



**UNIVERSIDAD DE CHILE
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS Y PECUARIAS
ESCUELA DE CIENCIAS VETERINARIAS
DEPTO. CS. BIOLÓGICAS ANIMALES**

**DIVERGENCIA MORFOLÓGICA DE LA CONCHA
ENTRE TRES POBLACIONES DE CARACOLES
ACUÁTICOS DEL GÉNERO *BIOMPHALARIA***

Tesis entregada a la Universidad de Chile en cumplimiento parcial de los
requisitos para optar al título de Médico Veterinario

Hugo Felipe Salinas Massabó

Profesor Guía: Dr. Marco A. Méndez Torres

Santiago, Chile

2010

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a mi tutor, Marco A. Méndez Torres por el continuo apoyo personal, académico y económico; a todos mis compañeros del laboratorio de Genética y Evolución por sus aportes, consejos y especialmente por hacer muy agradable la realización de esta memoria; a mi familia y amigos porque siempre estuvieron a mi lado y son fuente de inspiración, son motor y son pilar de mis acciones.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

RESUMEN	iv
INTRODUCCIÓN	1
REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA	3
1.1. Gastrópodos dulceacuícolas chilenos.....	3
1.2. Biología y ecología del género <i>Biomphalaria</i>	4
1.3. Relevancia médica del género <i>Biomphalaria</i>	6
1.4. Origen del género <i>Biomphalaria</i>	8
1.5. Caracterización del Altiplano Sur como sistema para el estudio de divergencia genética	10
1.6. Las especies chilenas y del Altiplano sur.....	12
1.7. Experimentos de Jardín Común	13
HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	16
MATERIALES Y MÉTODOS	18
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	23
DISCUSIÓN.....	38
CONCLUSIONES	41
BIBLIOGRAFÍA	42
APÉNDICE	48

RESUMEN

En moluscos las características morfológicas de la concha a menudo expresan variación en función de la procedencia geográfica. El género *Biomphalaria* corresponde a caracoles pulmonados de ambiente límnicos que se distribuyen en Chile desde el extremo norte hasta el Río Puelo (41°47'S, 72°01'O). En el Altiplano se han detectado poblaciones en sistemas hídricos aislados entre sí. Estudiamos caracoles de este género provenientes de las siguientes localidades: Bofedal de Caquena (69°12'O 18° 3'S), Bofedal de Colpa (69°13'O 18° 3'S) y Bofedal de Parinacota (69°15'O 18°11'S). Individuos de estas localidades fueron recolectados y llevados al laboratorio, donde fueron cultivados en condiciones de jardín común durante una generación. Se midieron once caracteres de la concha tanto a aquellos recolectados de terreno como a los cultivados en el laboratorio. Los resultados muestran que, tanto en los individuos recolectados en terreno como en aquellos cultivados en laboratorio, los caracoles procedentes de Parinacota difieren morfológicamente de Caquena y Colpa, mientras estos dos últimos no mostraron diferencias entre sí. Adicionalmente, se observó que la morfología de la concha de los caracoles recolectados en terreno presentó mayores coeficientes de variación, en comparación a los cultivados en laboratorio. Finalmente, al analizar mediante índices las cuatro variables de la concha que tuvieron mayor peso en el análisis de componentes principales: largo del callo peristomal, ancho ventral de la concha, largo del peristoma y ancho del peristoma, se observó convergencia entre la generación parental y la cultivada en laboratorio en estos rasgos: longitud del peristoma (abertura de la concha) y ancho del peristoma de una generación a la siguiente, lo que correspondería a un fenómeno de plasticidad fenotípica en estos caracteres.

INTRODUCCIÓN

La fauna de gastrópodos dulceacuícolas en Chile está constituida por un total de 73 especies que se reparten en seis familias distribuidas en dos subclases, Prosobranchia y Pulmonata. Dentro del grupo Pulmonata, para el género *Biomphalaria* (Preston 1910) se han descrito siete especies las que se encuentran restringidas a la zona norte y central de Chile, con excepción de *B. chilensis* (Antón 1839) que se distribuye desde la zona central hasta el Río Puelo (Región de Los Lagos). La totalidad de las especies de este género son endémicas para Chile (Valdovinos, 2006).

Estos caracoles habitan aguas poco profundas, cuerpos de agua de tipo lénticos y lóticos con corriente débil. Su distribución es discontinua asociada a la ubicación de las cuencas hidrográficas y al mosaico de hábitats generado por estas cuencas (Valdovinos, 2006). Los caracoles de este género son hermafroditas con capacidad de autofertilizarse aunque se describe una preferencia por la fertilización cruzada (Barbosa y Barbosa, 1994). Esta estrategia reproductiva, junto a su vagilidad limitada, jugarían un rol muy importante en la formación de demos aislados y semiaislandos (Campbell *et al.*, 2000).

La variación fenotípica a distintas escalas generalmente se considera como un fenómeno adaptativo más que un fenómeno eco-fenotípico (Trusell, 2000). En organismos secretores de concha, Gould (1966) sugirió que la forma de la concha estaría gobernada genéticamente por relaciones alométricas. Este supuesto ha llevado a la interpretación de que las diferencias en la morfología de la concha en gastrópodos tanto históricas como entre poblaciones representan diferencias genéticas y cambios evolutivos (Kemp y Bertness, 1983). Sin embargo la variación intraespecífica también puede reflejar plasticidad fenotípica (Trusell, 2000). En general, se acepta que la morfología de la concha es un carácter con una alta variabilidad intraespecífica y además plástico, es decir la morfología de la concha es capaz de configurarse de distinta forma en respuesta a distintos estímulos ambientales. Por ejemplo, en *Nucella lamellosa* y *Littorina obtusata* se ha descrito plasticidad fenotípica adaptativa a la “presencia/ausencia” del cangrejo depredador *Carcinus maenas*, los caracoles expuestos a efluentes de *C. maenas* incrementaron la dureza de la concha (Trusell, 2000).

Otros antecedentes de plasticidad fenotípica sobre la morfología de la concha se han descrito para el género *Littorina*. Kemp y Bertness (1983) observaron en *L. littorea* que a mayor densidad de caracoles las conchas eran más pequeñas y gruesas. Mientras que Trusell (1999) en *L. obtusata* encontró que a mayor temperatura del agua las conchas eran más gruesas y fuertes.

Por su parte Wullschleger y Jokela (2000) compararon la razón entre el largo de la concha y el largo de la apertura en dos especies del género *Lymnaea* cultivados por dos generaciones en el laboratorio y encontraron que la morfología de las conchas convergió a un fenotipo similar en dos generaciones de cultivo en laboratorio. Ellos concluyeron que las diferencias observadas entre las distintas poblaciones estarían mediadas por el medio ambiente y proponen que la morfología de la concha sería dependiente de factores como: tipo de hábitat, calidad del agua, movimiento del agua, riesgo de desecación.

Las poblaciones de *Biomphalaria* que habitan en la región del Altiplano chileno se distribuyen en sistemas hídricos aislados entre sí, con propiedades físicas, químicas y biológicas heterogéneas (Chong, 1988). Estas condiciones, más las características propias de las especies del género *Biomphalaria* como ciclo de vida acuático, vagilidad limitada y desarrollo directo, hacen de este grupo un sistema ideal para el estudio de divergencia evolutiva, tanto a nivel intra como ínterespecífico.

El presente estudio evalúa las divergencia de rasgos morfológicos de la concha entre tres poblaciones del género *Biomphalaria* cercanas geográficamente, ubicadas en la provincia de Putre, Región de Arica y Parinacota (Bofedal de Colpa, Bofedal de Caquena y Bofedal de Parinacota).

REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1. Gastrópodos dulceacuícolas chilenos

La fauna de gastrópodos dulceacuícolas en Chile está constituida por un total de 73 especies que se reparten en seis familias distribuidas en dos subclases: Prosobranchia (compuesta por una familia) y Pulmonata (compuesta por cinco familias). La subclase Pulmonata es el grupo más numeroso, integrado por caracoles de las familias Chiliniidae (30 especies), Physidae (cuatro especies), Lymnaeidae (cinco especies), Planorbidae (siete especies), más lapas de la familia Ancyliidae (cuatro especies). Mientras que la subclase Prosobranchia está representada solamente por las familias Hydrobiidae (22 especies) (Valdovinos, 2006).

La mayoría de estas especies han sido descritas sobre la base de caracteres de la concha, los que tienen una fuerte variabilidad intra e interpoblacional. Por esta razón, se ha sugerido que las especies deberían ser validadas con caracteres taxonómicos más conservados como la protoconcha¹, la rádula² y partes blandas como órganos reproductivos y pulmón (Valdovinos, 2006). Para la validación definitiva de las especies es recomendable la utilización de técnicas de sistemática molecular (Caldeira *et al.*, 1998).

La mayor parte de las especies de gastrópodos dulceacuícolas chilenos presentan una distribución discontinua asociada a la ubicación de las cuencas hidrográficas y al mosaico de hábitats que se encuentra dentro de cada una de estas cuencas (Valdovinos, 2006).

Del total de 73 especies chilenas descritas para Chile, el 91,7% son endémicas del país, incluyendo todas las especies del género *Biomphalaria*.

¹ La protoconcha corresponde a la concha embrionaria que se desarrolla en el huevo antes de la eclosión, normalmente presenta torsión y ornamentación.

² La rádula es una serie de dientes quitinosos que usan los caracoles para su alimentación.

1.2. Biología y ecología del género *Biomphalaria*

El género *Biomphalaria* corresponde a caracoles dulceacuícolas de la subclase Pulmonata y de la familia Planorbidae. Poseen una concha planiespiral, tentáculos filiformes y respiran a través de pulmones. Estos caracoles pueden ser encontrados en una gran variedad de hábitats, en particular en aguas poco profundas (máxima de 1,52 metros), cuerpos de agua de tipo lénticos y lóticos con corriente débil. Se alimentan de algas acuáticas aunque también son capaces de vivir saprofiticamente, es decir alimentándose de materia orgánica en descomposición (Barbosa y Barbosa, 1994). Además son relativamente resistentes a la desecación y presentan un crecimiento continuo durante toda su vida a pesar de vivir en un hábitat restringido en tamaño (Barbosa y Barbosa, 1994). La temperatura óptima para su desarrollo se encuentra entre los 20° C y 26° C (WHO, 1957).

Es notable que los caracoles del género *Biomphalaria* no mantengan poblaciones estables, fluctuaciones repentinas ocurren según la estación. Además, actividades humanas como la presencia de vertederos, desvíos de los cursos de agua y contaminación pueden tener efectos devastadores sobre las poblaciones de *Biomphalaria* (Barbosa y Barbosa, 1994).

Existen dos factores climáticos que pueden causar perturbaciones en la dinámica poblacional de estos caracoles: la temperatura y la lluvia (Barbosa y Barbosa, 1994). En regiones con climas templados o climas tropicales en altitud, las temperaturas pueden descender a niveles tales que la reproducción de los caracoles es disminuida o interrumpida. Las temperaturas extremadamente altas tienen el mismo efecto, por ejemplo en cuerpos de agua de pequeño volumen que durante el verano se pueden calentar sobre los 50° C en regiones tropicales (Barbosa y Barbosa, 1994).

En las regiones tropicales, el factor más relevante para la dinámica poblacional es la lluvia. Muchos hábitats naturales se secan gran parte del año causando la muerte de una

gran parte de la población de planorbidos, sin embargo la extrema capacidad reproductiva de estos animales les permite repoblar estos lugares rápidamente (en alrededor de seis semanas) una vez que regresan las lluvias (Barbosa y Barbosa, 1994). Esta condición climática también se cumple en el altiplano donde las precipitaciones presentan una alta variabilidad interestacional alcanzando su máximo durante el verano austral (invierno boliviano) mientras que el resto del año la lluvia es escasa (Aceituno, 1993). Este ciclo anual de lluvias permitiría a las poblaciones de *Biomphalaria* repoblar ciertos hábitats durante la estación húmeda de manera similar que en las regiones tropicales.

En cuanto a su forma de reproducción podemos señalar que son animales hermafroditas con capacidad de autofertilizarse aunque se describe una preferencia por la fertilización cruzada (Barbosa y Barbosa, 1994). Son ovíparas y producen un número variable de huevos unidos en una masa gelatinosa, los juveniles al eclosionar presentan una morfología similar a los adultos aunque de menor tamaño. Esta estrategia reproductiva, junto a su vagilidad limitada, jugarían un rol muy importante en la formación de demos aislados y semiaislados (Campbell *et al.*, 2000).

