






Mortalidad y comportamiento de búsqueda de pareja en *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda: Ampullariidae)

Mortality and Mate-Searching Behavior in *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda: Ampullariidae)

Milagros I. Osinaga¹ ; Nicolás E. Tamburi^{2,3*} ; Pablo R. Martín^{3,4} 

¹ Instituto Argentino de Oceanografía (IADO, CONICET-UNS). Florida 8000, (8000) Bahía Blanca, Argentina.

² Departamento de Matemática, Universidad Nacional del Sur. Av. Alem 1253, (8000) Bahía Blanca, Argentina.

³ GECEMAC (Grupo de Ecología, Comportamiento y Evolución de Moluscos de Aguas Continentales), INBIOSUR (UNS-CONICET). San Juan 671, (8000) Bahía Blanca, Argentina.

⁴ Laboratorio de Ecología, Departamento de Biología, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional del Sur. San Juan 670, (8000) Bahía Blanca, Argentina.

* <ntamburi@uns.edu.ar>

RESUMEN

Pomacea canaliculata es un caracol dulceacuícola de origen sudamericano conocido como plaga de cultivos acuáticos y generador de cambios ecosistémicos en humedales naturales. Esto lo ha convertido en una especie modelo para estudios ecológicos. Sin embargo, aspectos fundamentales de su biología, como los factores que afectan su supervivencia permanecen poco explorados. Estudios recientes sugieren que los machos podrían mantener niveles altos de actividad para buscar pareja aun en condiciones de ayuno, poniendo en juego su supervivencia. Los objetivos del presente trabajo fueron analizar la supervivencia de *P. canaliculata* ante la presencia de un congénere del mismo o de distinto sexo, y buscar cambios en los patrones de actividad relacionados a la búsqueda de pareja que pudiesen mermar su supervivencia. Se registró una menor supervivencia en los machos, sin poder demostrar que ésta sea afectada por el sexo del congénere con quien compartían acuario. No se observaron cambios de actividad, medidos como la velocidad media, velocidad máxima o superficie explorada, en función del sexo de la pareja asignada al caracol experimental. La

► Ref. bibliográfica: Osinaga, M. I.; Tamburi, N. E.; Martín, P. R. 2023. "Mortalidad y comportamiento de búsqueda de pareja en *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda: Ampullariidae)". *Acta zoológica lilloana* 67 (1): 143-157. doi: <https://doi.org/10.30550/j.azl/2023.67.1/2023-04-12>

► Recibido: 2 de enero 2023 – Aceptado: 12 de abril 2023.



► URL de la revista: <http://actazoolologica.lillo.org.ar>

► Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución – No Comercial – Sin Obra Derivada 4.0 Internacional.

menor supervivencia en machos no se relaciona con mayores niveles de actividad y probablemente obedezca a diferencias fisiológicas entre sexos. La ausencia de diferencias de comportamiento en relación al sexo de la pareja parece explicarse por un inesperado estado de reposo post-reproductivo. Este estudio puede considerarse como una descripción de los niveles de actividad normales y estudios de una escala temporal más amplia podrían requerirse para detectar si el comportamiento sexual puede alterar la supervivencia de esta especie.

Palabras clave — Gastropoda, supervivencia, ayuno, caracol manzana.

ABSTRACT

Pomacea canaliculata is a South American freshwater snail which is well known as a pest of aquatic crops and a driver of ecosystem changes in natural wetlands. This has made it a model for ecological studies. However, fundamental aspects of their biology, such as the factors that affect their survival, remain little explored. Recent studies suggest that males may maintain high levels of mate-searching activity even under fasting conditions, jeopardizing their survival. The aims of this study were to analyse the survival of *P. canaliculata* snails in presence of a congener of the same or different sex and to look for changes in the activity patterns related to the search for a mate that could reduce its survival. A lower survival was recorded in males, without being able to demonstrate that this is affected by the sex of the congener with whom they shared an aquarium. No differences in activity (mean speed, maximum speed or explored surface) were observed depending on the sex of the pair assigned to the experimental snail. The lower survival of males is not related to higher levels of activity and is probably due to physiological differences between the sexes. The absence of behavioural differences in relation to the sex of the couple seems to be explained by an unexpected state of post-reproductive arrest. This study can be considered as a description of normal activity levels and studies of a broader time scale may be necessary to detect whether sexual behaviour can alter their survival.

Keywords — Gastropoda, survival, fasting, apple snail.

INTRODUCCIÓN

Pomacea canaliculata (Lamarck, 1822) es un gasterópodo dulceacuícola dioico nativo de Sudamérica y considerado como una de las cien peores especies invasoras a escala global (Lowe, Browne, Boudjelas, De Poorter, 2000). Ha sido introducido en Norte América, Hawái y Asia para consumo humano y como animal de acuario (Cowie, Hayes, Thiengo, 2006; Rawlings, Hayes, Cowie, Collins, 2007; Hayes, Joshi, Thiengo, Cowie, 2008), donde se ha establecido como una plaga de cultivos acuáticos (Joshi y Sebastian, 2006) y promotor de cambios ecosistémicos en humedales naturales (Carlsson, Brönmark, Hansson, 2004; Cowie *et al.*, 2006; Rawlings *et al.*, 2007; Martín, Burela, Seuffert, Tamburi, Saveanu, 2019). Ha sido identificado en China

continental como vector del nematode parásito *Angiostrongylus cantonensis* (Chen, 1935), causante de una forma emergente de meningoencefalitis eosinofílica (Lv *et al.*, 2009), aumentando el interés sanitario en la especie.

El conocimiento de las características anatómicas y del ciclo vital de una especie ayudan a comprender su éxito como especie invasora. En el caso de *P. canaliculata*, la capacidad de las hembras de almacenar esperma viable (Burela y Martín, 2011), la elevada cantidad de descendientes por hembra, las altas tasas de crecimiento (Tamburi y Martín, 2009a, b) y los hábitos alimenticios polífagos (Saveanu y Martín, 2020) parecen ser los factores más notables que le permiten prosperar en un amplio rango de condiciones ambientales. Además, posee un sistema respiratorio dual (bránquia-pulmón) que le permite habitar ambientes con poco oxígeno (Seuffert y Martín, 2010) y sobrevivir fuera del agua. La supervivencia de *P. canaliculata* a la desecación puede alcanzar los 13 meses (Fan, Wu, Yen, Huang, 2000; Yusa, Wada, Takahashi, 2006) y hasta 29 meses si se encuentra en lodo húmedo. Si se encuentra en el medio acuático sin alimento estos valores parecen ser menores, pero con supervivencias que aun así superan los 200 días (Tamburi y Martín, 2016).

