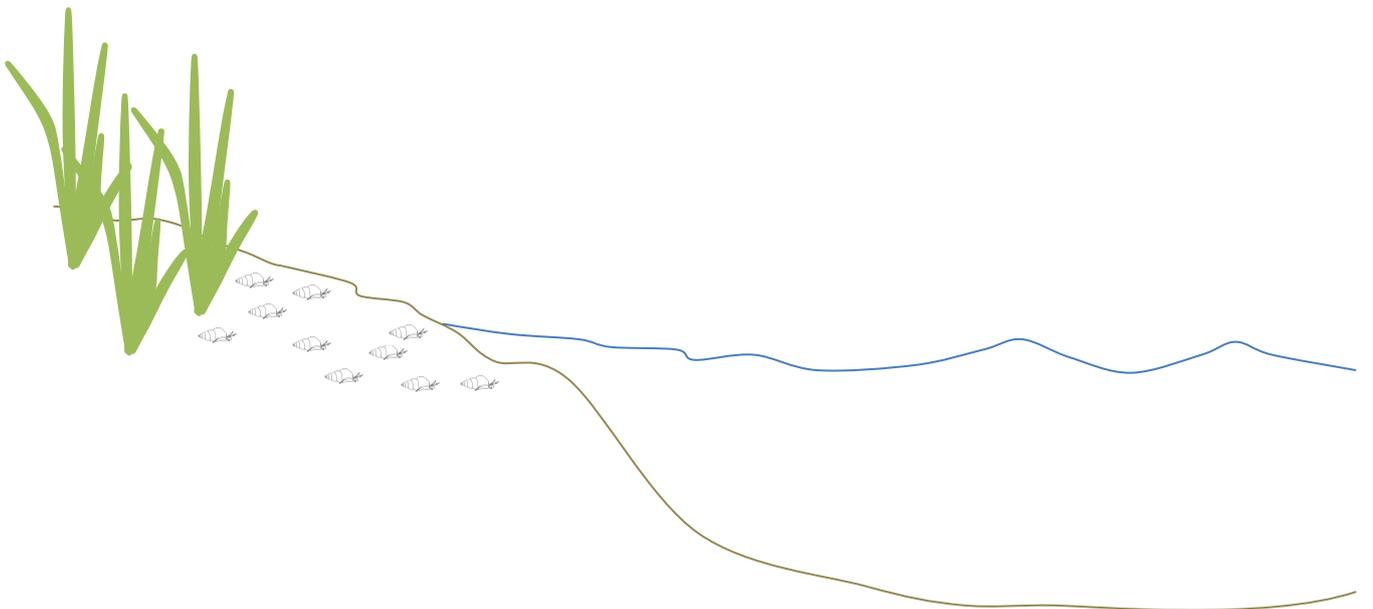


Capítulo IV:
Comunidades larvales de digeneos parásitos
de *Heleobia australis*



a. Objetivo del capítulo

Describir las infracomunidades y las comunidades componentes de las especies parásitas a nivel del primer hospedador intermediario.

b. Antecedentes

La mayoría de los estudios ecológicos sobre comunidades parasitarias se focalizan en parásitos intestinales o branquiales de vertebrados. A mediados del siglo 20, los investigadores comenzaron a investigar las comunidades larvales parásitas de moluscos y su relación con el hospedador y el ambiente (Esch et al., 2001).

Las comunidades larvales de digeneos en moluscos están controladas por factores internos y externos a sus hospedadores (Esch et al., 2001). La comunidad de parásitos dentro de un individuo hospedador, **infracomunidad**, está controlada por la heterogeneidad espacial y temporal, y por las interacciones entre las especies parásitas (Esch y Fernández, 1994; Esch et al., 2001). Por otro lado, la comunidad de parásitos en la población del hospedador, **comunidad componente**, está estructurada por el ciclo de vida del molusco, la heterogeneidad espacial y temporal, y la distribución de los hospedadores definitivos (Esch y Fernández, 1994; Esch et al., 2001). Varios autores observan heterogeneidad espacial y temporal en las comunidades de larvas de digeneos causadas por la abundancia y la riqueza de los hospedadores definitivos (Smith, 2001; Hechinger y Lafferty, 2005; Fredensborg et al., 2006). En consecuencia, las larvas de digeneos parásitas de caracoles son buenas indicadoras de la diversidad del ecosistema (Hechinger et al., 2008; Merlo y Etchegoin, 2010).

Etchegoin (1997) analizó la comunidad larval de digeneos de *H. conexa* y *H. australis* en la laguna costera de Mar Chiquita, provincia de Buenos Aires. Existen 13 especies que parasitan a *H. australis* con una baja prevalencia total (10,4 %) debida a la elevada influencia antropogénica y a los cambios bruscos en el nivel de agua del arroyo Cangrejito donde habita este molusco. La riqueza

específica y la prevalencia de la comunidad larval de digeneos en *H. conexa* es mayor (S = 24 y 17,6-28,1 %), así como su distribución en la laguna costera (Etchegoin, 1997; De Francesco e Isla, 2003; Merlo y Etchegoin, 2010). Los factores que estructuran la comunidad de larvas de digeneos en *Heleobia* spp. en la laguna costera de Mar Chiquita son el ciclo de vida del molusco, el ingreso de aves migratorias a la laguna costera en verano y primavera, el comportamiento del hospedador definitivo, las características del hábitat y la distribución de los hospedadores intermediarios y definitivos (Etchegoin, 1997). La competencia intraespecífica no es un factor importante porque las poblaciones de *Heleobia* spp. no son un recurso limitante (Etchegoin, 1997). Merlo et al. (2010) utilizaron la diversidad estacional de la comunidad larval de digeneos de *H. conexa* y *H. australis* en la laguna costera de Mar Chiquita para evaluar siete índices no paramétricos de estimación de riqueza específica.

c. Hipótesis planteadas

H₁: La diversidad de estadios larvales de *H. australis* disminuye en las zonas del estuario de Bahía Blanca con elevada influencia antropogénica.

H₂: La diversidad de estadios larvales de *H. australis* aumenta con la mayor diversidad de hospedadores definitivos.

H₃: La prevalencia de *Microphallus simillimus* aumenta con la mayor abundancia del único hospedador definitivo conocido hasta el momento, *Himantopus melanurus*.

H₄: La prevalencia parasitaria de las especies cuyos adultos parasitan aves es mayor en otoño y primavera, luego de la llegada de las aves migratorias patagónicas y neárticas respectivamente, que aportan digeneos reproductivamente activos al sistema.

d. Trabajo de laboratorio y análisis estadístico

Para el Sitio 1 (Puerto Cuatrerros), Sitio 2 (Villa del Mar) y Sitio 3 (playa cercana a Mega); se calculó la riqueza específica (S) = número total de especies halladas; la abundancia = número de caracoles parasitados por una sola especie; la dominancia específica (p_i) = (número de caracoles parasitados por una sola especie/número de caracoles parasitados) X 100; la prevalencia = (número de caracoles parasitados por una sola especie/número de caracoles recolectados) X 100; y la prevalencia total = (número de caracoles parasitados/número de caracoles revisados) X 100.

Se utilizó el índice de rarefacción para comparar riqueza específica entre comunidades con diferente tamaño de muestras. Este método permite calcular el número esperado de especies de cada muestra si todas las muestras fueran reducidas al menor tamaño muestral (n). Este método tiene la desventaja de que al realizar la intrapolación, desaprovecha mucha información, ya que toma como medida general para todas las muestras el tamaño de la muestra más pequeña, dejando a un lado los datos extra de muestras con mayor esfuerzo de muestreo (Moreno, 2001). Con el programa BioDiversity Professional (Natural History Museum y Scottish Association for Marine Science) se calcularon los números de especies esperados para los tres sitios:

$$E(S) = \sum 1 - \frac{(N - N_i)/n}{N/n}$$

donde N es el número total de individuos en la muestra, N_i es el número de individuos de la *iésima* especie y n es el tamaño de la muestra estandarizado.