1.3. Relevancia médica del género *Biomphalaria*

A nivel mundial el género *Biomphalaria* es especialmente conocido por su rol como hospedero intermediario del parásito tremátodo *Schistosoma mansoni*. La distribución de dicho parásito se encuentra relacionado directamente con la presencia o no de caracoles del género *Biomphalaria* (Snyder *et al.*, 2001). Es así como gran parte de los trabajos relacionados con éste grupo se enfocan en las especies hospederas y en su relación con dicho parásito.

En humanos el *Schistosoma mansoni* es el agente causal de la schistosomiasis intestinal, parasitosis que afecta alrededor de 200 millones de personas. Esta enfermedad se encuentra ampliamente distribuida en África y es endémica en el noreste de Brasil. Además, está presente en Surinam, Venezuela y algunas islas del caribe (World Health Organization Expert Committee, 2002). En Chile no existen registros de dicha enfermedad.

El ciclo de vida del *Schistosoma mansoni* comienza cuando el huevo del parásito es expulsado por las heces humanas hacia el agua, una vez en el agua el miracidio eclosiona del huevo y busca algún caracol del género *Biomphalaria* que actuará como hospedero intermediario. El trematodo penetra hacia el interior del caracol y se desarrolla en dos fases de esporoquistes, primario y luego secundario, para finalmente dar origen a las miles de cercarias que abandonarán el caracol. Las cercarias poseen una cola que les ayuda a buscar a su hospedero final. Cuando reconocen piel humana son capaces de penetrarla rápidamente gracias a una enzima proteolítica. En seguida migran a través de la sangre y si encuentran un compañero del sexo opuesto se desarrollarán en adultos maduros sexualmente (World Health Organization, 2010).

Biomphalaria glabrata (Say, 1818) es el principal hospedero intermediario de *Schistosoma mansoni* en Sudamérica. Además de éste, se han identificado a *Biomphalaria straminea* y *Biomphalaria tenagophila* como hospederos naturales a dicho parásito (Borda y Rea, 1997). Estas dos especies están estrechamente relacionadas con

especies de *Biomphalaria* refractarias al parásito, por lo que se presume que *Schistosoma mansoni* continúa en un proceso de adaptación aumentando su compatibilidad con sus hospederos actuales y adoptando nuevos hospederos (DeJong *et al.*, 2001). Por ejemplo, *Biomphalaria amazonica*, ha sido catalogada como una especie susceptible a la infección, sin embargo, nunca ha sido implicada en algún caso de transmisión natural (Corrêa y Paraense, 1971; Paraense y Corrêa, 1985).

1.4. Origen del género *Biomphalaria*

El género *Biomphalaria* es interesante por su distribución geográfica (Figura 1). Se han descrito 34 especies, 22 se distribuyen en América y doce especies se distribuyen en África, Madagascar y Medio Oriente (DeJong *et al.*, 2001). Esta distribución a ambos lados del Océano Atlántico en un principio se atribuyó a un origen Gondwánico de *Biomphalaria*, es decir, este género se habría originado previo a la deriva continental entre América y África (Pilsbry, 1911; Davis 1980, 1992). Recientemente, gracias a estudios basados en aloenzimas y datos de secuencias de DNA se ha sugerido una nueva hipótesis, que *Biomphalaria* surgió en Sudamérica y que su origen sería posterior a la deriva continental (Woodruff y Mulvey, 1997; Campbell *et al.*, 2000).

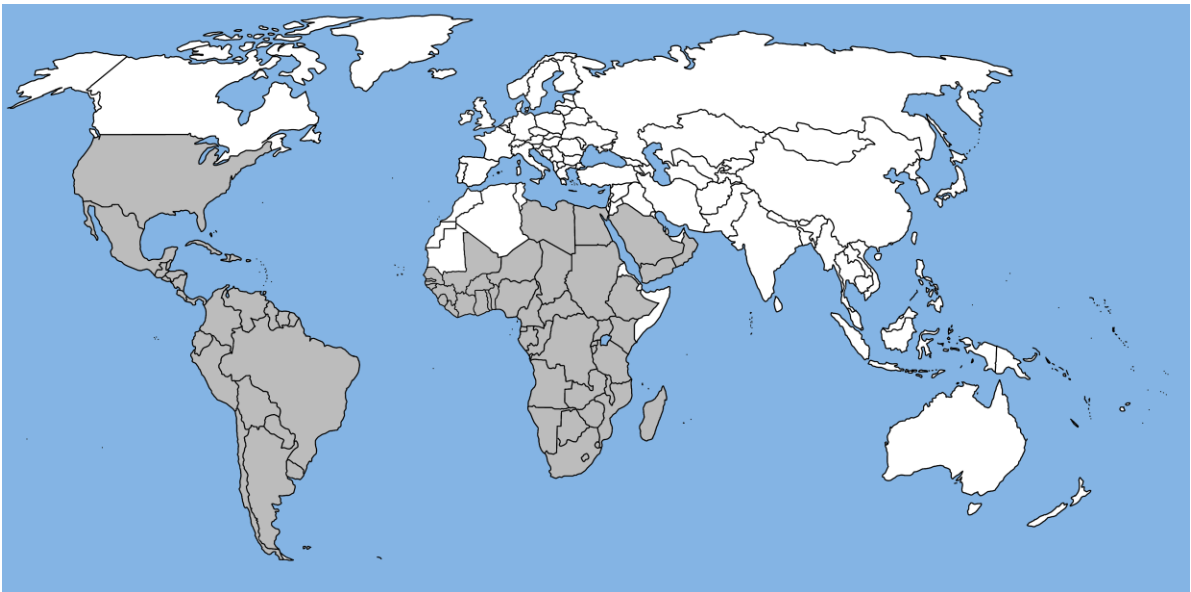


Figura 1: Mapa de distribución del género *Biomphalaria*

Los análisis moleculares de Campbell *et al.* (2000) soportan la hipótesis del origen americano. Muestran a *B. glabrata* como la especie hermana de todas las especies africanas del género *Biomphalaria* lo que sugiere que un ancestro de *B. glabrata* colonizó África. Este hecho pudo haber ocurrido a través de plumas de aves migratorias o a través de vegetación amazónica flotante (Woodruff y Mulvey, 1997), la colonización se habría favorecido dado que *Biomphalaria* es hermafrodita y capaz de autofertilización (DeJong

et al., 2001). Luego varios linajes descendientes se habrían diseminado por el continente africano donde adquirieron a *Schistosoma mansoni* como parásito (Campbell *et al.*, 2000).

La presencia de *schistosomiasis* en Sudamérica se considera como una consecuencia del traslado de esclavos desde África (Files, 1951; Fletcher *et al.*, 1981; Combes, 1990; Desprès *et al.*, 1993). Esta hipótesis logra explicar la estrecha relación filogenética entre *Biomphalaria glabrata* y las especies africanas, y el hecho que justamente sean estas especies las más susceptibles a dicha infección (DeJong *et al.*, 2001). Este análisis filogenético del género *Biomphalaria* indica que hay dos grupos ricos en especies dentro de este género, uno conformado por las especies neotropicales y el otro conformado por todas las especies africanas más *Biomphalaria glabrata*, aparte de estos dos grupos principales existen otros cuatro grupos con especies poco emparentadas entre sí (DeJong *et al.*, 2001).

1.5. Caracterización del Altiplano Sur como sistema para el estudio de divergencia genética

El Altiplano corresponde a la zona geográfica perteneciente a la Cordillera de los Andes al sur del lago Titicaca donde ésta se ensancha progresivamente dejando entre las cadenas montañosas más altas una extensa altiplanicie. Esta área geográfica se ubica a más de 3.000 m sobre el nivel del mar y abarca el sector nororiental del Norte de Chile, parte occidental de Bolivia, centro y sur del Perú y noroeste argentino. Orográficamente constituye una extensa depresión intermontañosa que abarca entre los 14° y 22°S (Placzek *et al.*, 2006).

El Altiplano presenta un clima semi-árido, no obstante su aridez aparente recibe agua a través de precipitaciones que caen principalmente en verano (Hurlbert y Chang, 1984), durante el denominado "invierno altiplánico". Aunque éste puede no alcanzar directamente ciertas zonas, las aguas precipitadas en las altas montañas pueden llegar a las cuencas a través de escorrentías o por infiltración subterránea (Keller y Soto, 1998), debido a lo anterior, es posible que los niveles de agua en los lagos varíen también entre estaciones.

Durante el Cuaternario la región fue objeto de una intensa actividad volcánica y sedimentaria que afectó los sistemas lacustres que evolucionaron a cuencas evaporíticas de diverso tamaño, proceso aún presente y que ha determinado la existencia de sistemas hídricos con características fisicoquímicas variables (Chong, 1988; Keller y Soto, 1998, Risarcher *et al.*, 2003).

A fines del Pleistoceno se desarrollaron diversos paleolagos que en esa época integraban numerosas cuencas hidrográficas presentes en la actualidad (Placzek *et al.*, 2006). La contracción de estas cuencas lacustres fue alternada por cambios climáticos en la zona y producida por la creciente aridez del Holoceno, lo que sumado a la existencia de represamiento de valles por actividad volcánica, habría producido que las especies acuáticas fueran fraccionadas en múltiples subpoblaciones durante este periodo (Northcote, 2000). Por

ejemplo entre 12 a 8 cal Kyr BP³ el colapso del volcán Parinacota habría producido que la cuenca del paleo-río Lauca fuera dividida y se formaran las subcuencas de Cotacotani y Chungará. La avalancha de escombros habría enterrado las formaciones fluviales y lacustres aislando a los lagos Cotacotani y Chungará de la cuenca del paleo-río Lauca y dejándolos sin posibilidad de descargas superficiales de agua.

Para las vertientes occidentales del Altiplano sur se han descrito 33 cuencas hidrográficas, clasificadas como hidrológicamente cerradas y cuyo único mecanismo de descarga es la evaporación (Montti y Henriquez, 1972). Por otra parte, la geología y el clima del altiplano han determinado que las aguas superficiales contengan una alta carga salina (Muhlhauser *et al.*, 1995; Keller y Soto, 1998; Dorador *et al.*, 2003), es así como la calidad química del agua de lagos y lagunas altiplánicas, tales como los sistemas Chungará, Huasco y Ascotán, pueden caracterizarse como correspondiente a un tipo de agua sódico carbonatado (afluentes superficiales) y clorosulfatado (vertientes termales), en estos sistemas la mezcla y predominancia del tipo de agua determinaría tanto la calidad final del agua (Klohn, 1972; Risarher *et al.*, 2003), como la diversidad biológica de cada sistema (interacciones, reproducción, entre otros). De este modo, puede definirse al Altiplano como un sistema con características geológicas y ecológicas únicas que configuran un escenario interesante para el estudio de los factores que promueven especiación.

³ Cal Kyr BP: Calibrated Kiloyears before present.

1.6. Las especies chilenas

En Chile se han descrito siete especies que se encuentran restringidas a la zona norte y central de Chile, con excepción de *B. chilensis* (Antón 1839) que se distribuye desde la zona central hasta el río Puelo (Región de Los Lagos). La totalidad de estas especies son endémicas para Chile (Valdovinos, 2006). En la tabla 1 se muestran las especies descritas para Chile y su distribución de acuerdo a la literatura (Valdovinos, 2006).

Tabla 1: Especies chilenas del género *Biomphalaria* (Valdovinos, 2006)

<ul style="list-style-type: none">• Familia Planorbidae<ul style="list-style-type: none">○ Género <i>Biomphalaria</i> Preston 1910<ul style="list-style-type: none">▪ <i>B. atacamensis</i> (Biese 1951) Río Copiapó▪ <i>B. chilensis</i> (Antón 1893) Valparaíso al Río Puelo▪ <i>B. schmiererianus</i> (Biese 1951) Río Elqui a Río Illapel▪ <i>B. montana</i> (Biese 1951) Río Hurtado (Prov. Coquimbo)▪ <i>B. costata</i> (Biese 1951) Salar San Martín▪ <i>B. termala</i> (Biese 1951) Salar Ascotán▪ <i>B. aymara</i> (Valdovinos y Stuardo 1991) Isluga
--

De las siete especies de *Biomphalaria* descritas para Chile (Tabla 1) tres se distribuyen en el Altiplano chileno: *B. costata* del salar de Carcote, *B. termala* del salar de Ascotán y *B. aymara* de los Bofedales de Isluga. Para la región estudiada no existen especies descritas, sin embargo, análisis filogenéticos preliminares de Gonzalo Collado⁴ (comunicación personal) sugieren la existencia de dos linajes, una agruparía a los caracoles pertenecientes a los bofedales de Caquena y Colpa; y la otra a los caracoles pertenecientes al Bofedal de Parinacota.

