, 1958 (Gastropoda: Hygrophila: Chiliniidae). *Folia Malacologica* 29: 13-32. <https://doi.org/10.12657/folmal.029.002>

- Simone, LRL & Moracchioli, N. 1994. Hydrobiidae (Gastropoda: Hydrobioidea) from the Ribeira valley, SE Brazil, with descriptions of two new cavernicolous species. *Journal of Molluscan Studies* 60: 445-459. <https://doi.org/10.1093/mollus/60.4.445>
- Spaccesi, FG. 2015. Composición y estructura de la fauna de invertebrados bentónicos sobre substratos duros y blandos en la Cuenca del Plata. Tesis Doctoral. Facultad de Ciencias Naturales y Museo, Universidad Nacional de La Plata, Argentina. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/49807>
- Spaccesi, FG & Rodrigues Capítulo, A. 2012. Benthic communities on hard substrates covered by *Limnoperna fortunei* Dunker (Bivalvia, Mytilidae) at an estuarine beach (Río de la Plata, Argentina). *Journal of Limnology* 71:144-153.
- Strobel, P. 1874. Materiali per una malacostatica di terra e di acqua dolce dell'Argentina Meridionale. *Biblioteca Malacologica* 4: 59-61.
- Strong, EE; Gargominy, O; Ponder, W & Bouchet, P. 2008. Global diversity of gastropods (Gastropoda; Mollusca) in freshwater. *Hydrobiologia* 595: 149-166. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-9012-6>
- Sylvester, F & Sardiña, P. 2015. Relationships of *Limnoperna fortunei* with Benthic Animals. En: D. Boltovskoy (edS.), *Limnoperna fortunei*, Invading Nature - Springer Series in Invasion Ecology 10, Springer International Publishing Switzerland.
- Sylvester, F; Boltovskoy, D & Cataldo, D. 2007. The invasive bivalve *Limnoperna fortunei* enhances benthic invertebrate densities in South American floodplain rivers. *Hydrobiologia* 589: 15-27. <https://doi.org/10.1007/s10750-007-0708-4>
- Taylor, DW. 1988. Aspects of freshwater mollusc ecological biogeography. *Palaeogeography, Palaeoclimatology, Palaeoecology* 62: 511-576. [https://doi.org/10.1016/0031-0182\(88\)90071-5](https://doi.org/10.1016/0031-0182(88)90071-5)
- Torres, S; Cao, L; Reshaid, Y; Ortiz Blanche, M; Brea, F & Darrigran, G. 2016. Distribución y status de conservación de las náyades (Bivalvia, Unionoidea) en territorio argentino. Segundo Congreso Argentino de Malacología, Mendoza.
- UICN. 2012a. Categorías y Criterios de la Lista Roja de la UICN: Versión 3.1. Segunda edición. Gland, Suiza y Cambridge, Reino Unido: UICN. Vi + 34pp. Originalmente publicado como IUCN Red List Categories and Criteria: Version 3.1. Second edition. (Gland, Switzerland and Cambridge, UK: IUCN, 2012).

- UICN. 2012b. Directrices para el uso de los Criterios de la Lista Roja de la IUCN a nivel regional y nacional: Versión 4.0. Gland, Suiza y Cambridge, Reino Unido: UICN. iii + 43pp. Originalmente publicado como Guidelines for Application of IUCN Red List Criteria at Regional and National Levels: Version 4.0. (Gland, Switzerland and Cambridge, UK: IUCN, 2012).
- UICN. 2016. IUCN: International Union for Conservation of Nature. The IUCN Red List of Treated Species. Version 2016-1. www.iucnredlist.org Acceso 15 -07- 2016.
- UICN. 2021. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2021-2. <https://www.iucnredlist.org> Acceso 20 - 10 - 2021.
- van Haaren, T; Worsfold, TM; Stelbrink, B; Collado, GA; Gonçalves, ICB; Serra, WS; Scarabino, F; Gittenberger, A & Gittenberger, E. 2021. *Heleobia charruana* (Gastropoda, Truncatelloidea, Cochliopidae), a South American brackish water snail in northwest European estuaries. *Basteria* 85: 82-91.
- Van Leeuwen, CHA; Huig, N; Van der Velde, G; Van Alen, TA; Wagemaker, CAM; Sherman, CDH; Klaassen, M & Figuerola, J. 2013. How did this snail get here? Several dispersal vectors inferred for an aquatic invasive species. *Freshwater Biology* 58: 88-99. <https://doi.org/10.1111/fwb.12041>
- Verhaegen, G; von Jungmeister, K & Haase, M. 2021. Life history variation in space and time: environmental and seasonal responses of a parthenogenetic invasive freshwater snail in northern Germany. *Hydrobiologia* 848(9): 2153-2168. <https://doi.org/10.1007/s10750-020-04333-8>
- Vidigal, THDA; Coscarelli, D & Montresor, LC. 2013. Molecular studies in Brazilian malacology: Tools, trends and perspectives. *Lundiana* 11(1/2): 47-63.
- Vogler, RE; Beltramino, AA; Strong, EE; Peso, JG & Rumi, A. 2015. A phylogeographical perspective on the ex situ conservation of *Aylacostoma* (Thiaridae, Gastropoda) from the High Paraná River (Argentina–Paraguay). *Zoological Journal of the Linnean Society* 174(3): 487-499 <https://doi.org/10.1111/zoj.12250>
- von Bertalanffy, L. 1938. A quantitative theory of organic growth. *Human Biology* 10(2):181-213. <https://www.jstor.org/stable/41447359>
- Walford, LA. 1946. A New Graphic Method of Describing the Growth of Animals. *Biological Bulletin* 90(2): 141-147. <https://doi.org/10.2307/1538217>

- Ward, JM & Ricciardi, A. 2007. Impacts of *Dreissena* invasions on benthic macroinvertebrate communities: a meta-analysis. *Diversity and Distribution* 13(2): 155-165. <https://doi.org/10.1111/j.1472-4642.2007.00336.x>
- Wilke, T; Haase, M; Hershler, R; Liu, HP; Misof, B & Ponder, W. 2013. Pushing short DNA fragments to the limit: phylogenetic relationships of 'hydrobioid' gastropods (Caenogastropoda: Risssooidea). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 66: 715-736. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2012.10.025>
- Winnepennickx, B; Backeljau, T & De Wachter, R. 1993. Extraction of high molecular weight DNA from molluscs. *Trends Genet* 9: 407.
- Winterbourn, M. 1970. The New Zealand species of *Potamopyrgus* (Gastropoda: Hydrobiidae). *Malacologia* 10: 283-321.
- Winterbourn, MJ. 2016. Life history and ecology of *Potamopyrgus estuarinus* (Gastropoda: Tateidae) in the tidal reaches of two New Zealand rivers. *Molluscan Research* 36(2): 112-118. <https://doi.org/10.1080/13235818.2015.1128585>
- Xu, M; Darrigran, G; Wang, Z; Zhao, N; Lin, CC & Pan, B. 2015. Experimental study on control of *Limnoperna fortunei* biofouling in water transfer tunnels. *Journal of Hydro-environment Research* 9(2): 248-258.
- Yang, Z & Rannala, B. 2012. Molecular phylogenetics: principles and practice. *Nature Reviews Genetics* 13(5): 303-314.
- Zachos, FE & Habel, JC. 2011. Biodiversity hotspots: distribution and protection of conservation priority areas. Springer Science & Business Media. Heidelberg Dordrecht London New York, pp. 546. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-20992-5>
- Zhang, J; Kapli, P; Pavlidis, P & Stamatakis, A. 2013. A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. *Bioinformatics* 29: 2869-2876. <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btt499>
- Zielske, S & Haase, M. 2015. Molecular phylogeny and a modified approach of character-based barcoding refining the taxonomy of New Caledonian freshwater gastropods (Caenogastropoda, Truncatelloidea, Tateidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 89: 171-181. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2015.04.020>

ANEXO



Anexo 1.1. Secuencias utilizadas en los análisis filogenéticos del gen COI de los géneros *Potamolithus* y *Chilina*. 267Csp, 268Csp: números de colección en trámite. * Outgroup

Taxón	Localidad	Referencia	GenBank o MLP-Ma
<i>"Heleobia" sp.</i>	Río Uspallata, Mendoza, Argentina	Koch et al. (2015)	KM220908
<i>"Heleobia" hatcheri</i> (Pilsbry, 1911)	Aguas Negras, San Juan, Argentina	Koch et al. (2015)	KM220905
<i>Potamolithus agapetus</i> Pilsbry, 1911	Río de la Plata, Buenos Aires, Argentina	Koch et al. (2015)	KM220910
<i>Potamolithus agapetus</i> Pilsbry, 1911	Isla Martín García, Buenos Aires, Argentina	Este trabajo	MLP-Ma 15206; MLP-Ma 15207-1; MLP-Ma 15207-2; MLP-Ma 15207-3
<i>Potamolithus australis</i> Biese, 1944	Puerto Chico, Chile	Collado et al. (2019a)	MH536531; MH536532
<i>Potamolithus bisinuatus</i> Pilsbry, 1896	Isla Martín García, Buenos Aires, Argentina	Este trabajo	MLP-Ma 15191-1; MLP-Ma 15191-2; MLP-Ma 15191-3; MLP-Ma 15191-4; MLP-Ma 15191-5; MLP-Ma 15192-1; MLP-Ma 15192-2
<i>Potamolithus buschii</i> (Frauenfeld, 1865)	Isla Martín García, Buenos Aires, Argentina	Koch et al. (2015)	KM220909
<i>Potamolithus buschii</i> (Frauenfeld, 1865)	Isla Martín García, Buenos Aires, Argentina	Este trabajo	MLP-Ma 15202-1; MLP-Ma 15202-2; MLP-Ma 15202-3; MLP-Ma 15202-4; MLP-Ma 15203-1; MLP-Ma 15203-2; MLP-Ma 15203-3; MLP-Ma 15203-4
<i>Potamolithus buschii</i> (Frauenfeld, 1865)	Gualeguaychú, Entre Ríos, Argentina	Este trabajo	MLP-Ma 15204
<i>Potamolithus elenae</i> de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2016	Arroyo Valcheta, Río Negro, Argentina	de Lucía & Gutiérrez Gregoric (2017)	KX397599; KX397600

Anexo 1.1 (Continuación)

Taxón	Localidad	Referencia	GenBank o MLP-Ma
<i>Potamolithus grossus</i> de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2019	Cataratas del Moconá, Misiones, Argentina	de Lucía et al. (2021)	MT299933; MT299934; MT299935
<i>Potamolithus grossus</i> de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2019	Arroyo Pepirí Miní, Misiones, Argentina	de Lucía et al. (2021)	MT299936
<i>Potamolithus nelidae</i> de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2019	Cataratas del Moconá, Misiones, Argentina	de Lucía et al. (2021)	MT299937
<i>Potamolithus nelidae</i> de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2019	Arroyo Pepirí Miní, Misiones, Argentina	de Lucía et al. (2021)	MT299938
<i>Potamolithus nezibrus</i> de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2019	Arroyo Oveja Negra, Misiones, Argentina	de Lucía et al. (2021)	MT299929; MT299930
<i>Potamolithus rauli</i> de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2019	Arroyo Acaraguá, Misiones, Argentina	de Lucía et al. (2021)	MT299927; MT299928
<i>Potamolithus ribeirensis</i> Pilsbry. 1911	Sao Paulo. Brasil	Wilke et al. (2013)	JX970618
<i>Potamolithus santiagensis</i> (Biese, 1944)	Yeso Spring, Chile	Collado et al. (2019a)	MH536524; MH536525
<i>Potamolithus santiagensis</i> (Biese, 1944)	Lo Carreño, Chile	Collado et al. (2019a)	MH536526; MH536527
<i>Potamolithus santiagensis</i> (Biese, 1944)	Colorado, Chile	Collado et al. (2019a)	MH536528; MH536529
<i>Potamolithus santiagensis</i> (Biese, 1944)	San Rafael, Chile	Collado et al. (2019b)	MH729622

Anexo 1.1 (Continuación)

Taxón	Localidad	Referencia	GenBank o MLP-Ma
<i>Potamolithus santiagensis</i> (Biese, 1944)	Quebrada Escobares, Chile	Collado et al. (2019b)	MH729624; MH729625
<i>Potamolithus santiagensis</i> (Biese, 1944)	Guaico, Chile	Collado et al. (2019b)	MH729626
<i>Potamolithus simplex</i> Pilsbry. 1911	Arroyo Oveja Negra, Misiones, Argentina	de Lucía et al. (2021)	MT299939; MT299940
<i>Potamolithus supersulcatus</i> Pilsbry. 1896	Río Uruguay, Entre Ríos, Argentina	de Lucía & Gutiérrez Gregoric (2017)	KX158843
<i>Potamolithus supersulcatus</i> Pilsbry. 1896	Río Uruguay, Entre Ríos, Argentina	Este trabajo	MLP-Ma 15209
<i>Potamolithus</i> sp1	Isla Martín García, Buenos Aires, Argentina	Este trabajo	MLP-Ma 15210-1; MLP-Ma 15210-2
<i>Potamolithus</i> sp2	Isla Martín García, Buenos Aires, Argentina	Este trabajo	MLP-Ma 15210-3; MLP-Ma 15210-4; MLP- Ma 15210-5; MLP-Ma 15211-1; MLP-Ma 15211-2; MLP-Ma 15212-1; MLP-Ma 15212-2
<i>Potamolithus</i> sp.3	Los Tilos, Chile	Collado et al. (2019b)	MH729621
<i>Potamolithus</i> sp. 3	Talca chico, Chile	Collado et al. (2019b)	MH729627; MH729628
<i>Potamolithus</i> sp. 4	Casas del Maule, Chile	Collado et al. (2019a)	MH536530
<i>Potamolithus tricarinatus</i> de Lucía & Gutiérrez Gregoric, 2019	Arroyo Acaraguá, Misiones, Argentina	de Lucía et al. (2021)	MT299931; MT299932
<i>Tatea huonensis</i> * (Tenison Woods, 1876)	Manly Lagoon, Australia	Wilke et al. (2013)	JX970619

Anexo 1.1 (Continuación)

Taxón	Localidad	Referencia	GenBank o MLP-Ma
<i>Tatea rufilabris</i> * (A. Adams, 1862)	Bayview, Australia	Colgan & da Costa (no publicado)	FJ619850
<i>Chilina fluminea</i> (Maton, 1811)	Punta Lara, Buenos Aires, Argentina	Gutiérrez Gregoric & de Lucía (2016)	KT820422; KT807831; KT807832; KT807833; KT807834
<i>Chilina fluminea</i> (Maton, 1811)	Isla Martín García, Buenos Aires, Argentina	Este trabajo	MLP-Ma 15217-1; MLP-Ma 15217-2; MLP-Ma 15218-1; MLP-Ma 15218-2; MLP-Ma 15219; MLP-Ma 15223
<i>Chilina fluminea</i> (Maton, 1811)	Playa Anchorena, Buenos Aires, Argentina	Este trabajo	MLP-Ma 15214; MLP-Ma 15215-1; MLP-Ma 15215-2; 267Csp; 268Csp
<i>Chilina fluminea</i> (Maton, 1811)	La Bagliardi, Buenos Aires, Argentina	Este trabajo	MLP-Ma 15216-1; MLP-Ma 15216-2
<i>Chilina fluminea</i> (Maton, 1811)	La Balandra, Buenos Aires, Argentina	Este trabajo	MLP-Ma 15221-1; MLP-Ma 15221-2
<i>Chilina fluminea</i> (Maton, 1811)	Punta Piedras, Buenos Aires, Argentina	Este trabajo	MLP-Ma 15222
<i>Chilina gallardoi</i> Castellanos & Gaillard, 1981	Monte Caseros, Corrientes, Argentina	Gutiérrez Gregoric & de Lucía (2016)	KT820421
<i>Chilina iguazuensis</i> Gutiérrez Gregoric & Rumi, 2008	Parque Nacional Iguazú, Misiones, Argentina	Gutiérrez Gregoric & de Lucía (2016)	KT807837
<i>Chilina iguazuensis</i> Gutiérrez Gregoric & Rumi, 2008	Parque Nacional Iguazú, Misiones, Argentina	Gutiérrez Gregoric & de Lucía (2016)	KT807838
<i>Chilina iguazuensis</i> Gutiérrez Gregoric & Rumi, 2008	Parque Nacional Iguazú, Misiones, Argentina	Gutiérrez Gregoric & de Lucía (2016)	KT807836

Anexo 1.1 (Continuación)

Taxón	Localidad	Referencia	GenBank o MLP-Ma
<i>Chilina iguazuensis</i> Gutiérrez Gregoric & Rumi, 2008	Parque Nacional Iguazú, Misiones, Argentina	Gutiérrez Gregoric & de Lucía (2016)	KT807835
<i>Chilina luciae</i> Gutiérrez Gregoric & de Lucía, 2016	Arroyo Persiguero, Misiones, Argentina	Gutiérrez Gregoric & de Lucía (2016)	KT820420
<i>Chilina megastoma</i> Hylton Scott, 1958	Parque Nacional Iguazú, Misiones, Argentina	Gutiérrez Gregoric & de Lucía (2016)	KT807839
<i>Chilina mendozana</i> Strobel, 1874	Uspallata, Mendoza, Argentina	Gutiérrez Gregoric et al. (2014)	KC347575
<i>Chilina nicolasi</i> Gutiérrez Gregoric & de Lucía, 2016	Alba Posse, Misiones, Argentina	Gutiérrez Gregoric & de Lucía (2016)	KT820419
<i>Chilina rushii</i> Pilsbry, 1896	Río Gualeguaychú, Entre Ríos, Argentina	Gutiérrez Gregoric & de Lucía (2016)	KT820423
<i>Chilina rushii</i> Pilsbry, 1896	Río de la Plata, Buenos Aires, Argentina	Este trabajo	MLP-Ma 15220
<i>Chilina sanjuanina</i> Gutiérrez Gregoric, Ciocco & Rumi, 2014	Aguas Negras, San Juan, Argentina	Gutiérrez Gregoric et al. (2014)	KC347574
<i>Chilina santiagoi</i> Gutiérrez Gregoric & de Lucía, 2016	Cataratas H. Foerster, Misiones, Argentina	Gutiérrez Gregoric & de Lucía (2016)	KT820418
<i>Lymnaea diaphana</i> ¹ * (King, 1830)	Chile	Bargues et al. (2012)	JF909501
<i>Galba viator</i> * (d'Orbigny, 1835)	Río Negro, Argentina	Bargues et al. (2007)	AM494010

¹ Actualmente denominado *Pectinidens diaphanus* (P. P. King, 1832), será tomado como *Lymnaea diaphana* debido a que es el nombre utilizado en GenBank.