Varias características del ciclo vital como la talla y la edad a la madurez han mostrado diferencias intersexuales (Estoy, Yusa, Wada, Sakurai, Tsuchida, 2002; Tamburi y Martín 2009a). Aun así, no se han observado diferencias intersexuales en la supervivencia de animales criados en condiciones de laboratorio (Martín y Estebenet, 2002) ni en animales expuestos a desecación (Yusa *et al.*, 2006). Tamburi y Martín (2016) han reportado una menor supervivencia de los machos respecto de las hembras en condiciones de ayuno, con la peculiaridad de que esta diferencia se manifestó solo cuando los caracoles se encontraban en un acuario con un caracol del otro sexo y no cuando estaban solos. Sin embargo, se desconoce si este efecto puede ser atribuido a la mera presencia de otro individuo en el acuario o al hecho de que fuera una potencial pareja sexual.

En *Pomacea paludosa* (Say, 1829) los machos recorren mayores distancias que las hembras, alcanzándose las máximas diferencias durante el pico primaveral de actividad reproductiva (Valentine-Darby, Darby, Percival, 2011). En el caso de *P. canaliculata*, se observó que el macho toma el rol activo en el cortejo y la cópula (Burela y Martín, 2009). Esto conduce a la hipótesis de que podría existir diferencias intersexuales en el comportamiento de búsqueda de pareja en *P. canaliculata*, que en los machos insuma un mayor consumo energético, disminuyendo su supervivencia.

La quimiorrecepción es el principal mecanismo por el cual muchas especies de caracoles dirigen sus movimientos en el medio acuático (Kirsch, 2022). En términos de comportamiento reproductivo, los machos son atraídos por una o más feromonas sexuales provenientes de caracoles hembras que difunden a través del agua. Este último comportamiento ocurre en los machos aun en presencia de predadores (Takeichi, Hirai, Yusa, 2007), permitiendo predecir una disminución en las chances de sobrevivir de este sexo. Esto sugiere un *trade-off* entre la evitación de la depredación y la reproducción para maximizar su éxito reproductivo (Xu *et al.*, 2014). En otras especies de caracoles se ha observado que los desplazamientos varían en función del sexo y los cambios en su estado reproductivo (Pardo y Johnson, 2004; Valentine-Darby *et al.*, 2011), siendo los machos quienes invierten más energía en

desplazarse para aumentar las chances de encontrar pareja (Ribi y Arter, 1986). En particular, las cópulas de *P. canaliculata* incluyen comportamientos sexuales complejos como las ofrendas nupciales (Burela y Martín, 2007) y pueden durar hasta 20 horas.

El objetivo de este estudio fue analizar el comportamiento de búsqueda de pareja en machos y hembras de *P. canaliculata* e investigar un posible *trade-off* entre el comportamiento pre-reproductivo y la supervivencia en condiciones de ayuno.

MATERIALES Y MÉTODOS

Origen de los caracoles y condiciones generales de mantenimiento.— Los caracoles utilizados en este estudio se obtuvieron de un canal artificial que conecta el arroyo Venado y el arroyo Pigüé (37°11'26" S, 62°40'25" O) pertenecientes a la cuenca de las Lagunas Encadenadas del Oeste en la provincia de Buenos Aires, Argentina. Durante abril de 2015 se colectaron 108 ejemplares de *P. canaliculata* que fueron separados por sexo y colocados en acuarios colectivos de 20 litros para ser utilizados en los experimentos. Se los mantuvo con agua de red suplementada con CaCO₃, en condiciones de temperatura controladas (25°C ± 1°C), bajo fotoperiodo natural y alimentados con lechuga *ad-libitum*. Se registró el largo total (LT) con calibre (0,05 mm), y el peso con balanza analítica digital (0,1 mg). Se identificaron 48 machos y 60 hembras con un largo total de 42,28 ± 4,89 mm y de 40 ± 5,53 mm respectivamente (media ± desvío estándar).

Diseño experimental

Se diseñaron dos experimentos de laboratorio; en el primero se evaluó si la supervivencia bajo condiciones de ayuno se ve afectada por el sexo del congénere presente en el acuario tal como fue sugerido previamente por Tamburi y Martín (2016). En el segundo experimento se estudió si el comportamiento y los niveles de actividad de los caracoles varían en función del sexo del congénere presente.

Supervivencia al ayuno.— Se estudió el tiempo de supervivencia en condiciones de ayuno absoluto de ejemplares de *P. canaliculata* que compartieron acuario con un ejemplar de su mismo sexo o del contrario, a fin de establecer y cuantificar las diferencias de supervivencia entre sexos bajo este escenario.

Para ello se diseñaron tres tratamientos con diez réplicas en cada uno, que constaron de acuarios de tres litros conteniendo dos hembras (♀♀), dos machos (♂♂), o un macho y una hembra (♂♀). Éstos se mantuvieron a una temperatura de 25°C ± 1°C bajo fotoperiodo natural. El agua fue renovada semanalmente y suplementada con CaCO₃ a saturación. El experimento se inició con 60 ejemplares y tuvo una duración de seis meses. Se registró semanalmente el tiempo de supervivencia y la actividad, examinando si los ejemplares se encontraban retraídos en su conchilla o activos, ya sea flotando, reptando o pegados en el acuario. Se estudió la actividad en la semana 9 (AS9) de ayuno, momento en el cual se encontraban con vida un 65 % de los caracoles.

Actividad y comportamiento.— Se realizó un experimento para determinar si existen diferencias de comportamiento y en los niveles de actividad entre caracoles de *P. canaliculata* aislados y caracoles que compartían el acuario con una pareja del mismo o de distinto sexo. Se estudiaron cinco tratamientos en un arreglo como el que se muestra en la Figura 1, y se aleatorizó la posición de los tratamientos en las distintas experiencias. Se utilizaron recipientes plásticos de 29 cm de ancho con un reborde externo de láminas de PVC transparente de diez centímetros para evitar la huida de los caracoles. Se utilizó una plancha de poliestireno expandido como aislante térmico y de las vibraciones provenientes del suelo, se cubrieron las ventanas y se utilizó una lámpara bajo consumo (15 W) con el fin de homogeneizar la luz y evitar respuestas fototrópicas.