El índice de diversidad de Shannon-Wiener fue calculado para los tres sitios, utilizando el programa EcoSym (Acquired Intelligence Inc. y Kesey-Bear), el cual realiza una curva de rarefacción para poder comparar comunidades cuando el tamaño de las muestras no es igual:

$$H' = \sum p_i (\ln p_i)^2$$

Además se calculó el índice de equitabilidad:

$$E = \frac{H' \max}{H'}$$

$$H' \max = \ln(S)$$

Para los sitios 1 y 2, calculamos el índice de similitud cualitativo de Sørensen:

$$CS = \frac{2j}{a + b}$$

donde j es el número de especies halladas en ambos sitios, a es el número de especies del sitio A y b es el número de especies del sitio B. Cuando el cociente es 1 indica que los sitios comparten todas las especies y cuando es 0, los sitios no tienen ninguna especie en común. En esta ecuación todas las especies tienen el mismo peso. Con el objetivo de incluir las abundancias de las especies en el análisis, se utilizó el índice de similitud cuantitativo de Sørensen que tiene en cuenta las abundancias de cada especie:

$$CN = \frac{2jN}{aN + bN}$$

donde jN es la suma de la abundancia más baja de cada una de las especies compartidas entre ambos sitios, aN es el número total de individuos en el sitio A y bN es el número total de individuos en el sitio B.

En los análisis de distribución espacial y temporal de las larvas de digeneos y de proporción de sexos y sus prevalencias, no se incluyó al Sitio 3 porque este sitio fue alterado y los muestreos se interrumpieron.

Se estimaron las prevalencias observadas para las especies que parasitan peces, y por otro lado para las que parasitan aves y mamíferos como hospedadores definitivos con el objetivo de evaluar el porcentaje que aportan los hospedadores definitivos a cada sitio de muestreo. La distribución espacial de las larvas de digeneos entre los sitios 1 y 2 fue analizada mediante un Análisis Multivariado Discriminante utilizando el programa SPSS Statistics (Hair et al., 1999). Las prevalencias mensuales de cada una de las especies de digeneos actuaron como variables explicativas de las diferencias existentes entre los niveles de la variable categórica (sitios de muestreo) definidas *a priori*. Los datos fueron transformados mediante arco seno (\sqrt{x}) para aproximar a normalidad y homocedasticidad (Zar, 1996).

La prevalencia total y de las especies que mostraron un valor mayor al 1 % en alguno de los dos sitios, fueron utilizadas para evaluar la heterogeneidad temporal. Se asumió que la heterogeneidad temporal fue la misma en los dos años de muestreo. Por lo tanto, los muestreos realizados en el mismo mes de años consecutivos fueron agrupados [i.e. julio (2006, 2007, 2008); septiembre (2006, 2007); noviembre (2006, 2007); diciembre (2006, 2007); enero (2008); febrero (2007, 2008); marzo (2007); abril (2007, 2008); junio (2007)]. Los valores de temperatura media mensual se obtuvieron de los Boletines Climatológicos recopilados por el Departamento de Climatología del Servicio Meteorológico Nacional (<http://www.smn.gov.ar/>). Se promedió la temperatura media mensual de los meses y años mencionados anteriormente.

Se calcularon las frecuencias observadas de las infecciones múltiples para los tres sitios de muestreo con el fin de conocer cuáles fueron las interacciones más comunes entre las larvas de digeneos.

e. Resultados

Se revisaron 7.504 individuos de *H. australis* en 16 fechas de muestreos entre julio de 2006 y julio de 2008 (Tabla XII). Merlo et al. (2010) recomiendan calcular el tamaño mínimo muestral necesario para observar todas las especies de digeneos existentes y Lafferty et al. (1994) disecan caracoles hasta encontrar 100 caracoles infectados.

Tabla XII. Número de caracoles revisados para cada fecha y sitio de muestreo.

Año	Mes	Sitio 1	Sitio 2	Sitio 3
2006	Jul	235	230	235
	Sept	209	263	198
	Nov	202	196	204
	Dic	144	205	188
2007	Feb	196	134	78
	Mar	196	199	-
	Abr	211	197	-
	Jun	200	200	-
	Jul	200	200	200
	Sept	-	184	194
	Nov	192	200	-
	Dic	196	191	-
2008	Ene	195	192	-
	Feb	199	210	-
	Abr	207	222	-
	Jul	202	200	-
Total		2.984	3.223	1.297

Se identificaron 15 especies de digeneos parásitos de *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca: *Ascocotyle (Phagicola) longa*, *Cercaria Opisthorchioidea*, *Cercaria Apocreadiinae*, *Psilochasmus oxyurus*, *Furcocercaria Sanguinicolidae*, *Cercaria Notocotylidae*, *Cercaria Haploporidae*, *Himasthla* sp., *Stephanoprora uruguayense*, *Maritrema orensensis*, *Maritrema bonaerensis*, *Levinseniella cruzi*, *Xiphidiocercaria* tipo *Armatae*, *Microphallus simillimus* y *Metacercaria* sp. Todas

las especies identificadas utilizan a *H. australis* como primer hospedador intermediario, excepto *P. oxyurus* que también lo utiliza como segundo hospedador intermediario, *M. simillimus* que lo utiliza como único hospedador intermediario y *Metacercaria* sp. que lo utiliza solo como segundo hospedador intermediario. Debido a la dificultad en la determinación de las cercarias de *M. orensensis*, *M. bonaerensis* y *L. cruzi* (y posiblemente *Odhneria* sp.), se consideraron como un único grupo, Xiphidiocercarias tipo Ubiquita. El único espécimen de caracol parasitado con redias de *P. oxyurus* no fue tenido en cuenta en los análisis, ya que se lo encontró durante el muestreo piloto de mayo de 2006 en el Sitio 2. Tampoco se consideraron las infecciones tempranas que no pudieron ser determinadas, infecciones prepatentes (12 en el Sitio 1, 17 en el Sitio 2 y 2 en el Sitio 3). La Xiphidiocercaria tipo *Armatae* y la *Metacercaria* sp. fueron consideradas en los análisis como especies diferentes, aunque podrían tratarse de diferentes estadios de una misma especie (ver Cap. I y II).

Las comunidades larvales de digeneos que parasitan a *H. australis* no estuvieron distribuidas de manera homogénea en el estuario de Bahía Blanca. En el Sitio 1 hallamos 13 especies de digeneos parasitando a *H. australis* (S = 13). En el Sitio 2 no se hallaron *Cercaria Apocreadiinae*, *Furcocercaria Sanguinicolidae* y *S. uruguayense* (S = 10) y en el Sitio 3 no se hallaron *A. (P.) longa*, *Cercaria Apocreadiinae* y *Furcocercaria Sanguinicolidae* (S = 10). La prevalencia total fue mayor en el Sitio 2 que en los sitios 1 y 3 (Tabla XIII). Sin embargo, el número esperado de especies fue mayor en los sitios 1 y 3 (11,66 y 10, respectivamente) que en el Sitio 2 (7,40) para un n = 194 (Fig. 66).

El índice de Shannon y Wiener fue mayor en los sitios 1 y 3 (1,26 y 1,25) que en el Sitio 2 (0,63) con un n = 194. Además el índice de Equitabilidad fue mayor en los sitios 1 y 3 (0,51 y 0,62) que en el Sitio 2 (0,27).

El índice de similitud cualitativo de Sørensen estimado para los sitios 1 y 2, fue de 0,85; mientras que el índice de similitud cuantitativo de Sørensen fue de 0,20.