⁴ Doctor en Ciencias Ecológicas y Biología Evolutiva, Universidad de Chile. Laboratorio de Genética y Evolución, Facultad de Ciencias, Universidad de Chile.

1.7. Experimentos de Jardín Común

Una de las principales postulados en Biología Evolutiva es que la selección natural actúa sobre la variación fenotípica heredable en poblaciones que habitan ambientes que difieren en su ambiente biótico y abiótico resultando en adaptación y diferenciación en función de la localidad (Linhart y Grant, 1996).

Para cualquier rasgo en una población, el valor promedio del fenotipo, está determinado por factores genéticos, factores ambientales y la interacción de ambos. (Falconer y Mackay, 1996). Es por esto que cuando se discute sobre el potencial para la diferenciación adaptativa en una población, el primer paso sería establecer cuanto de las diferencias que se observan entre las poblaciones son de origen genético y cuanto son ambientales (Miaud y Merila, 2000).

Una forma de separar la diferenciación genética y la influencia ambiental directa, como causa de las diferencias en los rasgos de historia de vida entre las poblaciones es realizando “experimentos de jardín común”, donde individuos de ambientes contrastantes son expuestos a un ambiente común de laboratorio (Conover y Schultz, 1995). De estos experimentos se espera que si la expresión del rasgo tiene una base genética, las diferencias observadas en la naturaleza persistirán en el ambiente común, mientras que si la inducción ambiental es la principal causa de las diferencias en la población éstas desaparecerán cuando los organismos son criados en un ambiente común (Figura 2) (Conover y Schultz, 1995).

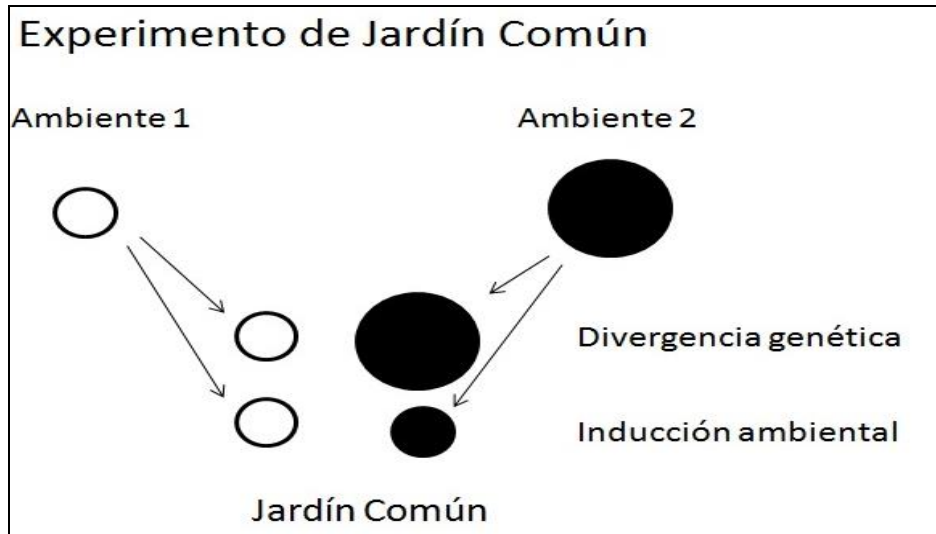


Figura 2: Experimentos de Jardín Común. El tamaño de los círculos representa el promedio fenotípico en dos poblaciones que habitan los ambientes 1 y 2 respectivamente. Los círculos al final de las flechas indican el promedio fenotípico en el nuevo ambiente. Se describen dos posibles escenarios, la primera en que las diferencias observadas están determinadas genéticamente, y la segunda en que las diferencias tienen un origen ambiental (Miaud y Merila, 2000).

Las poblaciones de *Biomphalaria* en el Altiplano sur se encuentran separadas por barreras físicas para su dispersión. La fragmentación del hábitat, sumado a la inestabilidad demográfica que presentan las poblaciones de *Biomphalaria* debido a eventos de sequía e inundaciones característicos de la región, podría llevar a una rápida diferenciación genética entre las poblaciones. Se ha descrito que los caracoles pulmonados acuáticos como el género *Biomphalaria*, son capaces de vivir en hábitats distintos, desde grandes lagos a pequeñas pozas temporales, comúnmente expresan variación en la morfología de la concha y en los rasgos de historia de vida (Wullschleger y Jokela, 2000). Si la variación en estos rasgos es consecuencia de diferencias en el genotipo de las distintas poblaciones o si estos corresponden a caracteres plásticos que se expresan diferentes según el medio ambiente en que se encuentren es importante para evaluar el estatus de una especie.

En el presente estudio se evaluó las diferencias en la morfología de la concha de los caracoles del género *Biomphalaria* provenientes de tres poblaciones del Altiplano sur que

se encuentran aisladas geográficamente entre sí, Caquena, Colpa y Parinacota. Los bofedales de Caquena y Colpa, ambos pertenecientes a la cuenca del Río Caquena, se encuentran separadas por 3,5 km de distancia y un cerro que posee una elevación de 180 m, que actúa como una barrera geográfica evitando conexiones hídricas entre estos bofedales. Por otra parte, los bofedales pertenecientes a la localidad de Parinacota pertenecen a la cuenca del Río Lauca, el cual se ubica al sur del Río Caquena y no presenta conexiones hídricas con éste. Los datos filogenéticos preliminares de estas poblaciones sugieren que los caracoles pertenecientes a las localidades de Colpa y Caquena poseen genotipos estrechamente relacionados, mientras que la población de Parinacota se encuentra en otro grupo filogenético (Gonzalo Collado, comunicación personal).

Se realizaron experimentos de “jardín común”, para evaluar las diferencias fenotípicas entre los caracoles pertenecientes a los bofedales de Caquena, Colpa y Parinacota tanto en caracoles muestreados en terreno como luego de ser cultivados bajo condiciones idénticas de laboratorio. Los datos obtenidos aportarán información para el trabajo sistemático al interior del género *Biomphalaria* en el Altiplano sur.

HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Debido a que las poblaciones de *Biomphalaria* de Parinacota se ubican en una cuenca hidrográfica distinta a las de Caquena y Colpa y que adicionalmente Parinacota y Caquena-Colpa pertenecerían a clados diferenciados. Se espera que:

- 1.- Exista variación morfológica de la concha de los adultos en función de la pertenencia geográfica.
- 2.- Las diferencias morfológicas encontradas entre las poblaciones no sean un efecto del ambiente, sino que producto de diferenciación alopátrica.

De este modo, los caracoles cultivados en condiciones de jardín común mantendrán las diferencias morfológicas observadas para los caracoles recolectados de su ambiente natural.

Objetivo general

Evaluar la variación en la morfología de la concha en las poblaciones de *Biomphalaria* provenientes de los bofedales de Parinacota, Colpa y Caquena.

Objetivos específicos

- Determinar la variación en la morfología de la concha en caracoles pertenecientes a distintas poblaciones naturales.
- Determinar la variación en la morfología de la concha en caracoles pertenecientes a distintas poblaciones criados en condiciones de laboratorio.
- Comparar la variación en la morfología de la concha entre caracoles de laboratorio versus los obtenidos en terreno.

- Determinar si existe convergencia en ciertos atributos de la concha que puedan atribuirse a plasticidad fenotípica.

MATERIALES Y MÉTODOS

Procedimiento

Se recolectaron caracoles del género *Biomphalaria* desde tres sistemas de bofedales sin conexiones hídricas entre sí, pertenecientes al Altiplano Chileno ubicadas en la Región de Arica y Parinacota, Provincia de Parinacota.: Bofedal de Caquena ($69^{\circ}12'O$ $18^{\circ} 3'S$), Bofedal de Colpa ($69^{\circ}13'O$ $18^{\circ} 3'S$) y Bofedal de Parinacota ($69^{\circ}15'O$ $18^{\circ}11'S$) (Figura 3). Las tres localidades escogidas no presentan diferencias en el tipo de vegetación presente (acuática y terrestre), ni en las condiciones climáticas.

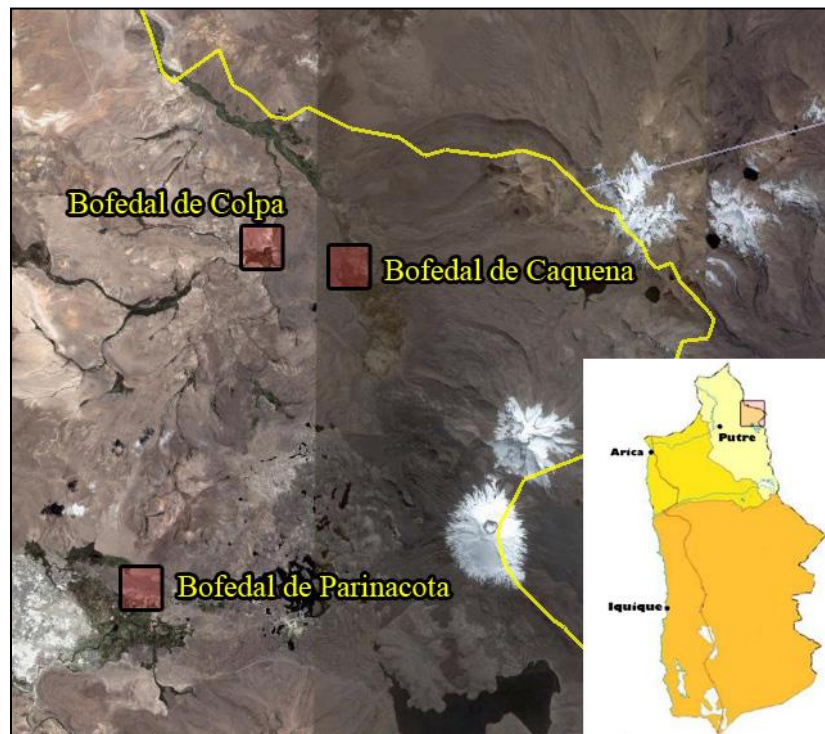


Figura 3: Mapa de la localidades muestreadas.

De las distintas localidades muestreadas se recolectaron un total de 145 caracoles. (48 del Bofedal de Caquena, 57 del Bofedal de Colpa y 40 del Bofedal de Parinacota). La captura se realizó agitando de manera enérgica y constante aquellas plantas donde se alimentan los caracoles, utilizando un colador plástico. Posteriormente los caracoles fueron

transportados al Laboratorio de Genética y Evolución de la Facultad de Ciencias, Universidad de Chile, donde se mantuvieron dentro de una cámara temperada a 20°C con un fotoperiodo de 12:12 (horas luz : horas oscuridad). Al interior de esta cámara los caracoles se mantuvieron en recipientes plásticos con 1 litro de agua corriente desclorada (20,4 cm x 14 cm x 6,6cm) y se alimentaron con lechuga cocida *ad libitum*. Se realizaron cambios de agua y se repuso el alimento una vez por semana. Los caracoles muertos fueron eliminados del sistema y fijados en alcohol 70% para su posterior medición.

Luego de una semana se seleccionaron aleatoriamente 20 caracoles por localidad. Cada uno fue separado individualmente en recipientes de 200 ml (10 cm x 6,5 cm x 5,7 cm) para utilizarlos como unidades reproductivas. A este grupo experimental se le denominó G₀. Transcurrido un par de días los caracoles adultos comenzaron a depositar sus primeras oviposuras en las paredes de los recipientes.

Una vez que las crías eclosionaron de los huevos puestos por los caracoles G₀ se separaron de su progenitor y se agruparon por semana de nacimiento y por unidad experimental en grupos de entre 15 a 20 individuos, dependiendo de la disponibilidad de caracoles juveniles, en recipientes de 200 ml. A este nuevo grupo de caracoles se le denominó F₁. Dado que existió distinto número de juveniles por semana para cada localidad se utilizaron 12 réplicas para la localidad de Colpa, 10 réplicas para Caquena y 14 para Parinacota.

Los caracoles F₁ fueron cultivados, durante 16 semanas, en la misma cámara temperada anteriormente descrita para los caracoles G₀, bajo condiciones homogéneas de temperatura (20° C), luz (12:12) y alimentación (lechuga cocida *ad libitum*).