Se seleccionaron los ejemplares al azar y sin reposición de los acuarios colectivos en los que se los mantenía. Para reducir la influencia de la búsqueda de alimento durante el experimento los caracoles se aislaron 24 horas previas en acuarios de tres litros en condiciones controladas de temperatura ($25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$), bajo fotoperiodo natural y con lechuga *ad-libitum*. Se colocó agua aclimatada ($25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$) en los recipientes plásticos hasta una altura de cinco centímetros. Cada ensayo tuvo una duración de tres horas y media, previa aclimatación de 30 minutos a una hora en los acuarios experimentales. Se registró fotográficamente el experimento con una cámara digital automatizada (Canon Powershot A630 con *firmware* CHDK) cada 15 segundos. Los ejemplares recolectados en abril fueron mantenidos con alimento *ad-libitum* y temperatura de 25°C hasta su utilización para los ensayos de comportamiento. Se

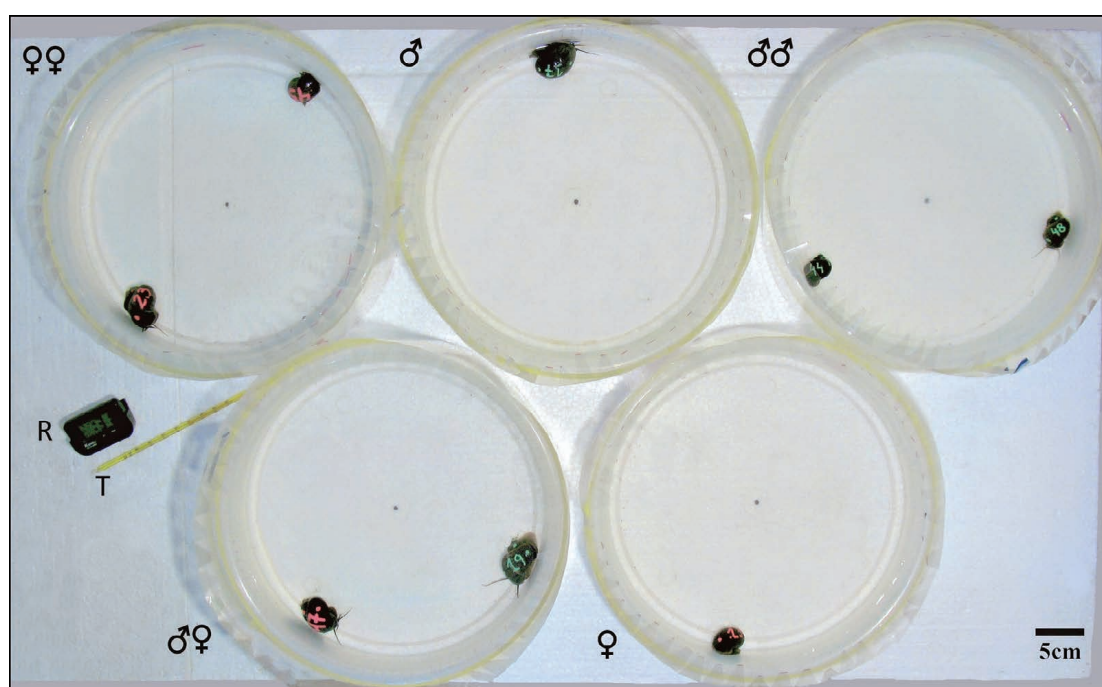


Figura 1. Arreglo de acuarios utilizado para evaluar la actividad y el comportamiento de los caracoles en función de la presencia de un congénere del mismo o de distinto sexo. R: reloj; T: termómetro.

Figure 1. Arrangement of aquaria used to assess the activity and behaviour of snails in the presence of a congener of the same or different sex. R: clock; T: thermometer.

realizaron diez réplicas completas entre las 15:30 y 19:30 hs, en los meses de mayo y junio utilizando un total de 80 ejemplares.

Análisis de datos.— El tiempo de supervivencia al ayuno se analizó utilizando el método de Kaplan-Meier (Kaplan y Meier, 1958). Al observar una tasa de mortalidad relativamente constante se aplicó la prueba estadística Log-Rank (Letón y Zuluaga, 2006) para buscar diferencias entre las cuatro categorías que se determinaron por los tres tratamientos (♀♀; ♂♂; ♂♀) (ver Resultados). Para evitar la influencia de datos extremos y debido a la censura de los caracoles que superaron los seis meses de sobrevivencia se utilizó la mediana del tiempo de supervivencia como estimador del parámetro de centralización. En segundo lugar, se realizó un Análisis de Covarianza (ANCOVA) para analizar el tiempo de supervivencia de los distintos tratamientos eliminando el efecto que el estado nutricional de los individuos utilizados pudiera tener. Para esto se definió la variable factor de condición ($FC = \text{Peso}/\text{Largo}^3$), utilizando el peso y largo registrados al comienzo de la experiencia y se analizó solo la información de los caracoles que murieron antes de la finalización del ensayo. Por último, se realizaron tablas de contingencia de la actividad (activo o retraído) de los caracoles según su tratamiento para analizar cambios en la actividad a mediano/largo plazo (AS9) que pudieran influir en la supervivencia de los ejemplares. Se realizó un test exacto de Fisher con simulación de Monte Carlo.

Para analizar la actividad y el comportamiento se construyó una serie de variables relacionadas con la actividad, velocidad y área explorada. Se utilizó el programa Tracker (versión 4.87, 2015) para reducir la información registrada en las fotografías en valores numéricos de posición, dirección y velocidad. Se construyeron con el programa VirtualDub (versión 1.9.10, 2009) videos de alta velocidad de cinco fotografías por segundo para estimar el tiempo de actividad de los caracoles (min). Debido a la gran cantidad de datos por digitalizar se dividió cada ensayo en cuatro cuartos de 200 fotografías cada uno y se decidió estudiar intensivamente solo el tercer cuarto de ensayo por su alta actividad (ver Resultados) y poca proximidad al comienzo del ensayo. Se utilizó el programa Tracker para obtener la velocidad media y máxima (cm/min) de cada caracol que estuvo activo durante ese tiempo.

Se utilizó el programa StarStax© (versión 0.60, 2013) para realizar la superposición de las imágenes capturadas durante cada cuarto y el programa ImageJ© (versión 1.48) para estimar el área explorada promedio por los caracoles en cada tratamiento (Figura 2a). El porcentaje de área explorada (%) se calculó como el área recorrida por el o los caracoles respecto de la superficie total del acuario de plástico. En el caso de los tratamientos conformados por dos individuos del mismo sexo, el área fue dividida por dos para obtener una estimación del área per cápita.