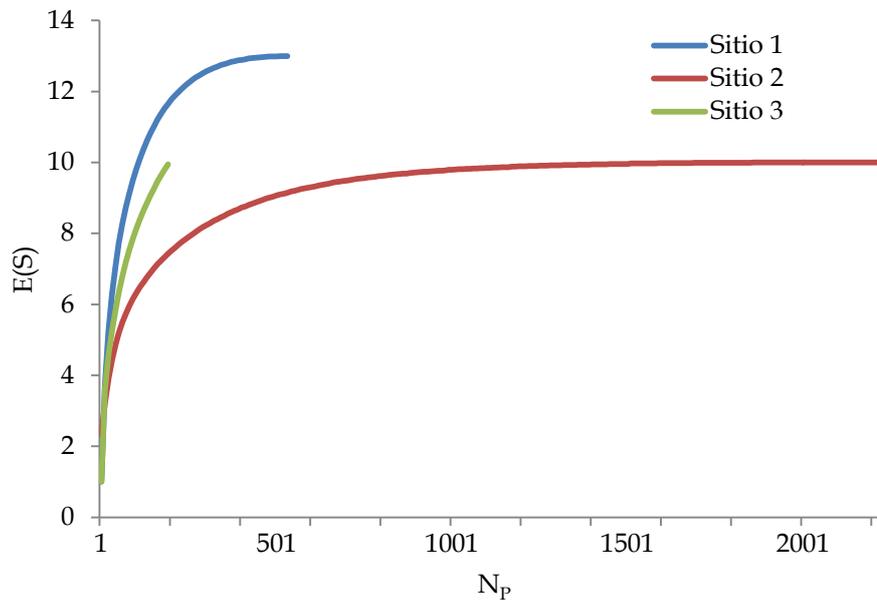


Figura 66. Curva de rarefacción E(S) para el Sitio 1 ($N_P=540$), Sitio 2 ($N_P=2.246$) y Sitio 3 ($N_P=194$). N_P : Número de caracoles parasitados.

La Tabla XIII muestra la abundancia, dominancia y prevalencia para cada una de las especies de digeneos halladas. *Microphallus simillimus* fue la especie dominante en los tres sitios, con una prevalencia mayor en el Sitio 2. Le siguen la *Metacercaria* sp., la *Xiphidiocercaria* tipo *Armatae* y el grupo de las *Xiphidiocercarias* tipo *Ubiquita* con una prevalencia mayor en el Sitio 2.

Tabla XIII. Abundancia, dominancia y prevalencia de las especies de digeneos en *Heleobia australis* en el Sitio 1 (N = 2.984), Sitio 2 (N = 3.223) y Sitio 3 (N = 1.297). C1: *Ascocotyle (Phagicola) longa*; C2: Cercaria Opisthorchioidea; C3: Cercaria Apocreadiinae; C4: *Psilochasmus oxyurus*; C5: Furcocercaria Sanguinicolidae; C6: Cercaria Notocotylidae; C7: Cercaria Haploporidae; C8: *Himasthla* sp.; C9: *Stephanoprora uruguayense*; C10: Xiphidiocercarias tipo Ubiquita [*Maritrema orensensis*, *Maritrema bonaerensis* y *Levinseniella cruzi*]; C11: Xiphidiocercaria tipo Armatae; M1: *Microphallus simillimus*; M2: *Metacercaria* sp.; M3: *Psilochasmus oxyurus*.

		Cercarias											Metacercarias			Total
		C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	C8	C9	C10	C11	M1	M2	M3	
Abundancia	Sitio 1	37	9	4	-	3	2	12	6	3	34	10	366	49	5	540
	Sitio 2	32	6	0	-	0	13	8	3	0	60	88	1.930	97	9	2.246
	Sitio 3	0	5	0	-	0	1	2	1	1	33	4	117	27	3	194
Dominancia (pi)	Sitio 1	6,9	1,7	0,7	-	0,6	0,4	2,2	1,1	0,6	6,3	1,9	67,8	9,1	0,9	100
	Sitio 2	1,4	0,3	0	-	0	0,6	0,4	0,1	0	2,7	3,9	85,9	4,3	0,4	100
	Sitio 3	0	2,6	0	-	0	0,5	1,0	0,5	0,5	17,0	2,1	60,3	13,9	1,5	100
Prevalencia (%)	Sitio 1	1,2	0,3	0,1	-	0,1	0,1	0,4	0,2	0,1	1,1	0,3	12,3	1,6	0,2	18,5
	Sitio 2	1,0	0,2	0	-	0	0,4	0,2	0,1	0	1,9	2,7	59,9	3,0	0,3	70,2
	Sitio 3	0	0,4	0	-	0	0,1	0,1	0,1	0,1	2,5	0,3	9,1	2,1	0,2	7,7

La prevalencia de las especies que finalizan sus ciclos de vida en aves y mamíferos fue mayor en el Sitio 2 que en los sitios 1 y 3. En cambio, la prevalencia de las especies que finalizan sus ciclos de vida en peces fue mayor en el Sitio 1 que en los sitios 2 y 3 (Fig. 67).

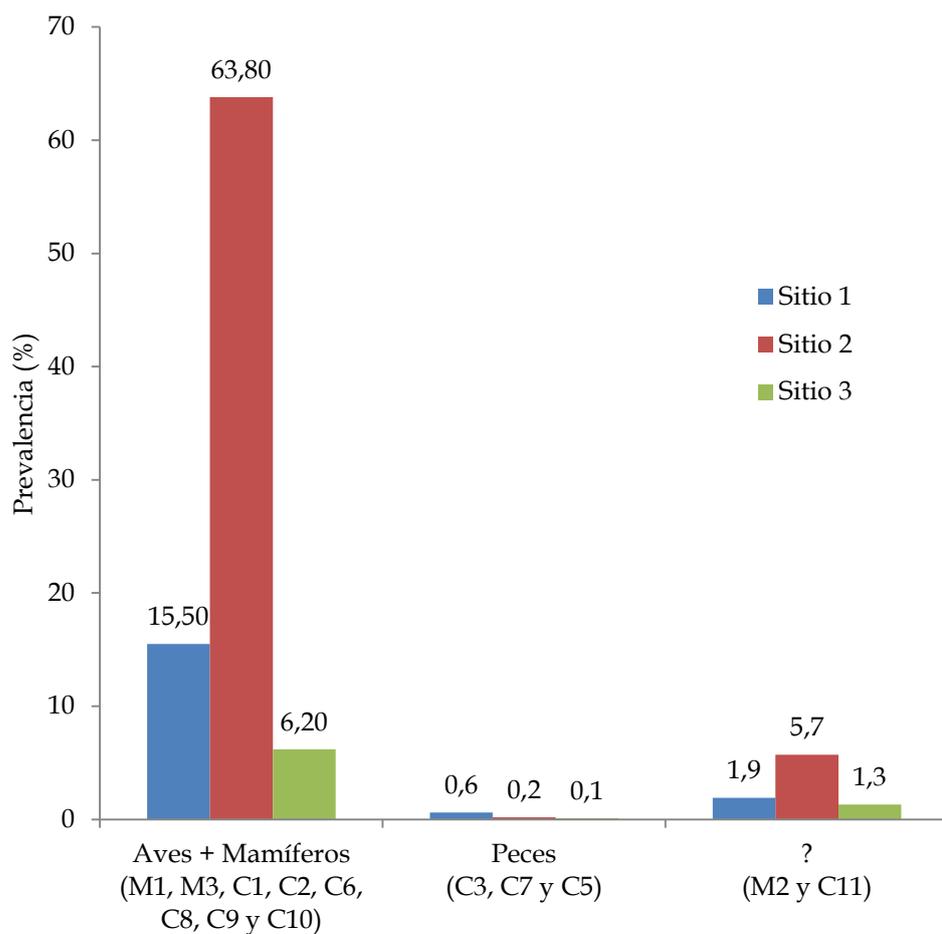


Figura 67. Prevalencia de larvas de digeneos en *Heleobia australis* para el Sitio 1 (N = 2.984), el Sitio 2 (N = 3.223) y el Sitio 3 (N = 1.297) según los hospedadores definitivos: Aves + Mamíferos, Peces y Hospedador desconocido (?). Las abreviaturas utilizadas son las mismas que en la Tabla XIII.