>MLP_Ma_15212_2_Potamololithus_sp2

TACTTTATATATTTTATTTGGTATGTGATCTGGCTTAGTAGGAACAGCTTTGAGCTTGTAAATCCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGAGCTCTATTAGGAGACGATCAA
CTTTATAACGTAATTTACTGCTCATGCTTTTCGTTATAATTTTTTTTTTTAGTAAATGCCAATAATAATGGAGGATTGGGAACTGATTAGTCCATTAATATTAGGAG
CCCCTGATATAGCTTTTCCACGATTAATAATAATAAGATTCTGATTATTGCCACCAGCTCTTTACTATTATTATCTTCAGCTGCAGTAGAAAAGTGGTCTGGAAGCTGG
ATGAGCTGTATACCCGCTTTAGCAAGGAATATTGCACATGCAGGAGGATCTGTAGATCTCGCTATTTTTCTTTGCATCTAGCTGGTGTCTTCTATTTTAGGAGCT
GTAATTTTATTACAACAGTAATCAATATACGTTGACGTGGAATACAATTTGAACGCTCTCCACTTTTTGTCTGATCTGTAAAAATTACAGCTATTTTATTGTTGCTTT
CCTTACCTGTTTTAGCAGGTGCTATTACAATACTGTTAACAGATCGAAATTTAATACTGCTTTTTTGTGATCCAGCTGGAGGTGGTGACCTATTCTTTATCAACATTT
ATTT

>MLP_Ma_15191_1_P_bisinuatus

TACTTTGTATATTTTATTTGGTATGTGATCTGGCCTGGTAGGAACAGCTTTAAGTTTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCTGGAGCTCTATTAGGAGATGACCAG
CTTTATAATGTAATTTTACGGCTCATGCTTTTCGTTATAATTTCTTTTGGTAATGCCTATGATAATGGAGGCTTTGGAAATGATTAGTCCATTAATATTAGGAG
CTCCTGATATAGCTTTTCCACGTTAAATAATAATAAGATTGTTGTTACTACCACCAGCTCTTTTATTATTATTATCTTCGGCTGCAGTAGAAAAGTGGTCTGGAAGCTGG
ATGAACGTGTATCCGCTTTAGCAAGGAACATTGCACATGCTGGTGGATCCGTAGATCTTGCTATTTTTCTTTACATTTAGCTGGTGTCTTCTATTTTAGGGGCT
GTAATTTTATTACAACGGTAATTAATAATACGTTGACGAGGAATACAATTTGAGCGCTTCCCTCTTTTTGTCTGATCTGTAAAAATTACAGCTATTTACTTTTGCTTT
CTTTACCTGTTTTAGCAGGAGCTATTACAATATTGTTGACAGATCGAAATTTAATACTGCTTTTTTGTGATCCAGCTGGAGGGGTGATCCAATTTCTTTATCAACATTT
ATTT

>MLP_Ma_15191_2_P_bisinuatus

TACTTTGTATATTTTATTTGGTATGTGATCTGGCCTGGTAGGAACAGCTTTAAGTTTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCTGGAGCTCTATTAGGAGATGACCAG
CTTTATAATGTAATTTTACGGCTCATGCTTTTCGTTATAATTTCTTTTGGTAATGCCTATGATAATGGAGGCTTTGGAAATGATTAGTCCATTAATATTAGGAG
CTCCTGATATAGCTTTTCCACGTTAAATAATAATAAGATTGTTGTTACTACCACCAGCTCTTTTATTATTATTATCTTCGGCTGCAGTAGAAAAGTGGTCTGGAAGCTGG
ATGAACGTGTATCCGCTTTAGCAAGGAACATTGCACATGCTGGTGGATCCGTAGATCTTGCTATTTTTCTTTACATTTAGCTGGTGTCTTCTATTTTAGGGGCT
GTAATTTTATTACAACGGTAATTAATAATACGTTGACGAGGAATACAATTTGAGCGCTTCCCTCTTTTTGTCTGATCTGTAAAAATTACAGCTATTTACTTTTGCTTT
CTTTACCTGTTTTAGCAGGAGCTATTACAATATTGTTGACAGATCGAAATTTAATACTGCTTTTTTGTGATCCAGCTGGAGGGGTGATCCAATTTCTTTATCAACATTT
ATTT

>MLP_Ma_15191_3_P_bisinuatus

TACTTTGTATATTTTATTTGGTATGTGATCTGGCCTGGTAGGAACAGCTTTAAGTTTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCTGGAGCTCTATTAGGAGATGACCAG
CTTTATAATGTAATTTTACGGCTCATGCTTTTCGTTATAATTTCTTTTGGTAATGCCTATGATAATGGAGGCTTTGGAAATGATTAGTCCATTAATATTAGGAG
CTCCTGATATAGCTTTTCCACGTTAAATAATAATAAGATTGTTGTTACTACCACCAGCTCTTTTATTATTATTATCTTCGGCTGCAGTAGAAAAGTGGTCTGGAAGCTGG
ATGAACGTGTATCCGCTTTAGCAAGGAACATTGCACATGCTGGTGGATCCGTAGATCTTGCTATTTTTCTTTACATTTAGCTGGTGTCTTCTATTTTAGGGGCT
GTAATTTTATTACAACGGTAATTAATAATACGTTGACGAGGAATACAATTTGAGCGCTTCCCTCTTTTTGTCTGATCTGTAAAAATTACAGCTATTTACTTTTGCTTT
CTTTACCTGTTTTAGCAGGAGCTATTACAATATTGTTGACAGATCGAAATTTAATACTGCTTTTTTGTGATCCAGCTGGAGGGGTGATCCAATTTCTTTATCAACATTT
ATTT

>MLP_Ma_15191_4_P_bisinuatus

TACTTTGTATATTTTATTTGGTATGTGATCTGGCCTGGTAGGAACAGCTTTAAGTTTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCTGGAGCTCTATTAGGAGATGACCAG
CTTTATAATGTAATTTTACGGCTCATGCTTTTCGTTATAATTTCTTTTGGTAATGCCTATGATAATGGAGGCTTTGGAAATGATTAGTCCATTAATATTAGGAG
CTCCTGATATAGCTTTTCCACGTTAAATAATAATAAGATTGTTGTTACTACCACCAGCTCTTTTATTATTATTATCTTCGGCTGCAGTAGAAAAGTGGTCTGGAAGCTGG
ATGAACGTGTATCCGCTTTAGCAAGGAACATTGCACATGCTGGTGGATCCGTAGATCTTGCTATTTTTCTTTACATTTAGCTGGTGTCTTCTATTTTAGGGGCT
GTAATTTTATTACAACGGTAATTAATAATACGTTGACGAGGAATACAATTTGAGCGCTTCCCTCTTTTTGTCTGATCTGTAAAAATTACAGCTATTTACTTTTGCTTT
CTTTACCTGTTTTAGCAGGAGCTATTACAATATTGTTGACAGATCGAAATTTAATACTGCTTTTTTGTGATCCAGCTGGAGGGGTGATCCAATTTCTTTATCAACATTT
ATTT

>MLP_Ma_15191_5_P_bisinuatus

TACTTTGTATATTTTATTTGGTATGTGATTTGGCCTGGTAGGAACAGCTTTAAGTTTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCTGGAGCTCTATTAGGAGATGACCAG
CTTTATAATGTAATTTTACGGCTCATGCTTTTCGTTATAATTTCTTTTGGTAATGCCTATGATAATGGAGGCTTTGGAAATGATTAGTCCATTAATATTAGGAG
CTCCTGATATAGCTTTTCCACGTTAAATAATAATAAGATTGTTGTTACTACCACCAGCTCTTTTATTATTATTATCTTCGGCTGCAGTAGAAAAGTGGTCTGGAAGCTGG
ATGAACGTGTATCCGCTTTAGCAAGGAACATTGCACATGCTGGTGGATCCGTAGATCTTGCTATTTTTCTTTACATTTAGCTGGTGTCTTCTATTTTAGGGGCT
GTAATTTTATTACAACGGTAATTAATAATACGTTGACGAGGAATACAATTTGAGCGCTTCCCTCTTTTTGTCTGATCTGTAAAAATTACAGCTATTTACTTTTGCTTT
CTTTACCTGTTTTAGCAGGAGCTATTACAATATTGTTGACAGATCGAAATTTAATACTGCTTTTTTGTGATCCAGCTGGAGGGGTGATCCAATTTCTTTATCAACATTT
ATTT

>MLP_Ma_15192_1_P_bisinuatus

TACTTTGTATATTTTATTTGGTATGTGATCTGGCCTGGTAGGAACAGCTTTAAGTTTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCTGGAGCTCTATTAGGAGATGACCAG
CTTTATAATGTAATTTTACGGCTCATGCTTTTCGTTATAATTTCTTTTGGTAATGCCTATGATAATGGAGGCTTTGGAAATGATTAGTCCATTAATATTAGGAG
CTCCTGATATAGCTTTTCCACGTTAAATAATAATAAGATTGTTGTTACTACCACCAGCTCTTTTATTATTATTATCTTCGGCTGCAGTAGAAAAGTGGTCTGGAAGCTGG
ATGAACGTGTATCCGCTTTAGCAAGGAACATTGCACATGCTGGTGGATCCGTAGATCTTGCTATTTTTCTTTACATTTAGCTGGTGTCTTCTATTTTAGGGGCT
GTAATTTTATTACAACGGTAATTAATAATACGTTGACGAGGAATACAATTTGAGCGCTTCCCTCTTTTTGTCTGATCTGTAAAAATTACAGCTATTTACTTTTGCTTT
CTTTACCTGTTTTAGCAGGAGCTATTACAATATTGTTGACAGATCGAAATTTAATACTGCTTTTTTGTGATCCAGCTGGAGGGGTGATCCAATTTCTTTATCAACATTT
ATTT

>MLP_Ma_15192_2_P_bisinuatus

TACTTTGTATATTTTATTTGGTATGTGATCTGGCCTGGTAGGAACAGCTTTAAGTTTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCTGGAGCTCTATTAGGAGATGACCAG
CTTTATAATGTAATTTTACGGCTCATGCTTTTCGTTATAATTTCTTTTGGTAATGCCTATGATAATGGAGGCTTTGGAAATGATTAGTCCATTAATATTAGGAG
CTCCTGATATAGCTTTTCCACGTTAAATAATAATAAGATTGTTGTTACTACCACCAGCTCTTTTATTATTATTATCTTCGGCTGCAGTAGAAAAGTGGTCTGGAAGCTGG
ATGAACGTGTATCCGCTTTAGCAAGGAACATTGCACATGCTGGTGGATCCGTAGATCTTGCTATTTTTCTTTACATTTAGCTGGTGTCTTCTATTTTAGGGGCT
GTAATTTTATTACAACGGTAATTAATAATACGTTGACGAGGAATACAATTTGAGCGCTTCCCTCTTTTTGTCTGATCTGTAAAAATTACAGCTATTTACTTTTGCTTT
CTTTACCTGTTTTAGCAGGAGCTATTACAATATTGTTGACAGATCGAAATTTAATACTGCTTTTTTGTGATCCAGCTGGAGGGGTGATCCAATTTCTTTATCAACATTT
ATTT

>MLP_Ma_15206_P_agapetus

TACTTTATACATTTTATTTGGTATGTGATCTGGTTAGTAGGGACAGCCCTAAGCTTATTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGAGCTTTATTAGGAGATGATCAA
CTTTATAACGTAATTTACTGCTCATGCTTTTCGTTATAATTTTTTTTTTTAGTAAATACCTATAATAATGGAGGTTTTGGAAATGATTAGTCCATTAATATTAGGAG
CTCCTGATATAGCTTTTCCACGATTAATAATAATAAGATTGTTGTTGTTGCCACCAGCTCTTTTATTATTATTATCTTCGGCTGCAGTAGAAAAGTGGTCTGGGACTGG

>MLP_Ma_15203_2_P_buschii

TACTTTATATATTTTATTTGGTATATGATCTGGTTTAGTGGGAACAGCTTTAAGTTTATTAATTCGAGCAGAGTTAGGCCAACAGGGGCCTTATTAGGAGATGATCAA
CTTTATAACGTAATTTGTTACTGCTCATGCTTTTGGTTATAATTTTTTTCTGGTGATACCTATAATAATGGAGGCTTTGGAAATGATTAGTCCCATTAATATTAGGAG
CTCCTGATATAGCTTTCCACGTTTGAATAACATAAGATTCTGACTATTACCACCAGCTCTTTTGGTATTATTATCTTCAGCTGCAGTAGAAAGTGGTGGTGGGACTGG
ATGAACGTGTTTACACCTTTAGCAAGAAACATTGCACATGCTGGGGGATCTGTGGACCTTGCTATTTTTCTTTTACACTTAGCTGGAATTTCTTCTATTTTAGGAGCT
GTAATTTTTATTACAACAGTAATTAATATACGTTGACGAGGAATACAATTTGAACGCTTCTCTCTTTTTGGTTGATCTGTAAGATTACAGCTATTTACTCTTGCTTT
CTTTACCTGCTTTGGCAGGAGCTATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAATACTGCTTCTTTGATCCGGCAGGAGGTGGTGACCAATTTCTTTATCAACATTT
ATTT

>MLP_Ma_15203_3_P_buschii

TACTTTATATATTTTATTTGGTATATGATCTGGTTTAGTGGGAACAGCTTTAAGTTTATTAATTCGAGCAGAGTTAGGCCAACAGGGGCCTTATTAGGAGATGATCAA
CTTTATAACGTAATTTGTTACTGCTCATGCTTTTGGTTATAATTTTTTTCTGGTGATACCTATAATAATGGAGGCTTTGGAAATGATTAGTCCCATTAATATTAGGAG
CTCCTGATATAGCTTTCCACGTTTGAATAACATAAGATTCTGACTATTACCACCAGCTCTTTTGGTATTATTATCTTCAGCTGCAGTAGAAAGTGGTGGTGGGACTGG
ATGAACGTGTTTACACCTTTAGCAAGAAACATTGCACATGCTGGGGGATCTGTGGACCTTGCTATTTTTCTTTTACACTTAGCTGGAATTTCTTCTATTTTAGGAGCT
GTAATTTTTATTACAACAGTAATTAATATACGTTGACGAGGAATACAATTTGAACGCTTCTCTCTTTTTGGTTGATCTGTAAGATTACAGCTATTTACTCTTGCTTT
CTTTACCTGCTTTGGCAGGAGCTATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAATACTGCTTCTTTGATCCGGCAGGAGGTGGTGACCAATTTCTTTATCAACATTT
ATTT

>MLP_Ma_15203_4_P_buschii

TACTTTATATATTTTATTTGGTATATGATCTGGTTTAGTGGGAACAGCTTTAAGTTTATTAATTCGAGCAGAGTTAGGCCAACAGGGGCCTTATTAGGAGATGATCAA
CTTTATAACGTAATTTGTTACTGCTCATGCTTTTGGTTATAATTTTTTTCTGGTGATACCTATAATAATGGAGGCTTTGGAAATGATTAGTCCCATTAATATTAGGAG
CTCCTGATATAGCTTTCCACGTTTGAATAACATAAGATTCTGACTATTACCACCAGCTCTTTTGGTATTATTATCTTCAGCTGCAGTAGAAAGTGGTGGTGGGACTGG
ATGAACGTGTTTACACCTTTAGCAAGAAACATTGCACATGCTGGGGGATCTGTGGACCTTGCTATTTTTCTTTTACACTTAGCTGGAATTTCTTCTATTTTAGGAGCT
GTAATTTTTATTACAACAGTAATTAATATACGTTGACGAGGAATACAATTTGAACGCTTCTCTCTTTTTGGTTGATCTGTAAGATTACAGCTATTTACTCTTGCTTT
CTTTACCTGCTTTGGCAGGAGCTATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAATACTGCTTCTTTGATCCGGCAGGAGGTGGTGACCAATTTCTTTATCAACATTT
ATTT

>MLP_Ma_15204_P_buschii

TACTTTATATATTTTATTTGGTATATGATCTGGTTTAGTGGGAACAGCTTTAAGTTTATTAATTCGAGCAGAGTTAGGCCAACAGGGGCCTTATTAGGAGACGATCAA
CTTTATAACGTAATTTGTTACTGCTCATGCTTTTGGTTATAATTTTTTTCTGGTGATACCTATAATAATGGAGGCTTTGGAAATGATTAGTCCCATTAATATTAGGAG
CTCCTGATATAGCTTTCCACGTTTGAATAACATAAGATTCTGACTATTACCACCAGCTCTTTTGGTATTATTATCTTCAGCTGCAGTAGAAAGTGGTGGTGGGACTGG
ATGAACGTGTTTACACCTTTAGCAAGAAACATTGCACATGCTGGGGGATCTGTGGACCTTGCTATTTTTCTTTTACACTTAGCTGGAATTTCTTCTATTTTAGGAGCT
GTAATTTTTATTACAACAGTAATTAATATACGTTGACGAGGAATACAATTTGAACGCTTCTCTCTTTTTGGTTGATCTGTAAGATTACAGCTATTTACTCTTGCTTT
CTTTACCTGCTTTGGCAGGAGCTATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAATACTGCTTCTTTGATCCGGCAGGAGGTGGTGACCAATTTCTTTATCAACATTT
ATTT

>MLP_Ma_15209_P_supersulcatus

TACTTTATACATCTTATTTGGTATATGATCTGGTTTAGTGGGTACAGCCCTAAGCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGTCAACCGGGAGCCTTATTAGGAGATGATCAA
CTTTATAACGTAATTTGTTACTGCTCATGCTTTTGGTTATAATTTTTTTTAGTAACTATAATAATGGAGGCTTTGGAAATGATTAGTCCCATTAATATTAGGGG
CCCCTGATATAGCTTTCCACGTTTAAATAATAAAGATTCTGATTATTACCACCAGCTCTTTTATTACTGTTGCTTCAGCTGCAGTAGAAAGTGGTGGTGGTACTGG
GTGAACGTGTTACCACCTTAGCTAGAAATATTGCACATGCTGGGGGCTGTAGATCTTGCTATTTTTCTTTTACATTAGCTGGTATTCTTCTATTTTAGGAGCT
GTAATTTTTATTACAACAGTAATTAATATACGTTGACGGGGAATACAATTTGAACGCTTCTCCACTTTTTGGTTGATCTGTAAGAAATACAGCTATTTACTCTTACTTT
CCTTGGCTGTTTTGGCAGGGGCTATTACAATATTATTAACAGATCGAAATTTAATACTGCTTCTTTGATCCAGCAGGAGGTGGTGATCCAATTTCTTTATCAACATTT
ATTT

Gen 16S:

>MLP_Ma_15211_1_Potamololithus_sp2_116S

CGCTCTTTGAATCATAAAAATAAAGAGTCGAACCTGCCAGTGAAAATATTTAACGGCCGCGGTACTCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCATTGCTTTATAATTGA
AGGCTAGTATGAATGGTTTGACGAAAACAATACTGTCTCTTTTAAATTTTATAGAACTTGATTTTTAGGTGAAGAAGCCTAAATAATATTGAAAGACAAGAAGACCCCTA
TCGAGCTTAAAAAAATTTTATAAAAAATAAATGACTTTAAAGATTAAATATGATAAAAGATTTTAGTTGGGGGACATGGAACAAAAAGCTTCCACTTTAACACTA
AAGCATGTTAGCTATGATCCAAAATTTTGGATTAAAAAGATTAGTTACCGTAGGGATAACAGCATAATCTTTTTGAGAGTCTTATCGAAAAAAGGTTTGTGACCTC
GATGTTGGACTAGAATATCTGAATGATGCAGAAGTCTTCAAGGGTTGGTCTGTTTCGACCATTAAATATTCT

>MLP_Ma_15211_2_Potamololithus_sp2_16S

CGCTCTTTGAATCATAAAAATAAAGAGTCGAACCTGCCAGTGAAAATATTTAACGGCCGCGGTACTCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCATTGCTTTATAATTGA
AGGCTAGTATGAATGGTTTGACGAAAACAATACTGTCTCTTTTAAATTTTATAGAACTTGATTTTTAGGTGAAGAAGCCTAAATAATATTGAAAGACAAGAAGACCCCTA
TCGAGCTTAAAAAAATTTTATAAAAAATAAATGACTTTAAAGATTAAATATGATAAAAGATTTTAGTTGGGGGACATGGAACAAAAAGCTTCCACTTTAACACTA
AAGCATGTTAGCTATGATCCAAAATTTTGGATTAAAAAGATTAGTTACCGTAGGGATAACAGCATAATCTTTTTGAGAGTCTTATCGAAAAAAGGTTTGTGACCTC
GATGTTGGACTAGAATATCTGAATGATGCAGAAGTCTTCAAGGGTTGGTCTGTTTCGACCATTAAATATTCT

