



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES  
Facultad de Ciencias Exactas y Naturales  
Carrera de Ciencias Biológicas  
Tesis de Licenciatura

**Morfología detallada de larvas de peces aplicada al estudio de nuevos predadores de velígeras del molusco invasor *Limnoperna fortunei* en el Paraná Inferior**

**Natalia Lucía Yarza**

**Director: Esteban Marcelo Paolucci**

Lugar de trabajo: Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia”

Abril 2024

## Contenido de la tesis

<b>Resumen</b> .....	<b>3</b>
<b>Abstract</b> .....	<b>4</b>
<b>Introducción</b> .....	<b>5</b>
<b>Objetivos e hipótesis</b> .....	<b>11</b>
<b>Materiales y métodos</b> .....	<b>12</b>
<i>Descripción del proyecto y lugar de muestreo</i> .....	12
<i>Método de muestreo</i> .....	15
<i>Procesamiento de muestras</i> .....	16
<i>Análisis del Componente Principal</i> .....	18
<i>Análisis de la dieta</i> .....	18
<b>Resultados</b> .....	<b>19</b>
<i>Variables limnológicas</i> .....	19
<i>Abundancia y composición específica del ictioplancton</i> .....	20
<i>Contenido estomacal</i> .....	20
<i>Descripción morfológica de predadores de velígeras de L. fortunei</i> .....	22
SILURIFORMES.....	23
CHARACIFORMES .....	27
PERCIFORMES .....	34
PLEURONECTIFORMES.....	35
<i>Análisis de Componente Principal</i> .....	38
<i>Identificación molecular</i> .....	43
<i>Porcentaje de larvas según contenido, y composición específica de larvas totales y con L. fortunei, por localidad</i> .....	43
<i>Comparación con datos previos: Frecuencia de ocurrencia y número medio de L. fortunei por estómago, en total y por taxón</i> .....	45
<b>Discusión y conclusiones</b> .....	<b>48</b>
<b>Referencias bibliográficas</b> .....	<b>53</b>
<b>Anexo</b> .....	<b>58</b>
1. <i>Análisis estadístico</i> .....	58
2. <i>Frecuencia de ocurrencia y número medio de velígeras por orden taxonómico</i> .....	61

## Resumen

Las especies exóticas como el molusco invasor *Limnoperna fortunei*, han probado tener un fuerte impacto en la dieta de más de 50 especies de peces (adultos y larvas) desde su ingreso en la cuenca del Plata a principios de los 90'. Con el objetivo de comparar y profundizar investigaciones previas, se estudió la frecuencia de ocurrencia, FO, y número medio de velígeras por estómago para las distintas especies del ictioplancton del Paraná Inferior durante enero del 2020 identificadas en base a descripciones detalladas de su morfología. Este estudio permitió extender de 18 a al menos 28 la lista de larvas de peces predadores de velígeras de *L. fortunei*, gracias al estudio detallado de la morfología. De un total de 6565 larvas de peces analizadas, se obtuvieron 2403 (39%) larvas con algún contenido estomacal y 931 larvas con velígeras de *L. fortunei*, representando en promedio  $64 \pm 30\%$  (FO  $\pm$  DS) y un número medio de velígeras por estómago de  $1.4 \pm 0.4$ . Los nuevos predadores de velígeras de *Limnoperna* incluyeron miembros de la familia Loricariidae, subfamilias Tetragonopterinae, Characinae, Stethaprioninae (*Hyphessobrycon eques*), y al menos 6 especies de larvas de peces: *Pimelodus maculatus*, *Leporinus* spp. (*Leporinus* sp. y *L. obtusidens*), *Bryconamericus* spp. (*Bryconamericus* sp. y *B. stramineus*), y *Plagioscion* sp. Se tomaron ejemplares para su posterior identificación molecular (COI) que corrobore y/o modifique estas identificaciones. Los taxones con mayor FO fueron *Iheringichthys labrosus*, *Pimelodus* spp., Tetragonopterinae, *Catathyridium jenynsii*, *Plagioscion* sp., *Prochilodus lineatus* y *L. obtusidens*. Los primeros cuatro mostraron a su vez los mayores valores de número medio de velígeras, junto con *Bryconamericus* spp. Si bien la FO promedio y por especie fue similar a la registrada previamente, el valor medio total de velígeras por estómago parece disminuir en comparación a los valores reportados hace más de 15 años. Esta disminución podría deberse a diferencias en la composición específica de las muestras analizadas, donde en el presente estudio fueron capturadas e identificadas una mayor cantidad de individuos del orden Characiformes y una menor de Siluriformes.

## Detailed morphology of fish larvae applied to the study of new predators of the invasive mollusk *Limnoperna fortunei* larvae on the Lower Paraná

### Abstract

Exotic species, such as the invasive mollusk *Limnoperna fortunei*, have proven to have a strong impact on the diet of more than 50 species of fish (adults and larvae) since their entry in the Río de la Plata basin in the early 1990s. With the aim of comparing and deepening previous research, we studied the ichthyoplankton of the Lower Paraná River during January 2020 to analyze the diet (frequency of occurrence, FO, and average number of veligers per stomach) of the different species identified based on their morphology. This study extended the list of *L. fortunei* veliger predatory fish larvae from 18 to at least 28, thanks to the detailed study of morphology. Of a total of 6565 fish larvae analyzed, 2403 (39%) larvae with some stomach content and 931 larvae with veligers of *L. fortunei* were obtained, representing on average  $64 \pm 30\%$  (FO  $\pm$  DS) and a medium number of veligers per stomach of  $1.4 \pm 0.4$ . The new predators of *Limnoperna* veligers included members of the family Loricariidae, subfamilies Tetragonopterinae, Characinae, Stethaprioninae (*Hyphessobrycon eques*), and at least 6 species of fish larvae: *Pimelodus maculatus*, *Leporinus* spp. (*Leporinus* sp. and *L. obtusidens*), *Bryconamericus* spp. (*Bryconamericus* sp. and *B. stramineus*), and *Plagioscion* sp. Specimens were taken for subsequent molecular identification (COI) to corroborate or modify these results. The taxa with the highest FO were *Iheringichthys labrosus*, *Pimelodus* spp., Tetragonopterinae, *Catathyridium jenynsii*, *Plagioscion* sp., *Prochilodus lineatus*, and *L. obtusidens*. The first four showed the highest values of average number of veligers per stomach, along with *Bryconamericus* spp. Although the average FO and per species was similar to that previously recorded, the total average value of veligers per stomach seems to decrease compared to the values reported more than 15 years ago. This decrease could be due to differences in the specific composition of the samples, where in the present study a greater number of individuals of the order Characiformes and a smaller number of Siluriformes were captured and identified.

## Introducción

Las especies invasoras constituyen uno de los problemas ecológicos más serios a nivel global, afectando la biodiversidad y trama trófica de los ambientes invadidos (Karatayev, et al., 2007b; Davis, 2009). El creciente número de especies no autóctonas es una de las principales amenazas para la biodiversidad y el funcionamiento de los ecosistemas en general (Hulme, 2021), produciendo consecuencias de gran alcance en los ambientes acuáticos (Makowski y Finkl, 2018). Junto con la creciente tasa de introducción de especies invasoras, el cambio climático y la degradación del hábitat afectan la distribución de las especies y probablemente aumentan los impactos negativos de las especies invasoras en los ecosistemas (Collas, et al., 2018). Estas pueden actuar como predadores, parásitos, patógenos, competidores, e incluso como presas de especies nativas, lo que resulta en impactos ecológicos heterogéneos pero significativos (Boltovskoy, et al., 2021). En particular el impacto sobre organismos locales incluye: cambios en las interacciones tróficas, por ejemplo cambios en las relaciones predador-presa; facilitación del asentamiento de otras especies tanto nativas como exóticas; y en casos extremos la extinción de especies nativas. Los impactos negativos y los costos monetarios de las especies invasoras en infraestructuras creadas por el hombre son frecuentemente estudiados. Por otro lado, los impactos positivos y los servicios ecosistémicos en general son ignorados por los investigadores, como la ecología general: cambios en densidad plurianuales, competencia con especies nativas, predación por invertebrados, aves, reptiles y mamíferos (Boltovskoy, et al., 2022a; Boltovskoy, et al., 2022b; Burlakova, et al., 2023).

Particularmente en los ambientes acuáticos, tanto ambientes marinos como continentales, existen varios ejemplos de especies de moluscos invasores ampliamente distribuidas y estudiadas por su fuerte impacto en el ecosistema y su marcado aumento en la tasa de invasión (Sousa, et al., 2009; Strayer, 2010; Darrigran, et al., 2020). Los moluscos, y en particular los bivalvos, son invasores ecológicamente importantes ya que ocupan el rol de consumidores primarios, alterando a la red trófica desde su base. La introducción de moluscos invasores repercute en la reducción de la biomasa y de la producción de

productores primarios, con los consiguientes efectos en la composición y abundancia de toda la biota, además de las características químicas y físicas del agua. Otros impactos negativos frecuentemente mencionados de los bivalvos invasores incluyen las bioincrustaciones sobre sustratos naturales y artificiales, como cascos de embarcaciones, instalaciones industriales y plantas de energía, causando obstrucción de tuberías y corrosión de estructuras (Strayer, 2010; Sousa, et al., 2014; Boltovskoy, et al., 2015b; Darrigran, et al., 2020). En Argentina, los ambientes acuáticos han experimentado un aumento gradual del número de especies invasoras en las últimas décadas (Orensanz, et al., 2002). En particular, el mejillón dorado, *Limnoperna fortunei* (Dunker, 1857) se ha dispersado a nivel regional abarcando toda la cuenca del Río de la Plata y otras cuencas vecinas en Sudamérica (Oliveira, et al., 2015).

Tanto el mejillón dorado, como los mejillones del género *Dreissena*, *Dreissena polymorpha* (Pallas, 1771), mejillón cebra y *Dreissena bugensis* (Andrusov, 1897), mejillón quagga, constituyen ejemplos de bivalvos invasores a nivel mundial (Sousa, et al., 2009). Se han publicado varios artículos y capítulos de libros comparando estas especies debido a sus características e impactos similares (Karatayev, et al., 2007a; Karatayev, et al., 2010; Karatayev, et al., 2015; Burlakova, et al., 2023). A diferencia de otras especies de moluscos invasores globales, las especies *Dreissena* spp. y *L. fortunei* muestran patrones de distribución amplios pero llamativamente diferentes. Los mejillones cebra y quagga del Ponto-Caspio, han invadido cuerpos de agua dulce en Europa y América del Norte desde finales del siglo XVIII, pero no se han registrado introducciones en otros continentes. En contraste, el mejillón dorado, *L. fortunei*, fue introducido desde China y se convirtió en una especie invasora en América del Sur y Japón en la década de 1990, y aunque se predijo su invasión en otros continentes, no se han reportado más introducciones. A pesar de las similitudes biológicas y ecológicas entre dichas especies de bivalvos, estos patrones de distribución contradictorios pueden resultar en impactos diferenciales en el medio ambiente (Boltovskoy, 2015).

En general, la importancia de las velíferas de dichos mejillones invasores como elemento de la dieta de larvas de peces depende en gran medida de la superposición temporal y

espacial entre las crías de peces y las velíferas (tanto en profundidad como en distribución local), los cambios anuales en la abundancia de velíferas, así como su digestibilidad, calidad nutricional y el destino de la producción de velíferas incorporada en la cadena alimentaria (Karatayev, et al., 2023). En muchos ambientes invadidos, las velíferas de mejillones cebrá y especialmente de mejillones quagga, representan una presa abundante y disponible debido a sus limitadas capacidades de evasión. Para las larvas de peces en desarrollo temprano, peces planctívoros y predadores de invertebrados, puede compensar parcialmente el bajo consumo aparente de otras fuentes de alimento (Jarrin, et al., 2015; Withers, et al., 2015; Burlakova, et al., 2023; Karatayev, et al., 2023). Debido a su tamaño más pequeño y su poca movilidad en comparación con la mayoría de los otros organismos planctónicos, las larvas de *Dreissena* suelen ser consumidas selectivamente por las larvas de peces menos desarrollados. Según una revisión reciente, un total de 22 especies de peces, incluyendo 11 en Europa y 11 en América del Norte, han sido documentadas a campo conteniendo larvas planctónicas de *Dreissena* en sus tractos digestivos (Karatayev, et al., 2023).

Para *L. fortunei* se han reportado modificaciones en la trama trófica que involucran a más de 50 especies incluyendo tanto estadios adultos de peces, invertebrados, y aves (Cataldo, 2015; Burlakova, et al., 2023), como estadios larvales (Paolucci y Thuesen, 2015), u organismos planctónicos (Molina y De Paggi, 2008). En el caso de la predación de las velíferas de *Limnoperna* por parte de las larvas de peces, esta fue revisada por Paolucci y Thuesen (2015) y luego resumida por Boltovskoy et al. (2022b), totalizando 18 especies que se alimentan de velíferas en Sudamérica. No existen informes de predadores de velíferas de *Limnoperna* en el continente asiático, tanto en su área de distribución nativa como en la invadida. El análisis de los predadores de velíferas de *Limnoperna* informado por estas revisiones abarca estudios con muestras recolectadas entre 1996 y 2009, incluyendo los principales canales de los ríos Paraná Inferior y Medio y lagunas marginales subsidiarias conectadas al río Paraná Inferior. Otros cursos de agua estudiados fueron la primera parte del río Paraguay Inferior, así como ambientes lénticos siendo el embalse de Salto Grande.

Los predadores de las velíferas de *Limnoperna* incluyen algunas de las especies más abundantes, tanto en sus etapas de larvas como en adultos, incluyendo al sábalo, *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1837), bagre trompudo, *Iheringichthys labrosus* (Valenciennes, 1837), patí, *Luciopimelodus pati* (Valenciennes, 1835), manduvé, *Sorubim lima* (Bloch & Schneider, 1801), bagres del género *Pimelodus* y el bagre porteño, *Parapimelodus valenciennis* (Lütken, 1874). Estas especies representan más del 90% de la biomasa de peces de la cuenca del Río de la Plata (Agostinho, et al., 2004; Menni, 2004). En el canal principal del río Paraná, se informó una alta contribución de las velíferas del mejillón dorado a la dieta de las primeras etapas de las larvas de la Familia Pimelodidae (incluyendo especies como *I. labrosus*, *L. pati*, *S. lima*, *Pimelodus* spp. y *P. valenciennis*), normalmente entre el 40 y el 80% de las larvas se alimentan de velíferas, alcanzando más del 50% de la biomasa ingerida (Paolucci, 2010; Paolucci, et al., 2015; Paolucci y Thuesen, 2015). En el caso de las protolarvas de *P. lineatus*, aunque la proporción de larvas alimenticias en el canal principal era baja (2-3%), la mayoría de ellas tenían velíferas en su contenido estomacal (71-74%) como única presa. Además se registró que el 16% del total de larvas consumían *L. fortunei* exclusivamente, mientras que el 20% en forma conjunta con otro tipo presa (Paolucci, 2010). Se observó que en protolarvas y mesolarvas de peces, las velíferas representaron el 30-35% del contenido estomacal, mientras que en metalarvas sólo el 3%. Por otro lado, experimentalmente se observó que las protolarvas y mesolarvas de *P. lineatus* consumían *L. fortunei* casi exclusivamente (88-90% de la biomasa consumida respectivamente), mientras que las metalarvas sólo el 16% (Paolucci, et al., 2007; Paolucci, et al., 2010a). Otro resultado comprobado experimentalmente indica que las larvas de peces alimentadas con una dieta enriquecida en velíferas de *L. fortunei* crecían de forma significativamente mayor, tanto en peso como en largo, a comparación de las alimentadas con otro tipo de dieta (Paolucci, et al., 2010b).

Con respecto a los peces menos abundantes, también se informó que se alimentan de las velíferas de *Limnoperna* (Paolucci, et al., 2015; Paolucci y Thuesen, 2015; Paolucci, et al., 2017), en algunos casos produciendo un alto impacto en la dieta, incluyendo al lenguado de



río, *Catathyridium jenynsii* (Günther, 1862), anchoa de río, *Lycengraulis grossidens* (Spix & Agassiz, 1829), virolo, *Apareiodon affinis* (Steindachner, 1879) y miembros de las familias Anostomidae, Characidae y Scienidae. Por ejemplo, se informó que las larvas del mejillón dorado eran un componente abundante en la dieta del lenguado en el río Paraguay y el embalse de Salto Grande (Paolucci y Thuesen, 2015; Paolucci, et al., 2017), donde estaban presentes en el contenido estomacal de la mayoría de las larvas recolectadas y representaban más del 70% de la biomasa ingerida. También se informó que otras etapas larvales de especies de peces como *L. grossidens* o *A. affinis*, se alimentaban de velíferas en algunos ambientes (embalse de Salto Grande) pero no en otros, como el río Paraguay (Paolucci y Thuesen, 2015; Paolucci, et al., 2017).

En cuanto a la frecuencia de ocurrencia (FO) de velíferas en los estómagos de larvas de peces, se ha reportado un valor medio de 57% para el canal principal del río Paraná, en cambio para la zona de lagunas marginales en San Nicolás se obtuvo el 20% por cambios en la composición taxonómica y de desarrollo en el ictioplancton (Paolucci, 2010). En Paolucci et al. (2015) se obtuvo una FO media del 70% para el río Paraná y 17% en el río Paraguay. En cuanto al embalse de Salto Grande se observaron valores de FO de 25% para el canal principal y 17% en la zona costera.

La cantidad de velíferas por estómago también fue variable entre ambientes y en el tiempo, sin embargo los trabajos previos no reportan el detalle del número medio de velíferas para las distintas especies a pesar de que es evidente una variación entre taxones (Paolucci, 2010; Paolucci y Thuesen, 2015). Paolucci et al. (2007) menciona el número medio de velíferas por estómago para el Paraná Inferior y lagunas asociadas en San Nicolás de 4 y 0.5 respectivamente, variando temporalmente entre 2 y 10 velíferas por estómago en el canal principal del Paraná. Similarmente en Paolucci et al. (2015) se reporta para los ríos Paraguay y Paraná valores medios de 0.3 y 2.7 respectivamente, variando latitudinalmente entre 25°15' S, 57°38' W y 32°18' S, 60°41' W. Para el embalse de Salto Grande se observó un valor medio de 0.9 velíferas por estómago en el canal principal y 0.25 en la zona costera, con un pico de hasta 17 velíferas por estómago en los meses de verano (Paolucci, 2010).

Estos resultados también sugieren que el número de predadores puede ser aún mayor, ya que algunas de las larvas de peces con velígeras en su contenido estomacal solo se identificaron a nivel de familia o género. Las larvas identificadas como Anostomidae incluyen especies characiformes abundantes como la boga de piel manchada, *Megaleporinus obtusidens* (Valenciennes, 1837), boga lisa *Schizodon borellii* (Boulenger, 1900), *S. nasutus*, *S. platae* y otros (Ringuélet, et al., 1967; Menni, 2004). De manera similar, bajo el nombre de la familia Characidae, puede haber una gran diversidad de especies, incluyendo miembros de los géneros *Astyanax* sp., *Charax* sp., *Aphyocharax* sp., *Bryconamericus* sp. y *Hyphessobrycon* sp. (Menni, 2004).