El análisis discriminante realizado para las prevalencias de las especies de digeneos en los sitios 1 y 2 dio como resultado un 96,8 % de clasificación correcta. Para el Sitio 1 se identificó el 93,7% de las prevalencias, mientras que para el Sitio 2 se identificó el 100 %. Para la función discriminante obtenida, el coeficiente de correlación canónica fue 0,955; por lo tanto, la proporción de la varianza debida a la diferencia entre los grupos, fue del 91,2 % ($CC^2 \times 100$). Las prevalencias que mejor caracterizaron al Sitio 2 fueron las de *M. simillimus*, Xiphidiocercarias tipo Ubiquita y Cercaria Notocotylidae (Tabla XIV). En la Figura 68 se observa la distribución de los *scores* discriminantes obtenidos para los dos sitios. La función discriminante quedó expresada de la siguiente forma:

$$Y = 5,5 \text{ Prev_M1} - 0,951 \text{ Prev_M2} + 0,153 \text{ Prev_M3} - 0,481 \text{ Prev_C1} - 0,363 \text{ Prev_C2} - 4,029 \\ \text{Prev_C3} - 3,175 \text{ Prev_C5} + 0,542 \text{ Prev_C6} + 0,532 \text{ Prev_C7} - 1,641 \text{ Prev_C8} + 4,572 \text{ Prev_C9} \\ + 0,783 \text{ Prev_C10} + 0,806 \text{ Prev_C11} - 12,885 \text{ (constante)}$$

Tabla XIV. Matriz de estructura: Coeficientes de correlación entre variables originales y la función discriminante para el Sitio 1 y el Sitio 2.

M1	C10	C6	C1	C5	C9	C3	C11	M2	C8	C7	M3	C2
0,660	0,195	0,119	-0,102	-0,086	-0,086	-0,085	0,079	-0,072	-0,071	-0,071	0,042	-0,028

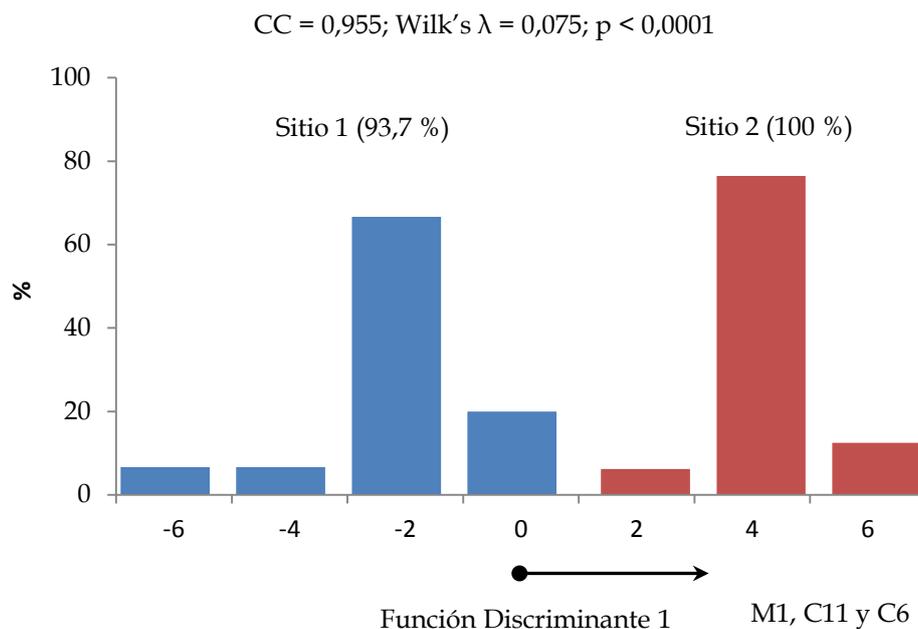


Figura 68. Histograma de frecuencias de los *scores* (puntuaciones) de la función discriminante del análisis realizado sobre los sitios 1 y 2. CC: Correlación canónica. M1: Prevalencia de *Microphallus simillimus*; C11: Prevalencia de Xiphidiocercaria tipo Armatae; y C6: Prevalencia de Cercaria Notocotylidae.

Las comunidades larvales de digeneos que parasitan a *H. australis* no estuvieron distribuidas de manera homogénea durante el período de estudio. La Tabla XV muestra las prevalencias de las larvas de digeneos en *H. australis* en cada fecha de muestreo en los sitios 1 y 2. La prevalencia total fue siempre mayor en el Sitio 2 que en el Sitio 1, y fue máxima en septiembre de 2006 en el Sitio 1 (28,2 %) y en marzo de 2007 en el Sitio 2 (86,9 %). La variación de la prevalencia total estuvo definida, principalmente, por la prevalencia de *M. simillimus*, especie dominante en ambos sitios y en todas las fechas de muestreo (Fig. 69). La prevalencia total y de *M. simillimus* estuvo asociada directamente con la temperatura. Se registró un pico máximo a final del verano y una disminución a partir del otoño. En el Sitio 1 se observó un segundo pico de prevalencia a final del invierno, mientras que en el Sitio 2 se observó a comienzos de la primavera (Fig. 69).

Tabla XV. Prevalencias de las larvas de digeneos (%) que parasitan a *Heleobia australis* en cada fecha de muestreo en el Sitio 1 (S1; N = 2.984) y Sitio 2 (S2; N = 3.223). Las abreviaturas utilizadas son las mismas que las utilizadas en la Tabla XIII.

		Cercarias														Metacercarias						Total							
		C1		C2		C3		C5		C6		C7		C8		C9		C10		C11		M1		M2		M3		Total	
		S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2	S1	S2
2006	Jul	1,7	2,6	0	0	0	0	0	0	0,9	0	0	0	0	0	0	0	1,3	0,4	3	22,6	58,3	1,7	26,5	0,4	0,9	27,2	79,6	
	Sept	0,5	3	0	0,4	0	0	0	0	0,4	0	0	0,5	0	0	0	0,5	1,1	0	8	21,1	65,4	10,5	7,6	0	0,8	28,2	80,2	
	Nov	1,5	0	0,5	0	0,5	0	0,5	0	0	0	1	0	0,5	0	1	0	2	0,5	0	0	13,9	78,1	0,5	0	0	0	23,3	78,1
	Dic	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2,4	9	59,5	0,7	0	0	0	9,7	62,0
2007	Feb	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0,5	0	0,5	0	0	0	2,6	3	0,5	0	19,4	73,1	0,5	0,8	0	0	24,0	73,9	
	Mar	1,5	1	0	0,5	0	0	1	0	0	1,5	1	0,5	0	1	0	0	1,5	2,1	1	11,6	16,8	81,9	1,5	1,5	0	0	24,0	86,9
	Abr	1,9	2	0,5	0	1,4	0	0	0	0	0	0,5	0	1	0	0,5	0	2,4	0,5	1	1,5	16,1	77,7	1,4	0,5	0,5	0,5	24,2	79,2
	Jun	0,5	0,5	0	0,5	0	0	0	0	0	0,5	0	0,5	0	0	0	0	2	1	1	4	11	44,5	1	5	1	1	15,5	51,5
	Jul	2	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0	1	1,5	0	0,5	0	0	0,5	3	0	3,5	10,5	57	0,5	0	0,5	0	15,5	61,0
	Sept	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0	-	0,5	-	0	-	0	-	0,5	-	0	-	41,3	-	0	-	0,5	-	42,9
	Nov	0,5	2,5	0,5	0	0	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0	0	0	0	1	3,5	0	0,5	5,2	71	0	0	0	0	7,8	77,0
Dic	1	0,5	1,5	0,5	0	0	0	0	0	2,1	0,5	0,5	0	0	0	0	0,5	2,6	0,5	1,6	7,7	67	2	0,5	0	0	13,3	72,3	
2008	Ene	2,1	1,6	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	4,7	0	1	7,7	48,4	1	0	0	0	11,8	53,1	
	Feb	2,5	0,5	0	0,5	0	0	0	0	0,5	0,5	0	0,5	0	0	0	1	3,3	0	1	3	40	0	0	0	0	7,0	44,8	
	Abr	1	0,5	0	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0,5	2,7	0	2,3	8,2	57,7	0,5	0	0	0,5	10,1	60,4	
	Jul	0,5	0	0	0	0	0	0	0	0,5	0	0,5	0,5	0	0	0	0	1,5	0,5	0,5	0,5	8,4	40,5	2	0	0	0	13,4	41,5
Total	1,2	1	0,3	0,2	0,1	0	0,1	0	0,1	0,4	0,4	0,2	0,2	0,1	0,1	0	1,1	1,9	0,3	2,7	12,3	59,9	1,6	3	0,2	0,3	18,5	70,2	