Se evaluaron las diferencias morfológicas de la concha entre los caracoles provenientes de las distintas poblaciones muestreadas midiendo once variables de la concha a aquellos caracoles recolectados en terreno (G₀) y también a aquellos criados en el laboratorio (F₁)

(Figura 4). Las mediciones se realizaron con una lupa con un ocular micrométrico con una resolución de 0,16 mm.

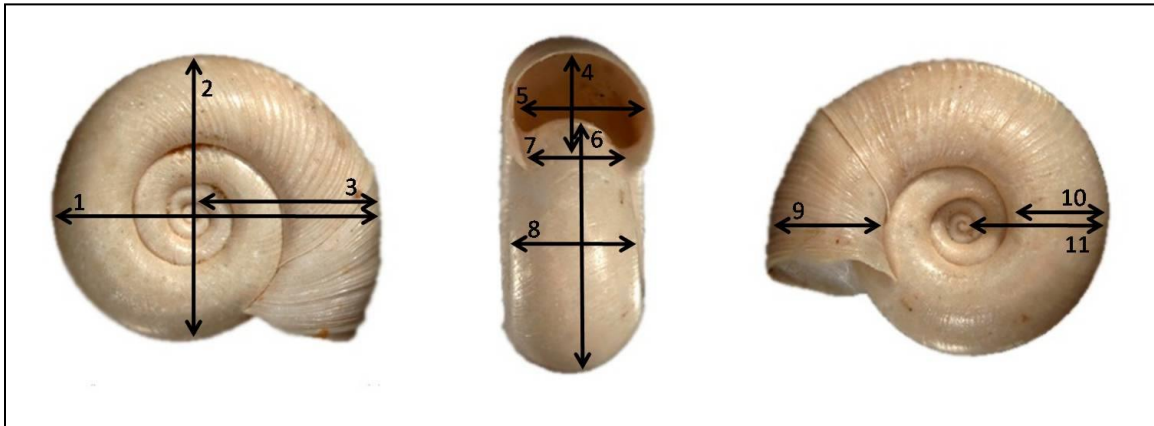


Figura 4. Variables morfológicas de la concha a analizar. 1.-Longitud de la concha, 2.-Alto de la concha, 3.-Longitud umbo extremo anterior, 4.-Longitud del peristoma, 5.-Ancho del peristoma, 6.-Longitud ventral de la concha, 7.-Longitud del callo peristomal, 8.-Ancho ventral de la concha, 9.-Longitud anterior de la última vuelta, 10.-Longitud posterior de la última vuelta, 11.-Longitud umbo extremo posterior

Análisis estadístico

Se realizó un análisis descriptivo y un análisis de varianza a cada una de las variables morfológicas de la concha tanto para los caracoles G_0 como para los F_1 . Este análisis nos permitió comparar la “forma” entre las variables seleccionadas al interior de cada generación mediante medidas de similitud (media, mediana, moda, valores máximos, valores mínimos) y dispersión (varianza, coeficiente de variación). Adicionalmente, se calculó el coeficiente de variación de los distintos rasgos. El coeficiente de variación es una medida que permite comparar la dispersión entre grupos de individuos. Su principal ventaja es que el valor obtenido es independiente de la escala, ya que elimina la dimensionalidad de las variables. El coeficiente de variación equivale a la razón entre la media aritmética y la desviación estándar (Quesada y Vergara, 2010).

Posteriormente, se analizó la morfología de la concha, para cada generación, utilizando dos métodos multivariados, primero un análisis de componentes principales (PCA) y

luego, para determinar si los individuos podían ser correctamente asignados a cada una de las localidades, un análisis discriminante lineal (LDA).

El análisis de componentes principales tuvo como finalidad reducir las variables a analizar. El PCA es una técnica que permite reducir el número de dimensiones lineales, identificando direcciones ortogonales de máxima varianza en los datos originales y proyecta los datos a un espacio de menos dimensiones. La primera componente principal explica el mayor porcentaje de la varianza en una muestra, la segunda componente principal explica el mayor porcentaje de la varianza restante en la muestra, la tercera componente principal explicará el mayor porcentaje de la varianza que queda después de la primera y segunda; y así sucesivamente. Es por esto que al desechar dimensiones superiores (generalmente de la tercera o cuarta componente principal en adelante) la pérdida de información es mínima (Johnson, 2000).

Si bien PCA es una técnica descriptiva, esto no niega la posibilidad de que también pueda ser utilizado con fines de inferencia. Entre las aplicaciones del PCA encontramos la clasificación de individuos, la comparación de poblaciones, la estratificación multivariada, etc. (Johnson, 2000).

A partir de los datos obtenidos en el PCA se realizó un análisis discriminante lineal con el objetivo de evaluar si se podía predecir la pertenencia a cada localidad para las características morfológicas de la concha. Esta técnica permite localizar las variables que contribuyen en mayor grado a discriminar los sujetos en los diferentes grupos establecidos por la variable dependiente así como también determinar el grupo al que pertenece un individuo (Díaz, 2002). De este análisis, podemos extraer cuál es la probabilidad de clasificar correctamente un individuo utilizando las componentes principales para los caracoles recolectados en terreno y aquellos cultivados en el laboratorio. Para ello se utilizó como variable predictora (independiente) las localidades muestreadas (Caquena, Colpa y Parinacota) y como variable dependiente los valores propios obtenidos para la morfología de la concha en los cinco primeros componentes principales. La significancia de dicho test fue evaluada con la prueba de F de Wilk's

Lambda que adquiere valores de 0 a 1, donde el valor 0 denota que existen diferencias entre los grupos y el valor 1 que los grupos son iguales.

Finalmente, se contrastó la morfología de cuatro variables de la concha, entre los caracoles que fueron cultivados en el laboratorio en ambiente controlado (F_1) contra los caracoles adultos capturados en su medio ambiente natural (G_0) utilizando índices morfométricos. Para construir los índices, se seleccionaron las variables mediante un análisis de componentes principales, con los caracoles pertenecientes a ambas generaciones (G_0 y F_1). La variable que obtuvo una mejor asociación con la primera componente principal se utilizó como divisor y aquellas variables que estuvieron mejor asociadas con las cuatro componentes principales siguientes fueron los dividendos de las razones calculadas.

RESULTADOS

Análisis univariado y descriptivo

Las tablas 2 y 3 muestran las medidas de similitud y dispersión para cada una de las 11 variables medidas junto a los análisis de varianza respectivos, primero para los caracoles muestreados en terreno (G_0) (Tabla 2) y luego para la progenie cultivada en condiciones de laboratorio (F_1) (Tabla 3). Estos resultados nos permiten comparar, dentro de cada generación, los distintos rasgos evaluados. Además permite comparar los coeficientes de variación de los rasgos entre generaciones.

Para todas las variables se apreciaron diferencias significativas tanto en los G_0 como en los F_1 . La longitud promedio de la concha fue de 7,7 mm con valores que fluctuaron entre 4,7 mm y 13,2 mm para los individuos G_0 y un promedio de 5,7 mm para los F_1 con un valor mínimo de 4 mm y un máximo de 8,7 mm. El carácter más variable para los caracoles G_0 fue la longitud del peristoma, seguido por la longitud del callo peristomal y luego la longitud umbo-extremo anterior (CV: 30,1%; 28,1%; 25,8%, respectivamente).

Para los caracoles F_1 los caracteres más variables fueron la longitud del callo peristomal, la longitud del peristoma y el ancho ventral de la concha (CV: 19,9%; 17,9%; 17,4%). Los atributos que presentaron menor variación para G_0 fueron la longitud anterior-última vuelta, la longitud ventral de la concha y el ancho de la concha (CV=23,6%; 23,8%; 24,1%) mientras que para F_1 fueron la longitud anterior de la última vuelta, la longitud posterior de la última vuelta y la longitud umbo-extremo posterior (CV=14,5%: 15,2%, 15,5%) (Tabla 3). Observamos que los caracoles F_1 presentaron en promedio un tamaño menor y fueron menos variables que los caracoles G_0 , este resultado era el esperado considerando que los caracoles cultivados en laboratorio estuvieron sometidos a condiciones homogéneas en comparación con la G_0 (temperatura, régimen de alimentación, características del agua, horas luz/oscuridad) (Tabla 4).

Tabla 2. Medidas de dispersión y análisis de varianza univariado para los datos de cada una de las variables de las 3 localidades para los caracoles recolectados en terreno (G₀)

Variable	Media	Mín.	Máx.	CV	EE	F	P ^{1/}
Longitud de la concha	7,7	4,7	13,2	24,6	0,2	41,5	< 0,01
Ancho de la concha	6,5	4,0	11,0	24,1	0,1	38,7	< 0,01
Longitud umbo-extremo anterior	4,5	2,5	8,0	25,8	0,1	43,9	< 0,01
Longitud del peristoma	3,5	2,0	6,5	30,1	0,1	40,5	< 0,01
Ancho del peristoma	3,7	2,3	7,3	25,2	0,1	39,1	< 0,01
Longitud Ventral de la concha	5,5	3,3	9,5	23,8	0,1	34,6	< 0,01
Longitud del callo peristomal	1,8	1,0	4,0	28,1	<0,1	33,3	< 0,01
Ancho ventral de la concha	2,5	1,7	4,3	25,5	0,1	49,7	< 0,01
Longitud anterior de la última vuelta	3,4	2,2	5,3	23,6	0,1	29,7	< 0,01
Longitud posterior de la última vuelta	2,6	1,7	4,7	24,1	0,1	42,7	< 0,01
Longitud umbo-extremo posterior	3,1	1,8	5,3	24,7	0,1	34,9	< 0,01

^{1/} Valor p para análisis de varianza; p<0,01 indica diferencias significativas

Mín.=Valor mínimo; Máx.=Valor máximo; F=valor F para el análisis de varianza; EE=Error Estándar.DE CV=coeficiente de variación; p=valor p para el análisis de varianza.

Tabla 3. Medidas de dispersión y análisis de varianza univariado para los datos de cada una de las variables de las 3 localidades para los caracoles cultivados en laboratorio (F₁).

Variable	Media	Mín.	Máx.	CV	EE	F	P ^{1/}
Longitud de la concha	5,7	4,0	8,7	15,8	0,1	76,7	< 0,01
Ancho de la concha	4,7	3,3	7,2	15,9	<0,1	64,2	< 0,01
Longitud umbo-extremo anterior	3,3	2,3	5,2	16,0	<0,1	77,1	< 0,01
Longitud del peristoma	2,4	1,7	4,0	17,9	<0,1	57,4	< 0,01
Ancho del peristoma	2,9	2,0	4,7	17,3	<0,1	78,9	< 0,01
Longitud Ventral de la concha	4,1	2,8	6,0	16,3	<0,1	57,2	< 0,01
Longitud del callo peristomal	1,4	1,0	3,0	19,9	<0,1	12,1	< 0,01
Ancho ventral de la concha	1,9	0,3	3,3	17,4	<0,1	47,6	< 0,01
Longitud anterior de la última vuelta	2,6	1,7	3,7	14,5	<0,1	58,1	< 0,01
Longitud posterior de la última vuelta	1,9	1,3	2,8	15,2	<0,1	55,9	< 0,01
Longitud umbo-extremo posterior	2,3	1,7	3,8	15,5	<0,1	45,5	< 0,01

^{1/} Valor p para análisis de varianza; p<0,01 indica diferencias significativas

Mín.=Valor mínimo; Máx.=Valor máximo; F=valor F para el análisis de varianza; EE=Error Estándar; CV=coeficiente de variación; p=valor p para el análisis de varianza.

Tabla 4. Comparación entre los coeficientes de variación (%) por variable, para cada generación

Variable	G₀	F₁
Longitud de la concha	24,6	15,8
Ancho de la concha	24,1	15,9
Longitud umbo-extremo anterior	25,8	16,0
Longitud del peristoma	30,1	17,9
Ancho del peristoma	25,2	17,3
Longitud Ventral de la concha	23,8	16,3
Longitud del callo peristomal	28,1	19,9
Ancho ventral de la concha	25,5	17,4
Longitud anterior de la última vuelta	23,6	14,5
Longitud posterior de la última vuelta	24,1	15,2
Longitud umbo-extremo posterior	24,7	15,5

Análisis de componentes principales por generación

Se analizaron las once variables morfométricas medidas mediante un análisis de componentes principales tanto para los caracoles recolectados de terreno (G₀) como para aquellos cultivados en laboratorio (F₁).