Muchos de estos trabajos fueron realizados hace más de 10 años atrás en una etapa temprana del proceso de invasión, y si bien la abundancia de *L. fortunei* no parece haber cambiado en la cuenca del Río de la Plata, dada la alta diversidad de especies en la zona y la escasa descripción de las larvas de peces, es posible que tanto la identificación morfológica exhaustiva como la aplicación de herramientas moleculares mejoren la determinación de predadores y el análisis del impacto de las velígeras en la dieta de las larvas de peces. Con el objetivo de contrastar los mencionados estudios de *L. fortunei* en la dieta de larvas de peces, se analizarán muestras contemporáneas colectadas en el tramo inferior del Río Paraná. En particular, se comparará el número de especies predatoras, la frecuencia de ocurrencia y el número medio de velígeras por estómago para determinar posibles cambios temporales del impacto de esta especie exótica. Aportando además una profundización en cuanto a la identificación de larvas de peces con el uso de descripciones detalladas de la morfología y herramientas moleculares utilizando ADN mitocondrial en contexto del proyecto International Barcode of Life (iBOL).

## Objetivos e hipótesis

1. Analizar e identificar los predadores de velígeras del bivalvo invasor *L. fortunei* en el ictioplancton del Río Paraná Inferior usando descripciones morfológicas detalladas y/o herramientas moleculares, incluyendo los ejemplares menos abundantes. Hipótesis: el uso de descripciones morfológicas detalladas y/o herramientas moleculares permite una mayor precisión en la identificación y cuantificación de las distintas especies de peces predadores de *L. fortunei*.
2. Cuantificar la relevancia de velígeras del bivalvo invasor *L. fortunei* en la dieta de las larvas de peces del canal principal de la cuenca del Bajo Río Paraná y comparar la misma con trabajos previos en la cuenca del Río de la Plata. Hipótesis: dada la rápida incorporación en la dieta de predadores locales durante la primera etapa de la invasión y su impacto positivo en la dieta, se esperan valores de frecuencia de ocurrencia similares o mayores a los registrados previamente.

## Materiales y métodos

La presente tesis incluyó desde la toma de muestras y medición de variables limnológicas en campo, hasta el procesamiento en el laboratorio y análisis de los datos (Fig. 1). A continuación se detallan cada uno de los pasos llevados a cabo.

### **Descripción del proyecto y lugar de muestreo**

Las muestras analizadas corresponden a un proyecto monitoreo del ictioplancton en la cuenca del Río de la Plata Media e Inferior (tramos medio e inferiores de los ríos Paraná y Uruguay, y embalse Salto Grande), donde se monitorea abundancia de larvas peces, reproducción y genética de peces migradores, parámetros físico-químicos, y presencia de *L. fortunei* (Paolucci, et al., 2015; Paolucci, et al., 2017; Cataldo, et al., 2020; Cataldo, et al., 2022). En particular, la zona de estudio de esta tesis corresponde a un tramo del canal principal Río Paraná Inferior definido por Bonetto y Sioli (1975).

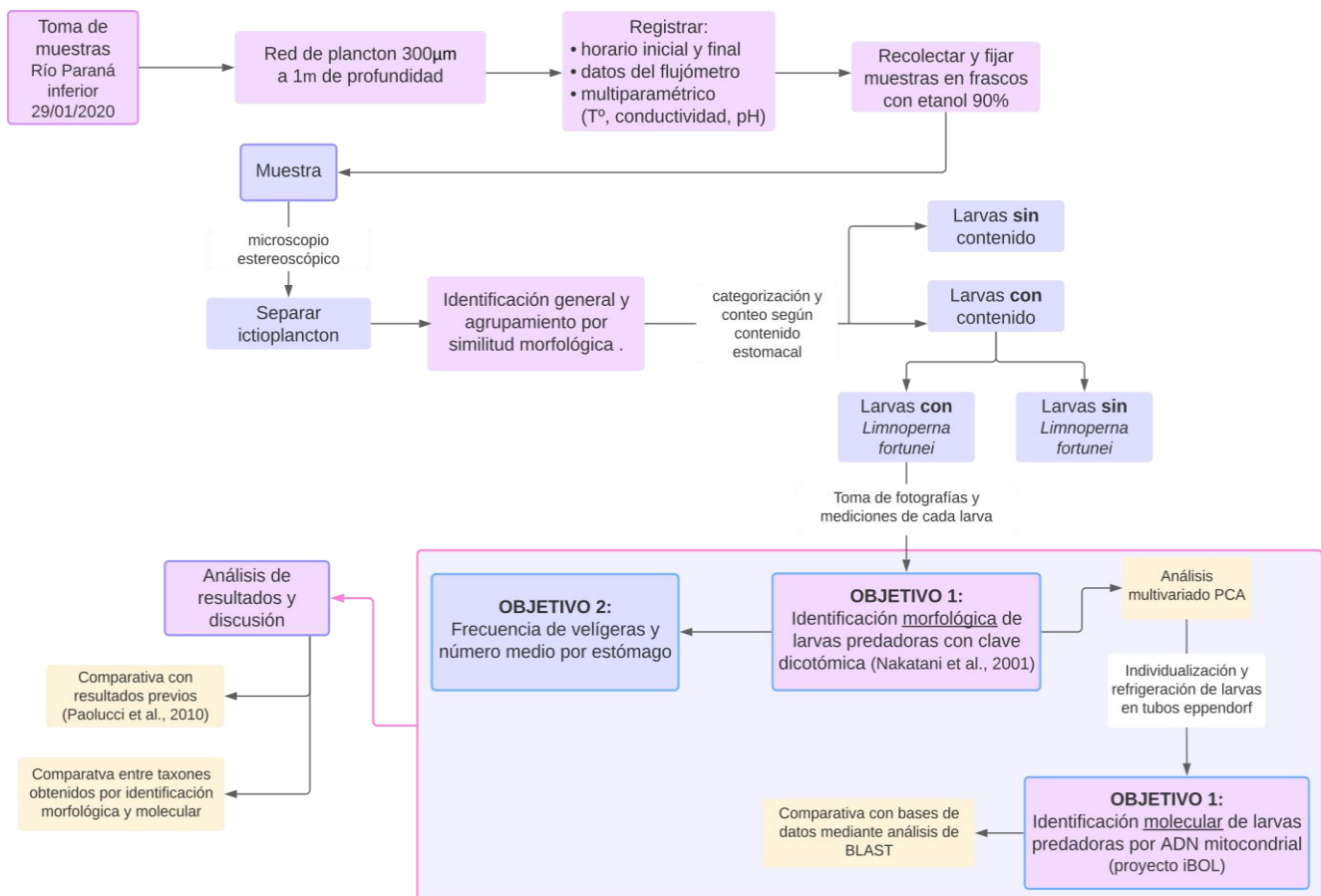


Figura 1: Diagrama de flujos para la metodología empleada a lo largo del estudio.

La elección de los sitios de muestreo y cantidad de muestras se basan en trabajos previos donde se estudió no sólo los factores que afectan la reproducción de peces migradores (temperatura del agua, fotoperiodo y nivel del río), sino también los sitios de desove y deriva de larvas de peces en la cuenca del Río de la Plata (Fuentes, 1998; Fuentes y Espinach Ros, 1998; Paolucci, 2002; Fuentes, et al., 2005). En particular, en el río Paraná estos estudios muestran que los desoves ocurren en el tramo Medio (altura Diamante) y aguas arriba de dicho río. Luego las larvas derivan por el canal principal hasta el Paraná Inferior, mientras se desarrollan para luego ingresar en los ambientes marginales ya con capacidad de alimentarse. Dada esta dinámica los muestreos más intensivos se realizaron en la zona norte más cercana al río Paraná Medio (Arroyo Seco) en el canal principal, y complementariamente se tomaron muestras en ambientes más marginales en San Nicolás y Zárate. Concretamente, el muestreo fue llevado a cabo el día 29 de enero en 2020, tomándose tres réplicas durante el día en Arroyo Seco (-33.165, -60.451), más dos muestras

aguas abajo en la zona de San Nicolás de los Arroyos (-33.319,-60.223) y Zárate (-34.102,-59.011), ver mapa de la Figura 2. En general, el mes de enero se caracteriza por la presencia de picos en la producción de velíferas (Boltovskoy, et al., 2015a), que coincide con el pico reproductivo de peces migradores y la crecida del río (Fuentes y Espinach Ros, 1998; Carolsfield, et al., 2004; Cataldo, et al., 2020; Cataldo, et al., 2022). Se tomaron datos de la altura del río (nivel hidrométrico) y su estado (creciente o decreciente) en la fecha y estación de muestreo, desde el Centro de Informaciones Meteorológicas (CIM), Facultad de Ingeniería y Ciencias Hídricas Universidad Nacional del Litoral (UNL).

En la localidad de Arroyo Seco, las muestras fueron tomadas desde un muelle ubicado en el lado externo de un recodo del río que se proyecta sobre el canal principal. En cambio para



Figura 2: Sitios de muestreo para cada localidad.

San Nicolás de los Arroyos y Zárate las muestras fueron tomadas en las costaneras respectivas de dichas ciudades. En el caso de San Nicolás dicha costanera se desarrolla sobre un brazo del río Paraná, Arroyo Yaguarón. Este ambiente está conectado a lagunas marginales donde se vio cambios en las especies de peces que se alimentaban de velíferas

de *L. fortunei* (Paolucci, et al., 2007). En la localidad de Zarate las muestras fueron tomadas aguas arriba del puente Zárate Brazo Largo sobre la margen derecha en el muelle del camping municipal.

### **Método de muestreo**

Las muestras fueron tomadas sumergiendo, a un metro de la superficie, una red de plancton cónica de un metro de largo con poro de 300 micras y radio de 0.22 metros, y permitiendo que filtre de manera estacionaria mediante la misma corriente del río. La red se sumergió durante 20' aproximadamente registrando la hora inicial y final, en conjunto con el número de vueltas inicial y final del flujómetro (Boltovskoy, 1999) instalado en la boca de la red (solo en Arroyo Seco), para posteriormente calcular el volumen de agua filtrada **(1)** y así poder estimar la densidad de larvas **(2)** según Nakatani et al. (2001). También se registraron los valores de temperatura del agua (°C), conductividad (µS/cm), pH y oxígeno disuelto (mg/L y % de saturación) utilizando un sensor multiparamétrico marca Hach HQ40d. Cada muestra se fijó con etanol 90% al momento de recolectarla en frascos de plástico rotulados apropiadamente.

Para los recuentos, análisis del ictioplancton, y de su contenido estomacal se usó la muestra completa (cuando el total de larvas de peces era menor a 600), o fracciones obtenidas con el submuestreador de Folsom (McEwen, et al., 1954), contando al menos 300 larvas por fracción. En el caso de las muestras fraccionadas, los especímenes más grandes o que se destaquen por sus características morfológicas fueron removidos antes del fraccionado, y procesados separadamente. Los valores de abundancia a partir de los recuentos fueron integrados a los datos de la fracción correspondiente para reportar el total por muestra.

$$(1) V = a \times n \times c$$

Siendo:

$V$ : Volumen de agua filtrada ( $m^3$ )

$a$ : Área de boca de la red ( $m^2$ ) =  $(3.14(0.22m)^2)$

$n$ : Número de rotaciones del flujómetro ( $n^{\circ}$  vuelta final –  $n^{\circ}$  vuelta inicial)

$c$ : Factor de calibración del flujómetro (0.27 m)

$$(2) D = (x \div V) \times 10$$

Siendo:

$D$ : Número de larvas por  $10 \text{ m}^3$  (densidad)

$x$ : Número de larvas recolectadas

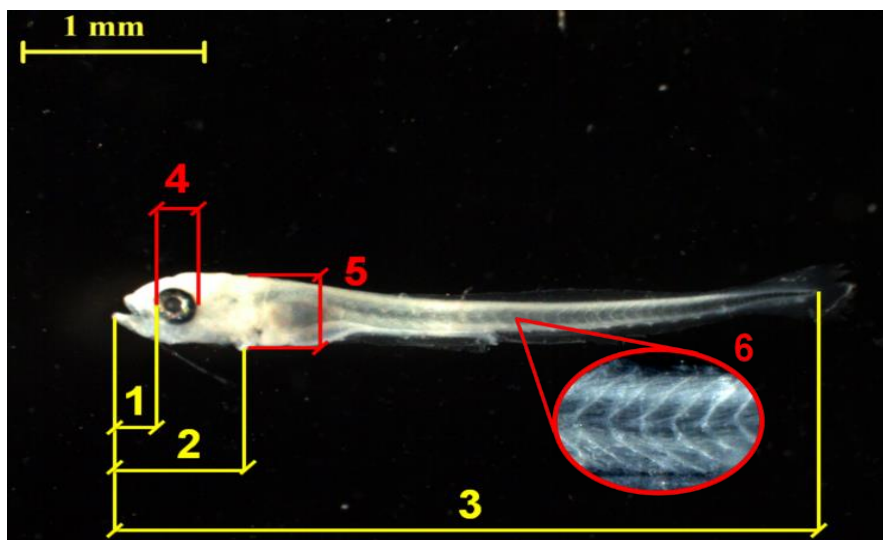
### **Procesamiento de muestras**

Se separó el ictioplancton en la muestra, bajo microscopio estereoscópico (aumento 10x). Las larvas similares en su morfología general fueron agrupadas, según: tamaño similar, extensión del intestino, presencia o ausencia de barbillas mentonianas/maxilares, etc. Los estadios de desarrollo fueron clasificados según Snyder (1976) en: protolarvas (sin radios en las aletas); mesolarvas (con al menos algún radio en aletas impares); y metalarvas (con radios bien desarrollados en todas las aletas). Dado que en protolarvas, el contenido estomacal se visualiza por transparencia, se cuantificó y categorizó cada grupo de larvas según su contenido estomacal: sin contenido y con contenido (diferenciando entre presencia o ausencia de *L. fortunei*). Dentro de la categoría de larvas con *L. fortunei* se registró el número de velígeras en cada una y se procedió a una identificación más detallada del grupo de larvas, utilizando la clave dicotómica de Nakatani et al. (2001) y descripciones de peces locales (Liotta, 2005). Se buscó llegar a la clasificación taxonómica menos inclusiva posible, ya sea por familia, subfamilia, género o especie. Para esto, cada larva fue fotografiada utilizando el procesador de imágenes LAS EZ, asociado a la cámara digital de un microscopio estereoscópico Leica APO-S8. Utilizando dicho procesador se tomaron las distintas mediciones que permiten caracterizar la morfología de cada individuo para poder identificarlo utilizando la clave dicotómica. Las variables continuas medidas fueron: largo estándar, largo de cabeza, largo de hocico, altura, diámetro del ojo (Figura 3). Además, se registraron los números de miómeros pre y post-anal y características morfológicas distintivas (Figura 3). En estadios más desarrollados (metalarvas) se debió abrir el estómago,



de forma posterior a la toma de fotografías y mediciones mencionadas. Estas descripciones morfológicas contrastan con las realizadas previamente por Paolucci (2010) donde se usó una descripción detallada para algunas especies, como el sábalo, *P. lineatus* basada en Sverlij et al., (1993). Para otras larvas (Familias Anostomidae y Characidae), dado el gran volumen de muestras analizadas en Paolucci (2010), se usaron descripciones publicadas en Nakatani et al. (2001), pero limitadas a nivel de Orden o Familia.

Un conjunto de larvas representantes para cada taxón identificado (que contenían *L. fortunei* en su estómago), fueron individualizadas en tubos Eppendorf® enumerados, asociados a las fotografías, medidas e información necesaria correspondientes. Dichas larvas fueron preservadas bajo frío hasta el momento de ser enviadas para su posterior identificación molecular por secuenciación de ADN mitocondrial, llevada a cabo por el proyecto iBOL (Lima, et al., 2020). Las secuencias obtenidas por identificación molecular serán comparadas con bases de datos disponibles mediante análisis de BLAST o similar (Lima, et al., 2020). Los taxones identificados de forma molecular y los taxones obtenidos por la morfología se compararán cualitativamente.



**Figura 3:** Fotografía de un ejemplar mostrando las distintas métricas para la identificación por clave dicotómica. 1: largo de hocico; 2: largo de cabeza; 3: largo estándar; 4: diámetro del ojo; 5: altura; 6: miómeros.

### **Análisis del Componente Principal**

Las distintas variables morfológicas utilizadas en la identificación de las larvas fueron analizadas utilizando Análisis del Componente Principal (PCA) para agrupar los ejemplares analizados en base a diferencias morfológicas, y así maximizar la eficiencia de la identificación en base a la morfología (Yang, et al., 2010). Se utilizó el logaritmo natural de las distintas variables morfológicas, y se agruparon las distintas especies o grupos taxonómicos por Familia para visualizar diferencias morfológicas más sutiles o imperceptibles a simple vista.

### **Análisis de la dieta**

En cuanto a la dieta, se calcularon los siguientes porcentajes: larvas con contenido estomacal, larvas con velígeras (Frecuencia de ocurrencia, FO: porcentaje de larvas con *L. fortunei* dentro del grupo de larvas con contenido, tanto en el N total como por taxón identificado), y larvas sin contenido. Además, se calculó el número medio de velígeras por estómago en el total de larvas y por taxón identificado. Se registraron las distintas especies o grupos con mayor FO y número medio de velígeras de *L. fortunei* en contenido estomacal. Se compararon con los resultados de trabajos previos realizados en esta misma línea de investigación, incluyendo datos no publicados extraídos de planillas de Excel ((Paolucci, 2010); ver Anexo) en busca de similitudes o diferencias, usando pruebas estadísticas paramétricas (ANOVA) o pruebas no paramétricas (Kruskal-Wallis) según corresponda. Teniendo en cuenta que ambos estudios se sitúan en el canal principal del Río Paraná inferior con una diferencia de más de diez años entre sí, se buscó determinar si hay o no diferencias significativas en los valores de FO y número medio de velígeras de *L. fortunei* por estómago en las larvas analizadas. Para esta comparación se usaron valores medio de FO y número de velígeras por estómago por muestra para los grupos predadores más abundantes y presentes en ambos muestreos. Para el muestreo previo se limitaron los valores de dichas variables a los datos colectados en el último tramo del Paraná Medio así como en del tramo

Inferior de este río (La Paz, Paraná y Zárate) reportados en Paolucci (2010) con la finalidad de comparar comunidades similares de peces.

## Resultados

### Variables limnológicas

Las variables limnológicas medidas presentaron diferencias significativas entre las estaciones de muestreo (Tabla 1, ANOVA  $\alpha < 0.05$ ), a excepción del pH que se mantuvo constante ( $7.79 \pm 0.04$ ; media  $\pm$  DS) a lo largo del tramo inferior de río Paraná durante la jornada de muestreo. La localidad de Arroyo Seco presentó los valores más altos de temperatura y conductividad promedio, de  $26.95 \pm 0.33$  (°C) y  $285 \pm 0,00$  ( $\mu$ S/cm) respectivamente. En cambio, la localidad de Zárate fue la que obtuvo los valores de oxígeno disuelto más elevados, de  $7.11 \pm 0.07$  (mg/L) representando el  $86.22 \pm 0.65$  %. Se observa una tendencia a la disminución de la temperatura y conductividad a medida que aumenta la latitud. En la fecha de muestreo, el río se encontraba en estado creciente en las 3 estaciones de muestreo (Tabla 1), donde se registró un nivel hidrométrico de 2 metros (excepto por la localidad de Zárate, con 0.5 m) en situación creciente para todas las localidades.