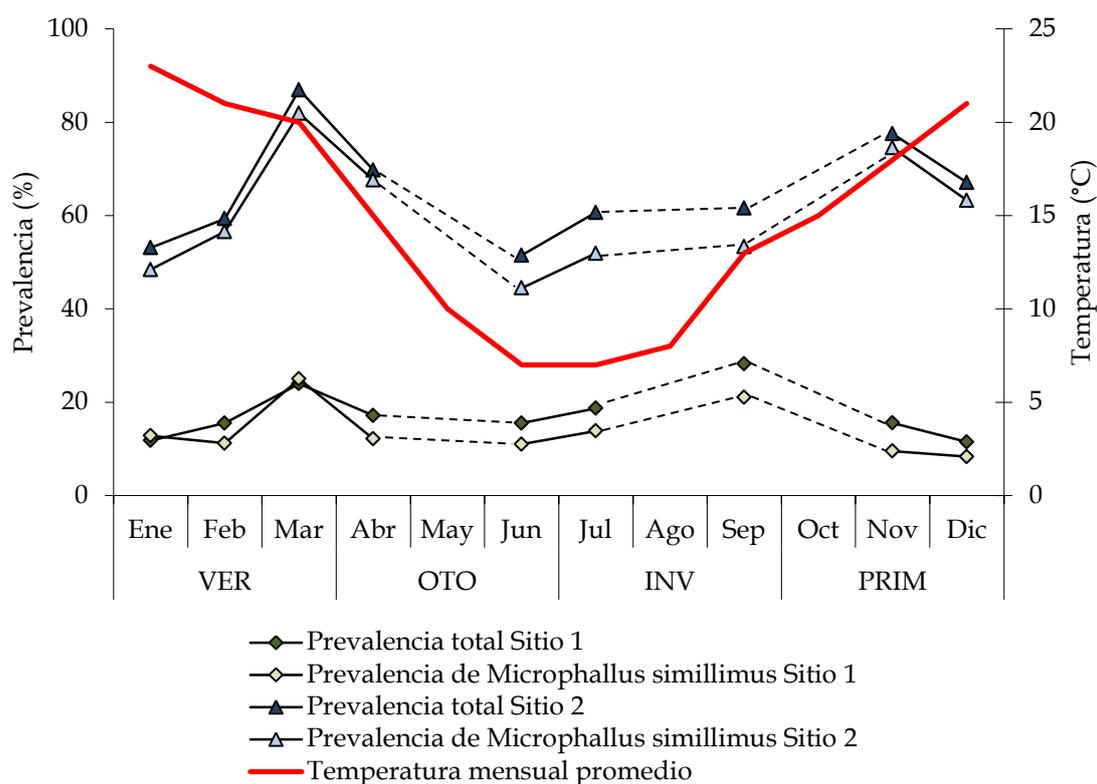
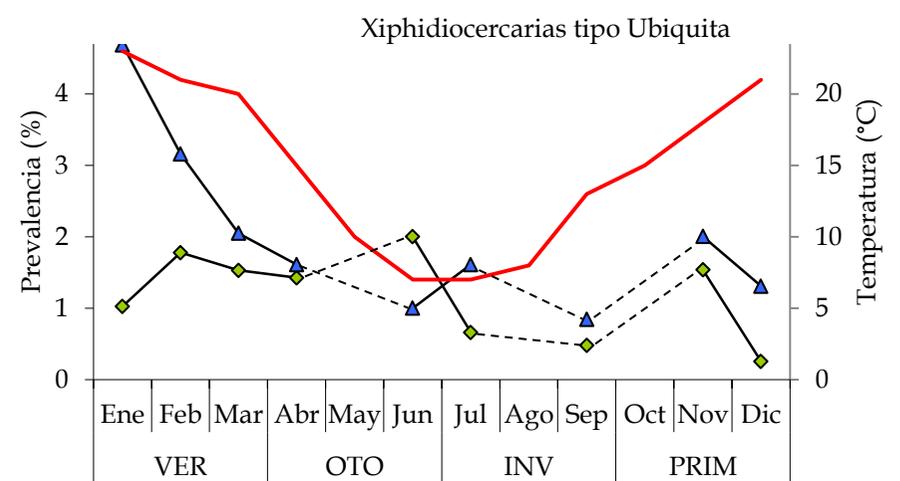
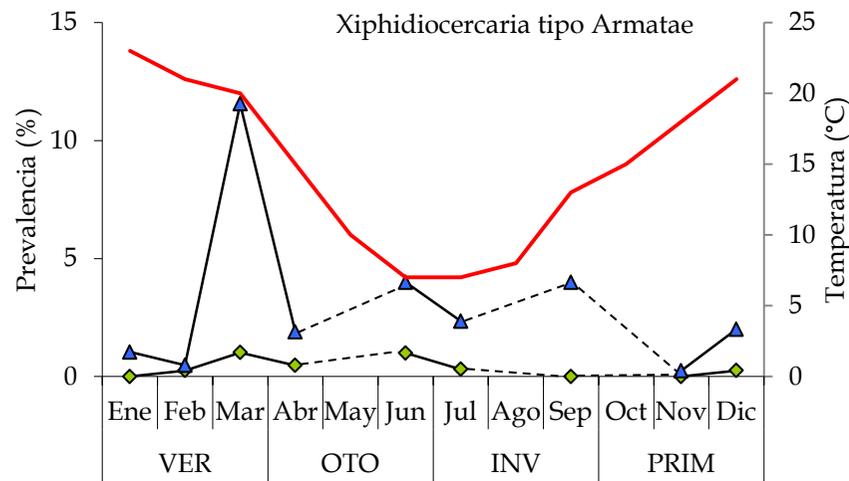
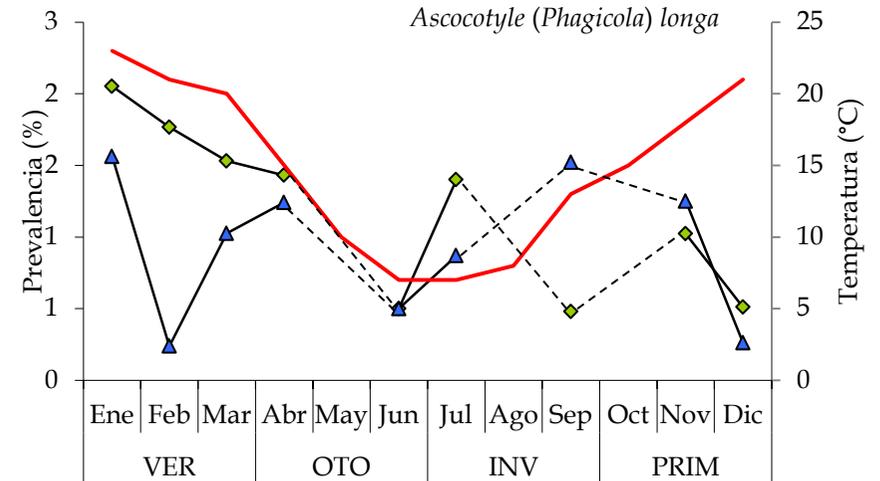
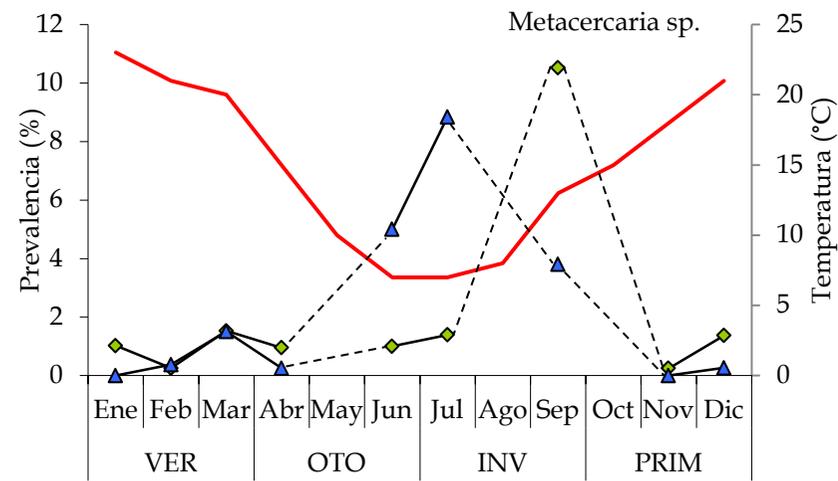