Para las poblaciones G₀ la primera componente principal permitió explicar un 94,1 % de la varianza total de la muestra, mientras que la segunda componente principal explicó el 2,3% de la variabilidad total de la muestra, ambas componentes juntas explicaron el 96,4% de la varianza total de la muestra. En la figura 5 se muestra la distribución de los individuos sobre el plano determinado por los dos primeros componentes principales. La gráfica permite visualizar la dispersión de los de los casos en una gráfica bidimensional.

En los caracoles recolectados en terreno los componentes de carga para la primera componente principal (aquella que representa la mayor parte de la varianza) nos indica que los factores que mostraron una mayor asociación fueron la longitud de la concha (-0,993), el alto de la concha (-0,99) y la longitud ventral de la concha (-0,981), el resto de las variables tuvieron componentes de carga entre -0,89 y -0,98, estos valores indicarían que existe una alta correlación entre todas las variables que inciden sobre esta

componente principal. La segunda componente principal tuvo una mayor asociación con la longitud del callo peristomal (-0,422), la longitud anterior de la última vuelta (0,164) y el ancho del peristoma (-0,141) (Tabla 5).

Tabla 5. Carga de los factores y porcentaje de varianza asociada para cada uno de los cinco primeros componentes principales (CP) para los caracoles recolectados en terreno (G_0).

Variable	CP 1	CP 2	CP 3	CP 4	CP 5
Longitud de la concha	-0,993	0,050	-0,050	-0,029	0,020
Ancho de la concha	-0,990	0,070	-0,063	-0,042	0,008
Longitud umbo-extremo anterior	-0,979	0,073	-0,030	-0,026	0,013
Longitud del peristoma	-0,961	0,082	0,226	-0,105	0,082
Ancho del peristoma	-0,965	-0,142	0,071	0,067	-0,108
Longitud Ventral de la concha	-0,982	0,047	-0,109	-0,066	-0,032
Longitud del callo peristomal	-0,899	-0,423	-0,010	-0,071	-0,003
Ancho ventral de la concha	-0,971	-0,034	0,041	0,192	0,045
Longitud anterior de la última vuelta	-0,963	0,165	0,047	0,015	-0,165
Longitud posterior de la última vuelta	-0,978	0,028	-0,046	0,079	0,114
Longitud umbo-extremo posterior	-0,987	0,049	-0,069	-0,016	0,023
% varianza explicada	94,1	2,3	0,8	0,7	0,6
% varianza acumulada	94,1	96,4	97,2	97,8	98,4

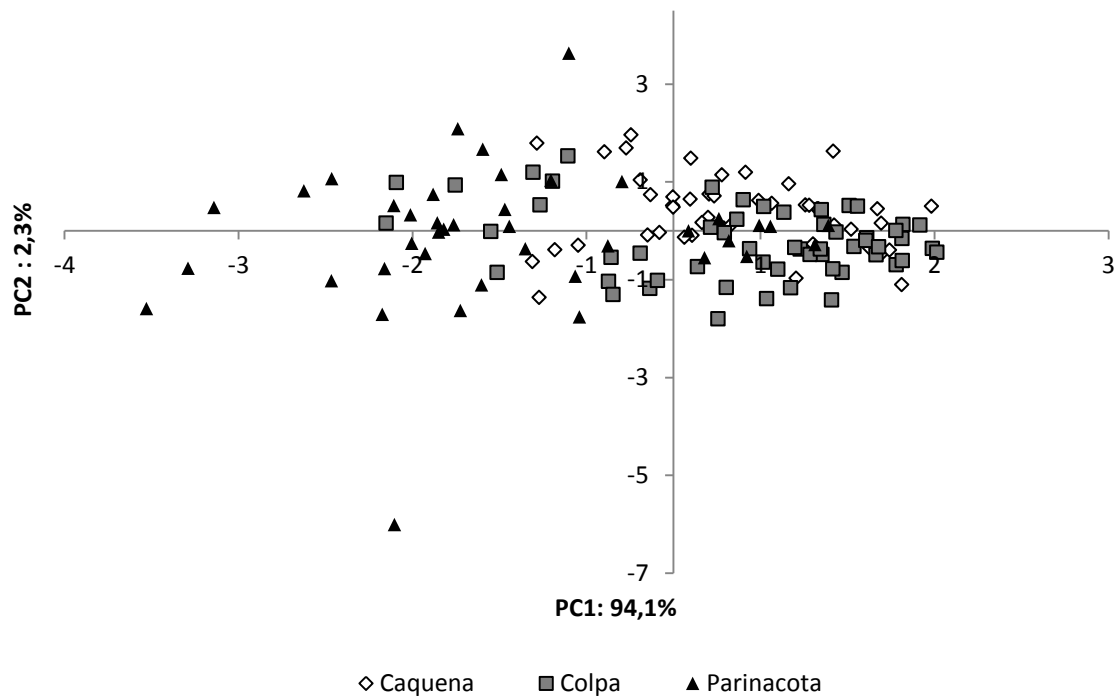


Figura 5. Gráfico de dispersión de los datos determinada por las dos primeras componentes principales de los caracoles recolectados en terreno (G_0) por población. En el eje x, la primera componente principal explica el 94,1% de la varianza de la muestra. En el eje y, la segunda componente principal explica el 2,3% de la varianza de la muestra

El análisis de componentes principales para los caracoles cultivados en condiciones de jardín común (F_1) arrojó resultados similares al análisis de los caracoles recolectados en terreno (G_0). La primera componente principal explicó un 86,4 % de la varianza total de la muestra, mientras que la segunda componente principal explica el 5,4 % de la variabilidad total de la muestra, en su conjunto permiten explicar el 91,8 % de la varianza total de los caracoles F_1 .

Los componentes de carga con mayor asociación para la primera componente principal fueron los mismos, observados en el análisis de los caracoles recolectados en terreno, la longitud de la concha (-0,987), el alto de la concha (-0,982) y la longitud ventral de la concha (-0,966), el resto de los atributos obtuvieron componentes de carga con valores entre -0,87 y -0,96, excepto la longitud del callo peristomal (-0,67). Para la segunda componente principal los componentes de carga con mayor valor fueron longitud callo

peristomal (-0,733), Longitud umbo-extremo anterior (0,10) y longitud ventral de la concha (0,099) (Tabla 6).

Tabla 6. Carga de los factores y porcentaje de varianza asociada para cada uno de los cinco primeros componentes principales (CP) para los caracoles cultivados en el laboratorio (F₁).

Variable	CP 1	CP 2	CP 3	CP 4	CP 5
Longitud de la concha	-0,987	0,086	-0,028	0,050	0,044
Ancho de la concha	-0,982	0,070	-0,017	0,087	-0,025
Longitud umbo-extremo anterior	-0,941	0,101	-0,055	0,041	0,299
Longitud del peristoma	-0,932	0,041	-0,128	-0,277	-0,082
Ancho del peristoma	-0,944	-0,074	-0,039	-0,203	0,037
Longitud Ventral de la concha	-0,966	0,100	-0,036	0,160	-0,029
Longitud del callo peristomal	-0,674	-0,733	-0,048	0,065	0,005
Ancho ventral de la concha	-0,875	-0,029	0,478	-0,063	0,007
Longitud anterior de la última vuelta	-0,959	0,058	-0,074	-0,055	-0,008
Longitud posterior de la última vuelta	-0,961	0,081	0,002	0,083	-0,117
Longitud umbo-extremo posterior	-0,965	0,075	-0,030	0,109	-0,123
% varianza explicada	86,5	5,4	2,4	1,7	1,2
% varianza acumulada	86,5	91,9	94,2	95,9	97,1

En la figura 6 observamos que la dispersión de los individuos cultivados en condiciones de jardín común, sobre el plano determinado por los dos primeros componentes principales posee las mismas características que para el caso de los caracoles G₀ los caracoles de Parinacota se agrupan a la izquierda del gráfico mientras que los de Colpa y Caquena se traslapan a la derecha del gráfico.

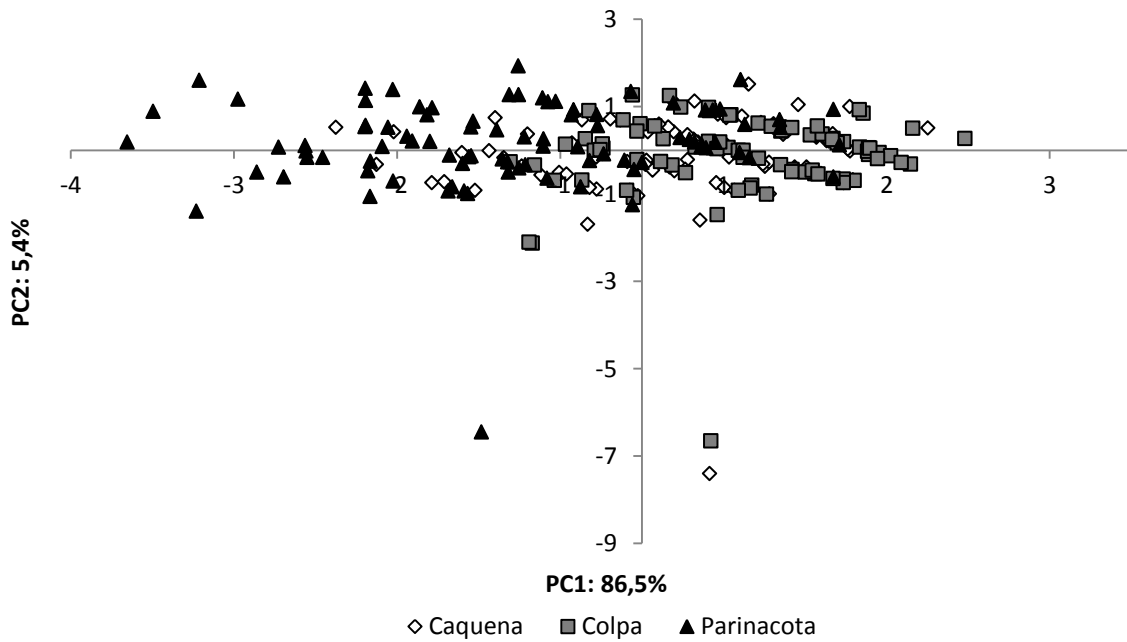


Figura 6. Gráfico de dispersión de los datos determinada por las dos primeras componentes principales del los caracoles cultivados en el laboratorio (F_1). En el eje x, la primera componente principal explica el 86,5% de la varianza de la muestra. En el eje y, la segunda componente principal explica el 5,4% de la varianza de la muestra

No se observó mayor variación entre los gráficos de componentes principales, lo que indicaría que los atributos morfológicos de la concha no cambiarían entre las distintas generaciones. La similitud en la dispersión de los datos en los caracoles G_0 y F_1 nos permiten inferir que el componente genético es más relevante para la forma que adquiere la concha que el componente ambiental. Los componentes de carga para la primera componente principal, tanto en los caracoles G_0 (Tabla 5) como en los F_1 (Tabla 6), obtuvieron valores similares en magnitud y sentido. Gran parte de las diferencias observadas en el análisis de componente principal se pueden explicar por diferencias en el tamaño de los caracoles y no por diferencias en su forma.

Análisis discriminante lineal por generación

Se utilizaron los valores propios obtenidos en el análisis de componentes principales para las cinco primeras componentes principales, de esta forma fue posible reducir la información de los datos originales. Para la generación G_0 esta matriz concentró el 98,4% de la varianza observada en los datos originales y para la generación F_1 un 97,1% como se puede apreciar en las tablas 5 y 6. Los grupos utilizados correspondieron a las localidades donde pertenecían los individuos.

Para los caracoles recolectados en terreno (G_0) la población que obtuvo un mayor porcentaje de clasificación correcta fue Colpa (75%), seguido por Parinacota (73,2%) y luego Caquena (60,4%) (Tabla 7). Cabe destacar que para Caquena, 16 de los 19 caracoles clasificados incorrectamente fueron atribuidos a Colpa y solamente 3 a Parinacota (Wilks' lambda = 0,4572; $F_{(10,276)} = 13,2176$; $p < 0,01$).

Tabla 7. Matriz de clasificación discriminante para las localidades en los caracoles recolectados de terreno (G_0).

	Caquena	Colpa	Parinacota	Porcentaje de clasificación correcto.
Caquena	29	16	3	60,4
Colpa	7	42	7	75,0
Parinacota	7	4	30	73,2
Total	43	62	40	69,7

En la tabla 8 observamos que el mismo análisis sobre los caracoles cultivados en condiciones de laboratorio (F_1) mostró que los caracoles provenientes de Parinacota presentaron un porcentaje de clasificación correcta mayor que Caquena y Colpa (71,9%; 45,5%; 67,1% respectivamente) (Wilks' lambda = 0,5584; $F_{(10,510)} = 17,2504$; $p < 0,01$).