>MLP_Ma_15191_5_P_bisinuatus_16S

CGCTCTTTGAATCATAAAAATAAAGAGTTGAGCCTGCCAGTGATATATATTTAACGGCCGCGGTACTCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCATTGCTTTATAATTGA
AGGCTAGTATGAATGGTTTGACGAAAACAATACTGTCTCTTTTAAATTTTATAAACTTGATTTTTAGGTGAAGAAGCCTAAATAATATTGAAAGACAAGAAGACCCCTA
TCGAGCTTAAAAAAATTTTATAAAAAATAAATGGCTATAAAAGACCAATTAATAAAAAATTTTAGTTGGGGGACATGGAACAAAAAGCTTCCACTTTAAATATT
AAAGCATGTTAGCTATGATCCAAAATTTTGGATTAAAAAAATTAGTTACCGTAGGGATAACAGCATAATCTTTTTGAGAGTCTTATCGAAAAAAGGTTTGTGACCTC
CGATGTTGGACTAGAATATCTAAGTATGCAGAAGTCTTTAAGGGTTGGTCTGTTTCGACCATTAAATATTCT

>MLP_Ma_15191_3_P_bisinuatus_16S

CGCTCTTTGAATCATAAAAATAAAGAGTTGAGCCTGCCAGTGATATATATTTAACGGCCGCGGTACTCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCATTGCTTTATAATTGA
AGGCTAGTATGAATGGTTTGACGAAAACAATACTGTCTCTTTTAAATTTTATAAACTTGATTTTTAGGTGAAGAAGCCTAAATAATATTGAAAGACAAGAAGACCCCTA
TCGAGCTTAAAAAAATTTTATAAAAAATAAATGGCTATAAAAGACCAATTAATAAAAAATTTTAGTTGGGGGACATGGAACAAAAAGCTTCCACTTTAAATATT
AAAGCATGTTAGCTATGATCCAAAATTTTGGATTAAAAAAATTAGTTACCGTAGGGATAACAGCATAATCTTTTTGAGAGTCTTATCGAAAAAAGGTTTGTGACCTC
CGATGTTGGACTAGAATATCTAAGTATGCAGAAGTCTTTAAGGGTTGGTCTGTTTCGACCATTAAATATTCT

>MLP_Ma_15207_2_P_agapetus_16S

```
CGCTCTTTGAATCTAAAAATAAAGAGTCAAGCCTGCCAGTGATATTTATTTAACGGCCGCGTACTCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCATTGCGCTTATAATTGA  
AGGCTAGTATGAATGGTTTTTCGAAAACAATACTGTCTCTTTTTAATTTTATAGAACTTAATTTTTAGGTGAAGAAGCCTAAATAACATTGAAAGACAAGAAGACCCTA  
TCGAGCTTAAAAGAATTTTATAAAAATAAAGTGGTTGCAAAAATCATTATAATAAAAAATTTTAGTTGGGGCGACTAAGGAACAAAAAACTCCATTTATATCTAA  
AGCATATTAGCTATGATCCAAAATTTTTGATTAAGAGTGTAGTTACCGTAGGGATAACAGCATAATCTTTCTTAAGAGTCTTATCGAAAAGAAAGGTTTGTGACCTCG  
ATGTTGGACTAGAATATCCTAAATGATGCAGAAGTCTTAAGGGTTGGTCTGTTTCGACCATTAATATCT
```

>MLP_Ma_15203_4_P_buschii_16S

```
CGCTCTTTGAATACTAATAATAAAGAGTCAAGCCTGCCAGTGATATATATTTAACGGCCGCGTACTCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCATTGCGCTTATAATTG  
AAGCTGGTATGAATGGTTTTTCGAAAACAGCACTGTCTCTTTTTGATTTTATAGAACTTAATTTTTAGGTGAAGAAGCCTAAATAACATTGAAAGACAAGAAGACCCT  
ATCGAGCTTAAAAGAATTTTATAAAAATAAATGACTATAAAAAATCAATTATAATAAAAAATTTTAGTTGGGGCGACTAAGGAACAAAAAACTCCATTATAATATTT  
AAAGCATATTAGCCATGATCCAAAATTTTTGATTAAGAGTGTAGTTACCGTAGGGATAACAGCATAATCTTTTAAAGAGTCTTATCGAAAAGAAAGGTTTGTGACCT  
CGATGTTGGACTAGAATATCCTAAATGATGCAGAAGTCTTAAGGGTTGGTCTGTTTCGACCATTAATATCT
```

>MLP_Ma_15209_P_supersulcatus_16S

```
CGCTCTTTGAACTTATAAATAAAGAGTCAAGCCTGCCAGTGATATATATATTTAACGGCCGCGTACTCTGACCGTGCAAAGGTAGCATAATCATTGCGCTTATAATT  
GAAGGCTAGTATGAATGGTTTTTCGAAAACAATACTGTCTCTTTTTAATTTTATAGAACTTAATTTTTAGGTGAAGAAGCCTAAATAACATTGAAAGACAAGAAGACC  
TATCGAGCTTAAAAGAATTTTATAAAAATAAAGTGGCTATAAAAAATCAATTATAATAAAAAATTTTAGTTGGGGCGACTAAGGAACAAAAAACTCCATTTATCAGTT  
AATGCATATTAGCTATGATCCAAAATTTTTGATTAAGAGTGTAGTTACCGTAGGGATAACAGCATAATCTTTTAAAGAGTCTTATCGAAAAGAAAGGTTTGTGACCT  
CGATGTTGGACTAGAATATCCTAACGATGCAGAAGTCTTAAGGGTTGGTCTGTTTCGACCATTAATATCT
```

[Volver](#)

Anexo 1.3. Secuencias utilizadas en el análisis de *Potamolithus*; alineadas.

FJ619850_T_rufilabris TCGGAACAGCTTTAAGTTTATTAATTCGAGCTGAGCTTGGCCAGCCTGGGGCTCTTTTAGGAGATGATCAACTTTTACAATGT
 MH536524_P_santiagensis TGGGGACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAATGT
 MH536525_P_santiagensis TGGGGACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAATGT
 MH536526_P_santiagensis TGGGGACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAATGT
 MH729626_P_santiagensis TGGGGACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAATGT
 MH536529_P_santiagensis TGGGGACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAATGT
 MH729622_P_santiagensis TGGGGACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAATGT
 MH729623_P_santiagensis TGGGGACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAATGT
 MH536527_P_santiagensis TGGGGACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAATGT
 MH729625_P_santiagensis TGGGGACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAATGT
 MH729624_P_santiagensis TGGGGACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAATGT
 MH536528_P_santiagensis TGGGGACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAATGT
 MH729627_P_sp3 TGGGGACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAATGT
 MH729628_P_sp3 TGGGGACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAATGT
 MH729621_P_sp3 TGGGGACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAATGT
 MH536530_P_sp4 TGGGGACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAATGT
 KM220908_H_sp TGGGGACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAATGT
 MH536531_P_australis TGGGGACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAATGT
 MH536532_P_australis TGGGGACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAATGT
 KM220905_H_hatcheri TAGGAACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15191_1_P_bisin TAGGAACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAATGT
 MLP_Ma_15191-2_P_bisin TAGGAACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAATGT
 MLP_Ma_15191_3_P_bisin TAGGAACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAATGT
 MLP_Ma_15191_4_P_bisin TAGGAACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAATGT
 MLP_Ma_15192_1_P_bisin TAGGAACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAATGT
 MLP_Ma_15192_2_P_bisin TAGGAACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAATGT
 MLP_Ma_15191_5_P_bisin TAGGAACAGCTTTAAGTCTATTAATTCGAGCAGAATTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAATGT
 KX158843_P_supersu TGGGTACAGCCCTAAGCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15209_P_supersu TGGGTACAGCCCTAAGCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15207_2_P_agapetus TAGGGACAGCCCTAAGCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15207_3_P_agapetus TAGGGACAGCCCTAAGCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15207_1_P_agapetus TAGGGACAGCCCTAAGCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15206_P_agapetus TAGGGACAGCCCTAAGCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAACGT
 KM220909_P_buschii TAGGGACAGCCCTAAGCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAACGT
 MT299937_P_nelidae TAGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAACGT
 MT299938_P_nelidae TAGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAACGT
 MT299931_P_tricarina TGGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAACGT
 MT299932_P_tricarina TGGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15202_1_P_buschii TGGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAACGT
 KM220910_P_agapetus TGGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15203_4_P_buschii TGGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15202_2_P_buschii TGGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15203_3_P_buschii TGGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15202_3_P_buschii TGGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15202_4_P_buschii TGGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15203_1_P_buschii TGGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15203_2_P_buschii TGGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15204_P_buschii TGGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAACTTTATAACGT
 KX397599_P_elenae TGGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAACTTTATAACGT
 KX397600_P_elenae TGGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAACTTTATAACGT
 MT299933_P_grossus TGGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAACTTTATAACGT
 MT299934_P_grossus TGGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAACTTTATAACGT
 MT299936_P_grossus TGGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAACTTTATAACGT
 MT299935_P_grossus TGGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15212_1_P_sp2 TAGGAACAGCTTTGAGCTTGTAAATCCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15212_2_P_sp2 TAGGAACAGCTTTGAGCTTGTAAATCCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15211_1_P_sp2 TAGGAACAGCTTTGAGCTTGTAAATCCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15210_3_P_sp2 TAGGAACAGCTTTGAGCTTGTAAATCCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15211_2_P_sp2 TAGGAACAGCTTTGAGCTTGTAAATCCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15210_4_P_sp2 TAGGAACAGCTTTGAGCTTGTAAATCCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15210_5_P_sp2 TAGGAACAGCTTTGAGCTTGTAAATCCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAACTTTATAACGT
 MLP_Ma_15210_1_P_sp1 TAGGAACAGCTTTAAGCTTGTAAATCCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAACGT
 MLP_Ma_15210_2_P_sp1 TAGGAACAGCTTTAAGCTTGTAAATCCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAACGT
 MT299927_P_rauli TGGGAACAGCTTTAAGTCTTGTAAATCCGGGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAATGT
 MT299928_P_rauli TGGGAACAGCTTTAAGTCTTGTAAATCCGGGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGACGATCAGCTTTATAATGT
 MT299929_P_nezibrus TAGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGGGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAGCTTTATAATGT
 MT299930_P_nezibrus TAGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGGGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAGCTTTATAATGT
 MT299939_P_simplex TAGGAACAGCTTTAAGTCTTGTAAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAGCTTTATAATGT
 MT299940_P_simplex TAGGAACAGCTTTAAGTCTTGTAAATTCGAGCAGAGTTAGGTCAACCAGGGGCTTTACTTGGAGATGATCAGCTTTATAATGT
 JX970618_P_ribeirensis TGGGGACAGCTTTGAGTCTTACTAATTCGAGCTGAGCTTGGCCAGCCTTTACTTGGAGACGATCAACTTTATAATGT
 JX970619_T_huonensis TCGGAACAGCTTTAAGTCTTACTAATTCGAGCTGAGCTTGGCCAGCCTTTACTTGGAGATGATCAGCTTTACAATGT

Anexo 1.3 (Continuación)

FJ619850_T_rufilabris	TTCTTCTTTTACTTTCTTT
MH536524_P_santiagensis	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
MH536525_P_santiagensis	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
MH536526_P_santiagensis	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
MH729626_P_santiagensis	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
MH536529_P_santiagensis	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
MH729622_P_santiagensis	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
MH729623_P_santiagensis	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
MH536527_P_santiagensis	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
MH729625_P_santiagensis	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
MH729624_P_santiagensis	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
MH536528_P_santiagensis	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
MH729627_P_sp3	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
MH729628_P_sp3	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
MH729621_P_sp3	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
MH536530_P_sp4	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
KM220908_H_sp	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
MH536531_P_australis	TTTTACTTTTACTTTCTTT
MH536532_P_australis	TTTTACTTTTACTTTCTTT
KM220905_H_hatcheri	TTTTACTTTTCTTTCTTT
MLP_Ma_15191_1_P_bisin	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15191-2_P_bisin	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15191_3_P_bisin	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15191_4_P_bisin	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15192_1_P_bisin	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15192_2_P_bisin	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15191_5_P_bisin	TTTTACTTTTGCTTTCTTT
KX158843_P_supersu	TTTTACTCCTACTTTCTTT
MLP_Ma_15209_P_supersu	TTTTACTCCTACTTTCTTT
MLP_Ma_15207_2_P_agapetus	TTTTACTTTTACTTTCTTT
MLP_Ma_15207_3_P_agapetus	TTTTACTTTTACTTTCTTT
MLP_Ma_15207_1_P_agapetus	TTTTACTTTTACTTTCTTT
MLP_Ma_15206_P_agapetus	TTTTACTTTTACTTTCTTT
KM220909_P_buschii	TTTTACTTTTACTTTCTTT
MT299937_P_nelidae	TTTTACTCTGCTTTCTTT
MT299938_P_nelidae	TTTTACTCTGCTTTCTTT
MT299931_P_tricarina	TTTTACTTTTACTTTCTTT
MT299932_P_tricarina	TTTTACTTTTACTTTCTTT
MLP_Ma_15202_1_P_buschii	TTTTACTCTTGCTTTCTTT
KM220910_P_agapetus	TTTTACTCTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15203_4_P_buschii	TTTTACTCTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15202_2_P_buschii	TTTTACTCTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15203_3_P_buschii	TTTTACTCTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15202_3_P_buschii	TTTTACTCTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15202_4_P_buschii	TTTTACTCTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15203_1_P_buschii	TTTTACTCTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15203_2_P_buschii	TTTTACTCTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15204_P_buschii	TTTTACTCTTGCTTTCTTT
KX397599_P_elenae	TTTTACTTTTACTTTCTTT
KX397600_P_elenae	TTTTACTTTTACTTTCTTT
MT299933_P_grossus	TTTTATTATTACTTTCTTT
MT299934_P_grossus	TTTTATTATTACTTTCTTT
MT299936_P_grossus	TTTTATTATTACTTTCTTT
MT299935_P_grossus	TTTTATTATTACTTTCTTT
MLP_Ma_15212_1_P_sp2	TTTTATTGTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15212_2_P_sp2	TTTTATTGTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15211_1_P_sp2	TTTTATTGTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15210_3_P_sp2	TTTTATTGTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15211_2_P_sp2	TTTTATTGTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15210_4_P_sp2	TTTTATTGTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15210_5_P_sp2	TTTTATTGTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15210_1_P_sp1	TTTTATTGTTGCTTTCTTT
MLP_Ma_15210_2_P_sp1	TTTTATTGTTGCTTTCTTT
MT299927_P_rauli	TTTTATTGTTGCTTTCTTT
MT299928_P_rauli	TTTTATTGTTGCTTTCTTT
MT299929_P_nezibrus	TTTTACTTTTACTTTCTTT
MT299930_P_nezibrus	TTTTACTTTTACTTTCTTT
MT299939_P_simplex	TTCTACTTTTACTTTCTTT
MT299940_P_simplex	TTCTACTTTTACTTTCTTT
JX970618_P_ribeirensis	TTTTACTCTTGCTTTCTTT
JX970619_T_huonensis	TTCTTCTTTTACTTTCTTT

Anexo 1.4. Matriz de distancias genéticas de todos los ejemplares del género *Potamolithus* utilizados. Margen inferior izquierdo: Distancias p; margen superior derecho: Distancias corregidas con K2P. En negrita y con color se resaltan las especies registradas en este trabajo.

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28
1	MH536524		0,0	0,0	0,0	0,0	0,4	0,4	0,6	0,6	0,6	0,6	1,8	1,8	1,8	5,3	5,5	7,8	7,5	9,7	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	11,7	11,7
2	MH536525	0,0		0,0	0,0	0,0	0,4	0,4	0,6	0,6	0,6	0,6	1,8	1,8	1,8	5,3	5,5	7,8	7,5	9,7	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	11,7	11,7
3	MH536526	0,0	0,0		0,0	0,0	0,4	0,4	0,6	0,6	0,6	0,6	1,8	1,8	1,8	5,3	5,5	7,8	7,5	9,7	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	11,7	11,7
4	MH729626	0,0	0,0	0,0		0,0	0,4	0,4	0,6	0,6	0,6	0,6	1,8	1,8	1,8	5,3	5,5	7,8	7,5	9,7	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	11,7	11,7
5	MH536529	0,0	0,0	0,0	0,0		0,4	0,4	0,6	0,6	0,6	0,6	1,8	1,8	1,8	5,3	5,5	7,8	7,5	9,7	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	11,7	11,7
6	MH729622	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4		0,0	0,2	0,2	0,2	0,2	1,8	1,8	1,8	5,3	5,5	7,5	7,3	9,5	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	11,4	11,4
7	MH729623	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,0		0,2	0,2	0,2	0,2	1,8	1,8	1,8	5,3	5,5	7,5	7,3	9,5	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	11,4	11,4
8	MH536527	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,2	0,2		0,0	0,0	0,4	1,6	1,6	1,6	5,1	5,3	7,3	7,1	9,3	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	11,2	11,2
9	MH729625	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,2	0,2	0,0		0,0	0,4	1,6	1,6	1,6	5,1	5,3	7,3	7,1	9,3	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	11,2	11,2
10	MH729624	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,2	0,2	0,0	0,0		0,4	1,6	1,6	1,6	5,1	5,3	7,3	7,1	9,3	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	11,2	11,2
11	MH536528	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,2	0,2	0,4	0,4	0,4		1,6	1,6	1,6	5,1	5,3	7,8	7,5	9,3	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	11,2	11,2
12	MH729627	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,6	1,6	1,6	1,6		0,0	0,0	4,5	4,7	7,8	7,5	9,3	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	10,2	10,2
13	MH729628	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,6	1,6	1,6	1,6	0,0		0,0	4,5	4,7	7,8	7,5	9,3	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	10,2	10,2
14	MH729621	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,8	1,6	1,6	1,6	1,6	0,0	0,0		4,5	4,7	7,8	7,5	9,3	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	10,2	10,2
15	MH536530	5,1	5,1	5,1	5,1	5,1	5,1	5,1	4,9	4,9	4,9	4,9	4,3	4,3	4,3		0,2	6,2	6,0	8,6	7,9	7,9	7,9	7,9	7,9	7,9	7,9	8,8	8,8
16	KM220908	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,3	5,1	5,1	5,1	5,1	4,5	4,5	4,5	0,2		6,4	6,2	8,8	8,2	8,2	8,2	8,2	8,2	8,2	8,2	9,0	9,0
17	MH536531	7,2	7,2	7,2	7,2	7,2	7,0	7,0	6,8	6,8	6,8	7,2	7,2	7,2	7,2	5,9	6,1		0,2	5,9	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	10,1	10,1
18	MH536532	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	6,8	6,8	6,7	6,7	6,7	7,0	7,0	7,0	7,0	5,7	5,9	0,2		5,7	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	9,8	9,8
19	KM220905	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	8,8	8,8	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,0	8,2	5,7	5,5		9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	12,6	12,6
20	MLP-Ma 15191-1	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	9,0	9,0	8,8	8,8	8,8	8,8	8,2	8,2	8,2	7,4	7,6	7,2	7,0	8,8		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	11,5	11,5
21	MLP-Ma 15191-2	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	9,0	9,0	8,8	8,8	8,8	8,8	8,2	8,2	8,2	7,4	7,6	7,2	7,0	8,8	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	11,5	11,5
22	MLP-Ma 15191-3	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	9,0	9,0	8,8	8,8	8,8	8,8	8,2	8,2	8,2	7,4	7,6	7,2	7,0	8,8	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	11,5	11,5
23	MLP-Ma 15191-4	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	9,0	9,0	8,8	8,8	8,8	8,8	8,2	8,2	8,2	7,4	7,6	7,2	7,0	8,8	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	11,5	11,5
24	MLP-Ma 15192-1	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	9,0	9,0	8,8	8,8	8,8	8,8	8,2	8,2	8,2	7,4	7,6	7,2	7,0	8,8	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	11,5	11,5
25	MLP-Ma 15192-1	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	9,0	9,0	8,8	8,8	8,8	8,8	8,2	8,2	8,2	7,4	7,6	7,2	7,0	8,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	11,5	11,5
26	MLP-Ma 15191-5	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	9,0	9,0	8,8	8,8	8,8	8,8	8,2	8,2	8,2	7,4	7,6	7,2	7,0	8,8	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		11,5	11,5