Estación	Temperatura	Conductividad	pH	Oxígeno disuelto		Estado del río*	
	(°C)	( $\mu$ S/cm)		(mg/L)	%	Nivel hidrométrico (m)	Estado (diferencia diaria en m)
Arroyo Seco (AS)	$26,95 \pm 0,33$	$285,00 \pm 0,00$	$7,78 \pm 0,04$	$6,68 \pm 0,02$	$84,28 \pm 0,67$	2,07	Creciente (0,22)
San Nicolás (SN)	$25,46 \pm 0,64$	$252,00 \pm 0,00$	$7,82 \pm 0,04$	$6,79 \pm 0,02$	$83,43 \pm 0,19$	2,00	Creciente (0,16)
Zárate (ZA)	$25,06 \pm 0,12$	$220,33 \pm 0,58$	$7,76 \pm 0$	$7,11 \pm 0,07$	$86,22 \pm 0,65$	0,50	Creciente (0,20)
N	36	8	9	17	17	-	-
df	35	7	8	16	16	-	-
F	56,38	19054,53	1,71	138,04	37,22	-	-
p	2,27 E-11	1,97 E-10	0,26	6,1 E-10	2,49 E-06	-	-

Tabla 1: Valores de temperatura, conductividad, pH, oxígeno disuelto (media + desvío estándar); y estado del río en la fecha para cada sitio de muestreo. \*Fuente: Centro de Informaciones Meteorológicas (CIM), Facultad de Ingeniería y UNL.

### **Abundancia y composición específica del ictioplancton**

Los valores de abundancia de larvas de peces difirieron entre estaciones, siendo Arroyo Seco la más abundante (N = 6384) y con alta densidad (3.51 larvas/m<sup>3</sup>) En cambio las muestras de San Nicolás de los Arroyos y Zárate fueron menos abundantes (N = 21 y N = 160 respectivamente). Vale aclarar que si bien solo se dispone de los datos de densidad para la localidad de Arroyo Seco, las condiciones y tiempos de arrastre de la red son similares favoreciendo la comparación entre estaciones. Del total de 6565 larvas colectadas en este estudio, se han identificado 21 taxones morfológicos (Tabla 3). El 82.5% de las larvas colectadas fueron del orden Characiformes, seguidas por un 4.6% de Siluriformes, mientras que Pleuronectiformes y Perciformes solo alcanzaron un 0.75 y 0.24%, respectivamente. Un 11.9% del total colectado (N = 778) no pudieron ser identificadas (NI) debido a su mal estado de conservación o por ser recién eclosionadas. Dentro del grupo Characiformes, los más abundantes fueron de la Familia Anostomidae con un 28.62% del total y Prochilodontidae con el 12.98% (N = 1879 y 852, respectivamente, Tabla 3). Los taxones más abundantes dentro de Characidae (41.91% del total de larvas) fueron *Bryconamericus* sp. con el 17.4% del total, y miembros de la subfamilia Characinae con el 18.3% del total. Para los Siluriformes, la familia más abundante fue Pimelodidae con un 4.29% del total de larvas recolectadas (N = 281), seguidas por Loricariidae con 0.06% (N = 4). La totalidad de larvas Pleuronectiformes fueron identificadas como *C. jenynsii* (N = 49), y en cuanto a los Perciformes, todos ajustaron a la descripción de la corvina de río, *Plagioscion* sp. (Gill, 1861) (N = 16); Tabla 3.

### **Contenido estomacal**

Del total de las 6565 larvas de peces, unas 2403 (39%) tenían contenido en su tracto digestivo (Tabla 2). En particular, 931 (64%) de dichas larvas contenían velígeras de *L. fortunei*, mientras 4153 (37%) de las larvas analizadas no tenían contenido estomacal, o se encontraban recién eclosionadas (con vitelo). Para 9 de las larvas colectadas no se ha podido identificar su contenido (Tabla 2).

La proporción de larvas con contenido varió entre los taxones identificados (Tabla 3). Los Siluriformes mostraron los más altos valores, se destacan *I. labrosus*, *Pimelodus* sp2, bagre amarillo, *Pimelodus maculatus* Lacepède, 1803, *S. lima*, todos con el 100% de larvas con contenido (Tabla 3). La familia Pimelodidae obtuvo el 91.2% de larvas con contenido estomacal, y la familia Loricariidae el 75.0%. Para los Characiformes, la familia Characidae presento el 46.4% de larvas con contenido estomacal, la familia Anostomidae presento el 24.8%, y la familia Prochilodontidae el 25.0%. En particular, los mayores porcentajes de larvas con contenido fueron para la mojarrita plateada *Bryconamericus stramineus* Eigenmann, 1908 con el 78.3%, *Leporinus* sp. con el 70.8%, la subfamilia Tetragonopterinae con el 55.9%, *Bryconamericus* sp. con el 48.2%, y la subfamilia Characinae (dientudos) con el 38.9% de larvas con contenido. Se obtuvo el 100.0% de larvas con contenido para los taxones *L. obtusidens*, subfamilia Aphyocharacinae, tetra sangre, *Hyphessobrycon eques* (Steindachner, 1882) y *P. lineatus* (Tabla 3). Por otro lado, el 91.8% de las larvas *C. jenynsii* tenían contenido estomacal, mientras que *Plagioscion* sp. obtuvo el 100% de sus larvas con contenido.

Muestra	Con contenido		Sin contenido (%)	Sin identificar (%)	Total de velígeras en el contenido estomacal (N)
	Con <i>L. fortunei</i> (FO: %)				
	42	Con contenido distinto a <i>L. fortunei</i> (%)			
1 (AS)	50	58	35	0	193
2 (AS)	36	50	26	0	202
3 (AS)	100	64	67	0,001	1264
4 (SN)	90	0	62	29	2
5 (ZA)	<b>931 (64%)</b>	10	88	0	18
<b>N (%media)</b>	<b>2403 (39%)</b>	<b>1472 (37%)</b>	<b>4153 (56%)</b>	<b>9 (0,1%)</b>	
	<b>6565*</b>				
<b>N total</b>					<b>1679</b>

Tabla 2: Porcentajes y números (N) de larvas de peces analizadas en función del contenido estomacal (con *Limnoperna*, con algún otro contenido, y sin contenido), relativo al número total de larvas recolectadas por muestra y en total. Además, se muestra el número de velígeras encontradas en el contenido estomacal por muestra y total. \*El N total tiene en cuenta las larvas en mal estado a las que no se ha podido analizar su contenido. AS, Arroyo Seco; SN, San Nicolás de los Arroyos; ZA, Zárate. FO, frecuencia de ocurrencia.

Taxón	Larvas Totales [% respecto total]	Larvas Con Contenido [%]	Larvas Sin Contenido [%]	Larvas con <i>Limnoperna</i> (N)
<b>Siluriformes</b>	<b>4.6%</b>			
Siluriforme NI	19 [0.29]	0 [0]	19 [100]	0
Fam. Pimelodidae NI	251 [3.82]	229 [91.2]	22 [8.8]	27
<i>Sorubim lima</i>	1 [0.02]	1 [100]	0 [0]	0
<i>Pimelodus</i> sp1	3 [0.05]	2 [66.7]	1 [33.3]	2
<i>Pimelodus</i> sp2	6 [0.09]	6 [100]	0 [0]	5
<i>Pimelodus maculatus</i>	5 [0.08]	5 [100]	0 [0]	4
<i>Iheringichthys labrosus</i>	15 [0.23]	15 [100]	0 [0]	15
Fam. Loricariidae NI	4 [0.06]	3 [75.0]	1 [25.0]	1
<b>Characiformes</b>	<b>82.5%</b>			
Fam. Anostomidae NI	1628 [24.8]	288 [17.7]	1340 [82.3]	48
<i>Leporinus</i> sp.	250 [3.8]	177 [70.8]	73 [29.2]	29
<i>Leporinus obtusidens</i>	1 [0.02]	1 [100]	0 [0]	1
Familia Characidae				
SubF. Aphyocharacinae	1 [0.02]	1 [100]	0 [0]	1
<i>Bryconamericus</i> sp.	1141 [17.4]	550 [48.2]	591 [51.8]	292
<i>Bryconamericus stramineus</i>	152 [2.3]	119 [78.3]	33 [21.7]	61
SubF. Tetragonopterinae	186 [2.8]	104 [55.9]	82 [44.1]	82
SubF. Characinae	1204 [18.3]	469 [38.9]	735 [61.1]	272
SubF. Stethaprioninae				
<i>Hyphessobrycon eques</i>	2 [0.03]	2 [100]	0 [0]	2
Fam. Prochilodontidae NI	851 [12.9]	212 [24.9]	639 [75.1]	9
<i>Prochilodus lineatus</i>	1 [0.02]	1 [100]	0 [0]	1
<b>Pleuronectiformes</b>	<b>0.75%</b>			
<i>Catathyridium jenynsii</i>	49 [0.75]	45 [91.8]	4 [8.2]	29
<b>Perciformes</b>	<b>0.24%</b>			
Fam. Scienidae				
<i>Plagioscion</i> sp.	16 [0.24]	16 [100]	0 [0]	16
Larvas NI	778 [11.9]	156 [20.1]	622 [79.9]	34

Tabla 3: Composición específica del ictioplancton recolectado en el estudio, mostrando número y porcentaje de larvas totales, con contenido y sin contenido. NI corresponde a larvas no identificadas a un mayor nivel taxonómico que el indicado.

### ***Descripción morfológica de predadores de velígeras de L. fortunei***

De los 21 taxones identificados, en la mayoría de ellos (19) se encontraron velígeras en el contenido estomacal. Estos taxones, corresponden al menos 10 nuevas especies identificadas como predadores de velígeras. Estos incluyen miembros de la familia Loricariidae, subfamilias Tetragonopterinae, Characinae, Stethaprioninae (*H. eques*), y al menos 6 especies de larvas de peces: *P. maculatus*, *Leporinus* spp. (*Leporinus* sp. y *L. obtusidens* Valenciennes, 1837), *Bryconamericus* spp. (*Bryconamericus* sp. y *B. stramineus*),

y *Plagioscion* sp. (subrayados en la Tabla 4). Otros 9 taxones fueron previamente reportados.

A continuación se describen las características morfológicas más importantes de los taxones predadores de *L. fortunei* identificados en base a su morfología, asociadas a fotografías de los ejemplares y en algunos casos de su contenido. Vale aclarar que en este estudio a comparación con datos previos, existen algunos casos como el de los anostómidos, pimelodidos, y *Plagioscion* sp., donde se llega a distinta jerarquía taxonómica para el grupo (ya sea a especie, género, familia, etc.), por ende no se sabría si dicho taxón corresponde al identificado previamente o no.

## **SILURIFORMES**

### Pimelodidae NI (*Pimelodus* sp1 y *Pimelodus* sp2)

En general las larvas que ajustaron a la descripción de los Pimelodinos presentan una membrana embrionaria de forma triangular y tres pares de barbillas, una maxilar y dos mentonianas, donde el primer par sobrepasa la abertura anal (Fotos 1 y 2). Particularmente para larvas del género *Pimelodus*, se vio que el diámetro del ojo supera un 57-59% al largo del hocico ( $DO/LH=0.57$  para *Pimelodus* sp1 y  $0.59$  para *Pimelodus* sp2). En las muestras analizadas se observaron ejemplares con número de miómeros variables, 18 a 21 miómeros post-anales en el caso de *Pimelodus* sp 1 (Foto 1a); y 19 a 24 en el caso de *Pimelodus* sp2 (Foto 1b; ver Análisis de Componente Principal para Pimelodinos en pág. 36). Con una diferencia de 4 miómeros en promedio entre pre y post anal para *Pimelodus* sp1, y de 6 para *Pimelodus* sp2. Por otro lado, se muestra contenido de *Pimelodus* sp2 (Foto 1c y 1d) y en particular ejemplares de *L. fortunei*.

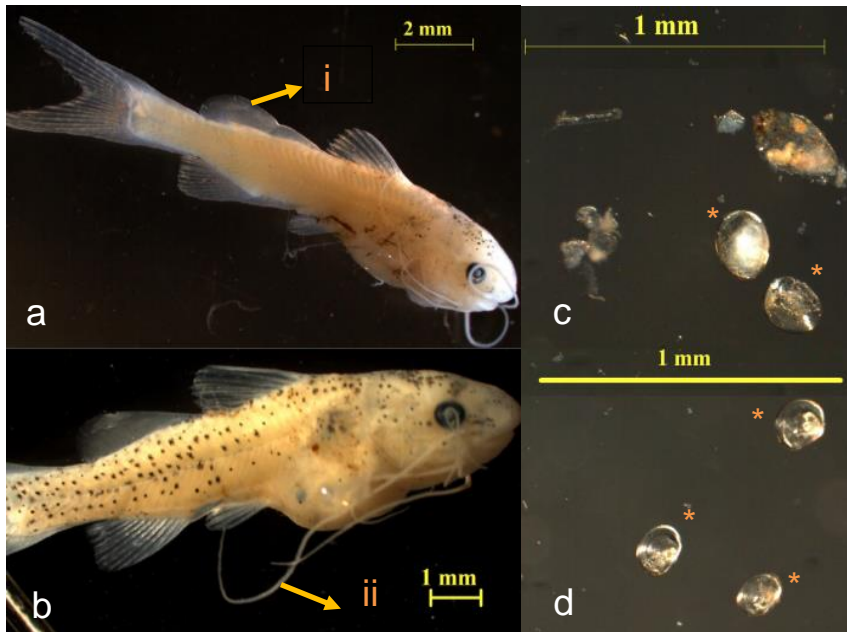


Foto 1: Captura de ejemplares del género *Pimelodus*. (a) *Pimelodus* sp1; (b) *Pimelodus* sp2; (i) membrana embrionaria triangular; (ii) barbilla maxilar sobrepasando abertura anal; (c) parte de su contenido: (\*) velígeras de *L. fortunei*. (d) ejemplares de velígeras en contenido.

Pimelodidae (*Pimelodus maculatus*)

Fueron mayormente protolarvas/mesolarvas de gran tamaño (largo estándar medio, LS: 12.83 mm), que ajustaron a las descripciones de la familia Pimelodidae. Presentaron pigmentación distribuida irregularmente por todo el cuerpo (Foto 2a), que posteriormente en el desarrollo se concentra en la región cefálica dorsal (Foto 2b) tal como se describe en Nakatani et al. (2001). En particular las larvas que ajustaron a la descripción de *P. maculatus* presentaron proporciones similares a individuos *Pimelodus* spp., pero en este caso se observaron pequeñas diferencias entre la proporción diámetro del ojo/largo hocico (DO/LH), siendo menor para *P. maculatus*. Por otro lado el rango de miómeros pre-anales fue de 12 a 16, y en el caso de post-anales 18 a 25. Se observaron en el contenido cladóceros (Foto 2d), restos de artrópodos (Foto 2c) y larvas de peces, además de *L. fortunei*.



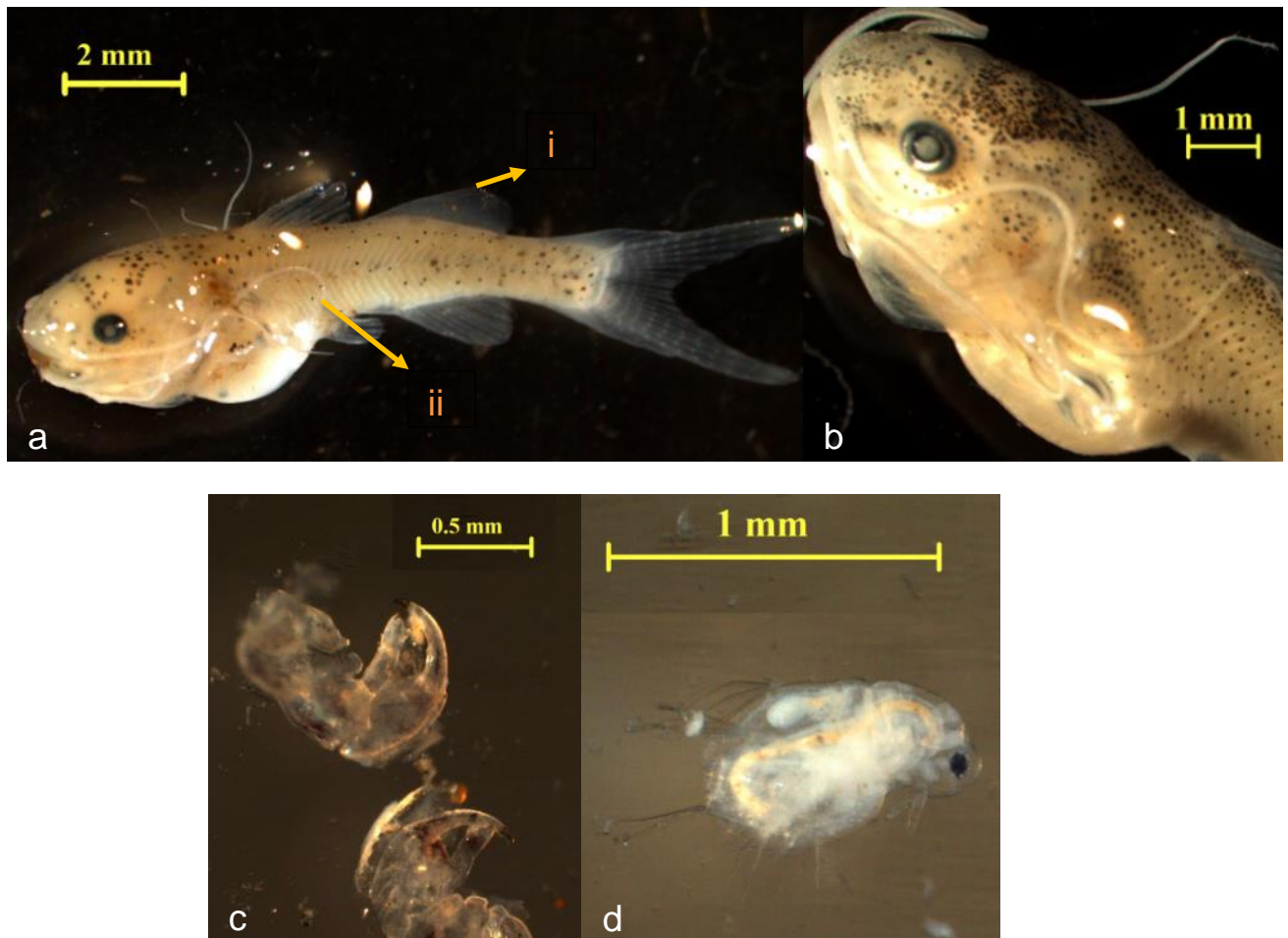


Foto 2: Captura de ejemplares *P. maculatus*. (a) vista lateral; (b) detalle de cabeza con pigmentación cefálica; (i) membrana embrionaria triangular; (ii) barbilla maxilar sobrepasando abertura anal. Parte de su contenido: (c) restos de artrópodo y (d) cladóceros.

Pimelodidae (*Iheringichthys labrosus*)

Estas larvas presentan un largo estándar promedio (LS) de 12.98 mm y una altura (A) de 2.61 mm. Como los demás pimelodinos, poseen un par de barbillas maxilares y dos pares de mentonianas. En este caso las barbillas maxilares se encuentran muy desarrolladas, sobrepasando el inicio de la aleta anal (ver Foto 3a, i). El intestino sobrepasa la porción media del cuerpo. Poseen pigmentación distribuida a lo largo del cuerpo y la cabeza.