Al comparar ambas matrices de clasificación se observó que las tres poblaciones disminuyeron en el porcentaje de clasificación. La población de Caquena disminuyó en un 14,9%, Colpa en un 7,9% y Parinacota 1,3%. La notable baja de este porcentaje en las

poblaciones de Caquena y Colpa nos indica que estas poblaciones fueron más difíciles de diferenciar al ser cultivadas en laboratorio, mientras que Parinacota prácticamente mantuvo su porcentaje de clasificación esto se debería a la menor varianza entre los caracoles de Caquena y Colpa al ser cultivados en condiciones de jardín común.

Estos resultado soportan nuestra hipótesis que las diferencias encontradas tendrían una base genética importante, probablemente por diferenciación alopátrica entre los caracoles pertenecientes a la cuenca del Río Caquena (poblaciones de Caquena y Colpa) y las poblaciones pertenecientes a la cuenca del Río Lauca (población de parinacota). Las diferencias encontradas se explicarían principalmente por diferencias en el tamaño de la concha.

Tabla 8. Matriz de clasificación discriminante para las localidades en los caracoles recolectados de terreno (F₁).

	Caquena	Colpa	Parinacota	Porcentaje de clasificación correcto.
Caquena	40	28	20	45,5
Colpa	27	57	1	67,1
Parinacota	18	7	64	71,9
Total	85	92	85	61,5

Análisis morfológico entre generaciones mediante índices morfométricos.

Se evaluaron los cambios en la morfología de la concha para los caracoles cultivados en el laboratorio en condiciones de “jardín común” al compararlos con aquellos caracoles recolectados en terreno para cada localidad mediante razones.

Para el cálculo de las razones se realizó un análisis de componentes principales con todos los individuos de ambas generaciones, luego se seleccionaron las cinco variables que aportaban una mayor fuente de variación a cada una de las 5 primeras componentes principales. La longitud de la concha que obtuvo la mejor asociación con la primera componente principal fue utilizada como divisor y las otras cuatro variables (CP2:

longitud del callo peristomal, CP3: ancho ventral de la concha, CP4: longitud del peristoma, CP5: ancho del peristoma) como dividendos. La carga de los factores obtenidos en el análisis de componentes principales se encuentra en el Apéndice I.

Las razones calculadas para cada localidad tanto en la generación G_0 como F_1 fueron las siguientes:

- CP2: Longitud del callo peristomal / CP 1: Longitud de la concha (LCP/LC)
- CP3: Ancho ventral de la concha / CP 1: Longitud de la concha (AVC/LC)
- CP4: Longitud del peristoma / CP 1: Longitud de la concha (LP/LC)
- CP5: Ancho del peristoma / CP 1: Longitud de la concha (AP/LC)

Al evaluar los caracteres morfológicos de la generación G_0 encontramos que la relación entre la longitud del callo peristomal y la longitud de la concha fue mayor en los caracoles de Colpa (0,236), seguida de los de Parinacota (0,231) y posteriormente en los de Caquena (0,220). Un análisis de varianza mostró que estas diferencias eran estadísticamente significativas ($p=0,014$; $F=4,39$; $g.l.=2$) y una prueba *a posteriori* de Bonferroni mostró que sólo Caquena y Colpa presentaron diferencias significativas entre ellas ($p=0,012$). Las tres localidades al ser cultivados en condiciones de jardín común aumentaron la longitud del callo peristomal con respecto a la longitud de la concha, se observó que los individuos de Caquena y Colpa convergieron en la relación LCP/LC de la generación G_0 a la F_1 (relación LCP/LC en caracoles F_1 : Caquena=0,26; Colpa=0,26; Parinacota=0,24), estas diferencias fueron significativas entre las distintas poblaciones ($p=0,04$; $F=6,5$; $g.l.=2$) y el análisis *a posteriori* de Bonferroni mostró que solamente Parinacota fue diferente a Caquena (Bonferroni: $p=0,019$) y Colpa (Bonferroni $p=0,02$) (Figura 7). El coeficiente de variación aumento de 0,125, en la generación G_0 a 0,170 en la generación F_1 (Tabla 9).

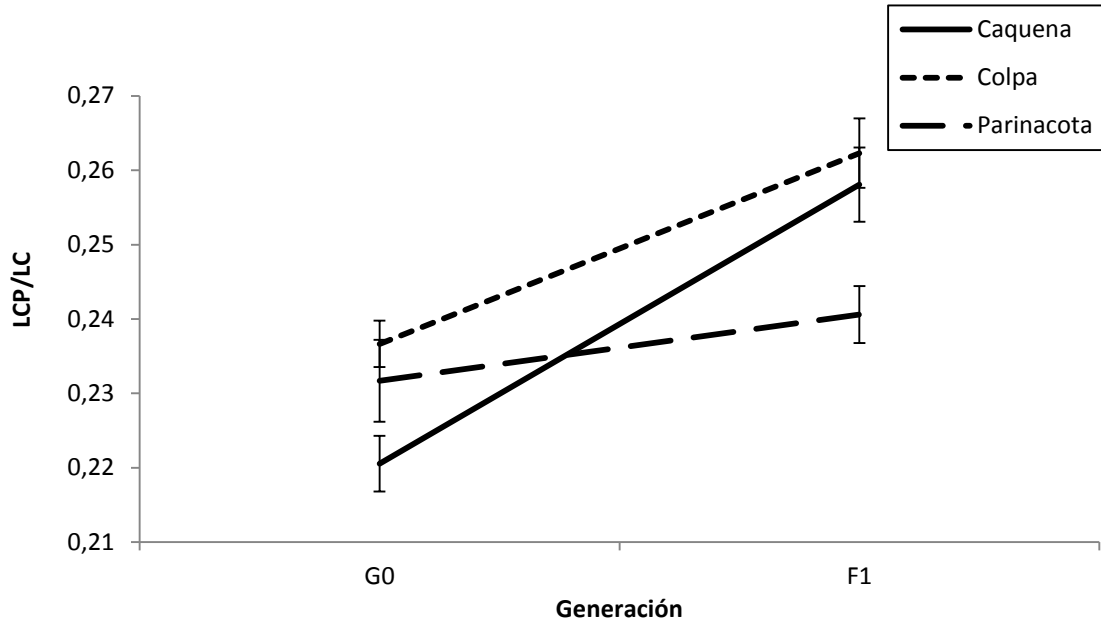


Figura 7. Cambio de la relación longitud del callo peristoma/longitud de la concha de la generación G₀ a F₁

En los caracoles recolectados en terreno la relación entre el ancho ventral de la concha y la longitud del callo peristomal (AVC/LC) fue menor en aquellos caracoles muestreados de Caquena (0,32) e igual para aquellos caracoles de Colpa y Parinacota (0,33), estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($p < 0,001$; $F = 10,76$; g.l.=2), resultando que los individuos de Caquena, distintos a las otras dos localidades (prueba de Bonferroni: Caquena-Colpa $< 0,001$; Caquena-Parinacota = 0,001). Los caracoles pertenecientes a Caquena aumentaron su relación AVC/LC de una generación a la siguiente (de 0,32 en G₀ a 0,34 en F₁), mientras que los caracoles de Colpa y Parinacota mantuvieron su tamaño. En la generación F₁ encontramos convergencia en este índice y no existieron diferencias estadísticamente significativas entre las localidades (Figura 8). El coeficiente de variación aumento de 0,073, en la generación G₀ a 0,095 en la generación F₁ (Tabla 9).

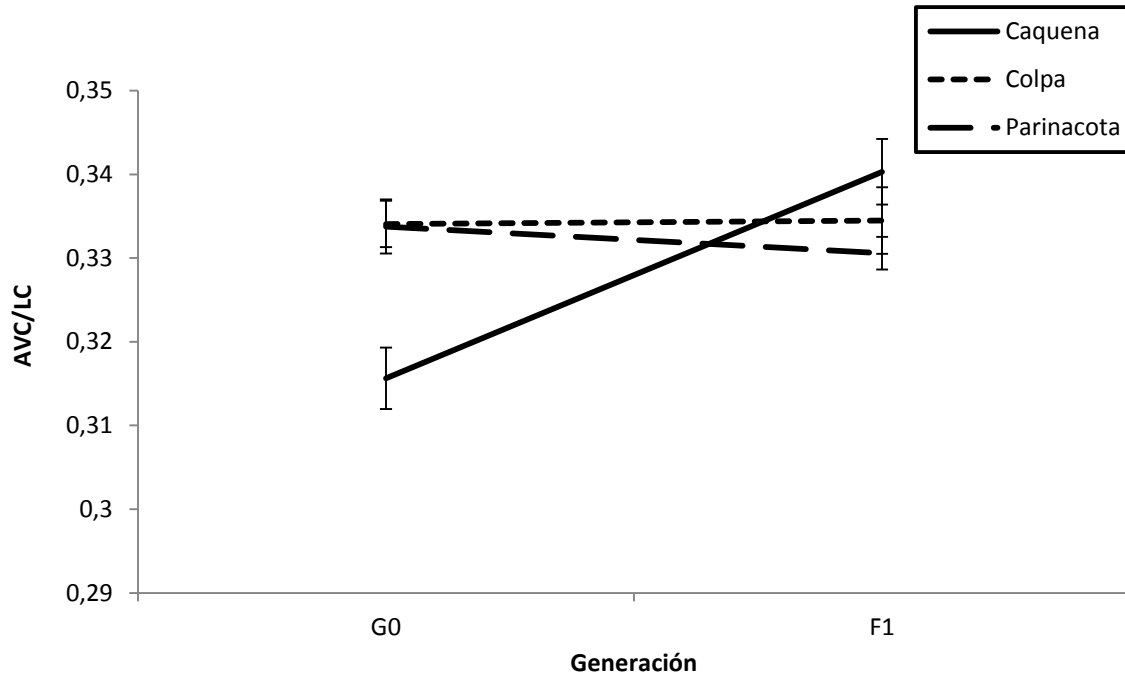


Figura 8. Cambio de la relación ancho ventral de la concha/longitud de la concha de la generación G₀ a F₁

La relación entre la longitud del peristoma y el largo de la concha en los caracoles G₀ fue mayor para la población de Parinacota (0,472), seguido por Caquena (0,453) y finalmente Colpa (0,433) las diferencias fueron estadísticamente significativas ($p < 0,001$; $F = 10,73$; $g.l. = 2$), la prueba *a posteriori* de Bonferroni mostró que sólo Colpa fue distinto a las otras dos poblaciones (Prueba de Bonferroni: Colpa-Caquena=0,045; Colpa-Parinacota<0,001). Los caracoles de todas las localidades disminuyeron en la relación LP/LC al ser cultivados en condiciones de jardín común (LP/LC F₁: Caquena=0,426; Colpa=0,424; Parinacota=0,425) y convergieron a un tamaño similar, no se encontraron diferencias significativas entre las localidades para la generación F₁ (Figura 9). El coeficiente de variación disminuyó de 0,097, en la generación G₀ a 0,075 en la generación F₁ (Tabla 9).