Anexo 1.4 (Continuación)

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	
27	KX158843	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6	10,4	10,4	10,2	10,2	10,2	10,2	9,4	9,4	9,4	8,2	8,4	9,2	9,0	11,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	0,0	
28	MLP-Ma 15209	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6	10,4	10,4	10,2	10,2	10,2	10,2	9,4	9,4	9,4	8,2	8,4	9,2	9,0	11,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	0,0	
29	MLP-Ma 15207-2	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,6	10,6	10,4	10,4	10,4	10,4	9,2	9,2	9,2	9,0	9,2	8,2	8,0	10,6	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	6,7	6,7
30	MLP-Ma 15207-3	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,6	10,6	10,4	10,4	10,4	10,4	9,2	9,2	9,2	9,0	9,2	8,2	8,0	10,6	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	6,7	6,7
31	MLP-Ma 15207-1	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,6	10,6	10,4	10,4	10,4	10,4	9,2	9,2	9,2	9,0	9,2	8,2	8,0	10,6	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	6,7	6,7
32	MLP-Ma 15206	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,6	10,6	10,4	10,4	10,4	10,4	9,2	9,2	9,2	9,0	9,2	8,2	8,0	10,6	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	6,7	6,7
33	KM220909	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,6	10,6	10,4	10,4	10,4	10,4	9,2	9,2	9,2	9,0	9,2	8,2	8,0	10,6	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	7,8	6,7	6,7
34	MT299937	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6	10,4	10,4	10,2	10,2	10,2	10,4	9,6	9,6	9,6	9,0	9,2	8,6	8,4	10,0	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,2	8,2
35	MT299938	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,6	10,6	10,4	10,4	10,4	10,6	9,8	9,8	9,8	9,2	9,4	8,8	8,6	9,8	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	8,0	8,0
36	MT299931	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,4	9,4	9,2	9,2	9,2	9,4	9,0	9,0	9,0	8,8	9,0	7,8	7,6	9,8	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	6,7	6,7
37	MT299932	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,4	9,4	9,2	9,2	9,2	9,4	9,0	9,0	9,0	8,8	9,0	7,8	7,6	9,8	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	6,7	6,7
38	MLP-Ma 15202-1	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	9,8	9,8	9,6	9,6	9,6	9,8	9,8	9,8	9,8	8,8	9,0	9,0	8,8	11,2	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	7,8	7,8
39	KM220910	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	10,0	10,0	9,8	9,8	9,8	10,0	10,0	10,0	10,0	9,0	9,2	9,2	9,0	11,4	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,0	8,0
40	MLP-Ma 15203-4	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	9,8	9,8	9,6	9,6	9,6	9,8	9,8	9,8	9,8	8,8	9,0	9,0	8,8	11,2	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	7,8	7,8
41	MLP-Ma 15202-2	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	9,8	9,8	9,6	9,6	9,6	9,8	9,8	9,8	9,8	8,8	9,0	9,0	8,8	11,2	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	7,8	7,8
42	MLP-Ma 15203-3	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	9,8	9,8	9,6	9,6	9,6	9,8	9,8	9,8	9,8	8,8	9,0	9,0	8,8	11,2	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	7,8	7,8
43	MLP-Ma 15202-3	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	9,8	9,8	9,6	9,6	9,6	9,8	9,8	9,8	9,8	8,8	9,0	9,0	8,8	11,2	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	7,8	7,8
44	MLP-Ma 15202-4	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	9,8	9,8	9,6	9,6	9,6	9,8	9,8	9,8	9,8	8,8	9,0	9,0	8,8	11,2	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	7,8	7,8
45	MLP-Ma 15203-1	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	9,8	9,8	9,6	9,6	9,6	9,8	9,8	9,8	9,8	8,8	9,0	9,0	8,8	11,2	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	7,8	7,8
46	MLP-Ma 15203-2	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	9,8	9,8	9,6	9,6	9,6	9,8	9,8	9,8	9,8	8,8	9,0	9,0	8,8	11,2	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	7,8	7,8
47	MLP-Ma 15204	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,6	9,6	9,4	9,4	9,4	9,6	9,6	9,6	9,6	8,6	8,8	8,8	8,6	11,4	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,0	8,0
48	KX397599	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	8,8	8,8	8,6	8,6	8,6	8,6	7,8	7,8	7,8	6,8	7,0	6,5	6,3	9,0	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	8,8	8,8
49	KX397600	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	8,8	8,8	8,6	8,6	8,6	8,6	7,8	7,8	7,8	6,8	7,0	6,5	6,3	9,0	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	8,8	8,8
50	MT299933	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	10,8	10,8	11,0	11,0	11,0	10,8	10,4	10,4	10,4	9,8	10,0	9,2	9,0	12,1	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	8,4	8,4
51	MT299934	11,4	11,4	11,4	11,4	11,4	11,2	11,2	11,4	11,4	11,4	11,2	10,8	10,8	10,8	9,8	10,0	9,2	9,0	12,3	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	8,8	8,8
52	MT299936	11,5	11,5	11,5	11,5	11,5	11,4	11,4	11,5	11,5	11,5	11,4	10,6	10,6	10,6	9,6	9,8	9,0	8,8	12,1	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,2	9,2
53	MT299935	11,4	11,4	11,4	11,4	11,4	11,2	11,2	11,4	11,4	11,4	11,2	10,8	10,8	10,8	9,4	9,6	8,8	8,6	11,9	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,0	9,0

Anexo 1.4 (Continuación)

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28		
54 MLP-Ma 15212-1	11,9	11,9	11,9	11,9	11,9	12,1	12,1	11,9	11,9	11,9	12,1	11,0	11,0	11,0	10,0	10,2	9,8	9,6	13,1	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	10,0	10,0	
55 MLP-Ma 15212-2	11,9	11,9	11,9	11,9	11,9	12,1	12,1	11,9	11,9	11,9	12,1	11,0	11,0	11,0	10,0	10,2	9,8	9,6	13,1	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	10,0	10,0
56 MLP-Ma 15211-1	11,9	11,9	11,9	11,9	11,9	12,1	12,1	11,9	11,9	11,9	12,1	11,0	11,0	11,0	10,0	10,2	9,8	9,6	13,1	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	10,0	10,0	
57 MLP-Ma 15210-3	11,9	11,9	11,9	11,9	11,9	12,1	12,1	11,9	11,9	11,9	12,1	11,0	11,0	11,0	10,0	10,2	9,8	9,6	13,1	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	10,0	10,0	
58 MLP-Ma 15211-2	11,9	11,9	11,9	11,9	11,9	12,1	12,1	11,9	11,9	11,9	12,1	11,0	11,0	11,0	10,0	10,2	9,8	9,6	13,1	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	10,0	10,0	
59 MLP-Ma 15210-4	11,7	11,7	11,7	11,7	11,7	11,9	11,9	11,7	11,7	11,7	11,9	10,8	10,8	10,8	9,8	10,0	10,0	9,8	12,9	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	9,8	9,8	
60 MLP-Ma 15210-5	11,9	11,9	11,9	11,9	11,9	12,1	12,1	11,9	11,9	11,9	12,1	11,0	11,0	11,0	10,0	10,2	10,2	10,0	13,1	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	10,0	10,0	
61 MLP-Ma 15210-1	11,2	11,2	11,2	11,2	11,2	11,0	11,0	10,8	10,8	10,8	11,0	10,6	10,6	10,6	8,6	8,8	7,8	7,6	11,2	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	10,0	10,0	
62 MLP-Ma 15210-2	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	10,8	10,8	10,6	10,6	10,6	10,8	10,4	10,4	10,4	8,4	8,6	8,0	7,8	11,4	8,2	8,2	8,2	8,2	8,2	8,2	8,2	8,2	9,8	9,8	
63 MT299927	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	10,4	10,4	10,2	10,2	10,2	10,4	9,6	9,6	9,6	8,0	8,2	8,4	8,2	11,5	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	10,8	10,8	
64 MT299928	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	10,4	10,4	10,2	10,2	10,2	10,4	9,6	9,6	9,6	8,0	8,2	8,4	8,2	11,5	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	10,8	10,8	
65 MT299929	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,6	9,6	9,4	9,4	9,4	9,4	9,2	9,2	9,2	7,4	7,6	7,0	6,8	9,0	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	9,8	9,8	
66 MT299930	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,6	9,6	9,4	9,4	9,4	9,4	9,2	9,2	9,2	7,4	7,6	7,0	6,8	9,0	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	9,8	9,8	
67 MT299939	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,2	10,2	10,2	10,2	9,6	9,6	9,6	8,0	8,2	8,0	7,8	9,2	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	9,2	9,2	
68 MT299940	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,2	10,2	10,2	10,2	9,6	9,6	9,6	8,0	8,2	8,0	7,8	9,2	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	9,2	9,2	
69 JX970618	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,6	10,6	10,4	10,4	10,4	10,4	9,8	9,8	9,8	9,4	9,6	10,0	9,8	12,1	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	10,4	10,4	
70 JX970619	15,5	15,5	15,5	15,5	15,5	15,5	15,5	15,3	15,3	15,3	15,5	14,7	14,7	14,7	14,3	14,5	14,5	14,3	15,9	13,5	13,5	13,5	13,5	13,5	13,5	13,5	13,5	15,9	15,9	
71 FJ619850	15,5	15,5	15,5	15,5	15,5	15,5	15,5	15,3	15,3	15,3	15,5	14,7	14,7	14,7	14,1	14,3	14,5	14,3	16,0	13,5	13,5	13,5	13,5	13,5	13,5	13,5	15,1	15,1		

Anexo 1.4 (Continuación)

	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	
1	11,5	11,5	11,5	11,5	11,5	11,7	12,0	10,5	10,5	11,0	11,2	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	10,8	9,8	9,8	12,1	12,6	12,9	12,6	13,3	13,3	13,3	13,3	13,3	13,3	13,1	13,3	12,4
2	11,5	11,5	11,5	11,5	11,5	11,7	12,0	10,5	10,5	11,0	11,2	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	10,8	9,8	9,8	12,1	12,6	12,9	12,6	13,3	13,3	13,3	13,3	13,3	13,3	13,1	13,3	12,4
3	11,5	11,5	11,5	11,5	11,5	11,7	12,0	10,5	10,5	11,0	11,2	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	10,8	9,8	9,8	12,1	12,6	12,9	12,6	13,3	13,3	13,3	13,3	13,3	13,3	13,1	13,3	12,4
4	11,5	11,5	11,5	11,5	11,5	11,7	12,0	10,5	10,5	11,0	11,2	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	10,8	9,8	9,8	12,1	12,6	12,9	12,6	13,3	13,3	13,3	13,3	13,3	13,3	13,1	13,3	12,4
5	11,5	11,5	11,5	11,5	11,5	11,7	12,0	10,5	10,5	11,0	11,2	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	11,0	10,8	9,8	9,8	12,1	12,6	12,9	12,6	13,3	13,3	13,3	13,3	13,3	13,3	13,1	13,3	12,4
6	11,7	11,7	11,7	11,7	11,7	11,5	11,7	10,3	10,3	10,8	11,0	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,5	9,6	9,6	11,9	12,4	12,6	12,4	13,6	13,6	13,6	13,6	13,6	13,6	13,3	13,6	12,1
7	11,7	11,7	11,7	11,7	11,7	11,5	11,7	10,3	10,3	10,8	11,0	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,5	9,6	9,6	11,9	12,4	12,6	12,4	13,6	13,6	13,6	13,6	13,6	13,6	13,3	13,6	12,1
8	11,5	11,5	11,5	11,5	11,5	11,2	11,5	10,0	10,0	10,5	10,8	10,5	10,5	10,5	10,5	10,5	10,5	10,5	10,3	9,3	9,3	12,1	12,6	12,9	12,6	13,3	13,3	13,3	13,3	13,3	13,3	13,1	13,3	11,9
9	11,5	11,5	11,5	11,5	11,5	11,2	11,5	10,0	10,0	10,5	10,8	10,5	10,5	10,5	10,5	10,5	10,5	10,5	10,3	9,3	9,3	12,1	12,6	12,9	12,6	13,3	13,3	13,3	13,3	13,3	13,3	13,1	13,3	11,9
10	11,5	11,5	11,5	11,5	11,5	11,2	11,5	10,0	10,0	10,5	10,8	10,5	10,5	10,5	10,5	10,5	10,5	10,5	10,3	9,3	9,3	12,1	12,6	12,9	12,6	13,3	13,3	13,3	13,3	13,3	13,3	13,1	13,3	11,9
11	11,5	11,5	11,5	11,5	11,5	11,5	11,7	10,3	10,3	10,8	11,0	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,5	9,3	9,3	11,9	12,4	12,6	12,4	13,6	13,6	13,6	13,6	13,6	13,6	13,3	13,6	12,1
12	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,5	10,8	9,8	9,8	10,8	11,0	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,5	8,4	8,4	11,4	11,9	11,6	11,9	12,1	12,1	12,1	12,1	12,1	12,1	11,9	12,1	11,6
13	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,5	10,8	9,8	9,8	10,8	11,0	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,5	8,4	8,4	11,4	11,9	11,6	11,9	12,1	12,1	12,1	12,1	12,1	12,1	11,9	12,1	11,6
14	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,5	10,8	9,8	9,8	10,8	11,0	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,5	8,4	8,4	11,4	11,9	11,6	11,9	12,1	12,1	12,1	12,1	12,1	12,1	11,9	12,1	11,6
15	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	10,0	9,5	9,5	9,5	9,8	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,3	7,3	7,3	10,7	10,7	10,4	10,2	10,9	10,9	10,9	10,9	10,9	10,9	10,6	10,9	9,3
16	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,2	9,8	9,8	9,8	10,0	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,5	7,5	7,5	10,9	10,9	10,7	10,4	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1	11,1	10,9	11,1	9,5
17	8,9	8,9	8,9	8,9	8,9	9,4	9,6	8,5	8,5	9,9	10,1	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,9	9,6	6,9	6,9	10,0	10,0	9,8	9,6	10,7	10,7	10,7	10,7	10,7	10,7	11,0	11,2	8,4
18	8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	9,1	9,4	8,2	8,2	9,6	9,9	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,4	6,6	6,6	9,8	9,8	9,6	9,3	10,5	10,5	10,5	10,5	10,5	10,5	10,7	11,0	8,2
19	11,6	11,6	11,6	11,6	11,6	10,9	10,7	10,7	10,7	12,4	12,6	12,4	12,4	12,4	12,4	12,4	12,4	12,4	12,6	9,7	9,7	13,5	13,8	13,5	13,3	14,7	14,7	14,7	14,7	14,7	14,7	14,5	14,7	12,3
20	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	9,6	9,8	9,8	9,8	9,1	9,4	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,4	8,2	8,2	9,8	9,8	10,2	10,2	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,3	9,5	8,6
21	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	9,6	9,8	9,8	9,8	9,1	9,4	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,4	8,2	8,2	9,8	9,8	10,2	10,2	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,3	9,5	8,6
22	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	9,6	9,8	9,8	9,8	9,1	9,4	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,4	8,2	8,2	9,8	9,8	10,2	10,2	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,3	9,5	8,6
23	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	9,6	9,8	9,8	9,8	9,1	9,4	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,4	8,2	8,2	9,8	9,8	10,2	10,2	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,3	9,5	8,6
24	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	9,6	9,8	9,8	9,8	9,1	9,4	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,4	8,2	8,2	9,8	9,8	10,2	10,2	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,3	9,5	8,6
25	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	9,6	9,8	9,8	9,8	9,1	9,4	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,4	8,2	8,2	9,8	9,8	10,2	10,2	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,3	9,5	8,6
26	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	9,6	9,8	9,8	9,8	9,1	9,4	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,4	8,2	8,2	9,8	9,8	10,2	10,2	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,5	9,3	9,5	8,6
27	7,1	7,1	7,1	7,1	7,1	8,8	8,6	7,0	7,0	8,4	8,6	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,6	9,6	9,6	9,0	9,5	10,0	9,7	10,9	10,9	10,9	10,9	10,9	10,9	10,7	10,9	10,9

Anexo 1.4 (Continuación)