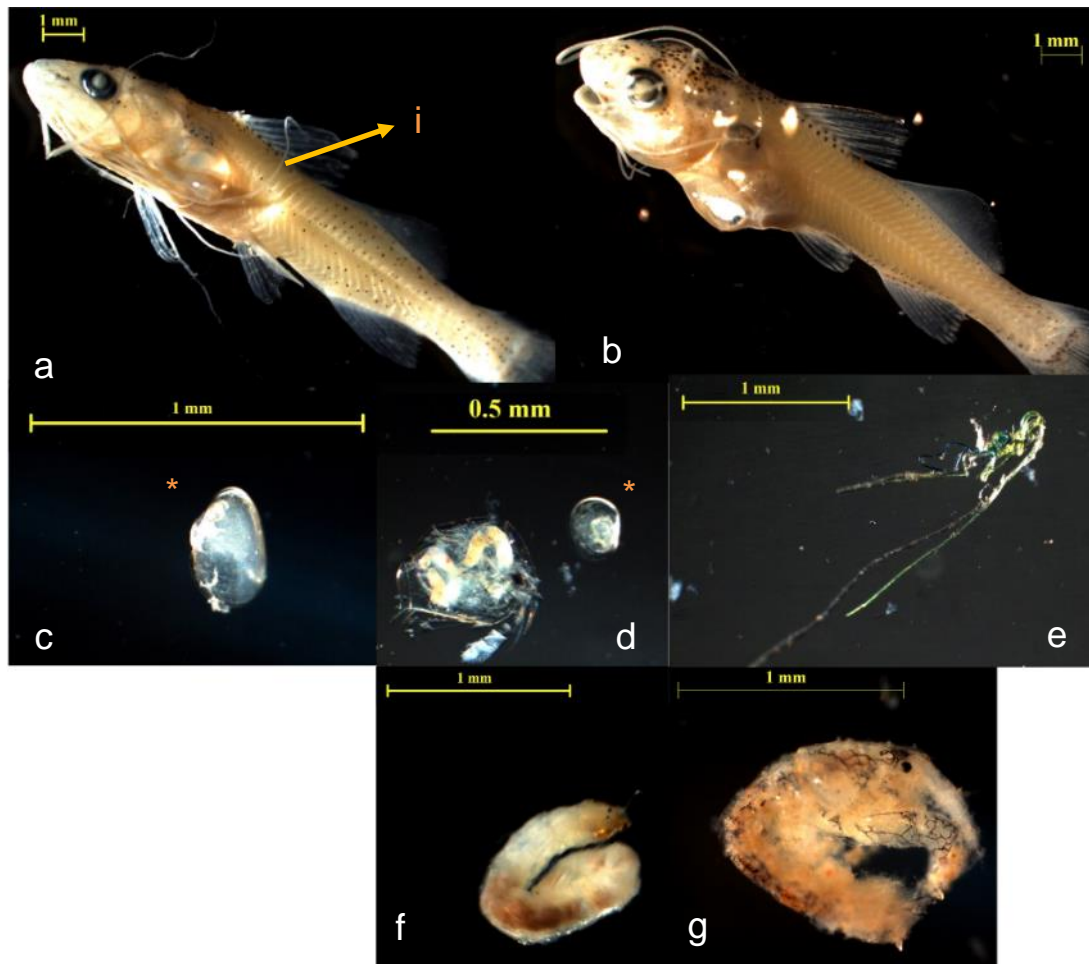


Foto 3: Captura de ejemplares *I. labrosus* en vista lateral (a y b). (i) barbilla maxilar sobrepasando el inicio de la aleta anal; conteniendo (c y d) *L. fortunei* (\*) y otro tipo de contenido estomacal como (d) cladóceros, (f) chironómidos y (g) otros artrópodos, incluso se encontraron en contenido estomacal (e) restos de microplásticos en forma de fibras.

### Loricariidae

Los ejemplares que ajustaron a esta clasificación presentaron aplanamiento dorso-ventral, barbillas rudimentarias, placas dérmicas ubicadas a lo largo del cuerpo y boca ventral en forma de ventosa, tal como se indica en Nakatani et al. (2001) (ver Foto 4a y 4b). Dicha bibliografía indica que dentro de esta familia, en particular *Rhinelepsis strigosa* Valenciennes, 1840 (presente en el río Paraná), los individuos presentan de 22 a 26 miómeros totales. En las muestras analizadas durante este trabajo se han contado hasta 45 miómeros totales, por ende dichos ejemplares ajustarían a otra especie. Por otro lado, presentaron un largo estándar medio (LS) de 15.14 mm.



Foto 4: Captura de ejemplares de la Familia Loricariidae. (a) vista dorsal; (b) vista ventral.

## CHARACIFORMES

### Anostomidae (*Leporinus* sp.)

Las protolarvas de la familia Anostomidae se caracterizaron por una amplia variación en el número de miómeros (entre 10 a 29 pre-anales y 9 a 34 post-anales). Se destaca que poseen la abertura anal situada en el medio del cuerpo o sobrepasándolo (ver Foto 5a) y por una boca generalmente subsuperior. En particular las protolarvas que ajustaron al género *Leporinus* sp. presentaron en promedio un largo estándar (LS) de 5.65 mm, largo de cabeza (LC) 1.12 mm y diámetro del ojo (DO) 0.28 mm, este último valor es menor al del sábalo (Fam. Prochilodontidae, ver descripción más adelante) y resulta importante para diferenciarlos. Las larvas tuvieron un rango de 23 a 29 miómeros pre-anales, siendo mayor este comparado al de Anostomidae no identificados (20 a 26). Los miómeros post-anales variaron entre 11 y 17.

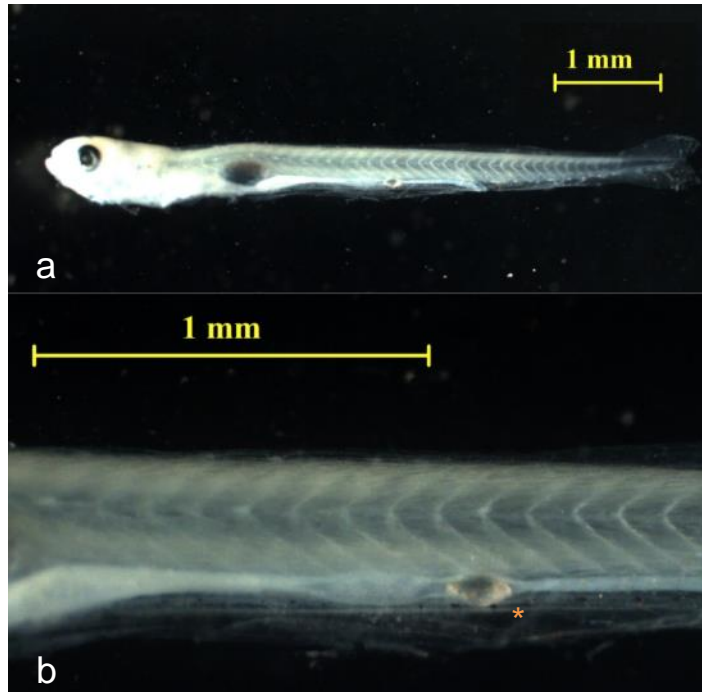


Foto 5: Capturas de ejemplar de *Leporinus* sp.(a) vista lateral; (b) detalle del contenido (\**L. fortunei*).

Anostomidae (*Leporinus obtusidens*)

El ejemplar que ajustó a la descripción tuvo un largo estándar (LS) promedio de 4.34 mm, largo de cabeza (LC) 0.90 mm, 21 miómeros pre-anales y 15 post-anales. Con mismas características que *Leporinus* sp., como la extensión del intestino alcanzando parte posterior corporal y la boca presentando una protusión en el maxilar inferior (prognata) (Foto 6).

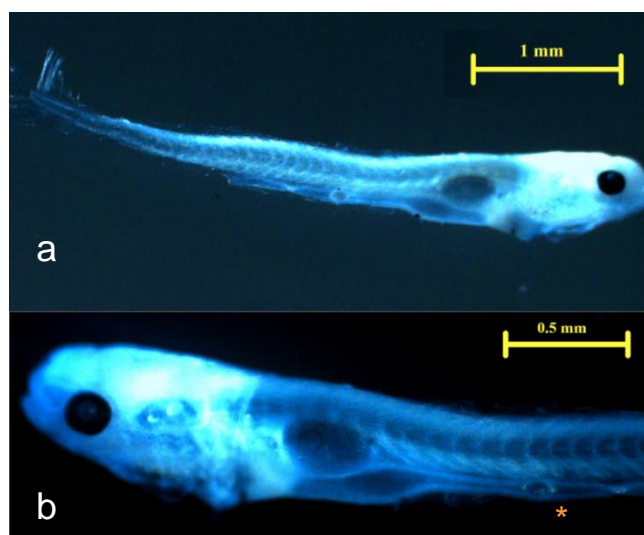


Foto 6: Capturas de ejemplar de *L. obtusidens* (a) vista lateral; (b) detalle del contenido (\**L. fortunei*).

### Prochilodontidae

Las larvas que ajustaron a la familia Prochilodontidae presentan un intestino largo alcanzando la porción final del cuerpo, y en el caso de la boca, es terminal y protráctil. Las protolarvas fueron relativamente grandes, con un largo estándar promedio (LS) de 7.00 mm, un largo de la cabeza (LC) de 1.34 mm, altura de cuerpo (A) de 0.81 mm y un diámetro del ojo (DO) de 0.37 mm, siendo este último valor mayor al de las larvas de la familia Anostomidae ya mencionadas (DO = 0.28 mm). Los miómeros pre-anales tuvieron rango desde 25 a 28, y los post-anales desde 11 a 17. Ver Foto 7.



Foto 7: Captura de ejemplar de Familia Prochilodontidae en vista lateral.

### Aphyocharacinae

La protolarva que ajustó a la subfamilia presentó intestino extendido hasta la porción posterior del cuerpo, boca terminal con maxilar alcanzando el margen del ojo, y vejiga natatoria pigmentada en zona superior (Foto 8, i). El largo estándar promedio (LS) fue de 3.95 mm, el diámetro del ojo (DO) fue de 0.18 mm y presentó 20 miómeros pre-anales y 15 post-anales. Foto 8 y Tabla 3.

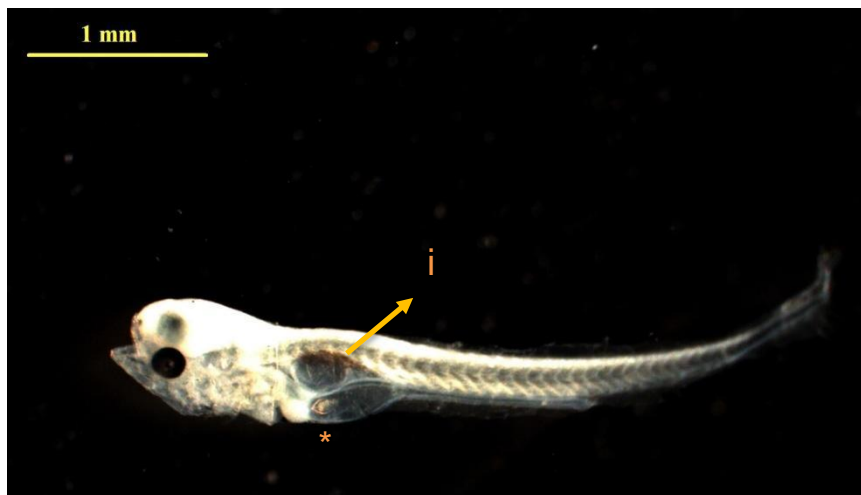


Foto 8: Captura de ejemplar de SubF. Aphyocharacinae en vista lateral. (i) vejiga natatoria pigmentada en zona superior; *L. fortunei* en su contenido estomacal (\*).

Aphyocharacinae (*Bryconamericus* sp.)

Las protolarvas que ajustaron a dicho taxón presentaron un largo estándar promedio (LS) de 3.82 mm, un diámetro del ojo (DO) de 0.26 mm y un rango muy variado de miómeros, tanto pre-anales (de 13 a 25) como post-anales (de 13 a 23). Se destaca que la proporción del ojo fue un 125% mayor con respecto al hocico (DO/LH = 1.25; Foto 9a, i.).

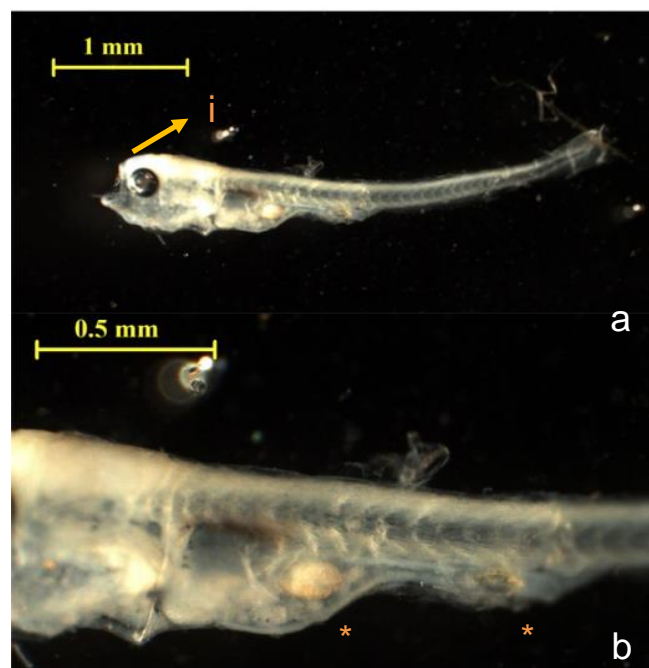


Foto 9: Capturas de ejemplar *Bryconamericus* sp. (a) vista lateral; (i) proporción DO/LH = 1.25; (b) detalle del contenido (\**L. fortunei*).



### Aphyocharacinae (*Bryconamericus stramineus*)

Las protolarvas que ajustaron a esta clasificación presentaron un largo estándar (LS) de 3.83 mm, altura (A) de 0.53 mm, diámetro del ojo (DO) de 0.25 mm y boca terminal. Se distingue en su morfología al *Bryconamericus* sp. debido a los miómeros, difieren en número previo y posterior al ano. En *B. stramineus* se vio un rango de 10 a 16 pre-anales y 15 a 27 post-anales, siendo este último mayor aunque similar a *Bryconamericus* sp. En cambio, para el valor de miómeros pre-anales fue menor en el caso de *B. stramineus*. Foto 10.

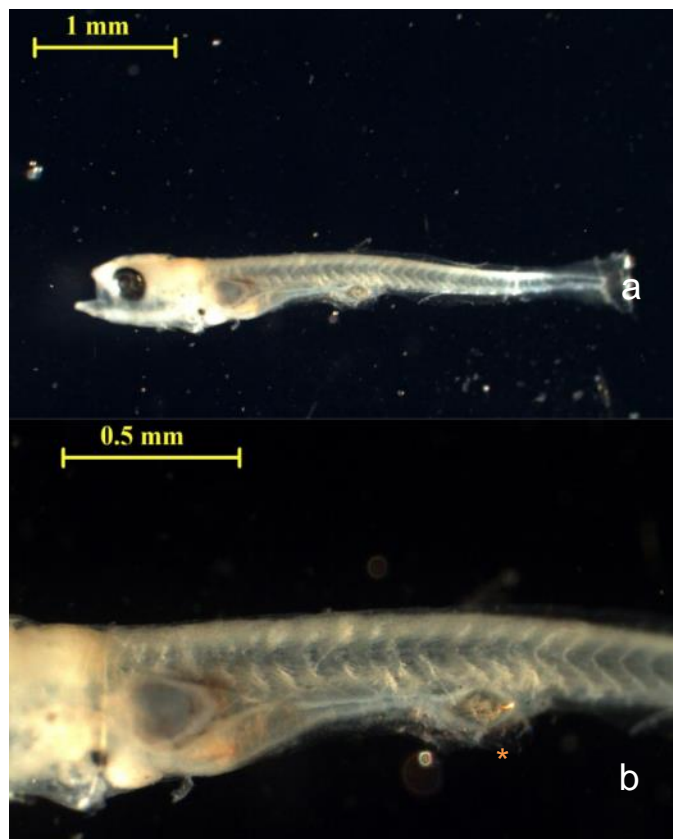


Foto 10: Capturas de ejemplar *B. stramineus* (a) vista lateral; (b) detalle del contenido (\**L. fortunei*).

### Tetragonopterinae

Los ejemplares que ajustaron a esta clasificación tuvieron en promedio un largo estándar (LS) de 4.24 mm, el largo de cabeza (LC) fue de 0.89 mm, el diámetro del ojo (DO) de 0.29 mm y una altura de cuerpo (A) de 0.65 mm. Se destaca que la proporción del diámetro del ojo con respecto a la cabeza es mayor al de las demás mojarras como *Bryconamericus* spp.

(DO/LC=0.33, ver Foto 11a, i). Los miómeros pre-anales y post-anales variaron en gran medida entre los distintos ejemplares.

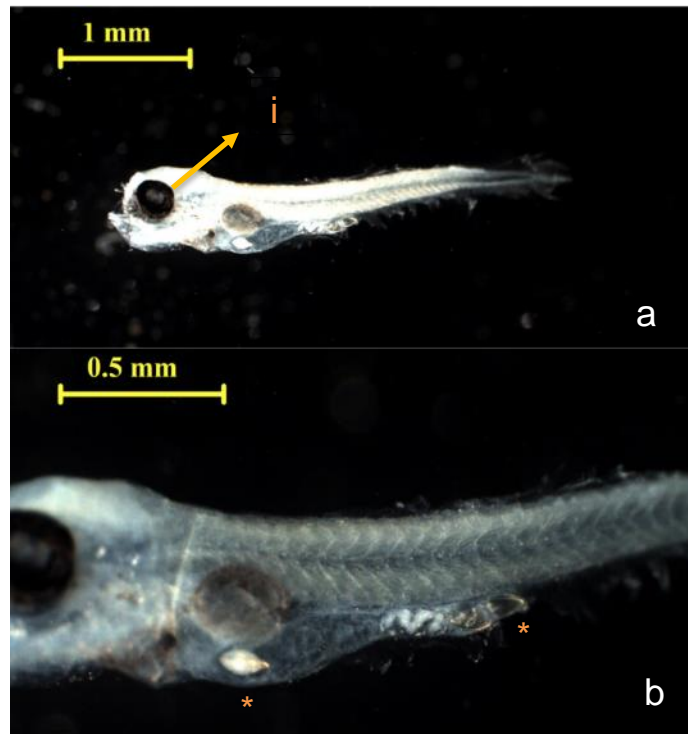


Foto 11: Capturas de ejemplar de SubF. Tetragonopterinae. (a) vista lateral; (i) proporción DO/LC = 0.33; (b) detalle del contenido (\**L. fortunei*, y otros).

### Characinae

Los miembros de esta familia (dientudos) presentan dientes desarrollados a lo largo del maxilar desde el estadio de protolarvas (Foto 12c). El largo estándar promedio (LS) fue de 3.77 mm y la altura de la cabeza (A) fue de 0.57 mm. Se destacaron por sus ojos pequeños que representan un 24% del largo de su cabeza (DO/LC = 0.24, ver Foto 12a, i). Los miómeros preanales estuvieron en el rango de 13 a 23 y los postanales de 11 a 20. No se observó la pigmentación intensa en las maxilas, señalada en la clave de Nakatani et al. (2001). Ver Foto 12.