Se realizó, además, un análisis especial en el tratamiento compuesto por un macho y una hembra para poder detectar la superficie explorada por cada individuo por separado. En este caso se simuló el área explorada utilizando las coordenadas de posición arrojadas por el programa Tracker y se realizaron gráficos de dispersión en Excel® (Figura 2b). A partir de estas trayectorias individuales simuladas (TIS) se procedió a estimar y analizar el área explorada por cada caracol de este tratamiento.

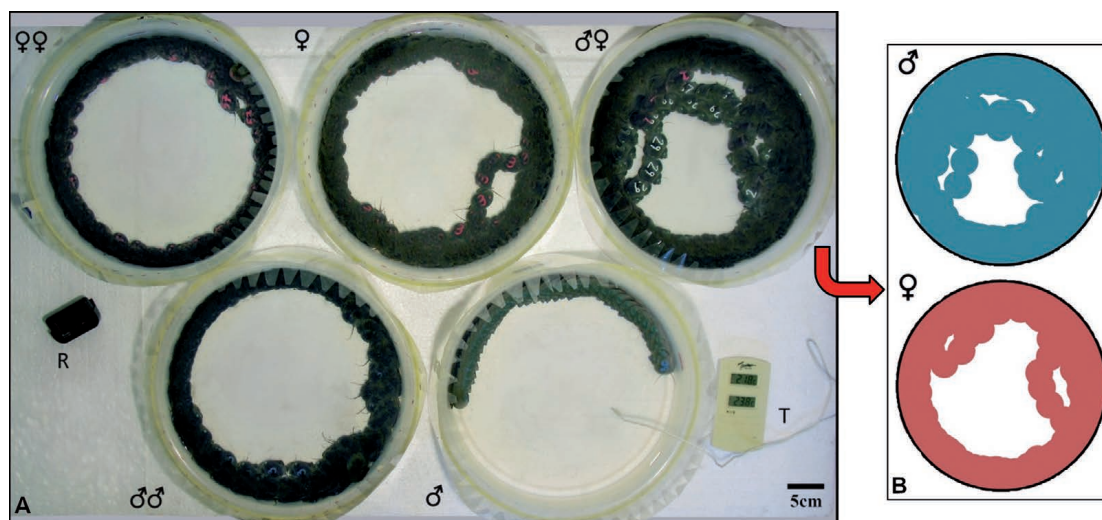


Figura 2. A) Superposición digital de 200 imágenes tomadas durante el tercer cuarto del experimento de actividad y comportamiento utilizada para calcular el porcentaje de área explorada. R: reloj; T: termómetro. B) Simulación realizada para reconstruir el área explorada por el macho y la hembra por separado en el tratamiento (♂♀) que incluía un caracol de cada sexo.

Figure 2. A) Digital overlap of 200 images taken during the third quarter of the experiment of activity and behaviour used to calculate the percentage of explored area. R: clock; T: thermometer. B) Simulation carried out to reconstruct the area explored by the male and the female separately in the treatment (♂♀) that included one snail of each sex.

El análisis de estas variables se realizó utilizando la técnica de ANOVA en los casos donde se cumplieran los supuestos de normalidad y homocedasticidad. En caso de que no se cumpliera con estos supuestos se procedió a realizar la transformación de los datos, o se utilizaron técnicas no paramétricas como Kruskal-Wallis.

El análisis estadístico de todos los datos se realizó utilizando el programa SPSS® 13.0.

RESULTADOS

Supervivencia al ayuno.— En el transcurso del experimento murieron 50 caracoles, quedando diez ejemplares con vida a los seis meses, los cuales se clasificaron en el análisis como datos censurados. Durante las revisiones semanales no se observaron cópulas ni masas de huevos en los acuarios. La supervivencia general de las hembras fue mayor que en los machos (Kaplan-Meier análisis, $p < 0,05$), y si bien los caracoles de tratamientos con parejas del mismo sexo tuvieron mayor supervivencia que los pertenecientes a tratamientos con parejas de distinto sexo, no se observaron diferencias estadísticamente significativas (Figura 3, Tabla 1). La mediana de la supervivencia resultó de 130 días para las hembras en el tratamiento hembra-hembra (♀♀); 95 días para las hembras en el tratamiento hembra con macho (♀♂); 60 días para los machos en el tratamiento macho-macho (♂♂); y 53 días para los machos en el tratamiento macho con hembra (♂♀).

No se observó relación entre el tiempo de supervivencia media y el factor de condición de los caracoles de los distintos tratamientos (ANCOVA; significación de la covariable: $p = 0,824$). Tampoco se encontraron diferencias en la cantidad relativa

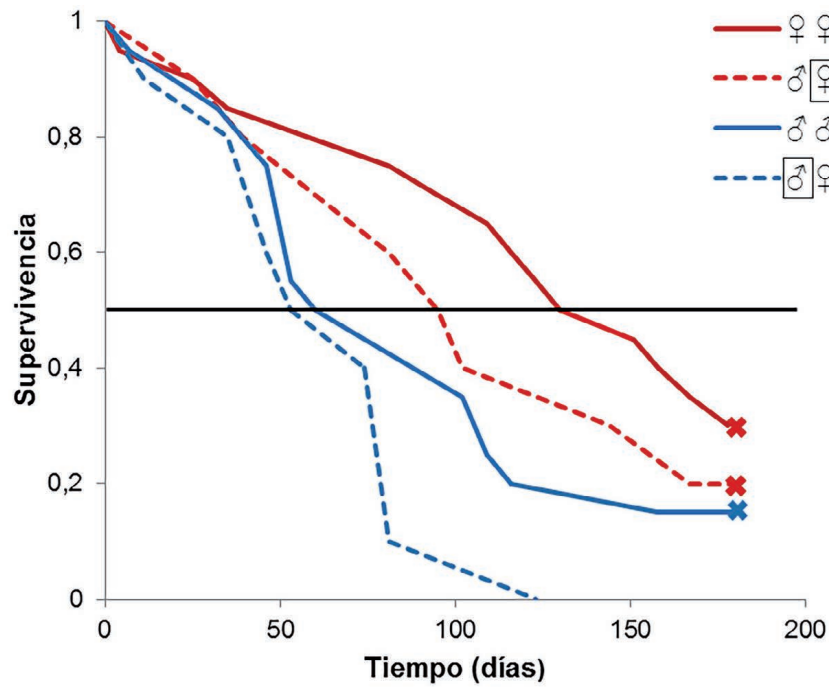


Figura 3. Supervivencia proporcional en función del tiempo (días) y el tratamiento. La intersección con la línea horizontal indica la mediana del tiempo de supervivencia para cada tratamiento. El rectángulo (□) que encierra el sexo indica el individuo considerado en el análisis en los tratamientos con ambos sexos. Las cruces (x) indican las censuras de los tratamientos.