	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61
28	7,1	7,1	7,1	7,1	7,1	8,8	8,6	7,0	7,0	8,4	8,6	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	8,6	9,6	9,6	9,0	9,5	10,0	9,7	10,9	10,9	10,9	10,9	10,9	10,9	10,7	10,9	10,9
29		0,0	0,0	0,0	0,0	9,1	8,9	7,7	7,7	8,0	8,2	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,2	7,3	7,3	9,1	9,5	10,5	9,8	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	10,0	10,2	10,0
30	0,0		0,0	0,0	0,0	9,1	8,9	7,7	7,7	8,0	8,2	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,2	7,3	7,3	9,1	9,5	10,5	9,8	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	10,0	10,2	10,0	
31	0,0	0,0		0,0	0,0	9,1	8,9	7,7	7,7	8,0	8,2	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,2	7,3	7,3	9,1	9,5	10,5	9,8	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	10,0	10,2	10,0	
32	0,0	0,0	0,0		0,0	9,1	8,9	7,7	7,7	8,0	8,2	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,2	7,3	7,3	9,1	9,5	10,5	9,8	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	10,0	10,2	10,0	
33	0,0	0,0	0,0	0,0		9,1	8,9	7,7	7,7	8,0	8,2	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,2	7,3	7,3	9,1	9,5	10,5	9,8	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	10,0	10,2	10,0	
34	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4		0,6	4,7	4,7	9,4	9,6	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,6	8,8	8,8	11,2	11,2	12,2	11,9	10,7	10,7	10,7	10,7	10,7	10,9	10,7	9,8	
35	8,2	8,2	8,2	8,2	8,2	0,6		4,5	4,5	9,1	9,4	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,1	9,4	9,1	9,1	11,4	11,4	12,4	12,2	10,9	10,9	10,9	10,9	10,9	11,2	10,9	10,0	
36	7,2	7,2	7,2	7,2	7,2	4,5	4,3		0,0	8,0	8,2	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,2	8,4	8,4	9,3	9,8	11,0	10,7	11,2	11,2	11,2	11,2	11,2	11,4	11,2	10,0	
37	7,2	7,2	7,2	7,2	7,2	4,5	4,3	0,0		8,0	8,2	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,0	8,2	8,4	8,4	9,3	9,8	11,0	10,7	11,2	11,2	11,2	11,2	11,2	11,4	11,2	10,0	
38	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4	8,6	8,4	7,4	7,4		0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	9,3	9,3	10,0	10,5	11,4	10,7	11,9	11,9	11,9	11,9	11,9	11,9	11,7	11,4	10,2
39	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	8,8	8,6	7,6	7,6	0,2		0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,4	9,6	9,6	10,2	10,7	11,7	11,0	12,2	12,2	12,2	12,2	12,2	11,9	11,7	10,5	
40	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4	8,6	8,4	7,4	7,4	0,0	0,2		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	9,3	9,3	10,0	10,5	11,4	10,7	11,9	11,9	11,9	11,9	11,9	11,7	11,4	10,2	
41	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4	8,6	8,4	7,4	7,4	0,0	0,2	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	9,3	9,3	10,0	10,5	11,4	10,7	11,9	11,9	11,9	11,9	11,9	11,7	11,4	10,2	
42	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4	8,6	8,4	7,4	7,4	0,0	0,2	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,2	9,3	9,3	10,0	10,5	11,4	10,7	11,9	11,9	11,9	11,9	11,9	11,7	11,4	10,2	
43	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4	8,6	8,4	7,4	7,4	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,2	9,3	9,3	10,0	10,5	11,4	10,7	11,9	11,9	11,9	11,9	11,9	11,7	11,4	10,2	
44	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4	8,6	8,4	7,4	7,4	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,2	9,3	9,3	10,0	10,5	11,4	10,7	11,9	11,9	11,9	11,9	11,9	11,7	11,4	10,2	
45	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4	8,6	8,4	7,4	7,4	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,2	9,3	9,3	10,0	10,5	11,4	10,7	11,9	11,9	11,9	11,9	11,9	11,7	11,4	10,2	
46	7,4	7,4	7,4	7,4	7,4	8,6	8,4	7,4	7,4	0,0	0,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,2	9,3	9,3	10,0	10,5	11,4	10,7	11,9	11,9	11,9	11,9	11,9	11,7	11,4	10,2
47	7,6	7,6	7,6	7,6	7,6	8,8	8,6	7,6	7,6	0,2	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2		9,1	9,1	9,8	10,2	11,2	10,5	11,7	11,7	11,7	11,7	11,7	11,4	11,2	10,0	
48	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	8,2	8,4	7,8	7,8	8,6	8,8	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,4		0,0	8,2	8,2	7,9	8,2	10,7	10,7	10,7	10,7	10,7	10,5	10,7	9,3
49	6,8	6,8	6,8	6,8	6,8	8,2	8,4	7,8	7,8	8,6	8,8	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	8,4	0,0		8,2	8,2	7,9	8,2	10,7	10,7	10,7	10,7	10,7	10,5	10,7	9,3
50	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	10,2	10,4	8,6	8,6	9,2	9,4	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	9,0	7,6	7,6		0,4	1,8	2,2	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	8,7	9,0	7,6
51	8,8	8,8	8,8	8,8	8,8	10,2	10,4	9,0	9,0	9,6	9,8	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	9,4	7,6	7,6	0,4		1,4	1,8	8,5	8,5	8,5	8,5	8,5	8,3	8,5	7,1
52	9,6	9,6	9,6	9,6	9,6	11,0	11,2	10,0	10,0	10,4	10,6	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,2	7,4	7,4	1,8	1,4		0,8	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	9,0	9,2	7,8
53	9,0	9,0	9,0	9,0	9,0	10,8	11,0	9,8	9,8	9,8	10,0	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,8	9,6	7,6	7,6	2,2	1,8	0,8		8,7	8,7	8,7	8,7	8,7	8,5	8,7	7,6
54	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,8	10,0	10,2	10,2	10,8	11,0	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,6	9,8	9,8	8,2	7,8	8,4	8,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,2	0,4	4,5

Anexo 1.4 (Continuación)

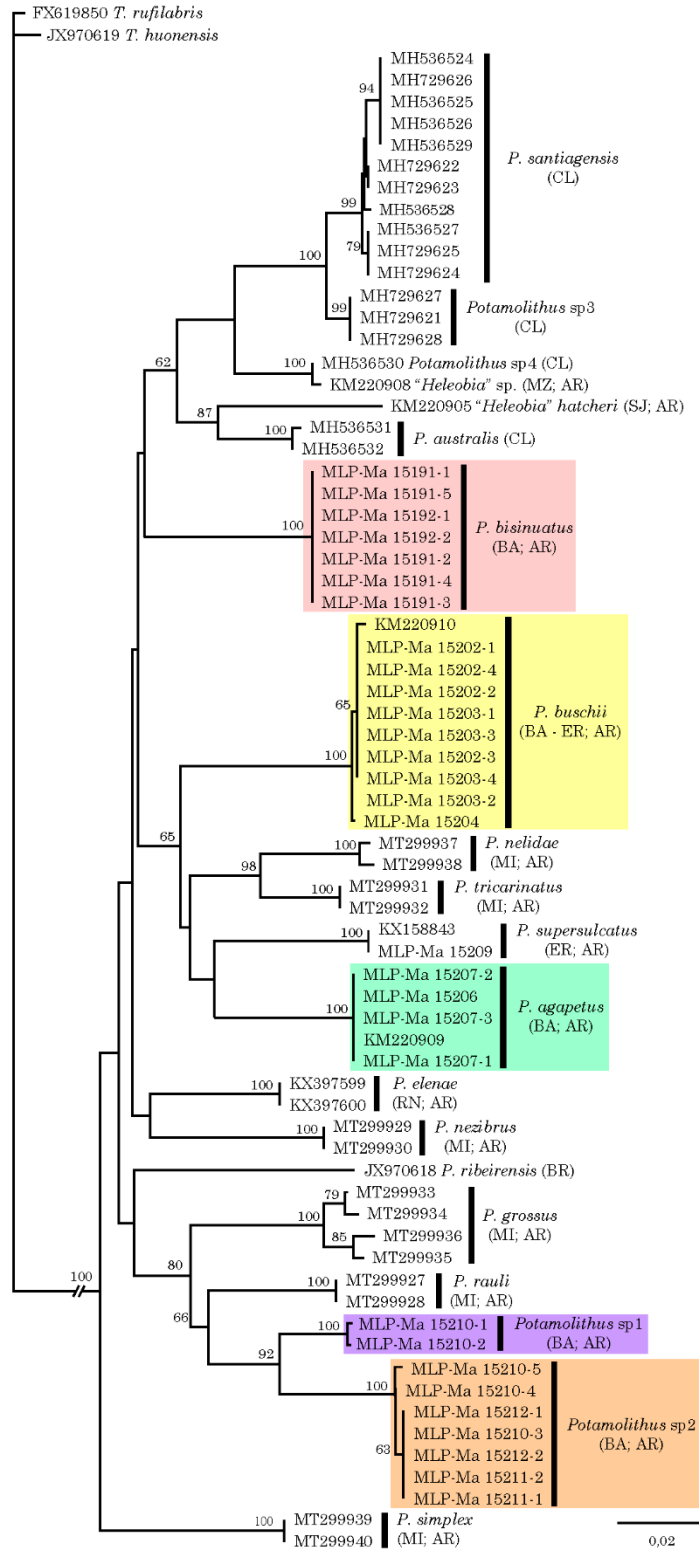
	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60	61	
55	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,8	10,0	10,2	10,2	10,8	11,0	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,6	9,8	9,8	8,2	7,8	8,4	8,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,2	0,4	4,5	
56	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,8	10,0	10,2	10,2	10,8	11,0	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,6	9,8	9,8	8,2	7,8	8,4	8,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,2	0,4	4,5	
57	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,8	10,0	10,2	10,2	10,8	11,0	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,6	9,8	9,8	8,2	7,8	8,4	8,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,2	0,4	4,5	
58	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,8	10,0	10,2	10,2	10,8	11,0	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,6	9,8	9,8	8,2	7,8	8,4	8,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,2	0,4	4,5	
59	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	10,0	10,2	10,4	10,4	10,6	10,8	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6	10,4	9,6	9,6	8,0	7,6	8,2	7,8	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2		0,2	4,7	
60	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,8	10,0	10,2	10,2	10,4	10,6	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,4	10,2	9,8	9,8	8,2	7,8	8,4	8,0	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,2		4,9	
61	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	9,0	9,2	9,2	9,2	9,4	9,6	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,2	8,6	8,6	7,0	6,7	7,2	7,0	4,3	4,3	4,3	4,3	4,3	4,5	4,7		
62	9,4	9,4	9,4	9,4	9,4	9,2	9,4	9,4	9,4	9,2	9,4	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	9,2	9,0	8,8	8,8	6,8	6,5	7,0	6,8	4,1	4,1	4,1	4,1	4,1	4,1	4,3	4,5	0,2
63	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	11,9	12,1	10,8	10,8	10,2	10,4	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	10,0	7,4	7,4	7,8	7,8	7,2	7,0	6,3	6,3	6,3	6,3	6,3	6,5	6,7	6,8	
64	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	11,9	12,1	10,8	10,8	10,2	10,4	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	10,0	7,4	7,4	7,8	7,8	7,2	7,0	6,3	6,3	6,3	6,3	6,3	6,5	6,7	6,8	
65	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	9,4	9,2	9,2	9,2	10,0	10,2	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,2	6,8	6,8	9,6	10,0	9,8	9,6	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6	10,8	11,0	8,6
66	8,6	8,6	8,6	8,6	8,6	9,4	9,2	9,2	9,2	10,0	10,2	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,2	6,8	6,8	9,6	10,0	9,8	9,6	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6	10,6	10,8	11,0	8,6
67	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	9,8	10,0	9,6	9,6	10,0	10,2	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,2	8,0	8,0	9,4	9,4	9,2	9,2	11,4	11,4	11,4	11,4	11,4	11,4	11,2	11,4	10,8
68	8,4	8,4	8,4	8,4	8,4	9,8	10,0	9,6	9,6	10,0	10,2	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,0	10,2	8,0	8,0	9,4	9,4	9,2	9,2	11,4	11,4	11,4	11,4	11,4	11,4	11,2	11,4	10,8
69	10,2	10,2	10,2	10,2	10,2	10,8	11,0	10,6	10,6	10,8	11,0	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,6	9,4	9,4	9,4	9,8	9,8	9,2	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,6	10,8	10,8	
70	14,5	14,5	14,5	14,5	14,5	16,0	15,9	14,9	14,9	14,9	15,1	14,9	14,9	14,9	14,9	14,9	14,9	14,9	15,1	13,3	13,3	14,7	14,7	14,1	14,5	17,4	17,4	17,4	17,4	17,4	17,4	17,2	17,4	15,5
71	14,1	14,1	14,1	14,1	14,1	15,7	15,9	14,1	14,1	14,1	14,3	14,1	14,1	14,1	14,1	14,1	14,1	14,1	14,3	13,3	13,3	14,3	14,7	14,1	14,1	17,0	17,0	17,0	17,0	17,0	16,8	17,0	15,5	

Anexo 1.4 (Continuación)

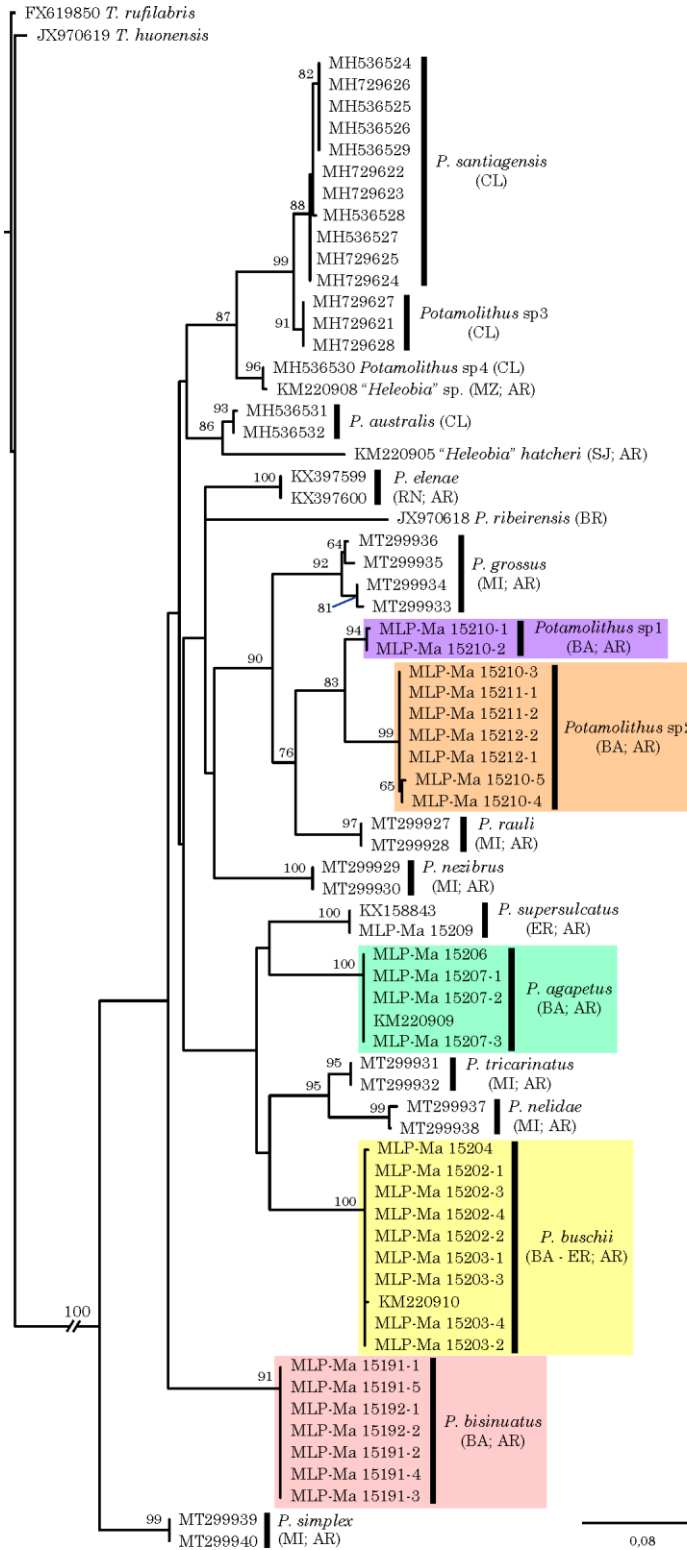
	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71
1	12,1	11,1	11,1	10,7	10,7	11,4	11,4	11,9	17,5	17,5
2	12,1	11,1	11,1	10,7	10,7	11,4	11,4	11,9	17,5	17,5
3	12,1	11,1	11,1	10,7	10,7	11,4	11,4	11,9	17,5	17,5
4	12,1	11,1	11,1	10,7	10,7	11,4	11,4	11,9	17,5	17,5
5	12,1	11,1	11,1	10,7	10,7	11,4	11,4	11,9	17,5	17,5
6	11,9	11,4	11,4	10,5	10,5	11,4	11,4	11,6	17,5	17,5
7	11,9	11,4	11,4	10,5	10,5	11,4	11,4	11,6	17,5	17,5
8	11,6	11,1	11,1	10,3	10,3	11,2	11,2	11,4	17,2	17,2
9	11,6	11,1	11,1	10,3	10,3	11,2	11,2	11,4	17,2	17,2
10	11,6	11,1	11,1	10,3	10,3	11,2	11,2	11,4	17,2	17,2
11	11,9	11,4	11,4	10,3	10,3	11,2	11,2	11,4	17,5	17,5
12	11,4	10,4	10,4	10,0	10,0	10,5	10,5	10,7	16,5	16,5
13	11,4	10,4	10,4	10,0	10,0	10,5	10,5	10,7	16,5	16,5
14	11,4	10,4	10,4	10,0	10,0	10,5	10,5	10,7	16,5	16,5
15	9,0	8,5	8,5	7,9	7,9	8,6	8,6	10,2	16,0	15,7
16	9,3	8,8	8,8	8,1	8,1	8,8	8,8	10,4	16,3	16,0
17	8,6	9,1	9,1	7,5	7,5	8,7	8,7	10,9	16,3	16,3
18	8,4	8,8	8,8	7,3	7,3	8,4	8,4	10,7	16,0	16,0
19	12,5	12,7	12,7	9,7	9,7	9,9	9,9	13,5	17,9	18,2
20	8,8	9,5	9,5	9,1	9,1	9,6	9,6	10,7	15,0	15,0
21	8,8	9,5	9,5	9,1	9,1	9,6	9,6	10,7	15,0	15,0
22	8,8	9,5	9,5	9,1	9,1	9,6	9,6	10,7	15,0	15,0
23	8,8	9,5	9,5	9,1	9,1	9,6	9,6	10,7	15,0	15,0
24	8,8	9,5	9,5	9,1	9,1	9,6	9,6	10,7	15,0	15,0
25	8,8	9,5	9,5	9,1	9,1	9,6	9,6	10,7	15,0	15,0
26	8,8	9,5	9,5	9,1	9,1	9,6	9,6	10,7	15,0	15,0
27	10,7	11,8	11,8	10,7	10,7	10,0	10,0	11,3	18,0	17,0
28	10,7	11,8	11,8	10,7	10,7	10,0	10,0	11,3	18,0	17,0
29	10,2	11,1	11,1	9,3	9,3	9,1	9,1	11,1	16,2	15,7
30	10,2	11,1	11,1	9,3	9,3	9,1	9,1	11,1	16,2	15,7
31	10,2	11,1	11,1	9,3	9,3	9,1	9,1	11,1	16,2	15,7
32	10,2	11,1	11,1	9,3	9,3	9,1	9,1	11,1	16,2	15,7
33	10,2	11,1	11,1	9,3	9,3	9,1	9,1	11,1	16,2	15,7
34	10,0	13,3	13,3	10,2	10,2	10,7	10,7	11,8	18,4	17,8
35	10,2	13,6	13,6	10,0	10,0	11,0	11,0	12,1	18,1	18,1
36	10,2	11,9	11,9	10,0	10,0	10,5	10,5	11,6	16,8	15,8
37	10,2	11,9	11,9	10,0	10,0	10,5	10,5	11,6	16,8	15,8
38	10,0	11,2	11,2	10,9	10,9	11,0	11,0	11,8	16,8	15,8
39	10,2	11,4	11,4	11,2	11,2	11,2	11,2	12,1	17,1	16,0
40	10,0	11,2	11,2	10,9	10,9	11,0	11,0	11,8	16,8	15,8
41	10,0	11,2	11,2	10,9	10,9	11,0	11,0	11,8	16,8	15,8
42	10,0	11,2	11,2	10,9	10,9	11,0	11,0	11,8	16,8	15,8
43	10,0	11,2	11,2	10,9	10,9	11,0	11,0	11,8	16,8	15,8

Anexo 1.4 (Continuación)

	62	63	64	65	66	67	68	69	70	71
44	10,0	11,2	11,2	10,9	10,9	11,0	11,0	11,8	16,8	15,8
45	10,0	11,2	11,2	10,9	10,9	11,0	11,0	11,8	16,8	15,8
46	10,0	11,2	11,2	10,9	10,9	11,0	11,0	11,8	16,8	15,8
47	9,8	10,9	10,9	11,2	11,2	11,2	11,2	11,6	17,1	16,0
48	9,6	7,9	7,9	7,3	7,3	8,6	8,6	10,2	14,7	14,7
49	9,6	7,9	7,9	7,3	7,3	8,6	8,6	10,2	14,7	14,7
50	7,3	8,4	8,4	10,5	10,5	10,2	10,2	10,2	16,5	16,0
51	6,9	8,4	8,4	11,0	11,0	10,2	10,2	10,6	16,5	16,5
52	7,6	7,8	7,8	10,7	10,7	10,0	10,0	10,6	15,7	15,7
53	7,3	7,5	7,5	10,5	10,5	10,0	10,0	9,9	16,2	15,7
54	4,3	6,7	6,7	11,7	11,7	12,6	12,6	11,8	20,1	19,6
55	4,3	6,7	6,7	11,7	11,7	12,6	12,6	11,8	20,1	19,6
56	4,3	6,7	6,7	11,7	11,7	12,6	12,6	11,8	20,1	19,6
57	4,3	6,7	6,7	11,7	11,7	12,6	12,6	11,8	20,1	19,6
58	4,3	6,7	6,7	11,7	11,7	12,6	12,6	11,8	20,1	19,6
59	4,5	6,9	6,9	11,9	11,9	12,4	12,4	11,6	19,9	19,3
60	4,7	7,1	7,1	12,2	12,2	12,6	12,6	11,8	20,1	19,6
61	0,2	7,3	7,3	9,3	9,3	11,8	11,8	11,8	17,5	17,5
62		7,1	7,1	9,6	9,6	12,1	12,1	11,6	17,8	17,8
63	6,7		0,0	9,1	9,1	11,1	11,1	10,4	17,5	17,0
64	6,7	0,0		9,1	9,1	11,1	11,1	10,4	17,5	17,0
65	8,8	8,4	8,4		0,0	9,7	9,7	11,8	16,2	16,2
66	8,8	8,4	8,4	0,0		9,7	9,7	11,8	16,2	16,2
67	11,0	10,2	10,2	9,0	9,0		0,0	10,7	15,5	14,7
68	11,0	10,2	10,2	9,0	9,0	0,0		10,7	15,5	14,7
69	10,6	9,6	9,6	10,8	10,8	9,8	9,8		17,0	15,7
70	15,7	15,5	15,5	14,5	14,5	13,9	13,9	15,1		1,0
71	15,7	15,1	15,1	14,5	14,5	13,3	13,3	14,1	1,0	



Anexo 1.5. Relaciones filogenéticas en especies del género *Potamolithus*. Análisis de Neighbor-Joining, con valores de soporte de Bootstrap >60. Rectángulos coloreados: especies registradas en este trabajo. Abreviaturas: AR: Argentina, BA: Buenos Aires, BR: Brasil, CL: Chile, ER: Entre Ríos, MI: Misiones, MZ: Mendoza, RN: Río Negro, SJ: San Juan.