Figura 69. Prevalencia total de larvas de digeneos, prevalencia de *Microphallus similimus* y la temperatura mensual promedio (°C) a lo largo del año en los sitios 1 y 2.

La heterogeneidad temporal de cada una de las especies de digeneos no se pudo analizar debido a la baja prevalencia de la mayoría de ellas. Las especies que mostraron una prevalencia total mayor al 1 % fueron *M. similimus*, *Metacercaria* sp., *A. (P.) longa*, *Xiphidiocercarias* tipo Ubiquita y *Xiphidiocercaria* tipo Armatae. La Figura 70 muestra las prevalencias de cada una de las especies mencionadas (excepto *M. similimus*) a lo largo del año y en los sitios 1 y 2. A diferencia de *M. similimus*, la *Metacercaria* sp. aumentó con las bajas temperaturas. Las otras especies estudiadas, *A. (P.) longa*, *Xiphidiocercarias* tipo Ubiquita y *Xiphidiocercaria* tipo Armatae, no mostraron una asociación con la temperatura.



—◆— Sitio 1

—▲— Sitio 2

— Temperatura mensual promedio

Figura 70. Prevalencia de larvas de digeneos en *Heleobia australis* y la temperatura mensual promedio (°C) a lo largo del año en los sitios 1 y 2.

Las infecciones múltiples fueron más comunes en el Sitio 2 que en los sitios 1 y 3 (4,74 % vs. 1,17 % y 0,54 %). La Tabla XVI muestra las interacciones observadas y sus abundancias para los tres sitios. No se observaron infecciones triples en el Sitio 1 ni cuádruples en ningún sitio. Las asociaciones más comunes fueron la de *M. simillimus* con la *Metacercaria* sp., con las Xiphidiocercarias tipo Ubiquita y con la Xiphidiocercaria tipo Armatae.

Tabla XVI. Número de infecciones múltiples en *Heleobia australis* en el Sitio 1 (N = 2.984), Sitio 2 (N = 3.223) y Sitio 3 (N = 1.297). Prepat: Infecciones prepatentes. Las otras abreviaturas utilizadas son las mismas que en la Tabla XIII.

Infecciones múltiples		Sitio 1	Sitio 2	Sitio3
Número de infecciones dobles	M1+M2	14	40	6
	M1+C11	5	27	0
	M1+Prepat	3	9	0
	M1+C10	2	41	0
	M1+C1	2	9	0
	M1+C8	2	0	0
	M1+C6	0	3	0
	M1+C7	0	2	0
	M1+C2	1	2	0
	M2+C1	2	0	0
	M1+M3	1	2	0
	M1+C3	1	0	0
	M2+C6	0	2	0
	M2+M3	0	2	0
	M2+C10	0	2	0
	M2+C11	0	1	0
	M2+Prepat	0	1	0
	C3+C11	1	0	0
	C7+C11	1	0	0
	Número de infecciones triples	M1+M2+C10	0	5
M1+M2+C6		0	3	0
M1+C11+Prepat		0	1	0
M1+M2+Prepat		0	1	0
Total		35	153	7

f. Discusión

La riqueza específica de digeneos parásitos de *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca fue similar a la estimada para la misma especie en la laguna costera de Mar Chiquita ($S = 15$ y 13 , respectivamente; Etchegoin, 1997). Por otro lado, la riqueza específica estimada para *H. conexa* en Mar Chiquita ($S = 24$; Etchegoin, 1997) es mayor respecto de la calculada para *H. australis*. En el estuario de Bahía Blanca, se identificaron cinco especies de larvas de digeneos que también están presentes en la laguna costera de Mar Chiquita. Estas especies son *Cercaria Opisthorchioidea*, *Psilochasmus oxyurus*, *Maritrema bonaerensis*, *Levinseniella cruzi* y *Microphallus simillimus* (Etchegoin, 1997). El estuario de Bahía Blanca y la laguna costera de Mar Chiquita podrían tener otras especies en común, pero como se mencionó en capítulos anteriores, hasta no dilucidar los ciclos de vida no es posible determinar la posición taxonómica de las larvas descriptas.

En Mar Chiquita, al igual que en los sistemas de agua dulce estudiados de la Provincia de Buenos Aires, los heterófidios son el grupo más rico en número de especies (Ostrowski de Núñez, 1992; 1993; 1995; 1996; 1998; 2001; Merlo y Etchegoin, 2010). Sin embargo, en el estuario de Bahía Blanca los microfálidos fueron el grupo más abundante y rico en número de especies. Esta diferencia podría estar relacionada con la presencia de al menos tres especies de láridos en el estuario de Bahía Blanca, la gaviota cangrejera, *L. atlanticus*, la gaviota cocinera, *L. dominicanus* y la gaviota capucho café, *L. maculipennis* (Delhey y Petracci, 2004). El estuario de Bahía Blanca es uno de los dos sitios usados por la gaviota cangrejera como sitio de cría y alimentación de los pichones (Delhey y Petracci, 2004). La Sala et al. (2009b) y La Sala (2010) encontraron en pichones de *L. atlanticus*, seis de las 15 especies de digeneos de *H. australis* (cuatro microfálidos y dos equinostomátidos). Las cuatro especies de microfálidos utilizan a los cangrejos *N. granulata* y *C. angulatus* como segundos hospedadores intermediarios. Estas dos especies de crustáceos son abundantes en el estuario.

Larus dominicanus presenta también colonias reproductivas en el estuario y ha sido citada previamente albergando microfálidos (Etchegoin y Martorelli 1997a; Cremonte y Martorelli, 1998; Diaz, 2006). Los microfálidos dominan las comunidades larvales de digeneos que parasitan a *Hydrobia ventrosa* (Montagu 1803) e *Hydrobia ulvae* (Pennant 1777) en la costa europea (Deblock, 1980; Kube et al., 2002a; 2002b; Skirnissoon et al., 2004; Thieltges et al., 2009).