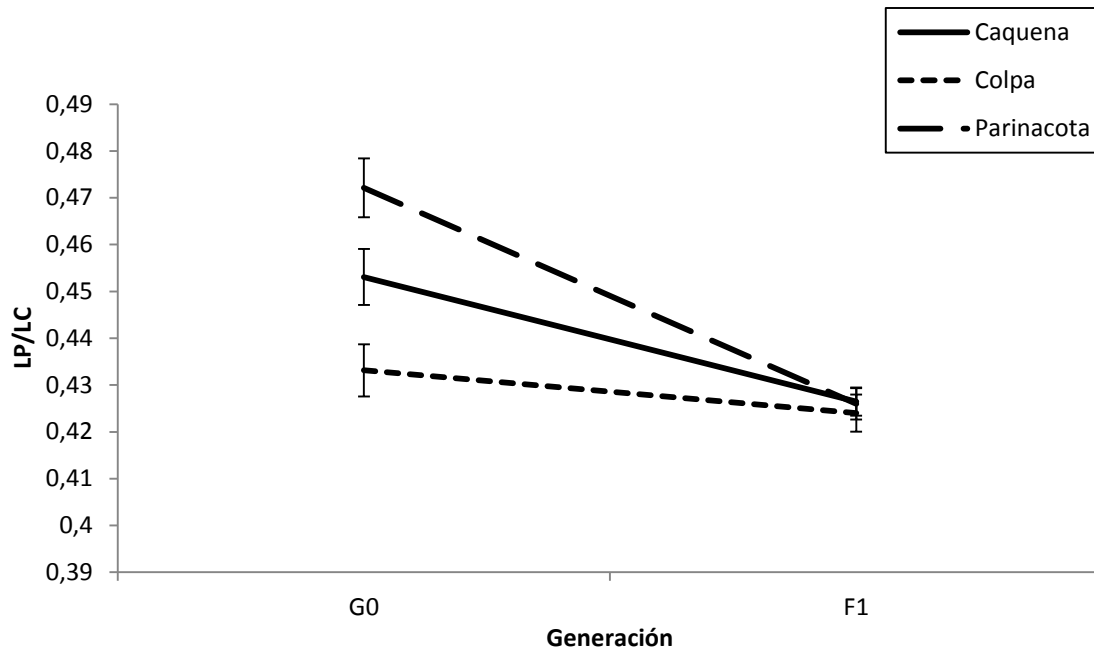


Figura 9. Cambio de la relación longitud del peristoma/longitud de la concha de la generación G₀ a F₁.

Para el índice correspondiente al ancho del peristoma (AP/LC) en la generación G₀, la localidad de Colpa mostró el mayor tamaño (0,5), seguido por Parinacota (0,48) y finalmente Caquena (0,47), estas diferencias fueron estadísticamente significativas ($p < 0,001$; $F = 7,63$; g.l.=2) y un análisis *a posteriori* de Bonferroni mostró que Caquena se diferenció de Colpa y Parinacota (Prueba de Bonferroni: Caquena-Colpa=0,04; Caquena-Parinacota=0,01). Las tres localidades aumentaron el ancho del peristoma de la generación G₀ a la F₁. El valor del índice AP/LC para la generación F₁ fue de 0,5 para Caquena y; 0,51 para Colpa y Parinacota. No existieron diferencias significativas entre las poblaciones para la generación F₁ (Figura 10). El coeficiente de variación disminuyó de 0,08, en la generación G₀ a 0,066 en la generación F₁ (Tabla 9).

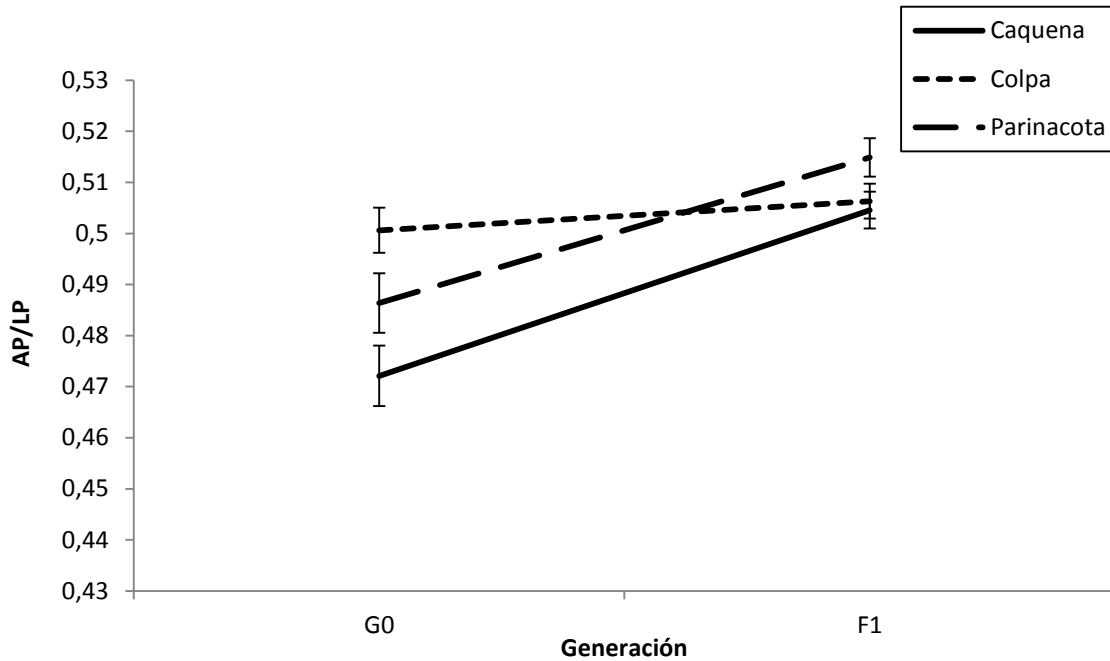


Figura 10. Cambio de la relación ancho del peristoma/longitud de la concha de la generación G_0 a F_1 .

Tabla 9. Medidas de dispersión para las relaciones obtenidas

Variables	Generación	Promedio	Dev STD	n	Error STD	CV
LCP/LC	G_0	0,230	0,029	145	0,002	0,125
	F_1	0,253	0,043	262	0,003	0,170
AVC/LC	G_0	0,328	0,024	145	0,002	0,073
	F_1	0,335	0,032	262	0,002	0,095
LP/LC	G_0	0,451	0,044	145	0,004	0,097
	F_1	0,426	0,032	262	0,002	0,075
AP/LC	G_0	0,487	0,039	145	0,003	0,080
	F_1	0,509	0,034	262	0,002	0,066

Las variables AVC/LC y LCP/LC aumentaron el coeficiente de variación de la generación G_0 a la F_1 , mientras que las variables correspondientes al peristoma, LP/LC y AP/LC lo disminuyeron. Las variables correspondientes al peristoma fueron más homogéneas en la generación F_1 que en la G_0 , además tuvieron un cambio de tamaño en la misma dirección para las tres poblaciones (disminuyendo la longitud del peristoma y

aumentando el ancho del peristoma) y presentaron una clara convergencia de estos caracteres (Figura 9 y 10).

Los resultados muestran que bajo condiciones de “jardín común”, los caracoles presentaron una longitud del peristoma menor y un ancho del peristoma mayor. Es decir el peristoma adoptó una forma ancha y corta con respecto a aquellos muestreados de terreno.

DISCUSIÓN

Se observaron diferencias en la morfología de la concha entre la población de Parinacota y las poblaciones de Caquena y Colpa tanto en los individuos recolectados en terreno como en los caracoles criados en condiciones de jardín común, lo que estaría en concordancia con los análisis filogenéticos realizados por Collado (Gonzalo Collado, comunicación personal).

La mantención de las diferencias morfológicas de la concha encontradas en terreno al ser cultivados en condiciones de “jardín común” nos indicaría que éstas se encuentran relacionadas con la divergencia genotípica de las poblaciones. Las diferencias observadas en el análisis de componentes principales y el análisis discriminante lineal se encontrarían fuertemente influenciadas por las diferencias en el tamaño entre distintas las poblaciones y no con la forma de estas. Esta disparidad encontrada se podría explicar por diferencias en la tasa de crecimiento de las poblaciones. Datos acerca de la tasa de crecimiento, indican que de las tres poblaciones estudiadas Colpa presentó una menor tasa de crecimiento hasta la semana 12, mientras que no existieron diferencias significativas entre la tasa de crecimiento de Caquena y Parinacota. Si bien estos resultados preliminares no logran explicar las diferencias de Parinacota con las otras dos poblaciones estudiadas, una explicación para esta observación podría relacionarse con que se han descrito en caracoles dulceacuícolas dos fases de crecimiento, el primero desde el momento de la eclosión hasta la madurez sexual donde los caracoles aumentarían rápidamente de tamaño, luego de la madurez sexual tendrían un crecimiento más lento o nulo. De acuerdo a lo anterior, es posible que los caracoles provenientes de Parinacota retarden su madurez sexual respecto a Caquena y Colpa y esto le permita alcanzar tamaños mayores posterior a la decima segunda semana de vida.

Los análisis realizados en esta Memoria de Título, permiten sugerir que los caracoles pertenecientes a la localidad de Parinacota podrían ser una especie distinta a aquellos provenientes de Colpa y Caquena. Mientras que los caracoles de Colpa y Caquena

pertenecerían a la misma especie. Se requiere hacer un análisis más profundo en caracteres menos variables de la morfología de los caracoles, como la rádula y órganos sexuales, para ratificar si *Parinacota* correspondería a una especie diferente a *Colpa* y *Caquena*

Si bien, los resultados entregados por los análisis multivariados dan cuenta de diferencias genéticas asociadas al tamaño de los caracoles, cuando analizamos las variables independientemente encontramos que la morfología de la apertura de la concha presentó una clara convergencia hacia una forma específica (acortamiento de la longitud y aumento del ancho del peristoma). Esto se cumplió en las tres poblaciones al ser cultivados en condiciones de “jardín común”. Este resultado permite inferir que la morfología del peristoma sería un carácter plástico en su respuesta a distintas variables ambientales, de esta forma debido a que en este trabajo las tres poblaciones estuvieron creciendo bajo las mismas condiciones ambientales (jardín común) se obtuvo una clara convergencia de los rasgos del peristoma.

Se ha establecido en gastrópodos una relación entre la forma de la apertura de la concha y la forma del pie de los caracoles. Los caracoles marinos con aperturas de forma redondeada (proporción largo/ancho de la apertura entre 1,1 y 1,8) tendrían pies de forma redondeada, esta forma sería una adaptación a la vida en ambientes rocosos pues les permitiría una buena adhesión a las rocas, estos caracoles dependen de la sujeción como mecanismo de defensa contra depredadores, para evitar que las olas los arrastren y como mecanismo contra la desecación. Por otro lado los caracoles cuya apertura y pie es alargado en general habitan sustratos suaves, y aunque pueden vivir en zonas rocosas su agarre a las rocas es poco efectivo. Una forma alargada de la apertura sería especialmente beneficiosa para los caracoles con una branquia, pues la corriente inhalante se posiciona anteriormente y es posible para el caracol sensor el agua en la parte frontal, cuya detección es direccional y más eficiente. En caracoles pulmonados acuáticos, como *Biomphalaria*, también se ha establecido una relación entre la forma de la apertura y la forma del pie pero la regla de la elongación no se cumple, pues al ser pulmonados, no poseen corrientes de agua inhalantes y exhalantes (McNaire *et al*, 1981).

La disminución en la longitud del peristoma y el consecuente cambio en la forma de la apertura encontrada en los caracoles cultivados en condiciones de jardín común comparado con los recolectados de terreno, podría atribuirse a las diferencias de sustrato entre estos dos ambientes. Los caracoles *Biomphalaria* habitan ambientes acuáticos de tipo lénticos o lóticos de corriente débil, con suelos suaves (de tipo lodoso) y en general se les puede encontrar adheridos a plantas acuáticas que les sirven de alimento. Para el cultivo de los caracoles en condiciones de laboratorio se utilizaron recipientes plásticos, bastante rígidos y porosos; las características de este nuevo “sustrato” actuarían como un factor “gatillante” para la expresión del fenotipo “menor longitud de la apertura” asociado una mejor capacidad de sujeción de los caracoles que habitan ambientes rocosos.

CONCLUSIONES

Se encontró variación morfológica de la concha de los adultos en función a la pertenencia geográfica. Las diferencias se explicarían principalmente por diferencias de tamaño. Los caracoles de Parinacota (cuenca del Río Lauca) presentaron un mayor tamaño tanto en terreno como al ser cultivados en laboratorio. Los caracoles de Caquena y Colpa (cuenca del Río Caquena), no divergieron en tamaño. Nuestros resultados sugieren que el tamaño de la concha en los caracoles estudiados sería un rasgo fijado genéticamente.

La apertura de la concha (longitud del peristoma y ancho del peristoma) convergió hacia una forma más redondeada en los caracoles cultivados en laboratorio con respecto a los recolectados en terreno. Esta convergencia sería producto de la expresión de plasticidad fenotípica. Se sugiere que las diferencias en el sustrato en que se desarrollaran los caracoles en el jardín común, con respecto a su ambiente natural; además de la homogeneidad del jardín común, resultarían en la expresión diferencial del fenotipo para estos rasgos. Esta “nueva forma” sería beneficiosa para la sujeción de los individuos lo que generalmente se asociado a gastropodos que habitan ambientes rocosos.