Anexo 1.6. Relaciones filogenéticas en especies del género *Potamolithus*. Análisis de Máxima Verosimilitud, con valores de soporte de Bootstrap >60. Rectángulos coloreados: especies registradas en este trabajo. Abreviaturas: AR: Argentina, BA: Buenos Aires, BR: Brasil, CL: Chile, ER: Entre Ríos, MI: Misiones, MZ: Mendoza, RN: Río Negro, SJ: San Juan.

Anexo 1.7. Secuencias utilizadas en el análisis del género *Chilina*. Se muestra solo el alineamiento, debido a que las secuencias consenso y alineadas de *Chilina* son iguales.

AM494010_G_viator	TACTCTATATATAATCTTTGGAGTTTGTATGTTGGGTTAGTAGGGACTGGATTGCTTTTAAATTCGCAGTTGAGTTAGGGACA
KC347574_C_sanjuanina	GACATTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTGGTGGTACTGGACTTTCTTCTTAATTCGGTTGAGTTGGGAACA
KC347575_C_mendozaana	GACATTATACATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGTACTGGACTTTCTTCTTAATTCGGTTGAGTTGGGAACA
MLP_Ma_15220_C_rushii	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
KT820423_C_rushii	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
MLP_Ma_15214_C_fluminea	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
MLP_Ma_15222_C_fluminea	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
268CSP_C_fluminea	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
MLP_Ma_15217_1_C_fluminea	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
MLP_Ma_15215-2_C_fluminea	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
267CSP_C_fluminea	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
MLP_Ma_15217_2_C_fluminea	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
KT807831_C_fluminea	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
KT807833_C_fluminea	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
MLP_Ma_15216_1_C_fluminea	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
KT820422_C_fluminea	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
MLP_Ma_15221_1_C_fluminea	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
MLP_Ma_15221_2_C_fluminea	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
KT807832_C_fluminea	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
MLP_Ma_15216-2_C_fluminea	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
KT807834_C_fluminea	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
MLP_Ma_15219_C_fluminea	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
MLP_Ma_15223_C_fluminea	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
MLP_Ma_15215_1_C_fluminea	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
MLP_Ma_15218_1_C_fluminea	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
MLP_Ma_15218_2_C_fluminea	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
KT820421_C_gallardoi	AACATTATATATAGTATTTGGAGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
KT820419_C_nicolasi	AACGTTATATATAGTATTTGGCGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
KT820418_C_santiagoi	AACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
KT820420_C_luciae	AACGTTATATATAGTATTTGGAGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
KT807837_C_iguazuensis	GACGTTATATATAGTATTTGGCGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAATTAGGAACA
KT807838_C_iguazuensis	GACGTTATATATAGTATTTGGCGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAGTTGGGGACA
KT807835_C_iguazuensis	GACGTTATATATAGTATTTGGCGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAGTTGGGGACA
KT807836_C_iguazuensis	GACGTTATATATAGTATTTGGCGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAGTTGGGGACA
KT807839_C_megastoma	GACGTTATATATAGTATTTGGTGTATGGTGTGGGTTAGTGGCAGCTGGCTTTCCCTTACTAATTCGGTTGAGTTGGGGACA
JF909501_L_diaphana	AACTTTATATATAATCTTTGGAAATTTGATGTTGGGTTAGTAGGTACAGGATTATCTTTACTAATTCGGTTAGAACTAGGTACT

Anexo 1.7 (Continuación)

AM494010_G_viator	TCTACTGCTCTAATTTGATGAACATTTTTATAATGTTATTTGTCACAGCACATGCATTTGTAATAATTTTTTTTATAGTTATAC
KC347574_C_sanjuanina	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
KC347575_C_mendozaana	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
MLP_Ma_15220_C_rushii	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
KT820423_C_rushii	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
MLP_Ma_15214_C_fluminea	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
MLP_Ma_15222_C_fluminea	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
268CSP_C_fluminea	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
MLP_Ma_15217_1_C_fluminea	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
MLP_Ma_15215-2_C_fluminea	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
267CSP_C_fluminea	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
MLP_Ma_15217_2_C_fluminea	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
KT807831_C_fluminea	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
KT807833_C_fluminea	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
MLP_Ma_15216_1_C_fluminea	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
KT820422_C_fluminea	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
MLP_Ma_15221_1_C_fluminea	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
MLP_Ma_15221_2_C_fluminea	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
KT807832_C_fluminea	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
MLP_Ma_15216_2_C_fluminea	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
KT807834_C_fluminea	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
MLP_Ma_15219_C_fluminea	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
MLP_Ma_15223_C_fluminea	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
MLP_Ma_15215_1_C_fluminea	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
MLP_Ma_15218_1_C_fluminea	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
MLP_Ma_15218_2_C_fluminea	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
KT820421_C_gallardoi	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
KT820419_C_nicolasi	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
KT820418_C_santiagoi	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
KT820420_C_luciae	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
KT807837_C_iguazuensis	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
KT807838_C_iguazuensis	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
KT807835_C_iguazuensis	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
KT807836_C_iguazuensis	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
KT807839_C_megastoma	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC
JF909501_L_diaphana	TCCTTAGTACTAATAGATGAACACTTTTATAATGTAATGTTACTGCACACGCCTTTGTTATAATTTTTTTTATAGTAATGC

Anexo 1.7 (Continuación)

AM494010_G_viator	CTATAATAATTTGGTGGATTTGGAAATTTGAATAGTACCTTTACTAATTTGGTGCACCTGATATAAGATTTCCCTCGAATAAATAA
KC347574_C_sanjuanina	CTTTAATAATTCGGTGGATTTGGCAATTTGAATAGTACCTTTGTTAATTTGGTGCCTCGATATAAGATTTCCCTCGTATAAATAA
KC347575_C_mendozaana	CTTTAATAATTCGGTGGATTTGGCAATTTGAATAGTACCTTTGTTAATTTGGTGCCTCGATATAAGATTTCCCTCGTATAAATAA
MLP_Ma_15220_C_rushii	CTTTAATAATTCGGTGGATTTGGAACTGAATGGTACCATTATAATTTGGTGCCTCCGATATAAGATTTCCCTCGTATAAATAA
KT820423_C_rushii	CTTTAATAATTCGGTGGATTTGGAACTGAATGGTACCATTATAATTTGGTGCCTCCGATATAAGATTTCCCTCGTATAAATAA

MLP_Ma_15218_2_C_fluminea AAACCTGTTTGGTCTGTGCTAGTAACGCTTTTTTATTACTTCTATCACTTCCTGTTTTGGCAGGAGCAATTACTATA
 KT820421_C_gallardoi AAACCTGTTTGGTCTGTGCTAGTAACGCTTTTTTATTACTTCTGTCACTTCCTGTTTTGGCAGGAGCAATTACTATA
 KT820419_C_nicolasi AAACCTGTTTGGTCTGTGCTAGTAACGCTTTTTTATTACTTCTGTCACTTCCTGTTTTGGCAGGAGCAATTACTATA
 KT820418_C_santiagoi AAACCTGTTTGGTCTGTGCTAGTAACGCTTTTTTATTACTTCTGTCACTTCCTGTTTTGGCAGGAGCAATTACTATA
 KT820420_C_luciae AAACCTGTTTGGTCTGTGCTAGTAACGCTTTTTTATTACTTCTGTCACTTCCTGTTTTGGCAGGAGCAATTACTATA
 KT807837_C_iguazuensis AAACCTGTTTGGTCTGTGCTAGTAACGCTTTTTTATTACTTCTGTCACTTCCTGTTTTGGCAGGAGCAATTACTATA
 KT807838_C_iguazuensis AAACCTGTTTGGTCTGTGCTAGTAACGCTTTTTTATTACTTCTGTCACTTCCTGTTTTGGCAGGAGCAATTACTATA
 KT807835_C_iguazuensis AAACCTGTTTGGTCTGTGCTAGTAACGCTTTTTTATTACTTCTGTCACTTCCTGTTTTGGCAGGAGCAATTACTATA
 KT807836_C_iguazuensis AAACCTGTTTGGTCTGTGCTAGTAACGCTTTTTTATTACTTCTGTCACTTCCTGTTTTGGCAGGAGCAATTACTATA
 KT807839_C_megastoma AAATTTGTTTGGTCTGTGCTAGTAACGCTTTTTTATTACTTTTATCACTTCAGTCTGGCAGGAGCTATTACTATA
 JF909501_L_diaphana AAGTTTATTTGATGATCTGATTAGTAACGCTTTCTTACTTCTTCTTTCGTACCTGTTTTAGCTGGTGCTATTACAATA

Anexo 1.7 (Continuación)

AM494010_G_viator CTTTTAACAGATCGAAATTTAATACTTCTTTTTTGTATCCAGCTGGAGGTGGTACCCAATTTTATATCAACATTTATTT
 KC347574_C_sanjuanina CTCTTACAGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGATCCTGCTGGAGGGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 KC347575_C_mendozaana CTCTTACAGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGATCCTGCTGGAGGGGAGATCCAATTTTATACCAACACCTCTTT
 MLP_Ma_15220_C_rushii CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTCGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 KT820423_C_rushii CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATACCAATACCTCTTT
 MLP_Ma_15214_C_fluminea CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 MLP_Ma_15222_C_fluminea CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 268CSP_C_fluminea CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 MLP_Ma_15217_1_C_fluminea CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 MLP_Ma_15215_2_C_fluminea CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 267CSP_C_fluminea CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 MLP_Ma_15217_2_C_fluminea CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 KT807831_C_fluminea CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 KT807833_C_fluminea CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 MLP_Ma_15216_1_C_fluminea CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 KT820422_C_fluminea CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 MLP_Ma_15221_1_C_fluminea CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 MLP_Ma_15221_2_C_fluminea CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 KT807832_C_fluminea CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 MLP_Ma_15216_2_C_fluminea CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 KT807834_C_fluminea CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 MLP_Ma_15219_C_fluminea CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 MLP_Ma_15223_C_fluminea CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 MLP_Ma_15215_1_C_fluminea CTCTTACAGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 MLP_Ma_15218_1_C_fluminea CTCTTACAGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 MLP_Ma_15218_2_C_fluminea CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGACCCCGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 KT820421_C_gallardoi CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGATCCTGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 KT820419_C_nicolasi CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGATCCTGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 KT820418_C_santiagoi CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGATCCTGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 KT820420_C_luciae CTCTTACTGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGATCCTGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 KT807837_C_iguazuensis CTCTTACCAGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGATCCTGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 KT807838_C_iguazuensis CTCTTACCAGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGATCCTGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 KT807835_C_iguazuensis CTCTTACCAGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGATCCTGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 KT807836_C_iguazuensis CTCTTACCAGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGATCCTGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 KT807839_C_megastoma CTCTTACCAGATCGAAATTTAATAACCAGGTTCTTTGATCCTGCTGGAGGTGGAGATCCAATTTTATATCAACACCTCTTT
 JF909501_L_diaphana CTTTTAAGTATCGAAATTTAATACTTCTTTTTTGTATCCTGCTGGTGGTGGGACCTATTTTGTACCAACATTTGTTT

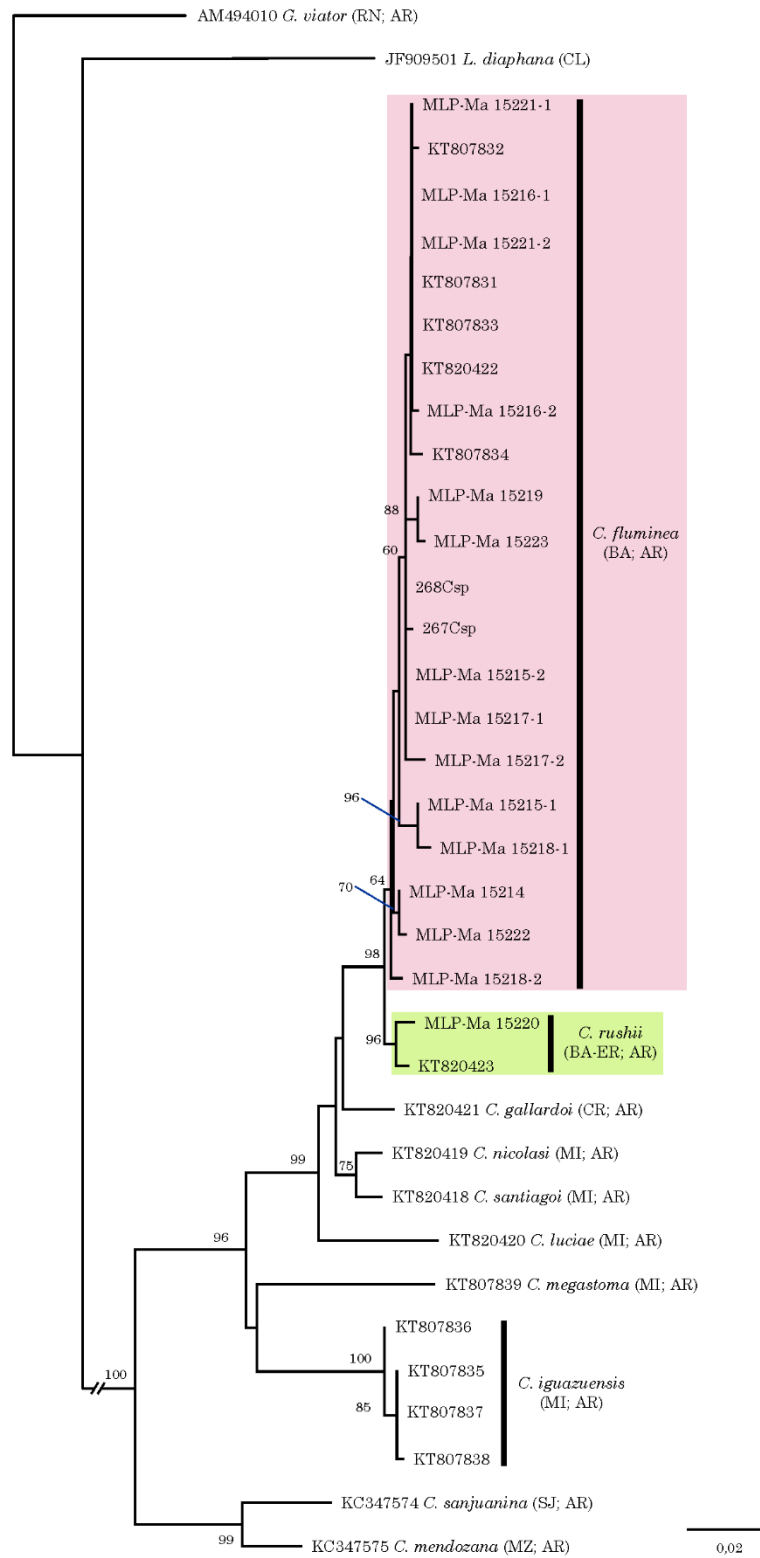
Volver

Anexo 1.8. Matriz de distancias genéticas de todos los ejemplares del género *Chilina* utilizados. Margen inferior izquierdo: distancias p; margen superior derecho: distancias corregidas con K2P. En negrita y con color se resaltan las especies registradas en este trabajo.