Figure 3. Survivorship as a function of time (days) and treatment. The intersection with the horizontal line indicates the median of the survival time for each treatment. The rectangle (□) that encloses the sex indicates the individual considered in the analysis in the treatments with both sexes. The crosses (x) indicate that the treatments were censored.

Tabla 1. Análisis de Kaplan-Meier para la supervivencia proporcional, aplicando el test de Log-Rank para las diferencias entre tratamientos.

Table 1. Kaplan-Meier analysis for the snail’s survivorship, applying the Log-Rank test for differences between treatments.

| Tratamiento | ♂♂ | | ♀♀ | | ♂♀ | | | |
|-------------|----------------|------|----------------|------|----------------|------|----------------|---|
| | | | | | ♂ | | ♀ | |
| | χ ² | p | χ ² | p | χ ² | p | χ ² | p |
| ♂♂ | | | | | | | | |
| ♀♀ | 5,25 | | | | | | | |
| ♂♀ | ♂ | 2,07 | 0,150 | 12,4 | <0,001 | | | |
| | ♀ | 0,68 | 0,411 | 0,68 | 0,411 | 4,58 | 0,032 | |

de individuos activos o retraídos (AS9) entre los distintos tratamientos (n=39) que pudieran influir en la supervivencia de los ejemplares en la semana 9 (test exacto de Fisher con simulación de Monte Carlo, p=0,334).

Actividad y comportamiento.— El tiempo de actividad en el ensayo completo mostró diferencias en la varianza de los distintos tratamientos (test de Levene; F_{5,74}=3,06; p=0,014), provocadas principalmente por las hembras que se encon-

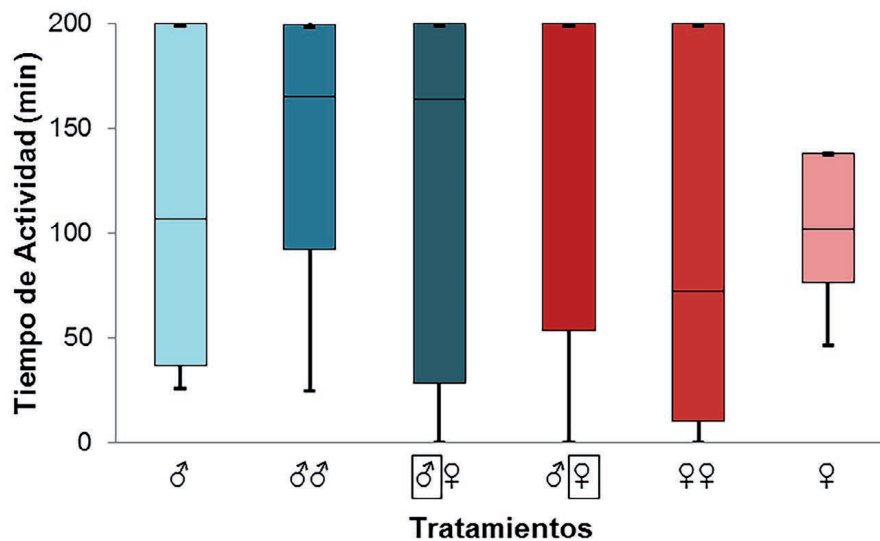


Figura 4. Diagrama de cajas y brazos del tiempo de actividad (min) de los caracoles para el experimento completo de actividad y comportamiento, representados en función del sexo del caracol experimental y de la ausencia o presencia de una pareja y del sexo de la misma.

Figure 4. Box plot of the snail's activity time (min) for all the activity and behaviour experiment, represented according to the sex of the experimental snail, the absence or presence of a partner and its sex.

traban solas (Figura 4). Al no resolverse con las transformaciones logaritmo ni raíz cuadrada ($F_{5,74}=6,24$; $p=0,000$; $F_{5,74}=4,06$; $p=0,003$, respectivamente) se realizó el test no paramétrico de Kruskal-Wallis, que no detectó diferencias significativas ($\chi^2_{gl5}=4,486$; $p=0,482$) en el tiempo de actividad de los distintos tratamientos. No se observó comportamiento copulatorio ni oviposiciones durante los ensayos. Se observaron niveles de actividad de los caracoles similares a lo largo del ensayo. Se observó un 75 %, 70,6 %, 71,4 % y 60,9 % de caracoles activos en cada cuarto a lo largo del ensayo.

Al analizar la velocidad media de los caracoles ($n=56$) no se detectaron diferencias significativas en las varianzas (test de Levene, $F_{5,50}=1,116$; $p=0,364$) entre tratamientos, por consiguiente, se realizó un ANOVA doble. No se detectaron diferencias en el promedio de la velocidad media de desplazamiento de los caracoles de los distintos tratamientos (Tabla 2). El promedio general de velocidad de los caracoles fue de 4,5 cm/min con un error estándar de 0,21 cm/min. La velocidad máxima ($n=56$) también mostró estadísticamente igualdad entre las varianzas (Levene, $F_{5,50}=0,835$; $p=0,531$) y el ANOVA doble no halló diferencias en el promedio de esta variable para los sexos, tratamientos, o su interacción (Tabla 2). El promedio general de velocidad máxima de desplazamiento de los caracoles fue de 9,2 cm/min con un error estándar de 0,35 cm/min.

Al analizar el área recorrida per cápita por los caracoles se observaron diferencias en las varianzas (Test de Levene; $F_{4,45}=9,348$; $p<0,01$) que no pudieron ser corregidas mediante transformaciones. Debido a esto, se aplicó el test no paramétrico de Kruskal-Wallis que no detectó diferencias significativas en el área per cápita explorada por los caracoles ($\chi^2_4=4,43$; $p=0,351$).

Tabla 2. ANOVA doble para la velocidad media y máxima de los caracoles (cm/min) respecto del sexo, el tratamiento (ausencia o presencia de pareja y el sexo de la misma) y su interacción.