BIBLIOGRAFÍA

- Aceituno.** 1993. Aspectos generales del clima en el Altiplano sudamericano. Actas del II Simposio Internacional de Estudios Altiplánicos. Arica – Chile, 19-21 Octubre 1993. Vicerrectoría Académica y Estudiantil, U. de Chile. 63-69.
- Barbosa, F. S., Barbosa, C. S.** 1994. The Bioecology of Snail Vectors for Schistosomiasis in Brazil. *Cad. Saúde Públ.*, Rio de Janeiro, 10(2): 200-2009.
- Borda, C. E., Rea, M. J. F.** 1997. Susceptibilidad de *Biomphalaria tenagophila* de las cuencas de los ríos Paraná y Uruguay a *Schistosoma mansoni*. *Rev Panam Salud Pública/Pan Am J Public Health* 1(3): 167-173.
- Burton, R.S.** 1983. Protein Polymorphisms and genetic differentiation of marine invertebrate populations. *Marine Biology Letters* 4: 193-206.
- Corrêa, L. R., Paraense, W. L.** 1971. Susceptibility of *Biomphalaria amazonica* to infection with two strains of *Schistosoma mansoni*. *Rev Inst Med Trop S Paulo* 13: 387-390.
- Caldeira, R. L., Vidigal, T., Paulinelli, S. T., Simpson, A. J. G., Carvalho, O.** 1998. Molecular Identification of Similar Species of the Genus *Biomphalaria* (Mollusca: Planorbidae) Determined by a Polymerase Chain Reaction-Restriction Fragment Length Polymorphism. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*, Vol 93, Supple. 1: 219-225.
- Campbell, G., Jones, C. S., Lockyer, A. E., Hughes, S., Brown, D. L., Noble, R., Rollinson, D.** 2000. Molecular evidence supports an African affinity of the Neotropical freshwater gastropod, *Biomphalaria glabrata*, Say 1818, an intermediate host for *Schistosoma mansoni*. *Proc. R. Soc. Lond. Ser. B Biol.* 267: 2351–2358.

- Chong, G. D.** 1988. The cenozoic saline deposits of the Chilean Andes between 18°00' and 27°00' south latitude. En Bahlburg, H., Ch. Breitkreuz & P. Geise (Eds). The Southern Andes. Lecture Notes in Earth Sciences 17: 137-151.
- Combes, C.** 1990. Where do human schistosomes come from? An evolutionary approach. Trends Ecol. Evol. 5: 334-337.
- Conover, D. O., Schultz, E. T.** 1995. Phenotypic similarity and the evolutionary significance of countergradient variation. Trends Ecol. Evol. 10: 248-252.
- Davis, G. M.** 1980. Snail hosts of Asian *Schistosoma* infecting man: evolution and coevolution. Malacol. Rev. (Suppl. 2): 195–238.
- Davis, G. M.** 1992. Evolution of prosobranch snails transmitting Asian *Schistosoma*; coevolution with *Schistosoma*: a review Prog. Clin. Parasitol. 3: 145-204.
- Desprès, L., Imbert-Establet, Monnerot, M.** 1993. Molecular characterisation of mitochondrial DNA provides evidence for the recent introduction of *Schistosoma mansoni* into America. Mol. Biochem. Parasitol. 60: 221-230.
- DeJong, R.J., Morgan, J.A.T., Paraense, L., Pointier, J.-P., Amarista, M., Ayeh-Kumi, P.F.K., Babiker, A., Barbosa, C.S., Br_ emond, P., Canese, A.P., de Souza, C.P., Dominguez, C., File, S., Gutierrez, A., Incani, R.N., Kawano, T., Kazibwe, F., Kpikpi, J., Lwambo, N.J.S., Mimpfoundi, R., Njiokou, F., Poda, J.N., Sene, M., Vel_ asquez, L.E., Yong, M., Adema, C.M., Hofkin, B.V., Mkoji, G.M., Loker, E.S.,** 2001. Evolutionary relationships and biogeography of *Biomphalaria* (Gastropoda: Planorbidae) with implications regarding its role as host of the human bloodfluke *Schistosoma mansoni*. Mol. Biol. Evol. 18: 2225–2239.

Dorador, C.R., Pardo, R., Vila, I. 2003. Variaciones temporales de parámetros físicos, químicos y biológicos de un lago de altura: el caso del lago Chungará, Rev. Chil. Hist. Nat. 76 (2003): 15–22.

Conover, D. O., Schultz, E. T. 1995. Phenotypic similarity and the evolutionary significance of countergradient variation. Trends Ecol. Evol. 10: 248-252.

Falconer, D.S., Mackay, T.M.C. 1996. Introduction to quantitative genetics. 3rd Ed. Longman Sci. And Tech., Harlow, U.K.

Files, V. S. 1951 A study of the vector-parasite relationships in *Schistosoma mansoni*. Parasitology 41: 264-269.

Fletcher, M., LoVerde, P. T., Woodruff, D. S. 1981. Genetic variation in *Schistosoma mansoni*: enzyme polymorphisms in populations from Africa, southwest Asia, South America and the West Indies. Am. J. Trop. Med. Hyg. 30: 406-421.

Gould, S. J. 1966. Allometry in Pleistocene land snail from Bermuda: the influence of size upon shape. J. Paleontol. 40: 1131-1141.

Hedgecock, D. 1986. Is gene flow from pelagic larval dispersal important in the adaptation and evolution of marine invertebrates? Bulletin of Marine Science 39: 550-564.

Hurlbert, S. H., Chang C. C. Y. 1984. Ancient ice islands in salt lakes of the Central Andes. Science 223: 299-302.

Johnson, D. 2000. Métodos multivariados aplicados al análisis de datos. Ed: Soluciones empresariales: 93-145.

Keller B., Soto D. 1998. Hydrogeologic influences on the preservation of *Orestias ascotanensis* (Teleostei: Cyprinodontidae), in Salar de Ascotán, northern Chile, *Rev. Chil. Hist. Nat.* **71**: 147–156.

Kemp, P., Bertness, M. D., 1983. Snail shape and growth rates: Evidence for plastic shell allometry in *Littorina littorea*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, Vol. 81: 811-813.

Klohn, W. 1972. Hidrografía de las zonas desérticas de Chile. Ed. por Jean Burz. Programa de las Naciones Unidas para el Desarrollo, Chile.

Linhart, Y. B., Grant, M. C. 1996. Evolutionary significance of local genetic differentiation in plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **27**: 237-277.

McNair, C. G., Kier, W. M., LaCroix, P. D., Linsley, R. M. 1981. The Functional significance of aperture form in gastropods. *Lethaia* **14**: 63-70.

Miaud, C., Merilä, J. 2001. Local adaptation or environmental induction? Causes of population differentiation in Alpine amphibians. *Biota* **2** (1): 31-50.

Monti, S., Henriques H. 1972. Interpretación hidrogeológica de la génesis de salares y lagunas del Altiplano chileno. *Actas II Congreso Geol. Chile.* **3**: 69-81.

Mühlhauser, H., Hrepic, N., Mladinic, P., Montecino, V., Cabrera, S. 1995. Water quality and limnological features of a high altitude Andean lake, Chungará, in northern Chile. *Revista Chilena de Historia Natural* **68**: 341-349.

Northcote, G. G. 2000. Ecological interactions among an Orestiid (Pisces: Cyprinodontidae) species flock in the littoral zone of Lake Titicaca. 399–420. *Advances in Ecological Research: Ancient Lakes Biodiversity, Ecology and Evolution In: A. Rossiter, A. and H. Kawanabe, editors. eds. Academic Press. New York.*

Paraense, W. L., Corrêa, L. R. 1985. Further experiments on susceptibility of *Biomphalaria amazonica* to *Schistosoma mansoni*. *Mem. Inst. Oswaldo Cruz*, 80: 259-262.

Pilsbry, H. A. 1911. Non-marine mollusca of Patagonia. Report of the Princeton University Expedition to Patagonia: 1896–1899.

Placzek, C., Quade, J., Patchett, P. J. 2006. Geochronology and stratigraphy of late Pleistocene lake cycles on the southern Bolivian Altiplano: implications for causes of tropical climate change. *Geol. Soc. Am. Bull.* 118: 515–532.

Quesada, V. M., Vergara, J.C. 2010. Estadística básica con aplicaciones MS Excel [en línea]. <http://www.eumed.net/libros/2007a/239/5d.htm> [consulta: 14 Abril 2010].

Risarcher, F., Alonso, H., Salazar, C. 2003. The origin of brines and salts in salars: a hydrogeochemical review, *Earth-Sci. Rev.* 63: 249–293.

Sáez, A., Valero-Garcés, B. L., Moreno, A., Bao, R., Pueyo, J. J., González-Sampériz, P., Giralt, S., Taberner, C., Herrera, C., Gibert, O. 2007. Lacustrine Sedimentation in active volcanic settings: the Late Quaternary depositional evolution of Lake Chungará (northern Chile). *Sedimentology* (2007) 54: 1191-1222.

Snyder, S. D., Loker, E. S., Johnston, D., Rollinson, D. 2001. The Schistosomatidae: advances in phylogenetics and genomics. D. T. J. Littlewood and R. A. Bray, eds. *Interrelationships of Platyhelminthes*. Taylor and Francis, London. 194–200.

Trussell, G.C. 1996. Phenotypic plasticity in an intertidal snail: The role of a common crab predator. *Evolution* 50: 448-454.

Trussell, G., Smith L.D., 1999. Induced defenses in response to an invading crab predator: An explanation of historical and geographic phenotypic change. PNAS, Vol. 97 (5): 2123-2127.

Trussell, G. 2000. Phenotypic clines, plasticity, and morphological trade-offs in an intertidal snail. Evolution 54 (1): 151-166.

Valdovinos, C. 2006. Estado de conocimiento de los gastrópodos dulceacuícolas de Chile. Gayana 70 (1): 88-95.

Woodruff, D. S., Mulvey, M. 1997. Neotropical schistosomiasis: African affinities of the host snail *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Planorbidae). Biol. J. Linn. Soc. 60: 505–516.

WHO (World Health Organization). 1957. Study Group on the Ecology of Intermediate Snail Hosts of Bilharziasis. Geneva: WHO. (Technical Report Series, 120).

World Health Organization Expert Committee. 2002. Prevention and control of Schistosomiasis and soil-transmitted helminthiasis. WHO technical report series 912. Geneva, Switzerland.

World Health Organization. 2010. WHO Fact Sheet: Schistosomiasis. [en línea] http://www.who.int/wormcontrol/documents/fact_sheets/schistosomiasis/en/ [consulta: 22 Enero 2010].

Wulschleger, E.; Jokela, J. 2000. Morphological plasticity and divergence in life-history traits between two closely related freshwater snails, *Lymnaea ovata* and *Lymnaea peregra*. J. Moll. Stud., 68: 1-5.

APÉNDICE

Apéndice I. Valor de correlación de las variables y su componente respectivo, para cada uno de las componentes principales (CP) incluyendo todos los individuos (generación G₀ y F₁).

Variable	Componetes Principales (CP)										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
Longitud de la concha	-0,994	0,062	0,024	-0,038	0,012	-0,018	-0,026	-0,018	0,014	0,045	0,056
Ancho de la concha	-0,991	0,071	0,032	-0,057	0,006	0,007	-0,005	-0,053	0,017	0,063	-0,042
Longitud umbo-extremo anterior	-0,978	0,073	0,029	-0,020	0,005	-0,135	-0,115	0,072	-0,012	-0,016	-0,011
Longitud del peristoma	-0,968	0,063	0,059	0,183	-0,123	0,047	-0,055	-0,044	0,000	-0,010	0,000
Ancho del peristoma	-0,966	-0,089	-0,031	0,139	0,194	0,020	0,001	0,008	0,004	0,001	-0,003
Longitud Ventral de la concha	-0,983	0,069	0,049	-0,096	0,043	-0,001	0,008	-0,097	0,036	-0,061	0,001
Longitud del callo peristomal	-0,849	-0,524	0,049	-0,033	-0,046	-0,012	0,008	0,003	0,002	0,000	0,000
Ancho ventral de la concha	-0,958	-0,015	-0,279	-0,011	-0,049	-0,015	0,002	-0,024	-0,007	-0,004	0,000
Longitud anterior de la última vuelta	-0,974	0,099	0,040	0,049	-0,037	-0,087	0,167	0,034	0,003	-0,002	0,000
Longitud posterior de la última vuelta	-0,981	0,062	-0,007	-0,052	-0,023	0,121	0,000	0,112	0,055	-0,010	-0,002
Longitud umbo-extremo posterior	-0,987	0,056	0,035	-0,062	0,013	0,071	0,016	0,009	-0,112	-0,007	0,001