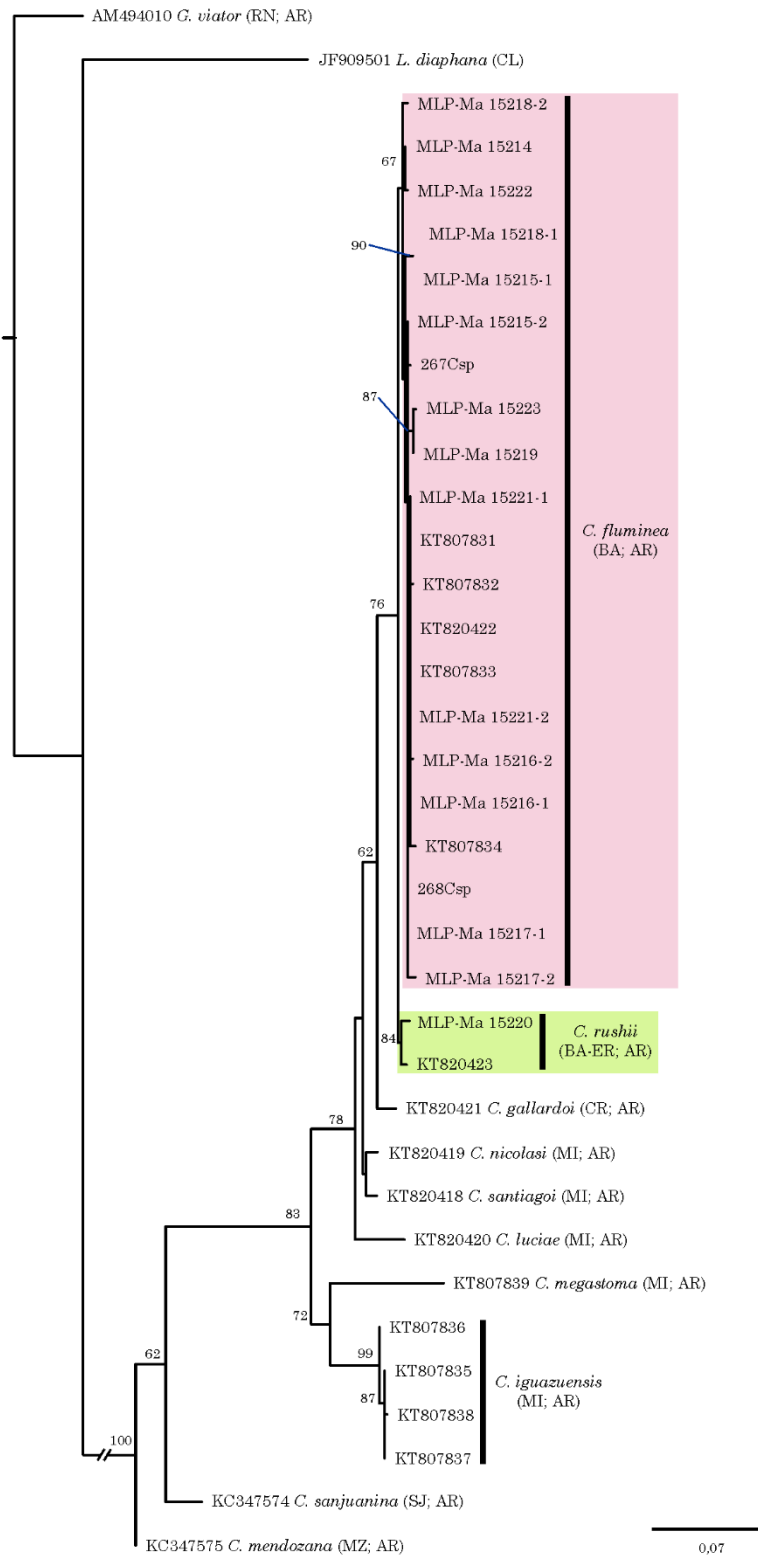
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18
1 KC347574		3,6	12,2	12,0	11,6	11,8	11,6	11,6	11,6	11,4	11,8	11,8	11,8	11,8	11,8	11,8	11,8	12,0
2 KC347575	3,5		10,8	10,3	10,7	10,8	10,6	10,6	10,6	10,5	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	10,8	11,0
3 MLP-Ma 15220	10,9	9,9		0,8	1,1	1,2	1,2	1,2	1,2	1,4	1,7	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,4	1,5
4 KT820423	10,8	9,5	0,8		0,9	1,1	1,1	1,1	1,1	1,2	1,5	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,2	1,4
5 MLP-Ma 15214	10,5	9,8	1,1	0,9		0,1	0,5	0,5	0,5	0,6	0,9	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,8
6 MLP-Ma15222	10,6	9,9	1,2	1,1	0,1		0,6	0,6	0,6	0,8	1,1	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,9
7 268CSP	10,5	9,8	1,2	1,1	0,5	0,6		0,0	0,0	0,1	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3
8 MLP-Ma 15217-1	10,5	9,8	1,2	1,1	0,5	0,6	0,0		0,0	0,1	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3
9 MLP-Ma 15215-2	10,5	9,8	1,2	1,1	0,5	0,6	0,0	0,0		0,1	0,5	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3
10 267CSP	10,3	9,6	1,4	1,2	0,6	0,8	0,1	0,1	0,1		0,6	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,5
11 MLP-Ma 15217-2	10,6	9,9	1,7	1,5	0,9	1,1	0,5	0,5	0,5	0,6		0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,8
12 KT807831	10,6	9,9	1,4	1,2	0,6	0,8	0,1	0,1	0,1	0,3	0,6		0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
13 KT807833	10,6	9,9	1,4	1,2	0,6	0,8	0,1	0,1	0,1	0,3	0,6	0,0		0,0	0,0	0,0	0,0	0,1
14 MLP-Ma 15216-1	10,6	9,9	1,4	1,2	0,6	0,8	0,1	0,1	0,1	0,3	0,6	0,0	0,0		0,0	0,0	0,0	0,1
15 KT820422	10,6	9,9	1,4	1,2	0,6	0,8	0,1	0,1	0,1	0,3	0,6	0,0	0,0	0,0		0,0	0,0	0,1
16 MLP-Ma 15221-1	10,6	9,9	1,4	1,2	0,6	0,8	0,1	0,1	0,1	0,3	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0		0,0	0,1
17 MLP-Ma 15221-2	10,6	9,9	1,4	1,2	0,6	0,8	0,1	0,1	0,1	0,3	0,6	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0		0,1
18 KT807832	10,8	10,1	1,5	1,4	0,8	0,9	0,3	0,3	0,3	0,5	0,8	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	
19 MLP-Ma 15216-2	10,8	10,1	1,5	1,4	0,8	0,6	0,3	0,3	0,3	0,5	0,8	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,1	0,3
20 KT807834	10,3	9,6	1,7	1,5	0,9	1,1	0,5	0,5	0,5	0,6	0,9	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,3	0,5
21 MLP-Ma 15219	10,6	9,9	1,5	1,4	0,8	0,9	0,3	0,3	0,3	0,5	0,8	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,6
22 MLP-Ma 15223	10,8	10,1	1,7	1,5	0,9	1,1	0,5	0,5	0,5	0,6	0,9	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,8
23 MLP-Ma 15215-1	9,9	9,5	1,5	1,4	0,8	0,9	0,6	0,6	0,6	0,8	1,1	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,9
24 MLP-Ma 15218-1	9,9	9,5	1,8	1,7	1,1	1,2	0,9	0,9	0,9	1,1	1,4	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,1	1,2
25 MLP-Ma 15218-2	10,4	9,6	1,2	1,1	0,5	0,6	0,6	0,6	0,6	0,8	1,1	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,8	0,9
26 KT820421	10,5	10,4	2,7	2,6	2,6	2,7	2,7	2,7	2,7	2,9	3,2	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9	3,0
27 KT820419	10,7	10,2	3,2	3,0	2,7	2,9	2,7	2,7	2,7	2,9	3,2	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9	3,0
28 KT820418	10,2	9,8	3,2	3,0	2,7	2,9	2,7	2,7	2,7	2,9	3,0	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9	2,9	3,0
29 KT820420	10,8	9,8	5,3	5,2	4,9	5,0	4,9	4,9	4,9	5,0	5,3	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,0	5,2
30 KT807837	9,6	10,1	8,1	7,9	7,0	7,2	7,2	7,2	7,2	7,3	7,5	7,3	7,3	7,3	7,3	7,3	7,3	7,5
31 KT807838	9,8	10,2	8,2	8,1	7,2	7,3	7,3	7,3	7,3	7,5	7,6	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,5	7,6
32 KT807835	9,6	10,1	8,1	7,9	7,0	7,2	7,2	7,2	7,2	7,3	7,5	7,3	7,33	7,3	7,3	7,3	7,3	7,5
33 KT807836	9,3	9,8	7,8	7,6	6,7	6,9	6,9	6,9	6,9	7,0	7,3	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,0	7,2
34 KT807839	12,4	11,6	8,4	8,3	7,9	8,1	7,8	7,8	7,8	7,9	8,3	7,9	7,9	7,9	7,9	7,9	7,9	8,1
35 JF909501	20,1	19,2	22,3	22,1	22,3	22,4	22,1	22,1	22,1	22,0	22,1	22,3	22,3	22,3	22,3	22,3	22,3	22,3
36 AM494010	19,7	18,8	20,0	20,3	20,0	19,8	19,8	19,8	19,8	19,7	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	20,0	19,8

Anexo 1.8 (Continuación)

	19	20	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	36
1	12,0	11,4	11,8	11,9	10,9	10,9	11,4	11,6	11,8	11,2	12,0	10,5	10,6	10,5	10,1	13,8	23,5	22,9
2	11,0	10,5	10,8	11,0	10,3	10,3	10,5	11,4	11,2	10,7	10,6	11,0	11,2	11,0	10,6	12,8	22,2	21,7
3	1,5	1,7	1,5	1,7	1,5	1,9	1,2	2,8	3,3	3,3	5,6	8,7	8,9	8,7	8,4	9,1	26,6	23,4
4	1,4	1,5	1,4	1,5	1,4	1,7	1,1	2,7	3,1	3,1	5,4	8,5	8,7	8,5	8,2	8,9	26,4	23,8
5	0,8	0,9	0,8	0,9	0,8	1,1	0,5	2,7	2,8	2,8	5,1	7,5	7,7	7,5	7,1	8,5	26,6	23,4
6	0,6	1,1	0,9	1,1	0,9	1,2	0,6	2,8	3,0	3,0	5,3	7,7	7,8	7,7	7,3	8,7	26,8	23,2
7	0,3	0,5	0,3	0,5	0,6	0,9	0,6	2,8	2,8	2,8	5,1	7,7	7,8	7,7	7,3	8,4	26,4	23,1
8	0,3	0,5	0,3	0,5	0,6	0,9	0,6	2,8	2,8	2,8	5,1	7,7	7,8	7,7	7,3	8,4	26,4	23,1
9	0,3	0,5	0,3	0,5	0,6	0,9	0,6	2,8	2,8	2,8	5,1	7,7	7,8	7,7	7,3	8,4	26,4	23,1
10	0,5	0,6	0,5	0,6	0,8	1,1	0,8	3,0	3,0	3,0	5,3	7,8	8,0	7,8	7,5	8,5	26,1	22,9
11	0,8	0,9	0,8	0,9	1,1	1,4	1,1	3,3	3,3	3,1	5,6	8,0	8,2	8,0	7,8	8,9	26,4	23,4
12	0,1	0,3	0,5	0,6	0,8	1,1	0,8	3,0	3,0	3,0	5,3	7,8	8,0	7,8	7,5	8,5	26,6	23,4
13	0,1	0,3	0,5	0,6	0,8	1,1	0,8	3,0	3,0	3,0	5,3	7,8	8,0	7,8	7,5	8,5	26,6	23,4
14	0,1	0,3	0,5	0,6	0,8	1,1	0,8	3,0	3,0	3,0	5,3	7,8	8,0	7,8	7,5	8,5	26,6	23,4
15	0,1	0,3	0,5	0,6	0,8	1,1	0,8	3,0	3,0	3,0	5,3	7,8	8,0	7,8	7,5	8,5	26,6	23,4
16	0,1	0,3	0,5	0,6	0,8	1,1	0,8	3,0	3,0	3,0	5,3	7,8	8,0	7,8	7,5	8,5	26,6	23,4
17	0,1	0,3	0,5	0,6	0,8	1,1	0,8	3,0	3,0	3,0	5,3	7,8	8,0	7,8	7,5	8,5	26,6	23,4
18	0,3	0,5	0,6	0,8	0,9	1,2	0,9	3,1	3,1	3,1	5,4	8,0	8,2	8,0	7,7	8,7	26,6	23,1
19		0,5	0,6	0,8	0,9	1,2	0,9	3,1	3,1	3,1	5,4	8,0	8,2	8,0	7,7	8,7	26,8	23,1
20	0,5		0,6	0,8	1,1	1,4	1,1	3,3	3,3	3,3	5,6	7,5	7,6	7,5	7,1	8,2	26,3	23,1
21	0,6	0,6		0,1	0,9	1,2	0,9	3,1	3,1	3,1	5,4	7,8	8,0	7,8	7,5	8,5	26,1	22,9
22	0,8	0,8	0,1		1,1	1,4	1,1	3,3	3,3	3,3	5,6	8,0	8,2	8,0	7,6	8,7	26,1	23,1
23	0,9	1,1	0,9	1,1		0,3	0,9	3,1	3,1	3,1	5,4	8,0	8,2	8,0	7,7	8,7	27,0	23,4
24	1,2	1,4	1,2	1,4	0,3		1,2	3,5	3,4	3,4	5,8	8,3	8,5	8,3	8,0	9,1	27,3	23,8
25	0,9	1,1	0,9	1,1	0,9	1,2		2,5	3,0	3,0	4,9	7,7	7,8	7,7	7,3	8,7	26,4	23,2
26	3,0	3,2	3,0	3,2	3,0	3,4	2,4		2,3	2,6	4,3	7,5	7,7	7,5	7,1	9,6	26,2	23,8
27	3,0	3,2	3,0	3,2	3,0	3,4	2,9	2,3		1,2	3,8	7,2	7,3	7,2	6,8	8,9	26,6	23,8
28	3,0	3,2	3,0	3,2	3,0	3,4	2,9	2,6	1,2		3,8	6,5	6,7	6,5	6,5	8,7	26,6	24,6
29	5,2	5,3	5,2	5,3	5,2	5,5	4,7	4,1	3,7	3,7		8,4	8,6	8,4	8,0	9,6	27,0	24,9
30	7,5	7,0	7,3	7,5	7,5	7,8	7,2	7,0	6,7	6,1	7,8		0,1	0,0	0,3	7,6	25,9	23,6
31	7,6	7,2	7,5	7,6	7,6	7,9	7,3	7,2	6,9	6,3	7,9	0,1		0,1	0,5	7,8	26,2	23,8
32	7,5	7,0	7,3	7,5	7,5	7,8	7,2	7,0	6,7	6,1	7,8	0,0	0,1		0,3	7,6	25,9	23,6
33	7,2	6,7	7,0	7,2	7,2	7,5	6,9	6,7	6,4	6,1	7,5	0,3	0,5	0,3		7,7	26,1	23,6
34	8,1	7,6	7,9	8,1	8,1	8,4	8,1	8,9	8,3	8,1	8,9	7,2	7,3	7,2	7,2		25,4	22,1
35	22,4	22,1	22,0	22,0	22,6	22,7	22,1	22,0	22,3	22,3	22,6	21,8	22,0	21,8	22,0	21,4		13,1
36	19,8	19,8	19,7	19,8	20,0	20,3	19,8	20,3	20,3	21,0	21,1	20,1	20,3	20,1	20,1	19,1	12,1	



Anexo 1.9. Relaciones filogenéticas en especies del género *Chilina*. Análisis de Neighbor-Joining, con valores de soporte de Bootstrap >60. Rectángulos coloreados: especies registradas en este trabajo. Abreviaturas: AR: Argentina, BA: Buenos Aires, CL: Chile, ER: Entre Ríos, MI: Misiones, MZ: Mendoza, RN: Río Negro, SJ: San Juan.



Anexo 1.10. Relaciones filogenéticas en especies del género *Chilina*. Análisis de Máxima Verosimilitud, con valores de soporte de Bootstrap >60. Rectángulos coloreados: especies registradas en este trabajo. Abreviaturas: AR: Argentina, BA: Buenos Aires, CL: Chile, ER: Entre Ríos, MI: Misiones, MZ: Mendoza, RN: Río Negro, SJ: San Juan.

Anexo 4.1. Áreas Protegidas en la costa bonaerense del Río de la Plata.

Nombre	Localidad	Coordenadas
Reserva Natural Isla Martín García	La Plata	34°11'20" S; 58°15'18" O
Reserva Ecológica Costanera Norte	Ciudad Autónoma de Buenos Aires	34°32'18" S; 58°26'34" O
Parque Natural Municipal Rivera Norte	San Isidro	34°28'12" S; 58°29'46" O
Reserva Ecológica de Vicente López	Vicente López	34°29'29" S; 58°28'46" O
Reserva Ecológica Costanera Sur- Sitio Ramsar Costanera Sur	Ciudad Autónoma de Buenos Aires	34°36'57" S; 58°21'18" O
Reserva Natural Municipal de Avellaneda	Avellaneda	34°39'41" S; 58°18'59" O
Reserva Municipal Selva Marginal Quilmeña	Quilmes	34°41'20" S; 58°15'41" O
Reserva Natural Punta Lara Paisaje Protegido Monte Ribereño Isla Santiago, Isla Paulino	Berazategui y Ensenada Ensenada y Berisso	34°47'21" S; 57°59'57" O 34°50'05" S; 57°52'41" O
Reserva de la Biósfera Parque Costero del Sur	Magdalena y Punta Indio	35°16'12" S; 57°15'21" O
Reserva Natural Privada "El Destino"	Magdalena	35°08'11" S; 57°23'30" O
Sitio Ramsar Bahía de Samborombón	Punta Indio, Chascomús, Castelli, Tordillo, General Lavalle y La Costa	35°58'29" S; 57°26'58" O

Anexo 4.2. Especies de moluscos citadas para la costa bonaerense del Río de la Plata, sin tomar en cuenta los ambientes internos.

Espece	Sitio	Referencia
Gastropodo		
Ampullariidae Gray, 1824		
<i>Asolene platae</i> (Maton, 1811)	Isla Martín García	César et al., 2012
<i>Pomacea canaliculata</i> (Lamarck, 1822)	Isla Martín García, Punta Lara, Balneario La Balandra, Río de la Plata	César et al., 2000, 2012; Gutiérrez Gregoric, 2008; Díaz et al., 2017
<i>P. maculata</i> Perry, 1810	Río de la Plata	César et al., 2000
<i>P. megastoma</i> (GB Sowerby I, 1825)	Isla Martín García	César et al., 2012
<i>P. scalaris</i> (d'Orbigny, 1835)	Hasta la Isla Martín García	César et al., 2000
Chilinidae Gray, 1828		
<i>Chilina fluminea</i> (Maton, 1809)	Isla Martín García, Playa Anchorena, Quilmes, Punta Lara, Balneario Bagliardi, Balneario La Balandra, Punta Blanca, Atalaya, Punta Piedras	Darrigran & López Armengol 1998; Darrigran et al., 1998; Darrigran & Lagreca, 2005; Gutiérrez Gregoric, 2008; Cesar et al., 2012; Gutiérrez Gregoric & de Lucía 2016; Díaz et al., 2017
<i>C. rushi</i> Pilsbry, 1896	Isla Martín García	Gutiérrez Gregoric, 2010; Cesar et al., 2012
<i>C. megastoma</i> Hylton Scott, 1958	Isla Martín García	Cesar et al., 2012
<i>C. gallardoi</i> Castellanos & Miquel, 1981	Isla Martín García	Gutiérrez Gregoric, 2010
Cochliopidae Tryon, 1866		
<i>Heleobia australis</i> (d'Orbigny, 1835)	Punta Piedras, Río de la Plata	Darrigran, 1995; Cesar et al., 2000
<i>H. guaranítica</i> (Doering, 1884)	Isla Martín García	Martín & Negrete, 2006
<i>H. parchappii</i> (d'Orbigny, 1835)	Isla Martín García, Balneario La Balandra	Gutiérrez Gregoric, 2008; Cesar et al., 2012
<i>H. piscium</i> (d'Orbigny, 1835)	Isla Martín García, Playa Anchorena, Balneario Quilmes, Balneario Hudson, Punta Lara, Balneario Bagliardi, Balneario La Balandra, Balneario Punta Blanca, Atalaya, Magdalena, Punta Indio	Darrigran, 1995; Darrigran & López Armengol, 1998; Cesar et al., 2000, 2012; Rodríguez Capítulo et al., 2003; Díaz et al., 2017

Anexo 4.2 (Continuación)