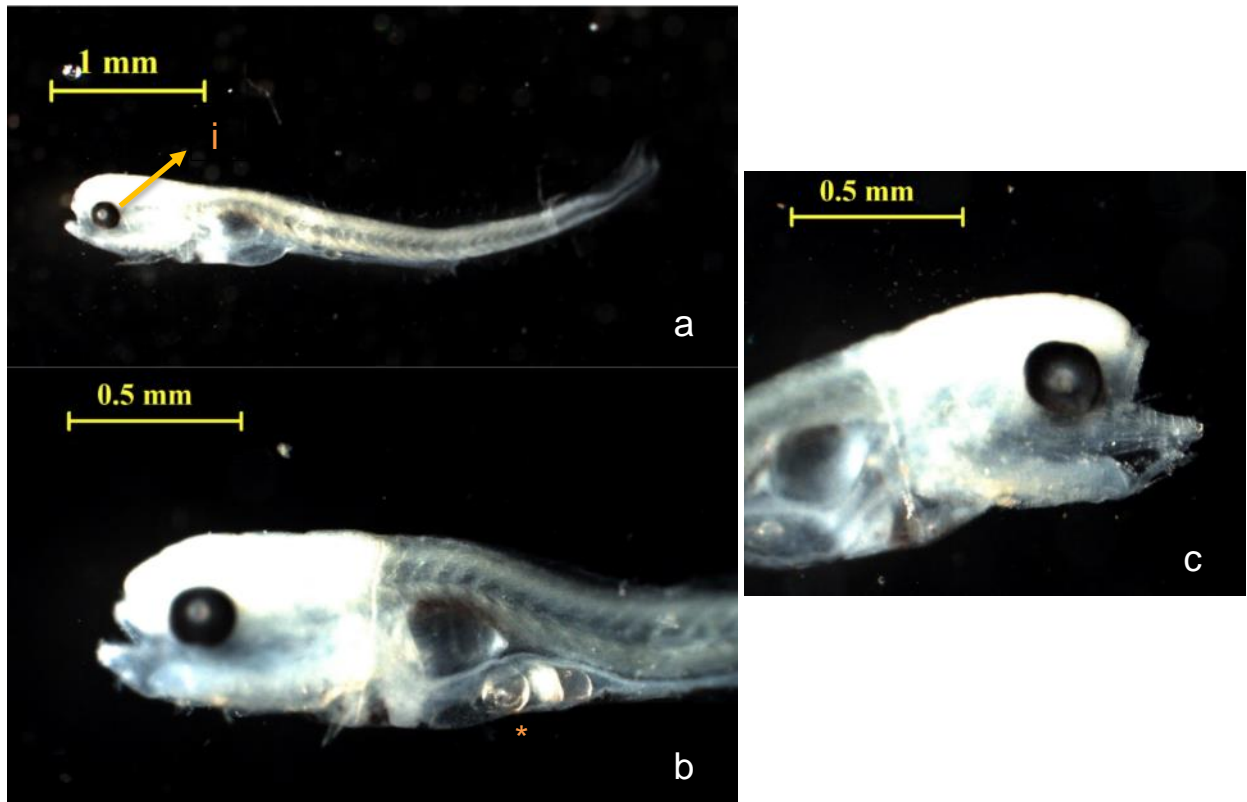


Foto 12: Capturas de ejemplares de SubF. Characinae. (a) vista lateral; (i) proporción DO/LC = 0.24; (b) detalle del contenido (\**L. fortunei*); (c) detalle de dientes en maxilares.

#### Stethaprioninae (*Hyphessobrycon eques*)

Los ejemplares ajustaron a esta clasificación por presentar una longitud estándar promedio (LS) de 3.80 mm, un largo de cabeza (LC) de 0.88 mm, un diámetro del ojo (DO) de 0.26 mm, una altura promedio (A) de 0.56 mm, y miómeros preanales y postanales con rango desde 13 a 15 y 19 a 20 respectivamente, siendo relativamente acorde a lo señalado en la clave dicotómica (hasta 33 miómeros totales). Poseen ojos grandes representando un 30% del largo de la cabeza (DO/LC = 0.30, ver Foto 13, i). La boca es terminal y el intestino alcanza la porción media del cuerpo, sin sobrepasarla. Posee pigmentación distribuida a lo largo del cuerpo y la cabeza.

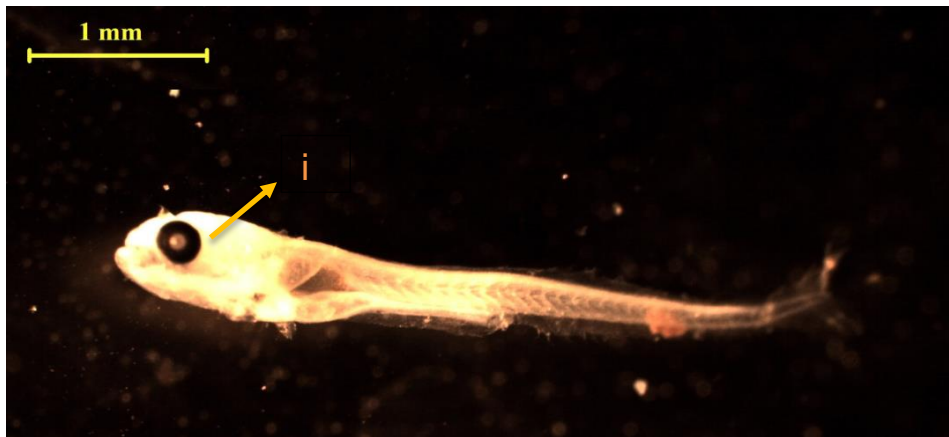


Foto 13: Captura de ejemplar *H. eques* en vista lateral. (i) proporción  $DO/LC=0.30$ .

## PERCIFORMES

### Scienidae (*Plagioscion* sp.)

Los ejemplares que ajustaron a esta descripción presentaron un largo estándar promedio (LS) de 2.14 mm, largo de la cabeza (LC) de 0.53 mm, largo del hocico (LH) de 0.12 mm, un diámetro del ojo (DO) extenso de 0.23 mm representando un 44% de la cabeza ( $DO/LC = 0.44$ , ver Foto 13, i), y un 190% del largo del hocico ( $DO/LH = 1.9$ , ver Foto 14, ii). La boca es grande y oblicua. La notocorda es evidente a la vista y el intestino no alcanza la porción media del cuerpo. Ver Foto 14.

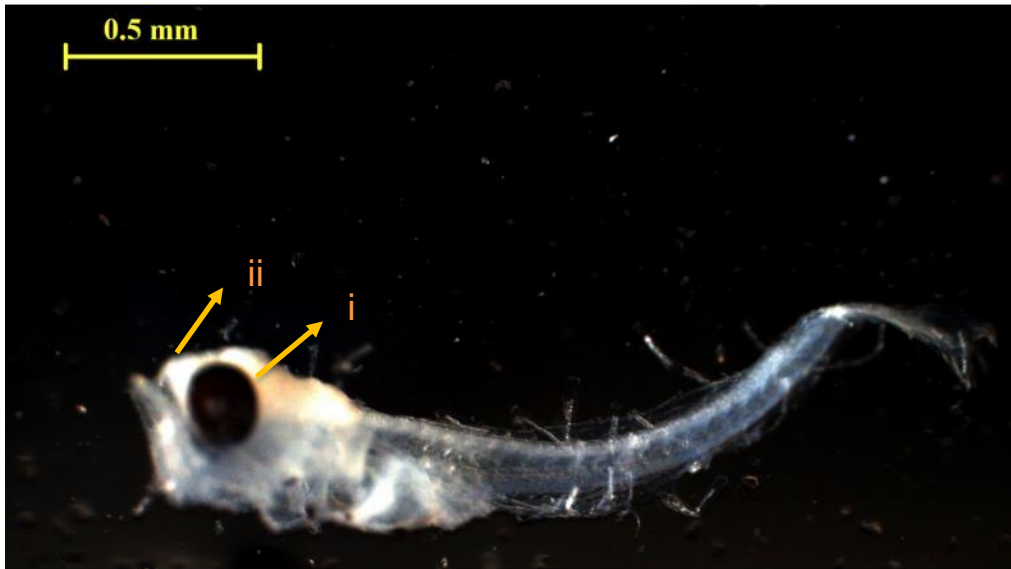


Foto 14: Captura de ejemplar *Plagioscion* sp. en vista lateral. (i) proporción DO/LC = 0.44; (ii) proporción DO/LH =

1.9

## PLEURONECTIFORMES

### *Achiridae (Catathyridium jenynsii)*

Son protolarvas pequeñas de largo estándar promedio (LS) de 2.48 mm, con una altura (A) de 0.55 mm, un largo de cabeza (LC) de 0.61 mm y ojos grandes de diámetro (DO) de 0.36 mm, aproximadamente 20% mayor al largo del hocico (DO/LH = 1.19, ver Foto 15b, i). Son larvas altas representando un 23% del largo estándar (A/LS = 0.23). Los miómeros preanales tuvieron rango de 8 a 16 y los postanales de 8 a 18. Se destaca que la morfología del estómago es bastante particular, siendo de gran tamaño y pigmentada. Ver Foto 15.

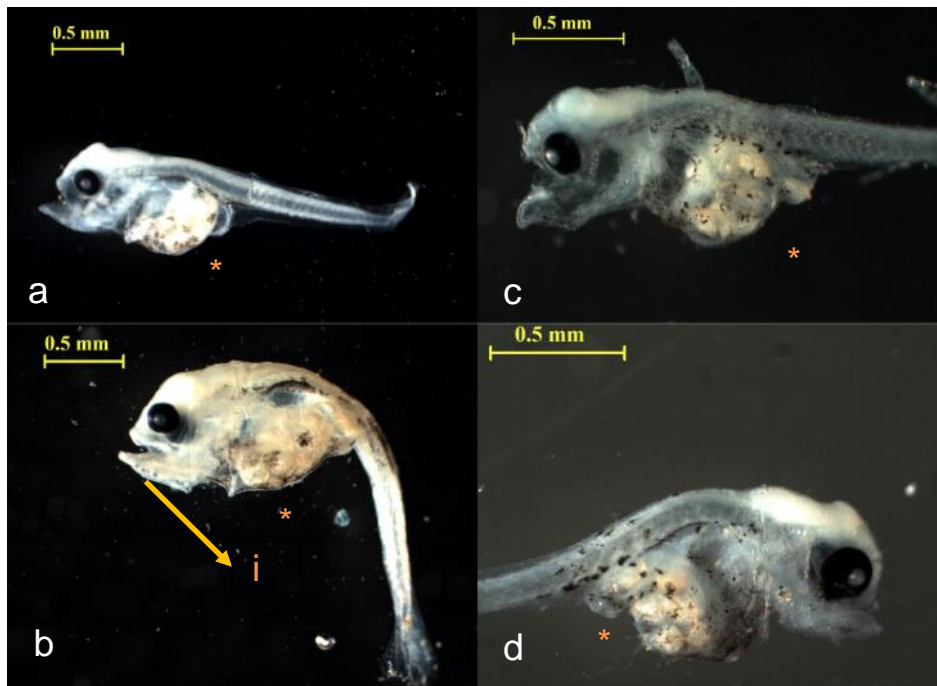


Foto 15: Captura de ejemplares *C. jenymsii* en vista lateral (a) y (b); (i) proporción DO/LH = 1.19; gran cantidad de velígeras de *L. fortunei* (\*) en contenido, acercamiento en (c y d).

Taxón	LS (mm)	LC (mm)	LH (mm)	A (mm)	DO (mm)	LC/LS	DO/LC	DO/LH	LH/LC	A/LS	Miómeros pre-anal	Miómeros post-anal
<b>Siluriformes</b>												
Fam. Pimelodidae NI	4,05	0,87	0,20	0,61	0,13	0,21	0,15	0,66	0,23	0,15	13 a 15	16 a 31
<i>Pimelodus</i> sp1	12,03	3,36	1,25	2,70	0,70	0,28	0,21	0,57	0,36	0,22	13 a 17	18 a 21
<i>Pimelodus</i> sp2	11,49	3,51	1,25	2,80	0,73	0,29	0,21	0,59	0,35	0,22	14 a 16	19 a 24
<i>Pimelodus maculatus</i>	12,83	3,57	1,41	2,90	0,72	0,28	0,20	0,51	0,39	0,23	12 a 16	18 a 25
<i>Iheringichthys labrosus</i>	12,98	3,72	1,31	2,61	0,93	0,29	0,25	0,72	0,35	0,20	13 a 16	21 a 24
Fam. Loricariidae NI	15,14	3,31	1,52	2,31	0,82	0,22	0,25	0,66	0,44	0,17	24	21
<b>Characiformes</b>												
Fam. Anostomidae NI	5,47	1,07	0,27	0,57	0,25	0,20	0,24	0,93	0,25	0,11	20 a 26	12 a 15
<i>Leporinus</i> sp.	5,65	1,12	-	0,63	0,28	0,20	0,25	-	-	0,11	23 a 29	11 a 17
<i>Leporinus obtusidens</i>	4,34	0,90	-	0,65	0,20	0,21	0,22	-	-	0,15	21	15
SubF. Aphyocharacinae	3,95	0,84	-	0,49	0,18	0,21	0,21	-	-	0,12	20	14
<i>Bryconamericus</i> sp.	3,82	0,85	0,21	0,58	0,26	0,22	0,31	1,25	0,26	0,15	13 a 25	13 a 23
<i>Bryconamericus stramineus</i>	3,83	0,83	-	0,53	0,25	0,21	0,31	-	-	0,14	10 a 16	15 a 27
SubF. Tetragonopterinae	4,24	0,89	-	0,65	0,29	0,21	0,33	-	-	0,15	13 a 22	9 a 24
SubF. Characinae	3,76	0,85	0,23	0,57	0,20	0,23	0,24	0,85	0,27	0,15	13 a 23	11 a 20
SubF. Stethaprioninae												
<i>Hyphessobrycon eques</i>	3,80	0,88	-	0,56	0,26	0,23	0,31	-	-	0,15	13 a 15	19 a 20
Fam. Prochilodontidae NI	7,00	1,34	-	0,81	0,37	0,19	0,27	-	-	0,12	25 a 28	11 a 17
<i>Prochilodus lineatus</i>	3,66	0,83	-	0,38	0,17	0,23	0,21	-	-	0,10	20	12
<b>Pleuronectiformes</b>												
<i>Catathyridium jenynsii</i>	2,48	0,61	0,19	0,55	0,21	0,25	0,36	1,19	0,24	0,23	8 a 16	8 a 18
<b>Perciformes</b>												
Fam. Scienidae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>Plagioscion</i> sp.	2,14	0,53	0,12	0,37	0,23	0,25	0,44	1,90	0,23	0,17	-	-

Tabla 4: Descripción morfológica de los taxones identificados utilizando clave dicotómica Nakatani et al. (2001). Se muestran los valores promedios de cada variable, y en el caso de los miómeros el rango. Largo estándar (LS); largo de cabeza (LC); largo del hocico (LH), alto (A), diámetro del ojo (DO), proporciones entre las variables (LC/LS, DO/LC, DO/LH, LH/LC y A/LC). Se subrayan los nuevos predadores de *L. fortunei*. NI corresponde a larvas no identificadas a un mayor nivel taxonómico que el indicado.

## Análisis de Componente Principal

Se realizó un análisis adicional por Análisis del Componente Principal (PCA) para la mayoría de los 19 grupos taxonómicos identificados como larvas de peces predadores de *Limnoperna*. Dicho análisis fue realizado sobre los datos morfológicos para detectar variaciones en la morfología que pudieran sustentar la existencia de especies no descritas en las claves de identificación usadas. Estos resultados nos indicaron que se llegaría a 21 taxones en total, con algunos cambios dentro de los grupos. Para los taxones *Plagioscion* sp., Loricariidae y *C. jenynsii* no se realizaron PCA por el bajo N o por constituir grupos morfológicamente homogéneos. Para los restantes grupos se separaron los individuos por grupos taxonómicos principales (Familia por ejemplo) y se realizó un PCA en cada caso. Se muestran los resultados según los siguientes grupos:

- Pimelodidae

Los grupos utilizados para el PCA fueron: *I. labrosus* (Ila); *Pimelodus* sp1 (Pdus); *P. maculatus* (Pma); *Pimelodus* sp2 (PdusX); Pimelodidae NI (Pidae). Los ejes 1 y 2 del PCA explicaron el 59.5 y 20.1 % de la varianza observada (Figura 4), respectivamente.

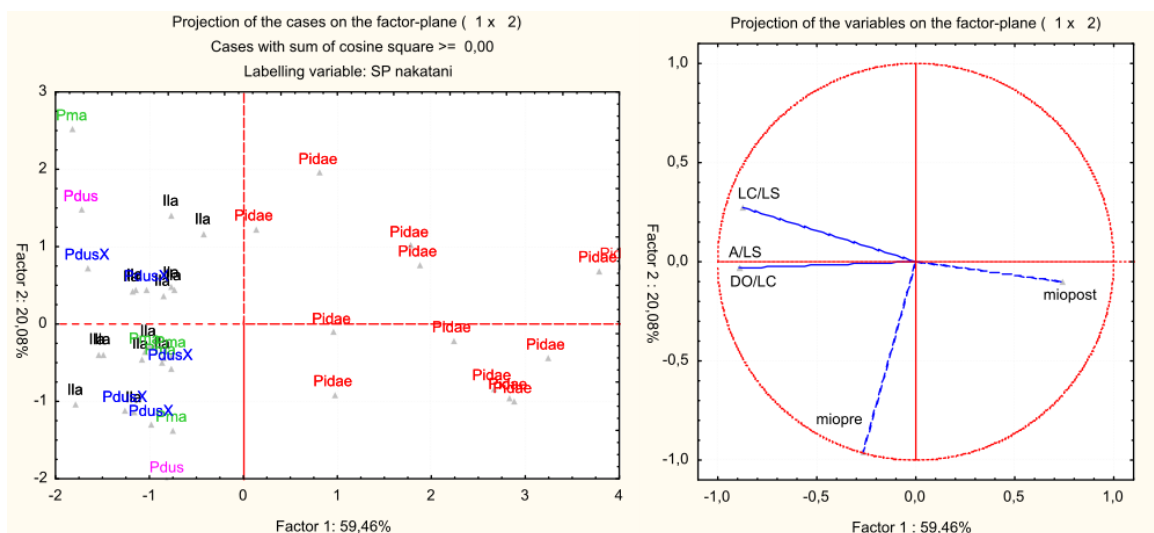


Figura 4: Gráfico de componentes principales morfológicos para la Familia Pimelodidae.

Para el grupo Pimelodidos se observó una clara separación de larvas agrupadas como Pimelodidos NI (no identificados) del resto de las especies y géneros, siendo las variables morfológicas de número de miómeros post-anales (miopost), proporciones de altura sobre el largo estándar (A/LS) y diámetro del ojo con respecto al largo de la cabeza (DO/LC) los factores de mayor peso en el eje 1. El resto de los miembros de la Familia Pimelodidae identificados a nivel de género o especie presentaron características similares siendo más relevante el número de miómeros pre-anales (miopre) y en menor medida las proporciones de las relaciones del largo de cabeza con el largo estándar (LC/LS), altura con el largo estándar (A/LS) y diámetro del ojo con el largo de la cabeza (DO/LC). A pesar de la variabilidad expresada en el eje 2 (20.1%) asociada a estas variables morfológicas, los ejemplares no parecen agruparse en base a ellas. Dado estos resultados se decidió conservar las morfoespecies del género *Pimelodus*, e incluir ejemplares de cada una para el análisis de ADN.