Table 2. Two-way ANOVA for the mean and maximum speed of the snails (cm/min) relative to sex, treatment (absence or presence of a partner and their sex) and their interaction.

| | Fuente de variación | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Cuadrado medio | F calculado | p-valor |
|------------------|---------------------|-------------------|--------------------|----------------|-------------|---------|
| Velocidad Media | Sexo | 0,06 | 1 | 0,06 | 0,03 | 0,867 |
| | Tratamiento | 7,23 | 2 | 3,62 | 1,57 | 0,218 |
| | Sexo x Tratamiento | 8,32 | 2 | 4,16 | 1,81 | 0,174 |
| | Error | 114,94 | 50 | 2,30 | | |
| Velocidad Máxima | Sexo | 8,07 | 1 | 8,07 | 1,33 | 0,254 |
| | Tratamiento | 10,53 | 2 | 5,26 | 0,87 | 0,426 |
| | Sexo x Tratamiento | 29,92 | 2 | 14,96 | 2,47 | 0,095 |
| | Error | 303,38 | 50 | 6,07 | | |

Se realizó un análisis especial del área recorrida a través de las trayectorias individuales simuladas en el tratamiento formado por un macho y una hembra ($\sigma\varphi$). En este caso las varianzas no fueron estadísticamente distintas (Test de Levene; $F_{1,18}=0,425$; $p=0,523$) y no se detectaron diferencias en el área explorada por cada sexo cuando estuvieron junto a un individuo del sexo opuesto (test T; $p=0,996$; Figura 5b). Por otro lado, el área explorada (calculada mediante TIS) por los machos y las hembras en el tratamiento conformado por un macho y una hembra ($\sigma\varphi$) mostró valores similares a los observados en los machos (σ) y las hembras (φ) que se encontraban solos (Figura 5a,b) (test T; $p=0,92$, $p=0,46$ para machos y hembras respectivamente). Los valores de área explorada promedio fueron de 20,53 % para las hembras (φ) y de 23,78 % para los machos (σ) que se encontraban solos; en el tratamiento conformado por un macho y por una hembra ($\sigma\varphi$) los valores de área explorada (calculado para cada sexo mediante TIS) fueron de 25,6 % para los machos y de 24,6 % para las hembras.

DISCUSIÓN

Los resultados del experimento de supervivencia al ayuno muestran que la supervivencia en las hembras ($\varphi\varphi$ y $\varphi\sigma$) es mayor que en los machos ($\sigma\sigma$ y $\sigma\varphi$) independientemente del sexo de la pareja con la que comparten acuario. Por lo tanto no se consiguió dar sustento a la hipótesis de Tamburi y Martín (2016) que sostiene que esto tiene relación con el sexo del caracol acompañante como consecuencia de un mayor grado de actividad de los machos en presencia de potenciales parejas. Aun así, debido a que las tendencias de los datos son las predichas por las hipótesis, una mayor cantidad de datos podría cambiar esta conclusión. Vale la pena destacar que todos los machos en compañía de hembras murieron antes de los 125 días, mientras que un 15 % de los machos que convivían con machos vivieron al menos 180 días.

Los valores registrados de supervivencia en condiciones de ayuno absoluto superaron los seis meses, momento en que se dio por finalizado el experimento con

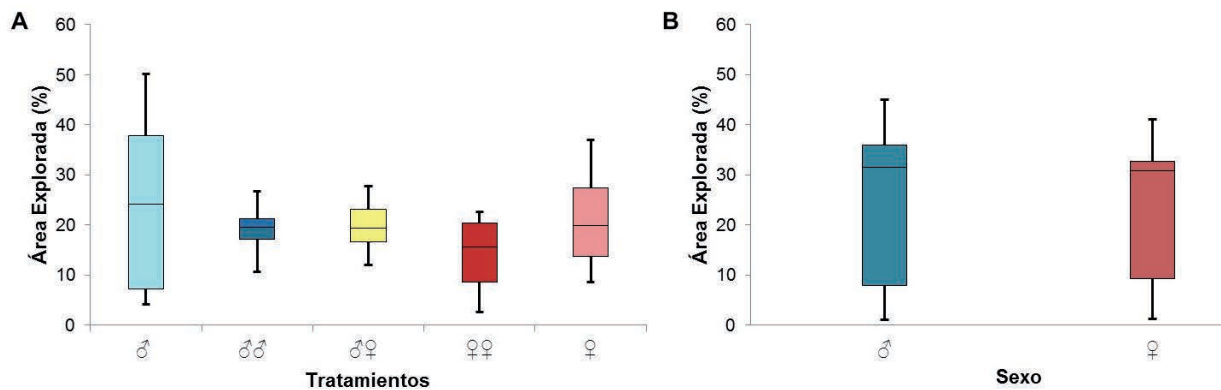


Figura 5. A) Porcentaje de área explorada per cápita (%) del ensayo de actividad y comportamiento para los tratamientos conformados por un macho solo (♂), una hembra sola (♀), dos machos (♂♂), dos hembras (♀♀), o por un macho y una hembra (♂♀). B) Porcentaje de área explorada (%) detallado para el tratamiento conformado por un macho y una hembra (♂♀); en este caso el área explorada fue calculada de forma indirecta a través de trayectorias individuales simuladas (TIS).

Figure 5. A) Per capita explored area (%) of the activity and behaviour experiment for the treatments constituted by only one male (♂), only one female (♀), two males (♂♂), two females (♀♀), or by a male and a female (♂♀). B) Detail of the explored area (%) in the treatment constituted by a male and a female (♂♀); in this case the explored area was calculated indirectly through simulated individual trajectories (TIS).

un 16,7 % de los caracoles aún vivos. Estos resultados son similares a los reportados previamente en el medio acuático por Tamburi y Martín (2016) y probablemente inferiores a los 29 meses reportados para *P. canaliculata* fuera del agua, donde se activan mecanismos específicos de estivación (Yusa *et al.*, 2006). Los valores de supervivencia al ayuno junto a su alta capacidad reproductiva (Estoy *et al.*, 2002; Tamburi y Martín, 2011) probablemente explican gran parte de su éxito para invadir lugares en donde ha sido introducido (Jerde, Bampfylde, Lewis, 2009).

Se ha reportado que fuera del agua existe mayor mortalidad en los individuos pequeños (Yusa *et al.*, 2006), mientras que dentro del agua los machos con un menor factor de condición mueren antes que las hembras (Tamburi y Martín, 2016). En el presente trabajo no se detectó una relación entre el tiempo de supervivencia y el factor de condición, quizás debido a que se trabajó con un rango acotado de tallas adultas. Por otro lado, Tamburi y Martín (2016) también mostraron que existen variaciones inter-poblacionales en el tiempo de supervivencia y en el factor de condición, por lo tanto, la relación podría no evidenciarse en todas las poblaciones.