Especie	Sitio	Referencia
Lymnaeidae Rafinesque, 1815		
<i>Galba viator</i> (d'Orbigny, 1835)	Río de la Plata	César et al., 2000
Muricidae Rafinesque, 1815		
<i>Rapana venosa</i> (Valenciennes, 1846)*	Bahía de Samborombón	Pastorino et al., 2000; Cortelezzi et al., 2007
Planorbidae Rafinesque, 1815		
<i>Antillorbis nordestensis</i> (Lucena, 1954)	Isla Martín García	Rumi et al., 1996; Cesar et al., 2012
<i>Biomphalaria peregrina</i> (d'Orbigny, 1835)	Isla Martín García, Punta Lara, Balneario La Balandra, Río de la Plata	César et al 2000, 2012; Gutiérrez Gregoric, 2008; Díaz et al., 2017
<i>B. straminea</i> (Dunker, 1848)	Isla Martín García, Playa Anchorena, Balneario Bagliardi	Darrigran & López Armengol, 1998; Darrigran et al., 1998; César et al., 2000, 2012
<i>B. tenagophila</i> (d'Orbigny, 1835)	Isla Martín García	César et al., 2012
<i>B. t. guaibensis</i> Paraense, 1984	Isla Martín García	César et al., 2012
<i>Drepanotrema cimex</i> (Moricand, 1838)	Isla Martín García	César et al., 2012
<i>D. deprssisimum</i> (Moricand, 1839)	Isla Martín García	César et al., 2012
<i>D. heloicum</i> (d'Orbigny, 1835)	Río de la Plata	César et al., 2000
<i>D. kermatoides</i> (d'Orbigny, 1835)	Isla Martín García, Río de la Plata	César et al 2000, 2012
<i>Uncancylus concentricus</i> (d'Orbigny, 1835)	Isla Martín García, Playa Anchorena, Olivos, Punta Lara, Balneario Bagliardi, Balneario La Balandra, Atalaya	Darrigran & López Armengol, 1998; Gutiérrez Gregoric, 2008; César et al., 2012; Ovando et al., 2014
<i>Hebetancylus moricandi</i> (d'Orbigny, 1837)	Isla Martín García, Punta Lara, Atalaya, Río de la Plata	César et al., 2000, 2012; Ovando et al., 2014
Physidae Fitzinger, 1833		
<i>Physa acuta</i> (Draparnaud, 1805)*	Punta Lara	César et al., 2000; Gutiérrez Gregoric, 2008
<i>Stenophysa marmorata</i> (Guilding, 1828)	Isla Martín García, Playa Anchorena, Punta Lara, La Balandra, Atalaya, afluentes del Río de la Plata	Darrigran & López Armengol, 1998; César et al., 2000, 2012; Núñez, 2011

Anexo 4.2 (Continuación)

Especie	Sitio	Referencia
Tateidae Thiele, 1925		
<i>Potamolithus</i> sp.	Balneario Bagliardi	Spaccesi, 2015
<i>Potamolithus agapetus</i> Pilsbry, 1911	Isla Martín García, Playa Anchorena	Darrigran & López Armengol, 1998; César et al., 2012
<i>P. bisinuatus</i> Pilsbry, 1896	Isla Martín García, Playa Anchorena, Río de la Plata	López Armengol, 1985; Darrigran & López Armengol, 1998; Darrigran & Lagreca, 2005
<i>P. buschii</i> (Frauenfeld, 1865)	Isla Martín García, Playa Anchorena	Darrigran & López Armengol, 1998; César et al., 2012
<i>P. lapidum</i> (d'Orbigny, 1835)	Isla Martín García, Playa Anchorena	Darrigran & López Armengol, 1998; César et al., 2012
<i>P. orbigny</i> Pilsbry, 1896	Atalaya	López Armengol & Darrigran, 1998; Darrigran, 1999
<i>P. petitianus</i> (d'Orbigny, 1840)	Isla Martín García, Río de la Plata	César et al., 2000
Bivalvia		
Corbulidae Lamarck, 1818		
<i>Erodona mactroides</i> Bosc, 1801	Isla Martín García, Ensenada, Atalaya, Punta Indio, Punta Piedras	Carcelles, 1941; Cortelezzi et al., 2007; Rumi et al., 2008
Cyrenidae Gray, 1840		
<i>Corbicula fluminea</i> (Müller, 1774)*	Isla Martín García, Playa Anchorena, Puerto Buenos Aires, Punta Lara, Balneario Bagliardi, Balneario La Balandra, Punta Blanca, Atalaya, Magdalena	Ituarte, 1981; Cesar et al., 2000, 2012; Cortelezzi et al., 2007; Darrigran & López Armengol, 1998, López Armengol & Darrigran, 1998; Rumi et al., 2008; Gutiérrez Gregoric, 2008; Díaz et al., 2017; Reshaid et al., 2017
<i>C. largillierti</i> (Philippi, 1844)*	Río de la Plata	Ituarte, 1981; César et al., 2000
<i>Neocorbicula limosa</i> (Maton, 1809)	Isla Martín García hasta Magdalena	César et al., 2000; Rumi et al., 2008
Hyriidae Swainson, 1840		
<i>Castalia inflata</i> d'Orbigny, 1835	Río de la Plata	César et al., 2000
<i>C. psammoica</i> (d'Orbigny, 1835)	Río de la Plata	César et al., 2000
<i>Diplodon delodontus</i> (Lamarck, 1819)	Río de la Plata	César et al., 2000
<i>D. wymami</i> (Lea, 1860)	Río de la Plata	César et al., 2000

Anexo 4.2 (Continuación)

Especie	Sitio	Referencia
<i>D. parallelopedon</i> (Lea, 1834)	Río de la Plata	César et al., 2000
<i>D. rhuacoicus</i> (d'Orbigny, 1835)	Río de la Plata	César et al., 2000
<i>Rhipidodonta charruana</i> (d'Orbigny, 1835)	Río de la Plata hasta Punta Lara	César et al., 2000
<i>R. paranensis</i> (Lea, 1834)	Playa Anchorena, Río de la Plata	Castellanos & Landoni, 1990; Darrigran & López Armengol, 1998
<i>R. hylaea</i> (d'Orbigny, 1835)	Río de la Plata	César et al., 2000
<i>R. variabilis</i> (Maton, 1811)	Ensenada, Río de la Plata,	César et al., 2000; Rumi et al., 2008
Mactridae Lamarck, 1809		
<i>Maetra isabellana</i> d'Orbigny, 1846	Río de la Plata externo	Cortelezzi et al., 2007
Mytilidae Rafinesque, 1815		
<i>Limnoperna fortunei</i> (Dunker, 1857)*	Isla Martín García, Puerto Buenos Aires, Ensenada (Punta Lara), Balneario Bagliardi, Balneario La Balandra, Magdalena, Punta Piedras	Pastorino et al., 1993, César et al., 2012; Rodríguez Capitulo, 2003; Rumi et al., 2008; Gutiérrez Gregoric, 2008; Darrigran, 2015, Díaz et al., 2017
<i>Mytella strigata</i> (Hanley, 1843)	Punta Piedras	Castellanos, 1967, Darrigran, 1991
<i>Mytilus platensis</i> d'Orbigny, 1842	Punta Piedras	Castellanos, 1967
<i>M. edulis</i> Linnaeus, 1758	Punta Piedras	Rumi et al., 2008
Mycetopodidae Gray, 1840		
<i>Anodontites tenebricosus</i> (Lea, 1834)	Playa Anchorena, Río de la Plata	Darrigran & López Armengol, 1998; César et al., 2000
<i>A. lucidus</i> (d'Orbigny, 1835)	Río de la Plata	César et al., 2000
<i>A. patagonicus</i> (Lamarck, 1819)	Río de la Plata hasta Magdalena	César et al., 2000
<i>A. trapesialis</i> (Lamarck, 1819)	Ensenada, Río de la Plata hasta Magdalena	César et al., 2000; Rumi et al., 2008
<i>A. trapezeus</i> (Spix, 1827)	Río de la Plata	César et al., 2000
<i>A. trigonus georginae</i> Gray 1834	Río de la Plata	César et al., 2000
<i>Leila blainvilliana</i> (Lea, 1834)	Río de la Plata	César et al., 2000
<i>Mycetopoda legumen</i> (von Martens, 1888)	Río de la Plata	César et al., 2000

Anexo 4.2 (Continuación)

Especie	Sitio	Referencia
<i>M. siliquosa</i> (Spix, 1827)	Río de la Plata	César et al., 2000
<i>Monocondylaea corrientesensis</i> (d'Orbigny, 1835)	Río de la Plata	César et al., 2000
<i>M. minuana</i> (d'Orbigny, 1835)	Río de la Plata	César et al., 2000
<i>M. paraguayana</i> (d'Orbigny, 1835)	Río de la Plata hasta Magdalena	César et al., 2000
Sphaeriidae Deshayes, 1855 (1820)		
<i>Eupera platensis</i> Doello-Jurado, 1921	Isla Martín García, Río de la Plata	César et al., 2000, 2012
<i>Musculium argentinum</i> (d'Orbigny, 1835)	Ensenada, Balneario La Balandra, Magdalena	César et al., 2000; Gutiérrez Gregoric, 2008
<i>Pisidium dorbignyi</i> (Clessin, 1879)	Río de la Plata	Ituarte, 2007; César et al., 2000
<i>P. sterkianum</i> (Pilsbry, 1897)	Ensenada, Río de la Plata	César et al., 2000; Ituarte, 2007
<i>P. taraguyense</i> Ituarte, 2000	Isla Martín García	Ituarte, 2007; César et al., 2012
<i>P. vile</i> Pilsbry, 1897	Ensenada	Ituarte, 2007

Anexo 5.1. Resumen de los cinco criterios (A - E) utilizados para evaluar la pertenencia de una especie a una de las categorías de amenaza de la Lista Roja de UICN (UICN, 2012a).

A. Reducción del tamaño poblacional. Reducción del tamaño de la población basada en cualquiera de los subcriterios A1 a A4. El nivel de reducción se mide considerando el período más larga (10 años o 3 generaciones).			
	En Peligro Crítico	En Peligro	Vulnerable
A1	≥ 90%	≥ 70%	≥ 50%
A2, A3 & A4	≥ 80%	≥ 50%	≥ 30%
<p>A1. Reducción del tamaño de la población observada, estimada, inferida o sospechada, en el pasado donde las causas de la reducción son claramente reversibles Y entendidas y conocidas Y han cesado.</p> <p>A2. Reducción del tamaño de la población observada, estimada, inferida o sospechada, en el pasado donde las causas de la reducción pudieron no haber cesado O no ser entendidas y conocidas O no ser reversibles.</p> <p>A3. Reducción del tamaño de la población que se proyecta, se infiere o se sospecha será alcanzada en el futuro (hasta un máx. de 100 años) [(a) no puede ser usado].</p> <p>A4. Reducción del tamaño de la población observada, estimada, inferida o sospechada donde el período de tiempo considerado debe incluir el pasado y el futuro (hasta un máx. de 100 años en el futuro), y donde las causas de la reducción pueden n o haber cesado O pueden no ser entendidas o conocidas O pueden no ser reversibles.</p>	<p>Con base en y especificando cualquiera de los siguientes puntos:</p>		<p>(a) observación directa [excepto A3]</p> <p>(b) un índice de abundancia apropiado para el taxón</p> <p>(c) una reducción del área de ocupación (AOO), extensión de presencia (EOO) y/o calidad del hábitat</p> <p>(d) niveles de explotación reales o potenciales</p> <p>(e) como consecuencia de taxones introducidos, hibridación, patógenos, contaminantes, competidores o parásitos</p>
B. Distribución geográfica representada como extensión de presencia (B1) Y/O área de ocupación (B2)			
	En Peligro Crítico	En Peligro	Vulnerable
B1. Extensión de presencia (EOO)	< 100 km ²	< 5.000 km ²	< 20.000 km ²
B2. Área de ocupación (AOO)	< 10 km ²	< 500 km ²	< 2.000 km ²
Y por lo menos 2 de las siguientes 3 condiciones:			
(a). Severamente fragmentada, O Número de localidades	= 1	≤ 5	≤ 10
(b). Disminución continua observada, estimada, inferida o proyectada en cualesquiera de: (i) extensión de presencia; (ii) área de ocupación; (iii) área, extensión y/o calidad del hábitat; (iv) número de localidades o subpoblaciones; (v) número de individuos maduros			
(c). Fluctuaciones extremas en cualesquiera de: (i) extensión de presencia; (ii) área de ocupación; (iii) número de localidades o subpoblaciones; (iv) número de individuos maduros			
C. Pequeño tamaño de la población y disminución			
	En Peligro Crítico	En Peligro	Vulnerable
Número de individuos maduros	< 250	< 2.500	< 10.000
Y por lo menos uno de C1 o C2			
C1. Una disminución continua observada, estimada o proyectada (hasta un máx. de 100 años en el futuro) de al menos:	El 25% en 3 años o 1 generación (lo que fuese más largo)	El 20% en 5 años o 2 generación (lo que fuese más largo)	El 10% en 10 años o 3 generación (lo que fuese más largo)
C2. Una disminución continua observada, estimada, proyectada o inferida Y por lo menos 1 de las siguientes 3 condiciones:			
(a). (i) Número de individuos maduros en cada subpoblación	≤ 50	≤ 250	≤ 1.000
(ii) % de individuos en una sola subpoblación =	90 – 100%	95 – 100%	100%
(b). Fluctuaciones extremas en el número de individuos maduros			
D. Población muy pequeña o restringida			
	En Peligro Crítico	En Peligro	Vulnerable
D. Número de individuos maduros	< 50	< 250	D1. < 1.000
D2. Solo aplicable a la categoría VU Área de ocupación restringida o bajo número de localidades con una posibilidad razonable de verse afectada por una amenaza futura que podría elevar al taxón a CR o EX en un tiempo muy corto.	-	-	D2. Típicamente: AOO < 20 km ² o número de localidades ≤ 5
E. Análisis Cuantitativo			
	En Peligro Crítico	En Peligro	Vulnerable
Indica que la probabilidad de extinción en estado silvestre es:	≥ 50% dentro de 10 años o 3 generaciones, lo que fuese más largo (100 años máx.)	≥ 20% dentro de 20 años o 5 generaciones, lo que fuese más largo (100 años máx.)	≥ 10% dentro de 100 años

Anexo 5.2. Sistema de clasificación de amenazas utilizado en el proceso de evaluación de moluscos de agua dulce (Böhm et al., 2021).

Nivel de clasificación de amenazas 1	Nivel de clasificación de amenazas 2	Nivel de clasificación de amenazas 3
1 Desarrollo residencial y comercial	1.1 Vivienda y áreas urbanas 1.2 Áreas comerciales e industriales 1.3 Áreas de turismo y recreación	
2 Agricultura y acuicultura	2.1 Cultivos no maderables anuales y perennes 2.2 Plantaciones de madera y pulpa 2.3 Ganadería y ganadería 2.4 Acuicultura marina y de agua dulce	2.1.1 Agricultura migratoria 2.1.2 Agricultura en pequeña escala 2.1.3 Agricultura agroindustrial 2.1.4 Escala desconocida / no registrada 2.2.1 Plantaciones de pequeños propietarios 2.2.2 Plantaciones agroindustriales 2.2.3 Escala desconocida / no registrada 2.3.1 Pastoreo nómada 2.3.2 Pastoreo, ganadería o agricultura de pequeños propietarios 2.3.3 Pastoreo, ganadería o agricultura agroindustrial 2.3.4 Escala desconocida / no registrada 2.4.1 Acuicultura de subsistencia / artesanal 2.4.2 Acuicultura industrial 2.4.3 Escala desconocida / no registrada
3 Producción de energía y minería	3.1 Perforación de petróleo y gas 3.2 Minería y explotación de canteras 3.3 Energía renovable	
4 Corredores de transporte y servicio	4.1 Carreteras y ferrocarriles 4.2 Líneas de servicios y servicios 4.3 Rutas de envío	

Anexo 5.2 (Continuación)

Nivel de clasificación de amenazas 1	Nivel de clasificación de amenazas 2	Nivel de clasificación de amenazas 3
5 Uso de recursos biológicos	5.1 Caza y recolección de animales terrestres	5.1.1 Uso intencional (el objetivo es la especie evaluada) 5.1.2 Efectos no intencionales (las especies evaluadas no son el objetivo) 5.1.3 Persecución / control 5.1.4 Motivación desconocida / no registrada
	5.3 Tala y extracción de madera	5.3.1 Uso intencional: subsistencia / pequeña escala (la especie que se está evaluando es el objetivo [cosecha]) 5.3.2 Uso intencional: a gran escala (el objetivo es la especie evaluada) [cosecha] 5.3.3 Efectos no intencionales: subsistencia / pequeña escala (las especies evaluadas no son el objetivo) [cosecha] 5.3.4 Efectos no intencionales: gran escala (las especies que se evalúan no son el objetivo) [cosecha] 5.3.5 Motivación desconocida / no registrada
	5.4 Pesca y recolección de recursos acuáticos	5.4.1 Uso intencional: subsistencia / pequeña escala (el objetivo es la especie evaluada) 5.4.2 Uso intencional: gran escala (el objetivo es la especie evaluada) 5.4.3 Efectos no intencionales: subsistencia / pequeña escala (las especies evaluadas no son el objetivo) 5.4.4 Efectos no intencionales: a gran escala (las especies que se evalúan no son el objetivo) 5.4.5 Persecución / control 5.4.6 Motivación desconocida / no registrada

Anexo 5.2 (Continuación)

Nivel de clasificación de amenazas 1	Nivel de clasificación de amenazas 2	Nivel de clasificación de amenazas 3
6 Intrusiones y disturbios humanos	6.1 Actividades recreativas 6.2 Guerra, disturbios civiles y ejercicios militares 6.3 Trabajo y otras actividades	
7 Modificaciones del sistema natural	7.1 Incendio y extinción de incendios 7.2 Presas y gestión / uso del agua 7.3 Otras modificaciones del ecosistema	7.1.1 Aumento de la frecuencia / intensidad del fuego 7.1.2 Supresión en la frecuencia / intensidad del fuego 7.1.3 Tendencia desconocida / no registrada 7.2.1 Extracción de agua superficial (uso doméstico) 7.2.2 Extracción de agua superficial (uso comercial) 7.2.3 Extracción de agua superficial (uso agrícola) 7.2.4 Extracción de agua superficial (uso desconocido) 7.2.5 Extracción de agua subterránea (uso doméstico) 7.2.6 Extracción de agua subterránea (uso comercial) 7.2.7 Extracción de agua subterránea (uso agrícola) 7.2.8 Extracción de agua subterránea (uso desconocido) 7.2.9 Pequeñas presas 7.2.10 Grandes presas 7.2.11 Presas (tamaño desconocido)
8 Especies invasoras y otras problemáticas, genes y enfermedades	8.1 Enfermedades / especies exóticas / exóticas invasoras 8.2 Especies / enfermedades nativas problemáticas	8.1.1 Especies no especificadas 8.1.2 Especies con nombre 8.2.1 Especies no especificadas 8.2.2 Especies con nombre

Anexo 5.2 (Continuación)

Nivel de clasificación de amenazas 1	Nivel de clasificación de amenazas 2	Nivel de clasificación de amenazas 3
9 Contaminación	9.1 Aguas residuales domésticas y urbanas	9.1.1 Aguas residuales 9.1.2 Escorrentía 9.1.3 Tipo Desconocido / No registrado
	9.2 Efluentes industriales y militares	9.2.1 Derrames de petróleo 9.2.2 Filtración de la minería 9.2.3 Tipo Desconocido / No registrado
	9.3 Efluentes agrícolas y forestales	9.3.1 Cargas de nutrientes 9.3.2 Erosión, sedimentación del suelo 9.3.3 Herbicidas y pesticidas 9.3.4 Tipo Desconocido / No registrado
	9.4 Basura y desechos sólidos	
	9.5 Contaminantes del aire	9.5.1 Lluvia ácida 9.5.4 Tipo Desconocido / No registrado
10 Eventos geológicos	10.1 Volcanes 10.2 Terremotos / tsunamis	
11 Cambio climático y severos	11.1 Cambio y alteración del hábitat 11.2 Sequías 11.3 Temperaturas extremas 11.4 Tormentas e inundaciones 11.5 Otros impactos	
12 Otras opciones	12.1 Otra amenaza	