Los microfálidos, los notocotílidos y los heterófididos producen huevos que se transmiten al hospedador molusco cuando éste los ingiere. Según Skirnissoon et al. (2004), esta forma de infección pasiva es común en zonas donde las condiciones ambientales (altitud de marea, temperatura del agua, intensidad de luz, salinidad) son inestables; e.g. los estuarios.

La prevalencia total de larvas de digeneos en *H. australis* en los sitios 1 y 2 del estuario de Bahía Blanca (18,5 % y 70,2 %) fue mayor a la estimada en la laguna costera de Mar Chiquita (10,4 %; Etchegoin, 1997). Sin embargo, al igual que en Mar Chiquita (Etchegoin, 1997), las prevalencias individuales de digeneos fueron menores al 10 %, excepto por la alta prevalencia de *M. simillimus* en ambos sitios de nuestro estudio (12,3 % y 59,9 %). Lo mismo ocurre en los hidróbidos europeos, donde la mayoría de las especies de digeneos presentan bajos niveles de prevalencia con algunas especies muy abundantes (Deblock, 1980; Kube et al., 2002a; 2002b).

En función de los resultados obtenidos en este estudio, la diversidad de las larvas de digeneos disminuye desde la cabecera (Sitio 1) hacia la desembocadura del estuario de Bahía Blanca (Sitio 2). La mayor diversidad de larvas de digeneos observada en el Sitio 1 es una consecuencia del mayor número de especies parásitas y de la distribución equitativa de sus abundancias. Contrariamente, en el Sitio 2, la elevada abundancia de *M. simillimus* disminuyó la equitabilidad y, en consecuencia, disminuyó el índice de diversidad. Los índices de similitud cualitativo y cuantitativo de Sørensen indicaron que las comunidades de larvas de digeneos de los sitios 1 y 2 fueron

similares en las composiciones específicas y diferentes en las abundancias de cada una de las especies.

Según Etchegoin (1997), la menor diversidad de larvas de digeneos observada en *H. australis* en la laguna costera de Mar Chiquita, se debe, en parte, a la alta influencia antropogénica del arroyo donde habita dicha especie. En el estuario de Bahía Blanca el dragado, la descarga de efluentes y el tráfico comercial son mayores en el Sitio 3 que en los sitios 1 y 2. Sin embargo, el índice de diversidad en el Sitio 3 no fue menor que en los otros sitios. Kristoffersen (1991) y Bustnes y Galaktionov (1999) observaron que las larvas de digeneos aumentan en los sitios con alta influencia antropogénica. Los autores lo atribuyen al aumento en la abundancia de las gaviotas, sus hospedadores definitivos, quienes tienden a concentrarse en los puertos de pesca. Esto podría estar ocurriendo en el estuario de Bahía Blanca con las gaviotas y con otras aves oportunistas.

Heleobia australis y su comunidad larval de digeneos cumplen con las condiciones propuestas por Huspeni et al. (2005) para ser un buen indicador de las fluctuaciones ambientales: alta densidad del caracol, alta riqueza específica y heterogeneidad espacial de la comunidad larval de digeneos. Por lo tanto, consideramos que la comunidad larval de *H. australis* en el estuario de Bahía Blanca podría utilizarse como indicador de las fluctuaciones impacto ambiental a nivel temporal, al igual que la comunidad larval de digeneos de *H. conexa* en la laguna costera de Mar Chiquita (Merlo y Etchegoin, 2010).

Uno de los aspectos más estudiados en las comunidades larvales de digeneos, es la variabilidad espacial y temporal en su diversidad (Esch y Fernández, 1994; Esch et al., 2001; Kube et al., 2002b). Los factores que regulan esta variabilidad son el uso del hábitat por parte de los caracoles, el ciclo de vida de los caracoles hospedadores, las condiciones abióticas, las interacciones interespecíficas entre las larvas de digeneos y la densidad, la intensidad de infección y el comportamiento de los hospedadores definitivos (Merlo y

Etchegoin, 2010). Consecuentemente, la presencia de estadios larvales de digeneos en los primeros hospedadores intermediarios es un buen indicador de la diversidad biológica (Hechinger et al., 2008). La mayor dominancia de *M. simillimus* y de otras especies que finalizan sus ciclos de vida en aves y mamíferos en el Sitio 2, estaría relacionada con la mayor abundancia de sus hospedadores definitivos. Este sitio fue citado por Petracci y Delhey (2005) como un ambiente muy utilizado por aves marinas y costeras para la alimentación. Probablemente esto se deba a la gran extensión del intermareal en este sitio. Estas observaciones coinciden con los resultados obtenidos por Kube et al. (2002b) para *H. ventrosa* en el Mar Báltico. Los autores observaron que la comunidad está dominada, principalmente, por especies de digeneos que parasitan aves.

La riqueza específica de peces es mayor en la desembocadura del estuario (López Cazorla, 2004). Sin embargo, la diversidad de larvas de digeneos que finalizan sus ciclos de vida en peces fue mayor en el Sitio 1 que en el Sitio 2. En el Sitio 1 se identificaron la Cercaria Apocreadiinae, la Furcocercaria Sanguinicolidae y la Cercaria Haploporidae con valores bajos de abundancia y en el Sitio 2, solo la Cercaria Haploporidae, también con una baja abundancia. Esta diferencia en la diversidad de larvas de digeneos que finalizan sus ciclos de vida en peces entre los sitios 1 y 2, podría deberse a que el Sitio 1 se encuentra próximo a la desembocadura del río Sauce Chico y sus canales. Allí podrían habitar sus hospedadores definitivos. Muchas veces el hospedador molusco no se encuentra en el mismo espacio que el hospedador definitivo. En estos casos, el éxito en la transmisión depende de las corrientes de marea y de las capacidades adaptativas del miracidio para detectar estímulos provenientes del ambiente (Combes et al., 2002).

Por otra parte, algunas especies de peces marinos como las lisas, migran hacia la cabecera del estuario (i.e. el Sitio 1) en los períodos de cría y alimentación de los juveniles (López Cazorla, 2004). Estos peces podrían ser los hospedadores definitivos de algunas de las especies cuyas larvas fueron

halladas parasitando a *H. australis*. Este fenómeno también podría explicar la diferencia observada entre la prevalencia de larvas de digeneos que finalizan sus ciclos de vida en peces.

Las comunidades larvales de digeneos de clima tropical tienden a ser estables a lo largo del año, mientras que muchas de las comunidades de clima templado presentan picos estacionales de prevalencia (Esch y Fernández, 1994). En la laguna costera de Mar Chiquita, la prevalencia total en *Heleobia* spp. descende en invierno y aumenta en primavera y verano debido al ingreso de aves migratorias a la laguna costera (Etchegoin, 1997). Sin embargo, nuestros resultados mostraron dos picos anuales de prevalencia. Este fenómeno coincide con lo observado para la comunidad larval de digeneos de los moluscos del lago Llangorse de Gales, Reino Unido (Probert, 1966). En el estuario de Bahía Blanca, la prevalencia total de larvas de digeneos estuvo definida principalmente por el aporte de la prevalencia de *M. simillimus*. El primer pico estacional observado a finales del verano en ambos sitios y el segundo pico, a finales de invierno (en el Sitio 1) y en primavera (en el Sitio 2), podrían estar relacionados con el ciclo de vida del caracol y los factores abióticos del ambiente. Esta hipótesis asume que *H. australis* posee un ciclo de vida anual con una etapa reproductiva en enero-marzo (de Francesco e Isla, 2004a) y que el hospedador definitivo de *M. simillimus* es un ave residente del estuario de Bahía Blanca.