Se ha reportado en el cenogastrópodo marino *Littorina littorea* (Linnaeus, 1758), que los caracoles que siguen a otros se mueven a mayor velocidad que los caracoles que son seguidos (Erlandsson y Kostylev, 1995). Esto no se ha registrado aquí, obteniéndose una velocidad similar entre los caracoles sometidos a los distintos tratamientos, ya sea estando solos o con un congénere, presentando una velocidad máxima general promedio de 9,2 cm/min. Si bien Seuffert (2005) registró valores un tanto mayores de velocidad máxima promedio (13,5 cm/min), esto probablemente pueda explicarse porque los caracoles, con un ayuno previo de 72 hs, estaban persiguiendo un estímulo alimenticio (Seuffert y Martín, 2010). Seuffert (2005) no encontró diferencias intersexuales en la velocidad de locomoción de machos y hembras

sin interacción con otros ejemplares, de manera similar a lo observado aquí para los caracoles que no compartían acuario con otro ejemplar.

Como se mencionó, no se detectaron diferencias en el área explorada por los caracoles de los distintos tratamientos. En el tratamiento conformado por una hembra y un macho, los machos recorrieron en promedio un 25,6 % del área (calculado mediante TIS) mientras que en las hembras se observó un área promedio recorrida del 24,6 % (Figura 5b). Bajo la hipótesis de independencia de las trayectorias el área total explorada es igual a la suma de las áreas exploradas por cada sexo menos la superposición porcentual de las trayectorias de ambos. El valor calculado de este modo predice un área total recorrida del 43,9 %, bastante cercano al valor promedio del área total observada para este tratamiento (σ^2) que fue del 39,8 % (19,9 % per cápita, Figura 5a). Por lo tanto no se observan aquí tampoco interacciones positivas relacionadas al comportamiento de búsqueda de pareja. Durante el transcurso del presente estudio no se observó actividad reproductiva en los caracoles, ni oviposiciones de los caracoles que estaban siendo criados en laboratorio para llevar a cabo el ensayo de actividad y comportamiento. Una posible explicación a la ausencia de relación entre el sexo y las variables analizadas es que los caracoles ya hubiesen atravesado su periodo reproductivo durante los meses de noviembre a abril (Martín, Estebenet, Cazzaniga, 2001; Burela, Martín, Estebenet, 2004), y su comportamiento reproductivo se encontrase en niveles muy bajos al ser colectados a fines de abril. De hecho, las hembras utilizadas previamente por Tamburi y Martín (2016) depositaron masas de huevos durante 24 días luego de ser colectadas en campo y aisladas de los machos (observación personal), siendo esto usual debido a la alta capacidad de esta especie de reservar esperma viable durante varios meses (Burela y Martín, 2007).

Pomacea canaliculata puede presentar una única estación reproductiva en la vida una vez alcanzada la madurez (semélpara), o más de una estación reproductiva en la vida (iterópara), dependiendo de la temperatura y el régimen hídrico del sitio que habite (Estebenet y Martín, 2002). Si bien los caracoles de campo colectados en estación reproductiva avanzada (febrero/marzo) en la zona del sudoeste bonaerense continúan reproduciéndose en el laboratorio (Tamburi y Martín, 2016), podría suceder que pasado un determinado límite comiencen a prepararse para la disminución de temperaturas (Albrecht, Carreño, Castro-Vázquez, 1999) y alimento y a causa de esto no les sea posible retomar inmediatamente la reproducción. Este tipo de reposo post-reproductivo no ha sido descrito o considerado en *P. canaliculata* que se comporta facultativamente como semélpara o iterópara (Estebenet y Cazzaniga, 1992).

En conclusión, la ausencia de comportamiento reproductivo, una cuestión inesperada en caracoles adultos podría ser en este estudio la causa de la falta de evidencias significativas en varias de las pruebas realizadas. Estudios de comportamiento a una escala temporal mucho mayor a los realizados aquí (4 hs) serán necesarios para terminar de esclarecer si existen diferencias intersexuales en el comportamiento, las cuales afecten la supervivencia en estos caracoles. Por otro lado, la menor supervivencia observada en los machos durante los seis meses de ensayo no parece relacionarse con los valores más altos de desplazamiento observados en los estudios de comportamiento de cuatro horas de duración. Esto podría indicar, independientemente del comportamiento, la preponderancia de otros factores, probablemente genéticos o fisiológicos que actúen determinando la supervivencia al ayuno.

FINANCIAMIENTO

Este trabajo fue financiado por la ANPCyT a través del PICT-2012-1956 “Estudio integral de una especie clave en humedales naturales de Argentina: ecología, impactos ecosistémicos y biología reproductiva del caracol dulceacuícola *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda)” y por la UNS a través de los PGI (24/B232) “Biología y ecología de caracoles dulceacuícolas en Argentina: nativos y exóticos, vulnerables e invasores” y PGI (24/ZL20) “Frecuencia cardíaca de *Pomacea canaliculata* y morfología de *Neohelice granulata* como indicadores de contaminación en el Sudoeste Bonaerense”.

PARTICIPACIÓN

Cada autor contribuyó significativamente al contenido intelectual del trabajo. MIO: conceptualización, desarrollo de experimentos y toma de datos, análisis estadístico, interpretación, redacción y edición. NET, PRM: conceptualización, análisis estadístico, interpretación, redacción y edición.

CONFLICTOS DE INTERÉS

No existen conflictos de interés entre autores o con terceros.

LITERATURA CITADA

- Albrecht, E., Carreño, N.B., Castro-Vázquez, C. (1999). A quantitative study of environmental factors influencing the seasonal onset of reproductive behaviour in the South American apple-snail *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae). *Journal of Molluscan Studies*, 65, 241-250.
- Burela, S., Martín, P.R., Estebenet, A.L. (2004). Patrón anual de actividad de *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) en el límite austral de su distribución. II Reunión Binacional de Ecología, Mendoza.
- Burela, S., Martín, P.R. (2007). Nuptial feeding in the freshwater snail *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae). *Malacologia*, 49, 465-470.
- Burela, S., Martín, P.R. (2009). Sequential pathways in the mating behavior of the Apple Snail *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Malacologia*, 51 (1), 157-164.
- Burela, S., Martín, P.R. (2011). Evolutionary and functional significance of lengthy copulations in a promiscuous apple snail, *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Journal of Molluscan Studies*, 77, 54-64.
- Carlsson, N.O.L., Brönmark, C., Hansson, L.A. (2004). Invading herbivory: The golden apple snail alters ecosystem functioning in Asian wetlands. *Ecology*, 85, 1575-1580.
- Cowie, R.H., Hayes, K.A., Thiengo, S.C. (2006). What are apple snails? Confused taxonomy and some preliminary resolution. En *Global Advances in Ecology and*