- “Mojarras” y otros characiformes

Como primer paso dentro del orden de los Characiformes, se realizó un PCA para separar los grandes grupos y luego poder concentrarse en la variabilidad dentro de ellos. Se utilizaron los siguientes taxones para el PCA: Characiformes NI (Chara); *Bryconamericus* sp. (Bry sp); *B. stramineus* (BryStr); Tetragonopterinae NI (Tetra); mojarra 1, correspondiente a una posible

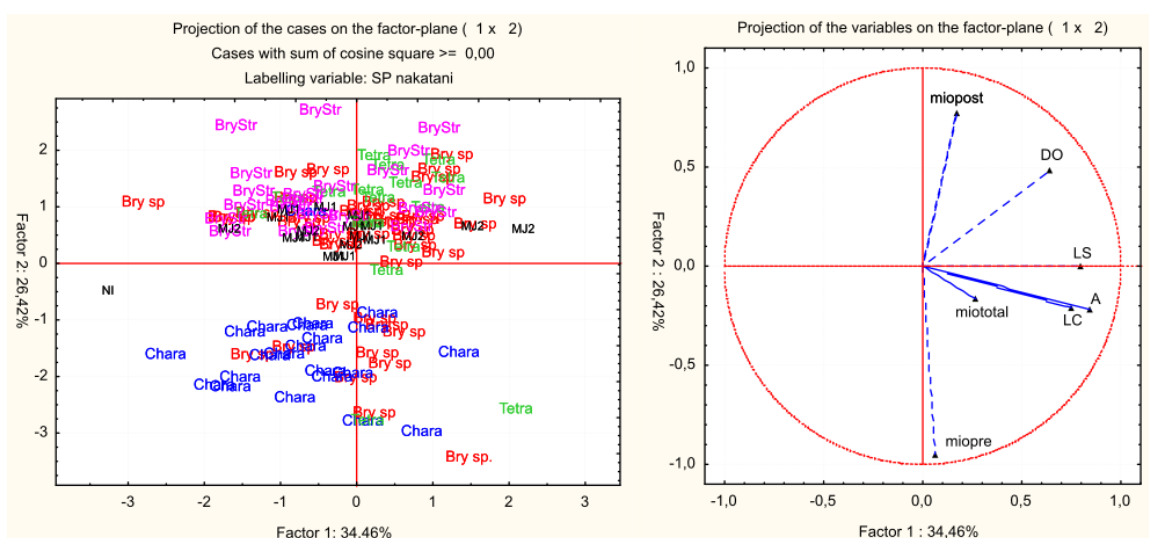


Figura 5: Gráfico de componentes principales morfológicos para Characiformes y “mojarras”.

variante de *B. stramineus* (MJ1); mojarra 2, correspondiente a una posible variante de *Bryconamericus* sp. (MJ2) y algunas larvas no identificadas (NI). El eje 1 explica el 34.5% de la varianza observada y el eje 2 el 26.4% (Figura 5). Para este grupo notamos en general una clara separación entre ejemplares denominados como Characiformes NI y el resto de los taxones, con la excepción de algunos ejemplares de *Bryconamericus* sp. Las diferencias se explican mayormente por el número de miómeros pre-anales (miopre) y post-anales (miopost) en el eje 2. No se observa una separación entre *Bryconamericus* sp., *B. stramineus* y Tetragonopterinae.

- Tetragonopterinae

Los taxones utilizados para el PCA fueron: *Bryconamericus* sp. (Bry sp); *B. stramineus* (BryStr): Tetragonopterinae NI (Tetra); mojarra 1 (MJ1); y mojarra 2 (MJ2). Los ejes 1 y 2 del PCA explicaron el 40.2 y 25.5 % de la varianza observada (Figura 6), respectivamente.

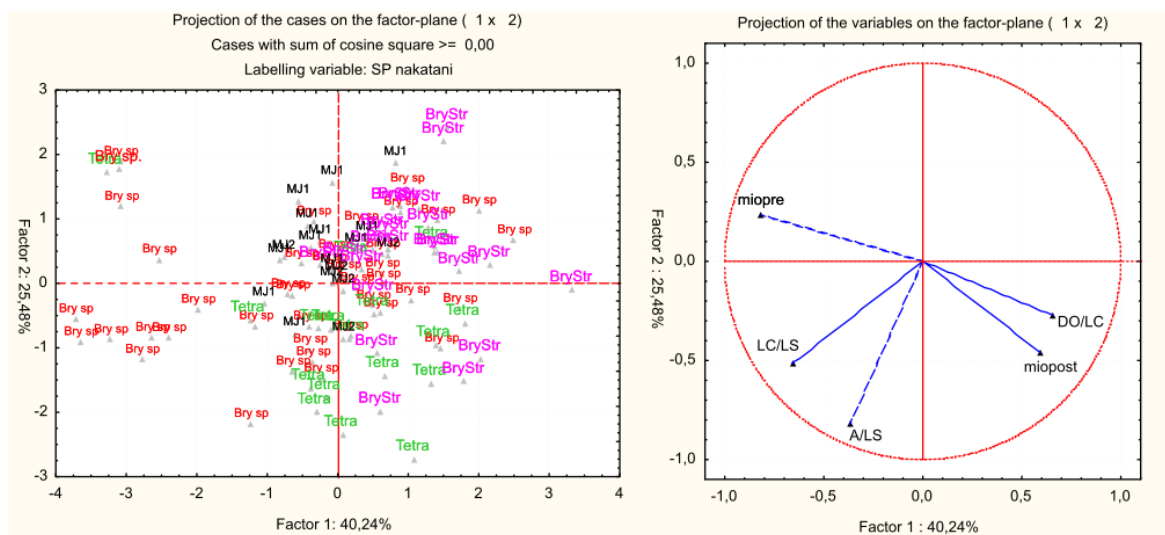


Figura 6: Gráfico de componentes principales morfológicos para la Subfamilia Tetragonopterinae.

En este caso notamos que las larvas *B. stramineus* se separan bien del resto debido a las variables morfológicas de proporción del diámetro del ojo con respecto al largo de la cabeza (DO/LC) y al número de miómeros pre-anales (miopre) en el eje 1. En este mismo eje se observó una separación dentro del grupo de larvas *Bryconamericus* sp., quedando dos



agrupaciones de larvas diferenciadas por las variables morfológicas DO/LC, número de miómeros pre y post-anales (miopost). En cuanto a las larvas Tetragonopterinae NI, se separan de MJ1 y MJ2 por diferencias en la variable de proporción de la altura sobre el largo estándar (A/LS) del eje 2. Las larvas MJ1 y MJ2 no presentaron diferencias morfológicas con respecto a las larvas del género *Bryconamericus*.

- Characiformes

Se utilizaron los siguientes taxones para realizar el PCA: *Leporinus* sp. (BOG); Prochilodontidae NI (SAB); y Characinae (DIE). Los resultados nos indican que el eje 1 explica el 52.0% de la varianza observada, y el eje 2 el 21.1% de dicha varianza (Figura 7). Se observó una separación clara de las larvas agrupadas como Characinae con respecto al resto de los taxones, con excepción de algunas larvas *Leporinus* sp. Dicha separación es explicada principalmente por la variable morfológica de proporción del largo de la cabeza con respecto al largo estándar (LC/LS), y en menor medida por la proporción de altura sobre el largo estándar (A/LS) y el número de miómeros pre-anales (miopre) dada por el eje 1. Dentro de los dientudos (DIE), el análisis de componente principal parece separar potencialmente (a chequear por identificación molecular) larvas con distinto número de miómeros post-anales pudiendo

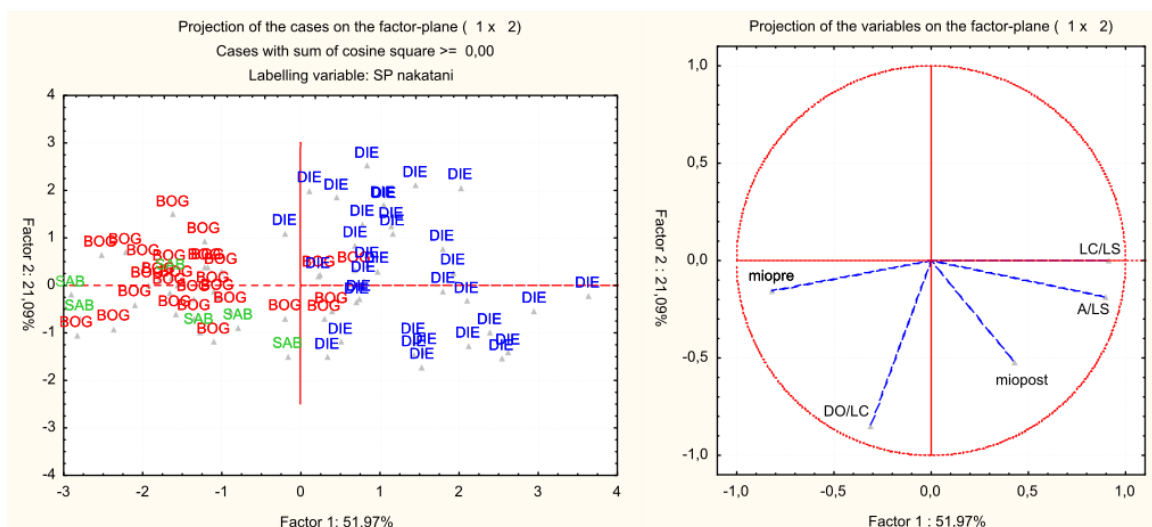


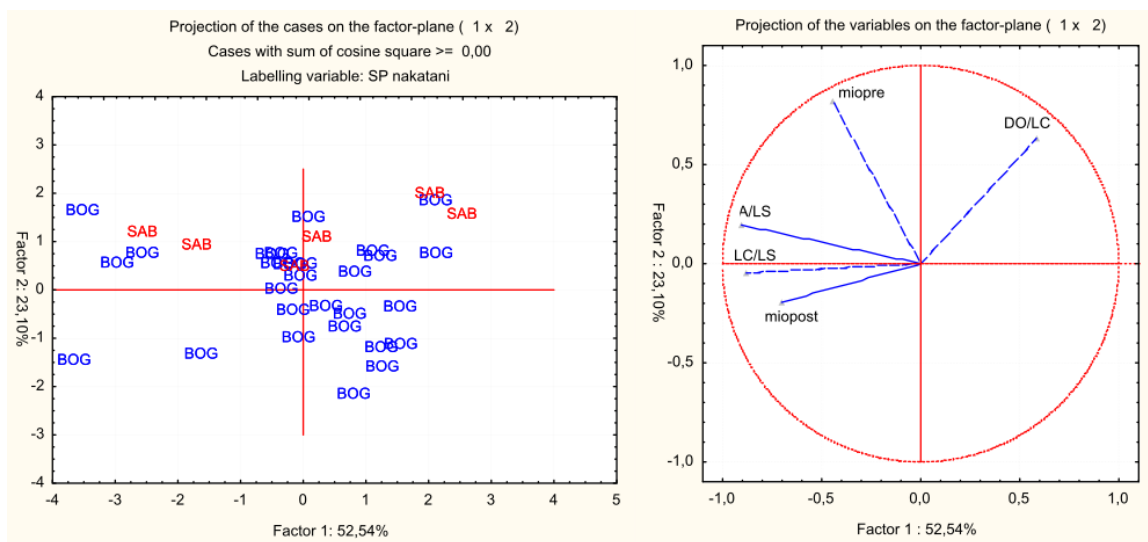
Figura 7: Gráfico de componentes principales morfológicos para el orden Characiformes.

significar la presencia de distintas especies, o simplemente deberse a una variación a lo largo del desarrollo. Tanto los sábalos (SAB) como las bogas (BOG) se agruparon del otro lado del

eje 1, por tener mayor número de miómeros pre-anales y por ser larvas con menor proporción A/LS. En general, se observó que los sábalos tienen una mayor proporción del diámetro del ojo con respecto al largo de la cabeza (DO/LC) a comparación de las bogas, según el eje 2.

- Anostomidae y Prochilodontidae

Para mayor detalle dentro de los Characiformes, se realizó un PCA con los taxones *Leporinus* sp. (BOG) y Prochilodontidae NI (SAB). Los resultados indican que el eje 1 explica el 52.5% de la varianza, y el eje 2 el 23.1% (Figura 8). Para el primero, las variables morfológicas que explican dicha varianza fueron las proporciones entre el largo de la cabeza y largo estándar (LC/LS) y alto total-largo estándar (A/LS), además del número de miómeros post-anales (miopost). En el caso del eje 2, se rige por las diferencias en proporción ojo-



**Figura 8:** Gráfico de componentes principales morfológicos para sábalo y boga.

cabeza (DO/LC) y el número de miómeros pre-anales (miopre). Notamos para los sábalos, valores mayores de estas últimas variables morfológicas, con respecto a las bogas que poseen una menor proporción ojo-cabeza y número menor de miómeros pre-anales. Estos resultados coinciden de forma aproximada a lo que se observó en base a la clave dicotómica (Tabla 4).

De esta forma, se podrían considerar hasta 21 taxones de larvas de peces predadores de *L. fortunei*: *B. stramineus*, *Bryconamericus* sp1, *Bryconamericus* sp2, Tetragonopterinae NI,

Characinae 1 y 2 (DIE), Prochilodontidae NI, *P. lineatus*, Anostomidae NI, *L. obtusidens*, *Leporinus* sp., *I. labrosus*, *Pimelodus* sp1, *Pimelodus* sp2, *P. maculatus*, Pimelodidae NI, Loricariidae NI, *Plagioscion* sp., *Aphyocharacinae*, *H. eques* y *C. jenynsii*. Sin embargo, esta lista de especies está sujeta a confirmación en posteriores análisis morfológicos o moleculares.

### Identificación molecular

Los resultados morfológicos, junto con los arrojados por los análisis de PCA permitieron discernir los distintos grupos de larvas predadoras de *L. fortunei* en el presente estudio. Se armó una placa con representantes de dichos grupos para su análisis molecular por ADN mitocondrial (proyecto iBOL, Figura 9). Los resultados moleculares aún no se encuentran disponibles.

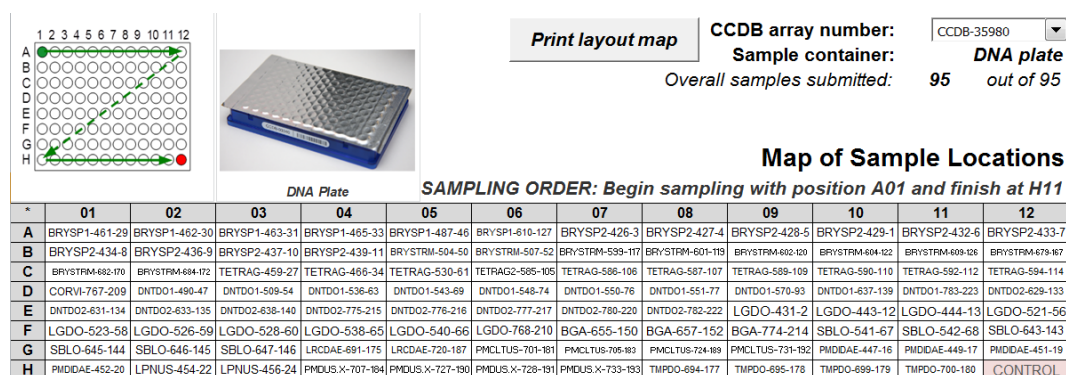
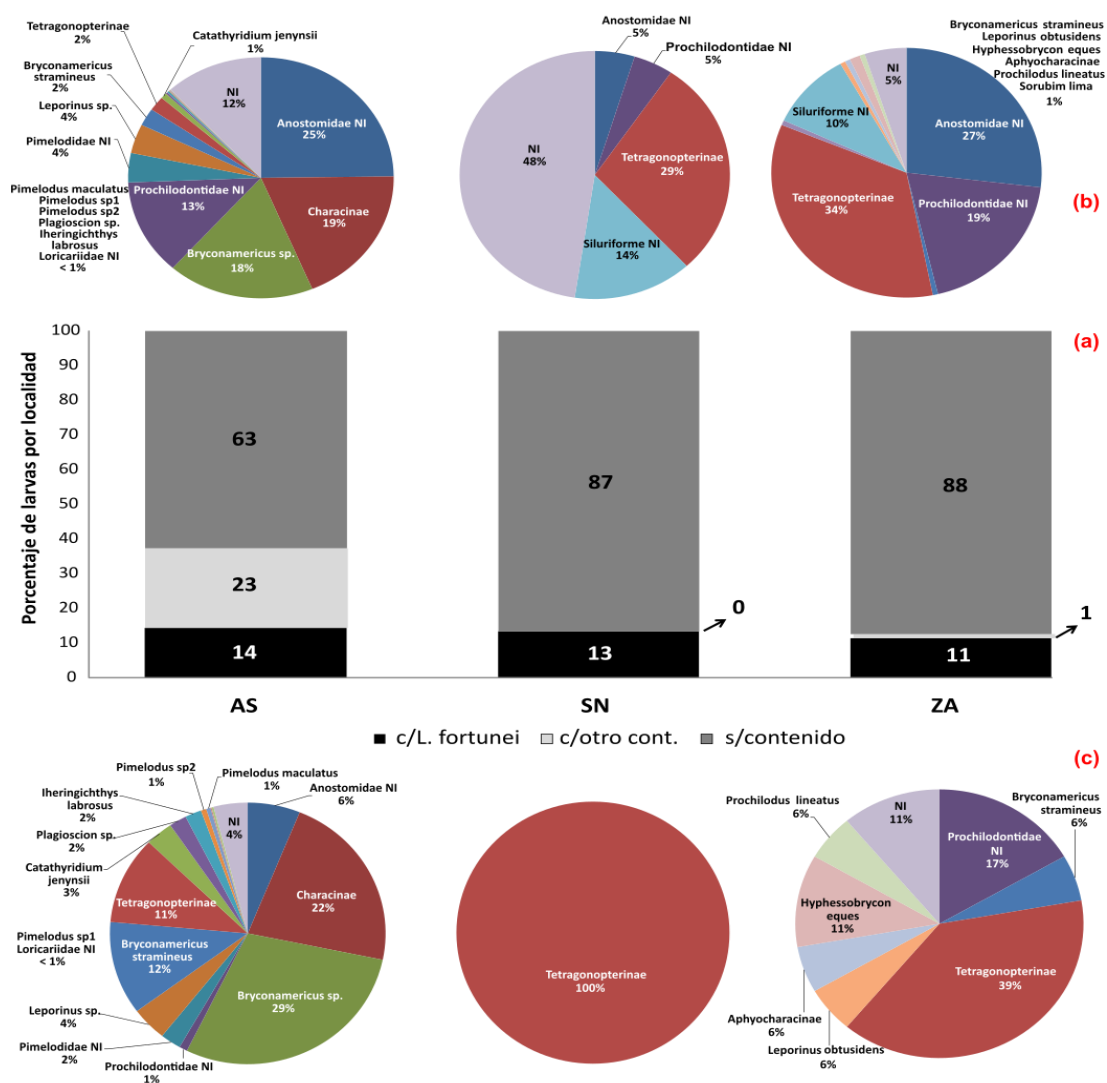


Figura 9: Mapa de la placa con larvas de peces predadores de *L. fortunei* enviada para su análisis molecular por ADN mitocondrial (proyecto iBOL).