La disminución de la prevalencia en otoño estaría asociada a la mortalidad masiva del caracol al finalizar la época reproductiva. Luego la prevalencia se mantendría baja debido a las bajas temperaturas que inhibirían la emergencia de los miracidios (McKindsey y MacLaughlin, 1994). El segundo pico anual coincide con un aumento de la temperatura ambiental y la capacidad infectiva de los miracidios. Sin embargo, la disminución de la prevalencia a finales de primavera estaría relacionada con la alta mortalidad de los caracoles a causa de un intenso parasitismo. Aunque el aumento de la temperatura favorece la infección, nuestros resultados muestran que durante el verano la prevalencia se

mantendría baja. Un estudio realizado por Pietrock y Marcogliese (2003) muestra que las temperaturas elevadas y la exposición a la radiación UV afectan la capacidad infectiva, la actividad y la supervivencia de los miracidios.

Las comunidades larvales de digeneos que parasitan caracoles con un ciclo de vida corto muestran patrones temporales definidos. Por otro lado, las comunidades de digeneos que parasitan caracoles de ciclo de vida largo no poseen patrones temporales claros porque tienden a acumular infecciones en el tiempo (Esch y Fernández, 1994). Las especies del género *Heleobia*, a diferencia de la mayoría de los prosobranquios marinos, poseen ciclos de vida corto y, en consecuencia, patrones temporales marcados. Luego de la reproducción, la mayoría de los adultos muere con sus infecciones parasitarias. Según Esch y Fernández (1994), no se observa en estos caracoles la autodesinfección observada en caracoles de ciclos de vida largo. La mortalidad masiva de los caracoles luego de la época reproductiva causaría un problema grave para los parásitos de *H. australis* debido a que éstos deben sobrevivir en un hospedador definitivo o en un segundo hospedador intermediario hasta ser ingeridos por el hospedador definitivo.

Contrariamente a lo esperado, los valores máximos de infección no coincidieron con los valores máximos de abundancia del único hospedador definitivo conocido hasta el momento para *M. simillimus*, *H. melanurus*. Esta especie es el ave residente más abundante en el estuario de Bahía Blanca y alcanza su abundancia máxima durante el pico de productividad primaria, es decir en invierno (Delhey y Petracci, 2004). Si *H. australis* se reproduce en verano, los caracoles infectados en primavera no sobrevivirían hasta el nuevo pico de abundancia de *H. melanurus*. Algunas especies del género *Microphallus* necesitan un tiempo de desarrollo dentro del caracol (período de prepatencia) desde que el miracidio penetra al hospedador hasta que se forman las metacercarias con capacidad de infección (Krist y Lively, 1998). Por lo tanto, otra posible explicación para la baja prevalencia de *M. simillimus* en invierno podría estar relacionada con un retraso en el desarrollo del digeneo en el

caracol hasta la primavera donde se encuentran los valores máximos de prevalencia y donde el digeneo se encontraría en la fase final de infección en los caracoles adultos. Aunque, si este período de prepatencia es corto, entonces la alta prevalencia de metacercarias de *M. simillimus* en primavera sugiere la presencia de otros hospedadores definitivos más abundantes en primavera. Delhey y Petracci (2004) reportaron 59 especies de aves para esta área, de las cuales 12 son aves migratorias neárticas. Otra hipótesis que podría explicar la baja prevalencia de *M. simillimus* en invierno durante el pico de *H. melanurus*, es el consumo selectivo de caracoles infectados. Muchas especies de parásitos que se transmiten a través de la cadena trófica alteran el comportamiento de los hospedadores intermediarios y aumentan las probabilidades de depredación por parte del hospedador definitivo (Thomas et al., 2005).

La llegada al estuario de las aves migratorias patagónicas y el posible aporte de miracidios o huevos de sus parásitos adultos, podría estar relacionado con el aumento de la prevalencia de *Metacercaria* sp. Sin embargo, este evento no parece jugar un rol fundamental para las otras especies de digeneos. La prevalencia de *A. (P.) longa*, del grupo de las Xiphidiocercarias tipo Ubiquita y de la Xiphidiocercaria tipo Armatae, no mostraron una distribución temporal clara. Estas especies podrían infectar hospedadores definitivos residentes que no muestren patrones temporales, como es el caso de *M. bonaerensis*, *M. orensensis* y *L. cruzi* que parasitan a la gaviota cangrejera (La Sala et al., 2009b).

Además de la heterogeneidad temporal y espacial como factores que estructuran las comunidades larvales de digeneos, existe otro factor muy controversial, la competencia interespecífica entre especies de parásitos. Algunos autores sostienen que esta interacción, en el interior del molusco, afecta la infracomunidad, la comunidad componente y elimina el 13 % de las infecciones (Kuris y Lafferty, 1994; Lafferty et al., 1994). Mientras que otros

autores opinan que la competencia es un factor determinante en algunas infracomunidades y en otras no, siendo la heterogeneidad espacial y temporal los factores más importantes (Esch y Fernández 1991; Bush et al., 2001).

Para estimar la importancia de la competencia entre especies parásitas se utilizan modelos nulos. El más sencillo, utilizado por Etchegoin (1997) para el estudio de las comunidades larvales de digeneos de *Heleobia* en la laguna costera de Mar Chiquita, utiliza las frecuencias esperadas:

$$(fe) = \frac{A \times B}{N}$$

donde A es la frecuencia de la especie a , B es la frecuencia de la especie b y N es el número total de hospedadores revisados. Este modelo subestima la frecuencia esperada de dobles infestaciones, debido a que los individuos de especies subordinadas, las que tienden a ser eliminadas por competencia por los individuos de las especies dominantes, no aparecen en la muestra y por lo tanto no son tenidas en cuenta (Kuris y Lafferty, 1994). Por el contrario, Lafferty et al. (1994) desarrollaron un modelo nulo que estima las frecuencias esperadas antes de la interacción y de la eliminación de las especies subordinadas. Para esto es necesario desarrollar una jerarquía en la dominancia de especies. Sousa (1993) postuló mediante un estudio de captura y recaptura, una jerarquía de dominancia de las larvas de digeneos de *C. californica* en la laguna Bolinas, Estados Unidos. El autor encontró que existían especies fuertemente dominantes (equinostomátidos, filoftálmidos, heterófidos), débilmente dominantes (notocotílidos, schistosomátidos) y subordinadas (xifidiocercarias, strigeidos). Sin embargo, en el presente estudio no se utilizó este modelo para el estudio de la competencia debido a la falta de conocimiento de la jerarquía en la dominancia de las especies aquí descriptas.

Según Kuris y Lafferty (1994) y Lafferty et al. (1994), en la mayoría de las comunidades de larvas de digeneos, las infestaciones múltiples ocurren con una

frecuencia menor a la esperada en un modelo nulo (i.e. comunidad en la que las especies se encuentran distribuidas al azar y no estructuradas por otros factores). Existen dos mecanismos por los cuales las especies dominantes eliminan a las especies subordinadas. El primero propone que las especies que poseen redias como estadio intramolusco se alimentan sobre las especies subordinadas (depredación). El segundo, que las especies que poseen esporocistos impiden el desarrollo de las especies subordinadas de forma indirecta (mediante toxinas o residuos metabólicos).

Los resultados obtenidos en este estudio permiten inferir que la competencia interespecífica puede ser un factor importante en la estructura de la infracomunidad de *H. australis*. Esta suposición está basada en que la comunidad de digeneos reúne los requisitos planteados por Kuris y Lafferty (1994) para comunidades estructuradas por competencia. Estos son alta prevalencia, alta interacción de las larvas de digeneos debido a la heterogeneidad temporal, alta equitabilidad y existencia de especies dominantes y subordinadas.