- Management of Golden Apple Snail (3-23). Nueva Ecija, Philippines: Philippine Rice Research Institute.
- Erlandsson, J., Kostylev, V. (1995). Trail following, speed and fractal dimension of movement in a marine prosobranch, *Littorina littorea*, during a mating and a non-mating season. *Marine Biology*, 122, 87-94.
- Estebenet, A.L., Cazzaniga, N.J. (1992). Growth and demography of *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) under laboratory conditions. *Malacological Review*, 25, 1-12.
- Estebenet, A.L., Martín, P.R. (2002). *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae): Life-history traits and their plasticity. *Biocell*, 26, 83-89.
- Estoy, G.F., Yusa, Y., Wada, T., Sakurai, H., Tsuchida, K. (2002). Effect of food availability and age on the reproductive effort of the apple snail, *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae). *Applied Entomology and Zoology*, 37, 543-550.
- Fan, P.C., Wu, C.C., Yen, C.W., Huang, P. (2000). Survival of *Pomacea* species out of water kept in 25°C laboratory condition. *Bulletin of Malacology*, 24, 1-6.
- Hayes, K.A., Joshi, R.C., Thiengo, S.C., Cowie, R.H. (2008). Out of South America: multiple origins of non-native apple snails in Asia. *Diversity and Distributions*, 14, 701-712.
- Jerde, C.L., Bampfylde, C.J., Lewis, M.A. (2009). Chance establishment for sexual, semelparous species: Overcoming the Allee effect. *American Naturalist*, 173, 734-746.
- Joshi, R.C., Sebastian, L.S. (2006). Global advances in ecology and management of golden apple snails. Nueva Ecija, Philippines: Philippine Rice Research Institute.
- Kaplan, E.L., Meier, P. (1958). Nonparametric estimation from incomplete observations. *Journal of the American Statistical Association*, 53, 457-481.
- Kirsch, D.R. (2022). Freshwater gastropods as an important group for studying the impact of inter- and intra-specific chemical communication on aquatic community dynamics. *Aquatic Ecology*, 56, 361-375.
- Letón, E., Zuluaga, P. (2006). Cómo elegir el test adecuado para comparar curvas de supervivencia. *Medicina Clínica*, 127 (3), 96-99.
- Lowe, S., Browne, M., Boudjelas, S., De Poorter, M. (2000). 100 of the world's worst invasive alien species. Auckland, New Zealand: University of Auckland.
- Ly, S., Zhang, Y., Liu, H.X., Hu, L., Yang, K., Steinmann, P., Chen, Z., Zhou, X.N. (2009). Invasive snails and an emerging infectious disease: Results from the first national survey on *Angiostrongylus cantonensis* in China. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 3(2), e368.
- Martín, P.R., Estebenet, A.L., Cazzaniga, N.J. (2001). Factors affecting the distribution of *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) along its southernmost natural limit. *Malacologia*, 43, 13-23.
- Martín, P.R., Estebenet, A.L. (2002). Interpopulation variation in life history traits of *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) in southwestern Buenos Aires Province, Argentina. *Malacologia*, 44, 153-163.
- Martín, P.R., Burela S., Seuffert M. E., Tamburi N. E., Saveanu L. (2019). Invasive *Pomacea* snails: actual and potential environmental impacts and their underl-

- ying mechanisms. CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources, 14, 1-11.
- Pardo, L.M., Johnson, L.E. (2004). Activity and shelter use of an intertidal snail: Effects of sex, reproductive condition and tidal cycle. *Journal of Experimental Marine Biology & Ecology*, 301, 175-191.
- Rawlings, T.A., Hayes, K.A., Cowie, R.H., Collins, T.M. (2007). The identity, distribution, and impacts of non-native apple snails in the continental United States. *BMC Evolutionary Biology*, 7, 97-111.
- Ribi, G., Arter, H. (1986). Sex related difference of movement speed in the freshwater snail *Viviparus ater*. *Journal of Molluscan Studies*, 52, 91-96.
- Saveanu, L., Martín, P.R. (2020). An invader's peculiar trophic behavior: diel fluctuations and environmental drivers. *The Biological Bulletin*, 239, 164-173.
- Seuffert, M.E. (2005). Efectos de la temperatura, la talla y el sexo sobre la respiración aérea y la locomoción del caracol dulceacuícola *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae). Tesina de grado. Universidad Nacional del Sur.
- Seuffert, M.E., Martín, P.R. (2010). Dependence on aerial respiration and its influence on microdistribution in the invasive freshwater snail *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda, Ampullariidae). *Biological Invasions* 12, 1695-1708.
- Takeichi, M., Hirai, Y., Yusa, Y. (2007). A water-borne sex pheromone and trail following in the apple snail, *Pomacea canaliculata*. *Journal of Molluscan Studies*, 73, 275-278.
- Tamburi, N.E., Martín, P.R. (2009a). Reaction norms of size and age at maturity of *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae) under a gradient of food deprivation. *Journal of Molluscan Studies*, 75: 19-26.
- Tamburi, N.E., Martín, P.R. (2009b). Feeding rates and food conversion efficiencies in the apple snail *Pomacea canaliculata* (Caenogastropoda: Ampullariidae). *Malacologia*, 51, 221-232.
- Tamburi, N.E., Martín, P.R. (2011). Effects of food availability on reproductive output, offspring quality and reproductive efficiency in the apple snail *Pomacea canaliculata*. *Biological Invasions*, 13, 2351-2360.
- Tamburi, N.E., Martín, P.R. (2016). Effects of absolute fasting on reproduction and survival of the invasive apple snail *Pomacea canaliculata* in its native range. *Current Zoology*, 62(4), 369-375.
- Valentine-Darby, P.L., Darby, P.C., Percival, H.F. (2011). Gender-based differences in Florida apple snail (*Pomacea paludosa*) movements. *Malacologia*, 54(1-2), 109-118.
- Xu, W., Zhang, J., Du, S., Dai, Q., Zhang, W., Luo, M., Zhao, B. (2014). Sex differences in alarm response and predation risk in the freshwater snail *Pomacea canaliculata*. *Journal of Molluscan Studies*, 80(2), 117-122.
- Yusa, Y., Wada, T., Takahashi, S. (2006). Effects of dormant duration, body size, self-burial and water condition on the long-term survival of the apple snail *Pomacea canaliculata* (Gastropoda: Ampullariidae). *Applied Entomology and Zoology*, 41, 627-632.