### Porcentaje de larvas según contenido, y composición específica de larvas totales y con *L. fortunei*, por localidad

Los porcentajes de larvas con velígeras de *L. fortunei* en contenido estomacal fueron del rango de 11 a 14% del total para las localidades estudiadas (Figura 10a). Las localidades de San Nicolás de los Arroyos y Zárate presentaron una composición específica total similar (Tetragonopterinae, Anostomidae, Prochilodontidae, Siluriformes; Fig. 10b), aunque Zárate presentó un mayor número de taxones de larvas de peces poco abundantes (*B. stramineus*, *L. obtusidens*, *H. eques*, *Aphyocharacinae*, *S. lima*). Para San Nicolás, las larvas predadoras de

*L. fortunei* fueron únicamente ejemplares de la subfamilia Tetragonopterinae. Zárate presentó mayor cantidad de predadores de velíferas, como Prochilodontidae, *P. lineatus*, *L. obtusidens*, y otros grupos de la familia Characidae. En cambio, las muestras de Arroyo Seco se destacan por poseer un mayor número de especies; tanto en su totalidad como en los que predan sobre *Limnoperna*, ya que en menor o mayor medida, todos los taxones identificados contenían velíferas en su contenido (Figs. 10b y 10c). Se destaca a la familia Characidae (*Bryconamericus* spp., Characinae y Tetragonopterinae) por representar la mayor proporción de larvas predadoras de velíferas de *L. fortunei* en todas las localidades analizadas en el presente estudio (Figura 10).



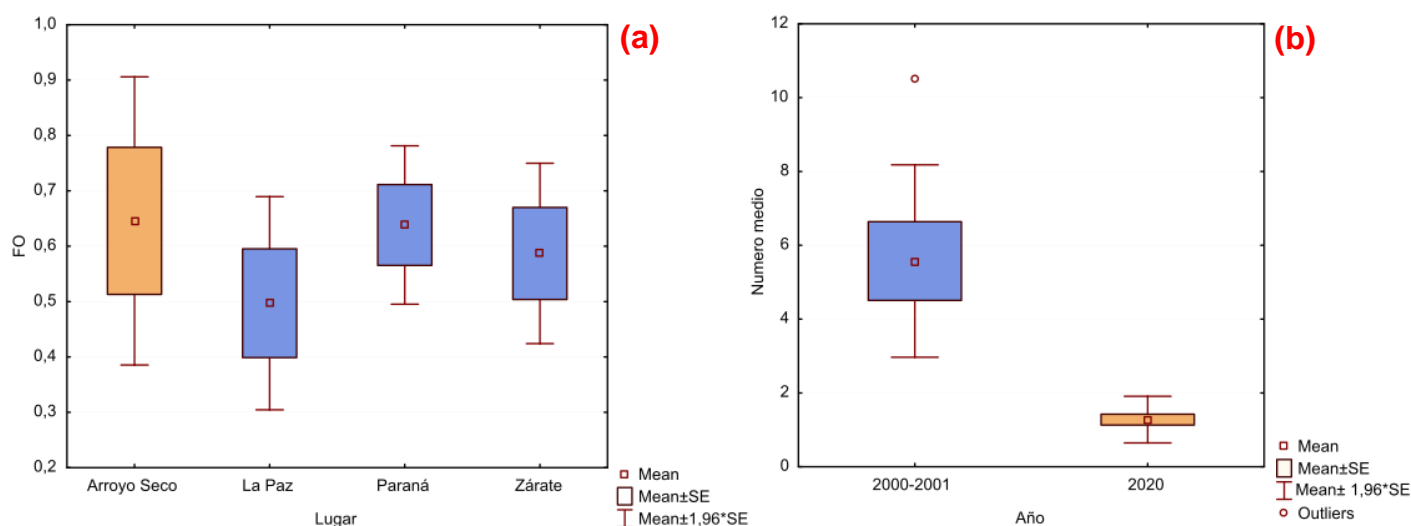
**Figura 10:** (a) Porcentaje de larvas con *L. fortunei* en contenido, con otro contenido, y sin contenido para cada localidad: AS, Arroyo Seco; SN, San Nicolás; ZA, Zárate. (b) Composición específica de larvas totales para cada localidad. (c) Composición específica de larvas con *L. fortunei* en contenido para cada localidad.

**Comparación con datos previos: Frecuencia de ocurrencia y número medio de *L. fortunei* por estómago, en total y por taxón**

En promedio, el  $64 \pm 29$  % de las larvas tuvieron *L. fortunei* en sus estómagos (FO, frecuencia de ocurrencia  $\pm$  DS), y presentaron un número medio de velíferas por estómago de  $1.4 \pm 0.4$  (Tabla 5).

De manera similar a lo reportado previamente (2001-2009; Paolucci y Thuesen, 2015), se encontraron larvas con velíferas en su contenido estomacal en 4 órdenes, Siluriformes, Characiformes, Pleuronectiformes y Perciformes (Tabla 5 y Anexo 2). A diferencia de los trabajos anteriores, no se encontraron larvas de Clupeiformes en las muestras analizadas, pero sí se reporta por primera vez a larvas de la Familia Loricariidae como predadores de velíferas de *L. fortunei*. Dentro de los Siluriformes, la familia Pimelodidae en general, y las especies/géneros *I. labrosus*, *Pimelodus* spp. y *P. maculatus* en particular, fueron los taxones que mayor FO presentaron. A pesar de la diferencia en la composición taxonómica y nivel de identificación, en trabajos anteriores (2000-2009) la Familia Pimelodidae también mostró algunos de los valores más altos en FO de velíferas (Tabla 5). Para comparar FO, se tomaron los datos de todos los pimelodinos, independientemente de la especie, por muestra, tanto del periodo actual como de aquellos reportados previamente (año 2000 La Paz, Paraná y Zárate, ver Figura 11). Cabe destacar que dicho grupo fue relativamente abundante en ambos muestreos (2020 y 2000). No se observaron diferencias significativas entre el periodo 2020 (Arroyo Seco) y 2000 (La Paz, Paraná y Zárate; Figura 11) en la cuenca del Río Paraná Medio e Inferior (Kruskal-Wallis;  $p = 0.7141$ ). Se realizó el mencionado test no paramétrico dado que los datos a comparar no cumplían con el supuesto de distribución normal, a pesar de sí contar con homogeneidad de varianzas (Ver Anexo 1B).

*P. lineatus*, *L. obtusidens*, Aphyocharacinae, Tetragonopterinae, Characinae, *H. eques* y *Bryconamericus* sp. fueron los taxones de mayor frecuencia de ocurrencia dentro del grupo de los Characiformes (Tabla 5). La mayoría estas especies no fueron colectadas en estudios anteriores, o su abundancia fue mucho menor, por lo que no fue posible realizar una comparación estadística.



**Figura 11:** Boxplots para los datos de dos variables en larvas del grupo Pimelodidae, en los periodos 2000-2001 (azul) y 2020 (naranja): **(a)** Frecuencia de ocurrencia de velígeras de *L. fortunei* promedio, donde no hubo diferencias significativas entre periodos y localidades (Kruskal-Wallis;  $p = 0.7141$ ); y **(b)** Número medio de velígeras por estómago promedio, donde se observaron diferencias significativas entre dichos periodos (ANOVA;  $p = 0.03436$ ). Las cajas indican el error estándar y las barras el intervalo de confianza del 95%.

*C. jenynsii* tuvo un alto valor de FO tanto en este muestreo (84,31%, 2020; Tabla 5) como en los anteriores (73.9 %; 2001-2009; Tabla 5). Sin embargo, el valor reportado en los trabajos previos corresponde a larvas colectadas mayormente en el embalse de Salto Grande, río Uruguay. Por último, dentro de los Perciformes, *Plagioscion* sp. tuvo el 100% de larvas con velígeras en su contenido estomacal (notar que el  $N = 16$  en Tabla 5 es estimado de una fracción 1/16), sin embargo, por el bajo número de larvas en este trabajo y anteriores no es posible realizar una comparación estadística.

En cuanto al número medio de velígeras por estómago, notamos una gran diferencia entre Siluriformes y Characiformes (Tabla 5 y Anexo 2). Los primeros presentaron valores altos, siendo en promedio 13.20 velígeras por estómago para el pimelodino *I. labrosus* y 12.40 para

el caso de *Pimelodus* sp2. En cambio los Characiformes presentaron valores medios mucho menores, de 1.0 velígeras por estómago para anostómidos como *L. obtusidens* y para Prochilodontidae; hasta valores medios de 1.38 en el caso de los dientudos (SubF. Characinae) y 1.66 velígeras por estómago para *B. stramineus*. Por último, se destaca el alto valor medio de velígeras (5.14, Tabla 5) para larvas *C. jenynsii* (Pleuronectiformes), teniendo en cuenta su tamaño pequeño (LS = 2.48, Tabla 4). Así como para la FO de velígeras, en el caso del número medio de velígeras de *L. fortunei* por estómago también se compararon datos de larvas de la familia Pimelodidae (ver justificación anterior en la comparación de FO para pimelodinos). En este caso se observaron diferencias significativas entre el periodo 2020 y 2000-2001, con un promedio de velígeras por estomago casi 6 veces mayor en el periodo previo (ANOVA;  $p = 0,03436$ , Figura 11). Los datos se ajustaron a los supuestos para la prueba (homogeneidad de varianzas y distribución normal, ver Anexo 1A).

Taxón	Frecuencia de Ocurrencia media $\pm$ DS [N]		N° medio de velígeras $\pm$ DS [rango]	
	2020	2000-2009	2020	2000-2001
<b>Siluriformes</b>				
Siluriforme NI	-	10.0 [1]	-	-
Fam. Pimelodidae NI	29.56 $\pm$ 17.6 [27]	64.4 [114]	1.2 $\pm$ 0.2 [1 a 2]	7.1 $\pm$ 7.3 [1 a 33]
<i>Sorubim lima</i>	-	85.7 [6]	-	4.0 $\pm$ 4.1 [1 a 11]
<i>Parapimelodus valenciennis</i>	-	47.0 [16]	-	4.0 $\pm$ 4.2 [1 a 13]
<i>Pimelodus</i> sp1	100 $\pm$ 0 [2]	44.9 [40]	8 $\pm$ 0 [8]	2.9 $\pm$ 3.8 [1 a 14]
<i>Pimelodus</i> sp2	83.33 $\pm$ 0 [5]	-	12,4 $\pm$ 0 [1 a 27]	-
<i>Pimelodus maculatus</i>	80.00 $\pm$ 0 [4]	-	6,2 $\pm$ 0 [1 a 20]	-
<i>Iheringichthys labrosus</i>	100 $\pm$ 0 [15]	42.1 [32]	13,2 $\pm$ 0 [1 a 44]	20.0 $\pm$ 7.0 [15 a 28]
<i>Pseudoplatystoma</i> spp.	-	27.6 [13]	-	1.3 $\pm$ 0.5 [1 a 2]
<i>Luciopimelodus pati</i>	-	18.7 [3]	-	7.0 $\pm$ 0.0 [7 a 7]
Fam. Doradidae	-	50.0 [1]	-	-
Fam. Loricariidae NI	33.33 $\pm$ 0 [1]	-	1 $\pm$ 0 [1]	-
<b>Characiformes</b>				
Fam. Anostomidae NI	9.37 $\pm$ 13.2 [49]	42.8 [6]	1 $\pm$ 0 [1]	
<i>Leporinus</i> sp.	42.04 $\pm$ 50.1 [29]	-	1.2 $\pm$ 0.1 [1 a 3]	
<i>Leporinus obtusidens</i>	100 $\pm$ 0 [1]	-	1 $\pm$ 0 [1]	
Characiforme NI	-	25.0 [2]	-	
Fam. Characidae	-	25.0 [3]	-	
SubF. Aphyocharacinae	100 $\pm$ 0 [1]	-	1 $\pm$ 0 [1]	
<i>Aphyocharax</i> sp.	-	100 [1]	-	
<i>Bryconamericus</i> sp.	63.2 $\pm$ 16.1 [292]	-	1.4 $\pm$ 0.3 [1 a 5]	
<i>Bryconamericus stramineus</i>	72.14 $\pm$ 32.5 [61]	-	1.6 $\pm$ 0.3 [1 a 8]	
SubF. Tetragonopterinae	88.68 $\pm$ 18.3 [81]	-	1.3 $\pm$ 0.2 [1 a 3]	
SubF. Characinae	35.43 $\pm$ 31.2 [272]	-	1.3 $\pm$ 0 [1 a 4]	
SubF. Stethaprioninae				
<i>Hyphessobrycon eques</i>	100 $\pm$ 0 [2]	-	1 $\pm$ 0 [1]	
Fam. Prochilodontidae NI	35.9 $\pm$ 40.4 [9]	-	1 $\pm$ 0 [1]	
<i>Prochilodus lineatus</i>	100 $\pm$ 0 [1]	22.6 [31]	1 $\pm$ 0 [1]	
<i>Apareiodon affinis</i>	-	13.7 [8]	-	
<b>Pleuronectiformes</b>				
<i>Catathyridium jenynsii</i>	84.31 $\pm$ 27.1 [29]	73.9 [17]	5.1 $\pm$ 1.1 [1 a 10]	
<b>Clupeiformes</b>				
<i>Lycengraulis grossidens</i>	-	4.2 [3]	-	
<b>Perciformes</b>				
Fam. Scienidae	-	5.2 [1]	-	
<i>Plagioscion</i> sp.	100 $\pm$ 0 [16]	-	1 $\pm$ 0 [1]	
<b>Promedio TOTAL</b>	<b>63.61 <math>\pm</math> 29.2 [931]</b>		<b>1.4 <math>\pm</math> 0.4</b>	

Tabla 5: Promedios para la frecuencia de ocurrencia de *L. fortunei* y número medio de velígeras por estómago, en función de cada taxón identificado morfológicamente y en el total analizado (promedio total). Los taxones subrayados corresponden a los nuevos predadores identificados en este trabajo. Los datos del 2020 corresponden a este trabajo mientras que los de los años 2000 a 2009 corresponden a Paolucci y Thuesen (2015) y 2000—2001 a Paolucci (2010). NI corresponde a larvas no identificadas a un mayor nivel taxonómico que el indicado. El [N] total de larvas con *L. fortunei* tiene en cuenta a larvas NI.

## Discusión y conclusiones

El estudio detallado de la morfología de larvas de peces recolectadas durante la época reproductiva de migradores permitió extender de 18 a al menos 28 la lista de larvas predatoras



de velígeras de *Limnoperna*. Las características limnológicas y la abundancia de larvas de peces al momento de muestreo correspondieron con un pico en la reproducción de las principales especies de peces migradores y de importancia ecológica y comercial de la Cuenca del Río de la Plata. Tanto el estado creciente del río, como la temperatura (25 a 27°C) coinciden con lo observado en otros muestreos de ictioplancton en la Cuenca del Río de la Plata en general (Paolucci, 2002; Carolsfield, et al., 2004; Cataldo, et al., 2020), y en particular para el río Paraná Medio e Inferior (Fuentes, 1998), correspondiendo a condiciones propicias para el desove de peces en general. Trabajos previos en la baja cuenca del Río de la Plata (Fuentes, 1998; Fuentes y Espinach Ros, 1998) mostraron densidades del ictioplancton colectado que variaron entre 0.4 y 25 larvas/m<sup>3</sup>. Dichos valores son similares a los reportados en este trabajo (3.5 larvas/m<sup>3</sup>), observándose las densidades más altas en Arroyo Seco. Estos cambios en la densidad total fueron acompañados por diferencias en la composición específica y número de especies entre el Paraná Medio y el Inferior también observado previamente en las publicaciones mencionadas. Un número mayor de taxones (N=15) fue observado en Arroyo Seco en comparación con San Nicolás y Zarate (N=4 y N=10 respectivamente; Fig. 10b). Este patrón, tanto en abundancia como en composición del ictioplancton de la Cuenca Media y Baja del Río de la Plata fue explicado previamente por la ubicación de la zona de desove en el tramo intermedio del Paraná Medio.

La observación detallada de características morfológicas, tanto el número de miómeros pre y post anales como de las distintas proporciones (Tabla 4), permitió distinguir dentro de grupos previamente identificados a nivel de Familia nuevos grupos taxonómicos como subfamilias, género o incluso especies predadores de las velígeras de *L. fortunei*. Previamente, en distintos ambientes del Paraná Medio e Inferior, así como en los ríos Paraguay y embalse de Salto Grande, se identificaron larvas a nivel de Familia (Characidae y Anostomidae) (Paolucci, et al., 2007; Paolucci, et al., 2015; Paolucci, et al., 2017), y que en este estudio de morfología detallada se han logrado identificar en un nivel taxonómico menos inclusivo. Además, se logró identificar a miembros de la Familia Loricariidae como predadores de velígeras, y estas no habían sido reportadas a nivel de larva previamente.

En el caso de la Familia Characidae la lista de larvas predadoras de velígeras incluyó miembros de 4 subfamilias (Aphyocharacinae, Tetragonopterinae, Characinae y Stethaprioninae), llegando incluso a identificarlos a nivel de género (*Aphyocharax* sp. y *Bryconamericus* sp.) o especie (*B. stramineus* y *H. eques*). Cabe destacar que la gran diversidad de esta Familia de peces en la región estudiada incluye al menos 40 especies dentro de 10 subfamilias (Liotta, 2005), de las cuales 3 especies (*Bryconamericus* sp., *B. stramineus* y *H. eques*) y 3 grupos de larvas identificadas a nivel de subfamilia (Aphyocharacinae, Tetragonopterinae y Characinae) estarían incluidas como predadores de velígeras en este estudio. Considerando esto último, las larvas de estas subfamilias podrían incluir nuevos géneros o especies predadoras de *L. fortunei* que no están descritas a nivel de estadios larvales en la bibliografía.

Para la familia Anostomidae, se pudo identificar a larvas de *L. obtusidens* y *Leporinus* sp. como predadoras de velígeras. Sin embargo, no pudieron ser identificados todos los ejemplares a nivel de especie, pues algunos diferían de las descripciones publicadas por Nakatani et al. (2001) tanto en el número de miómeros (pre y post anales) así como en las proporciones del cuerpo (A/LS mayor en *L. obtusidens*, Tabla 4). En el río Paraná, Menni (2004) reportó al menos 12 especies de esta familia, incluyendo 6 especies adicionales del género *Leporinus* (*L. acutidens*, *L. octofasciatus*, *L. lacustris*, *L. pellegrini*, *L. platycephalus*, y *L. striatus*). La mayoría de estas especies, así como otros géneros integrantes de la Familia Anostomidae no están descritas a nivel de estadios larvales en la bibliografía y podrían ser parte de las larvas identificadas como *Leporinus* sp. que incluso podría incluir miembros de géneros diferentes de la Familia Anostomidae no descritos y de difícil identificación. El nuevo género *Megaleporinus*, con su identificación basada en citogenética y las especies dentro del mismo identificadas por ADN mitocondrial (Ramirez, et al., 2017a; Ramirez, et al., 2017b) u otros nuevos géneros aún por describir, dado que en estudios basados en ADN mitocondrial se ha rechazado a *Leporinus* como grupo monofilético (Ramirez, et al., 2016).

En conclusión, la lista de larvas de peces predadores de velígeras de *L. fortunei* podría modificarse. En algunos casos como en el género *Pimelodus*, se observaron larvas con diferencias morfológicas con respecto a *P. maculatus*, o en el caso de Aphyocharacinae que no pudo ser identificado a nivel de especie como lo fue anteriormente. Estas, así como las demás larvas predadores de velígeras, fueron separadas para su posterior identificación molecular usando el marcador mitocondrial COI, que permitirá modificar y/o ampliar la lista de larvas predadoras de *Limnoperna*. Si bien el uso de descripciones morfológicas detalladas, y claves de identificación como la usada en este trabajo (Nakatani, 2001) permitió ampliar el número de especies predadoras de velígeras. Hay que señalar que esta clave de larvas de peces no incluye la totalidad de especies de peces presentes en el sitio analizado que figuran en Liotta (2005). Esto último podría llevar a identificaciones erróneas y explicar la imposibilidad de alcanzar el nivel de especie en algunos ejemplares analizados.

En cuanto a la frecuencia de ocurrencia (FO) de velígeras en los estómagos de larvas de peces, en el presente estudio se observó que el valor medio (64%) fue similar al reportado previamente para el Rio Paraná Inferior (57%) por Paolucci (2010). Cabe destacar que en general todos los órdenes de larvas de peces identificados poseen un alto valor de FO total (Figura 11a), siendo el promedio por orden mayor al 50% en todos los casos (Siluriformes, 58%; Characiformes, 61%; Pleuronectiformes, 64%; y Perciformes, 100%). Además, los valores de FO para la Familia Pimelodidae no difirieron con respecto a los datos para 2000 (Kruskal-Wallis;  $p = 0.7141$ ), por lo que no parecería haber un aumento ni una disminución para la FO en el tiempo. Analizando esta variable los resultados parecen demostrar que el impacto en la dieta de larvas de peces es similar al registrado previamente, y apoyan la idea de una rápida adaptación a este nuevo y abundante recurso alimenticio por una gran variedad de especies (Paolucci, et al., 2015).

En el caso del número medio de velígeras de *Limnoperna* por estómago (Figura 11b), la variabilidad entre grupos en este estudio está dada principalmente por la capacidad diferencial de cada estómago, siendo mayor para los Siluriformes y menor para los Characiformes. Como

se mencionó anteriormente y ha sido reportado en estudios previos por Paolucci et al. (2015; 2017), se destaca al predador *C. jenynsii* (Pleuronectiformes) por su alta capacidad estomacal para retener una gran cantidad de velígeras de *L. fortunei*. Para esta variable, a diferencia de la FO, podemos notar que los valores de 2020 (1.4 velígeras/estómago) son menores a los reportados en Paolucci et al. (2007), tanto para la zona Inferior (4 velígeras/estómago) como para todo el río Paraná (2.7 velígeras/estómago). La mayor proporción de Characiformes con contenido en los datos actuales, que normalmente presentan 1-2 velígeras por estómago, frente al predominio de Pimelodinos (40%) en años anteriores (2001-2009, Tabla 5) explicaría esta diferencia. Más aún, comparando el número medio de velígeras para los periodos 2020 vs. 2000-2001 dentro de la Familia Pimelodidae (Tabla 5), notamos que en el periodo actual (2020) hay una menor cantidad de velígeras por estómago, y las diferencias son significativas con respecto al periodo previo (ANOVA;  $p= 0.03436$ ). Esto puede deberse a que las larvas del periodo 2000-2001 se encontraban más desarrolladas, con un largo estándar promedio (LS) de 7.5 mm, mientras que las larvas del periodo actual presentaron un LS promedio de 3.8 mm (ver Anexo A). Aunque esto podría sugerir un cambio en la composición específica, o un probable impacto negativo sobre los predadores de velígeras, no existen evidencias de disminución en la abundancia de estos grupos en la Cuenca del Río de la Plata. Por lo contrario, existen evidencias experimentales de un impacto en el crecimiento (Paolucci, et al., 2010b). También es relevante mencionar que los estudios citados no poseen la misma escala tanto temporal como espacial, lo cual limita las comparaciones y conclusiones de esta tesis.

Así como observaron otros autores para *Dreissena* sp. (Jarrin, et al., 2015; Withers, et al., 2015; Burlakova, et al., 2023; Karatayev, et al., 2023), estos resultados muestran que las velígeras de *Limnoperna* representan una presa abundante y disponible para las larvas de peces, debido probablemente a su limitada capacidad de evasión. En comparación con las 22 especies de peces que en estadios larvales predaron sobre las velígeras de *Dreissena* en Europa y América del Norte (Karatayev, et al., 2023), los resultados de este estudio indican que al menos 28 taxones predaron sobre velígeras de *Limnoperna*. Si bien dicho número se encuentra en el mismo orden para ambos casos, cabe destacar la notable diferencia en la

diversidad de peces de agua dulce, siendo mucho mayor para Sudamérica (hasta 1000 especies) que para Europa y Norteamérica (menos de 250 especies) (van der Sleen y Albert, 2021). Por otro lado, existe un desequilibrio en la cantidad de estudios sobre la predación de velíferas entre los mejillones *Dreissena* y *Limnoperna*, siendo el doble para el primer caso. En conclusión, podría haber una subestimación en la lista de larvas de peces predadoras de *L. fortunei*. Consideramos que futuros estudios que implementen herramientas moleculares permitirían una mayor precisión en la identificación de estadios larvales de peces predadores y potencialmente ampliaría la lista para *Limnoperna*.

## Referencias bibliográficas

- Agostinho A., Gomes, L., Suzuki, H., Júlio, H., Carolsfield, J., Harvey, B., Ross, C. y Baer, A., 2004. Migratory fishes of South America. En: *Biology, Fisheries, and Conservation Status editado por Joachim Carolsfield, Brian Harvey, Carmen Ross, and Anton Baer, World Fisheries Trust (WFT)/World Bank/IDRC, Washington,*
- Boltovskoy D., 2015. *Limnoperna fortunei*: the ecology, distribution and control of a swiftly spreading invasive fouling mussel. En,
- Boltovskoy D., Correa, N.M., Burlakova, L.E., Karatayev, A.Y., Thuesen, E.V., Sylvester, F. y Paolucci, E.M., 2021. Traits and impacts of introduced species: a quantitative review of meta-analyses. En: *Hydrobiologia*, 848(9), pp.2225-2258.
- Boltovskoy D., Guiaşu, R., Burlakova, L., Karatayev, A., Schlaepfer, M.A. y Correa, N., 2022a. Misleading estimates of economic impacts of biological invasions: including the costs but not the benefits. En: *Ambio*, 51(8), pp.1786-1799.
- Boltovskoy D., Morton, B., Correa, N., Cataldo, D., Damborenea, C., Penchaszadeh, P.E. y Sylvester, F., 2015a. Reproductive output and seasonality of *Limnoperna fortunei*. En: *Limnoperna fortunei: The ecology, distribution and control of a swiftly spreading invasive fouling mussel*, pp.77-103.
- Boltovskoy D., Paolucci, E., Macisaac, H.J., Zhan, A., Xia, Z. y Correa, N., 2022b. What we know and don't know about the invasive golden mussel *Limnoperna fortunei*. En: *Hydrobiologia*, pp.1-48.
- Boltovskoy D., Xu, M. y Nakano, D., 2015b. Impacts of *Limnoperna fortunei* on man-made structures and control strategies: general overview. En: *Limnoperna fortunei: The ecology, distribution and control of a swiftly spreading invasive fouling mussel*, pp.375-393.
- Bonetto, A. A., & Sioli, H. (1975). Landscapes of River Basins (South America). In *Coupling of land and water systems* (pp. 173-213). Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg.
- Burlakova L.E., Karatayev, A.Y., Boltovskoy, D. y Correa, N.M., 2023. Ecosystem services provided by the exotic bivalves *Dreissena polymorpha*, *D. rostriformis bugensis*, and *Limnoperna fortunei*. En: *Hydrobiologia*, 850(12-13), pp.2811-2854.

- Carolsfield J., Harvey, B., Ross, C. y Baer, A., 2004. Migratory fish of South America: biology, fisheries and conservation status. Victoria, Canada.: World Bank., 2004, 380
- Cataldo D., 2015. Trophic relationships of *Limnoperna fortunei* with adult fishes. En: *Limnoperna fortunei: The ecology, distribution and control of a swiftly spreading invasive fouling mussel*, pp.231-248.
- Cataldo D., Gattás, F., Leites, V., Bordet, F. y Paolucci, E., 2020. Impact of a hydroelectric power plant on migratory fishes in the Uruguay River. En: *River Research and Applications*, 36(8), pp.1598-1611. doi:10.1002/rra.3670.
- Cataldo D., Leites, V., Bordet, F. y Paolucci, E., 2022. Effects of El Niño-Southern Oscillation (ENSO) on the reproduction of migratory fishes in a large South American reservoir. En: *Hydrobiologia*, 849(15), pp.3259-3274. doi:10.1007/s10750-022-04941-6.
- Collas F.P., Buijse, A.D., Hendriks, A.J., Van Der Velde, G. y Leuven, R.S., 2018. Sensitivity of native and alien freshwater bivalve species in Europe to climate-related environmental factors. En: *Ecosphere*, 9(5), pp.e02184.
- Darrigran G., Agudo-Padrón, I., Baez, P., Belz, C., Cardoso, F., Carranza, A., Collado, G., Correoso, M., Cuezco, M.G. y Fabres, A., 2020. Non-native mollusks throughout South America: emergent patterns in an understudied continent. En: *Biological Invasions*, 22, pp.853-871.
- Davis M.A., 2009. *Invasion Biology*. New York: Oxford University Press Inc., 2009,
- Fuentes C., Paolucci, E.M., Gómez, M.I. y Espinach Ross, A., 2005. Indices de abundancia larval (IAL) en el manejo de pesquerías fluviales de peces migratorios Chascomus, Argentina, Disponible en:
- Fuentes C.M., 1998. Larval drift of sábalo, *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1847) and other fish species with commercial value, in the lower Paraná river. [Doctoral]. Buenos Aires, Argentina: Buenos Aires University, Disponible en:
- Fuentes C.M. y Espinach Ros, A., 1998. Variación de la actividad reproductiva del sábalo, *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1847), estimada por el flujo de larvas en el río Paraná Inferior. En: *Natura Neotropicalis*, 29, pp.25-32.
- Hulme P.E., 2021. Unwelcome exchange: International trade as a direct and indirect driver of biological invasions worldwide. En: *One Earth*, 4(5), pp.666-679. doi:10.1016/j.oneear.2021.04.015.
- Jarrin J.R.M., Pangle, K.L., Reichert, J.M., Johnson, T.B., Tyson, J. y Ludsin, S.A., 2015. Influence of habitat heterogeneity on the foraging ecology of first feeding yellow perch larvae, *Perca flavescens*, in western Lake Erie. En: *Journal of Great Lakes Research*, 41(1), pp.208-214.
- Karatayev A.Y., Boltovskoy, D., Burlakova, L.E. y Padilla, D.K., 2015. Parallels and contrasts between *Limnoperna fortunei* and species of *Dreissena*. En: *Limnoperna fortunei: The ecology, distribution and control of a swiftly spreading invasive fouling mussel*, pp.261-297.
- Karatayev A.Y., Boltovskoy, D., Padilla, D.K. y Burlakova, L.E., 2007a. The invasive bivalves *Dreissena polymorpha* and *Limnoperna fortunei*: parallels, contrasts, potential spread and invasion impacts. En: *Journal of Shellfish Research*, 26(1), pp.205-213.

- Karatayev A.Y., Burlakova, L.E., Karatayev, V.A. y Boltovskoy, D., 2010. *Limnoperna fortunei* versus *Dreissena polymorpha*: population densities and benthic community impacts of two invasive freshwater bivalves. En: *Journal of Shellfish Research*, 29(4), pp.975-984.
- Karatayev A.Y., Molloy, D.P. y Burlakova, L.E., 2023. Natural Enemies of Zebra and Quagga Mussels: Predators, Parasites, and Ecological Competitors. En: *Reviews in Fisheries Science & Aquaculture*, pp.1-80.
- Karatayev A.Y., Padilla, D.K., Minchin, D., Boltovskoy, D. y Burlakova, L.E., 2007b. Changes in global economies and trade: the potential spread of exotic freshwater bivalves. En: *Biological Invasions*, 9, pp.161-180.
- Lima M.C.C.D., Lima, S.C., Savada, C.S., Suzuki, K.M., Orsi, M.L. y Almeida, F.S.D., 2020. Use of DNA barcode in the identification of fish eggs in tributaries of the Paranapanema River basin. En: *Genetics and Molecular Biology*, 43,
- Liotta J., 2005. Distribución geográfica de los peces de aguas continentales de la República Argentina. En,
- Makowski C. y Finkl, C.W., 2018. Impacts of Invasive Species on Coastal Environments: Coasts in Crisis. Springer, 2018,
- Mcewen G., Johnson, M. y Folsom, T.R., 1954. A statistical analysis of the performance of the Folsom plankton sample splitter, based upon test observations. En: *Archiv für Meteorologie, Geophysik und Bioklimatologie, Serie A*, 7, pp.502-527.
- Menni R.C., 2004. Peces y ambientes en la Argentina continental. En: *Monografías del Museo Argentino de Ciencias Naturales*,
- Molina F.R. y De Paggi, S.J., 2008. Zooplankton in the Paraná River floodplain (South America) before and after the invasion of *Limnoperna fortunei* (Bivalvia). En: *Wetlands*, 28, pp.695-702.
- Nakatani K., 2001. Ovos e larvas de peixes de água doce: desenvolvimento e manual de identificação. En: *Maringá: UEM: Eletrobrás*,
- Oliveira M.D., Campos, M.C., Paolucci, E.M., Mansur, M.C. y Hamilton, S.K., 2015. Colonization and spread of *Limnoperna fortunei* in South America. En: *Limnoperna fortunei: The ecology, distribution and control of a swiftly spreading invasive fouling mussel*, pp.333-355.
- Orensanz J.M., Schwindt, E., Pastorino, G., Bortolus, A., Casas, G., Darrigran, G., Elías, R., López Gappa, J.J., Obenat, S. y Pascual, M., 2002. No longer the pristine confines of the world ocean: a survey of exotic marine species in the southwestern Atlantic. En: *Biological Invasions*, 4, pp.115-143.
- Paolucci E.M., 2002. Actividad reproductiva del sábalo *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1847) y otras especies de interés comercial y deportivo en el río Uruguay Inferior, estimada por la abundancia de estadios larvales en la deriva [Dissertation]. Buenos Aires: Buenos Aires University, Disponible en:
- Paolucci E.M., 2010. Impacto del molusco invasor *Limnoperna fortunei* sobre el ecosistema: interacción trófica y efectos sobre las larvas de peces nativos: Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, Disponible en:

- Paolucci E.M., Almada, P., Cataldo, D.H. y Boltovskoy, D., 2015. Native fish larvae take advantage of introduced mussel larvae: field evidence of feeding preferences on veligers of the introduced freshwater bivalve *Limnoperna fortunei*. En: *Hydrobiologia*, 745, pp.211-224.
- Paolucci E.M., Cataldo, D.H. y Boltovskoy, D., 2010a. Prey selection by larvae of *Prochilodus lineatus* (Pisces: Curimatidae): indigenous zooplankton versus veligers of the introduced bivalve *Limnoperna fortunei* (Bivalvia: Mitilidae). En: *Aquatic Ecology*, 44, pp.255-267.
- Paolucci E.M., Cataldo, D.H., Fuentes, C.M. y Boltovskoy, D., 2007. Larvae of the invasive species *Limnoperna fortunei* (Bivalvia) in the diet of fish larvae in the Paraná River, Argentina. En: *Hydrobiologia*, 589, pp.219-233.
- Paolucci E.M., Leites, V., Cataldo, D.H. y Boltovskoy, D., 2017. Veligers of the invasive bivalve *Limnoperna fortunei* in the diet of indigenous fish larvae in a eutrophic subtropical reservoir. En: *Austral Ecology*, 42(7), pp.759-771.
- Paolucci E.M. y Thuesen, E.V., 2015. Trophic relationships of *Limnoperna fortunei* with larval fishes. En: *Limnoperna fortunei: The ecology, distribution and control of a swiftly spreading invasive fouling mussel*, pp.211-229.
- Paolucci E.M., Thuesen, E.V., Cataldo, D.H. y Boltovskoy, D., 2010b. Veligers of an introduced bivalve, *Limnoperna fortunei*, are a new food resource that enhances growth of larval fish in the Paraná River (South America). En: *Freshwater biology*, 55(9), pp.1831-1844.
- Ramirez J., Carvalho-Costa, L., Venere, P., Carvalho, D., Troy, W. y Galetti Jr, P., 2016. Testing monophyly of the freshwater fish *Leporinus* (Characiformes, Anostomidae) through molecular analysis. En: *Journal of Fish Biology*, 88(3), pp.1204-1214.
- Ramirez J.L., Birindelli, J.L., Carvalho, D.C., Affonso, P.R., Venere, P.C., Ortega, H., Carrillo-Avila, M., Rodriguez-Pulido, J.A. y Galetti Jr, P.M., 2017a. Revealing hidden diversity of the underestimated neotropical ichthyofauna: DNA barcoding in the recently described genus *Megaleporinus* (Characiformes: Anostomidae). En: *Frontiers in Genetics*, pp.149.
- Ramirez J.L., Birindelli, J.L. y Galetti Jr, P.M., 2017b. A new genus of Anostomidae (Ostariophysi: Characiformes): diversity, phylogeny and biogeography based on cytogenetic, molecular and morphological data. En: *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 107, pp.308-323.
- Ringuelet R.A., Aramburu, R.H. y Alonso De Aramburu, A.S., 1967. Los peces argentinos de agua dulce. 1967,
- Snyder D.E., 1976. Terminologies for intervals of larval fish development: FWS/OBS-76/23. United States Fish and Wildlife Service, National Power Plant ..., Disponible en:
- Sousa R., Gutiérrez, J.L. y Aldridge, D.C., 2009. Non-indigenous invasive bivalves as ecosystem engineers. En: *Biological Invasions*, 11, pp.2367-2385.
- Sousa R., Novais, A., Costa, R. y Strayer, D.L., 2014. Invasive bivalves in fresh waters: impacts from individuals to ecosystems and possible control strategies. En: *Hydrobiologia*, 735, pp.233-251.
- Strayer D.L., 2010. Alien species in fresh waters: ecological effects, interactions with other stressors, and prospects for the future. En: *Freshwater Biology*, 55, pp.152-174. doi:10.1111/j.1365-2427.2009.02380.x.
- Sverlij, S. B. (1993). Sinopsis de los datos biológicos y pesqueros del sábalo, *Prochilodus lineatus* (Valenciennes, 1847) (No. 154). Food & Agriculture Org.



- Van Der Sleen P. y Albert, J., 2021. Patterns in Freshwater Fish Diversity. En: Elsevier. ed., 2021. Encyclopedia of Inland Waters. pp.243-255. doi:10.1016/B978-0-12-819166-8.00056-6.
- Withers J.L., Sesterhenn, T.M., Foley, C.J., Troy, C.D. y Höök, T.O., 2015. Diets and growth potential of early stage larval yellow perch and alewife in a nearshore region of southeastern Lake Michigan. En: *Journal of Great Lakes Research*, 41, pp.197-209.
- Yang J., Chen, X. y Yang, J., 2010. Molecular and morphological analysis of endangered species *Gymnodiptychus integrigymnatus* (Teleostei: Cyprinidae). En: *Environmental Biology of Fishes*, 88(2), pp.189-199. doi:10.1007/s10641-010-9629-6.

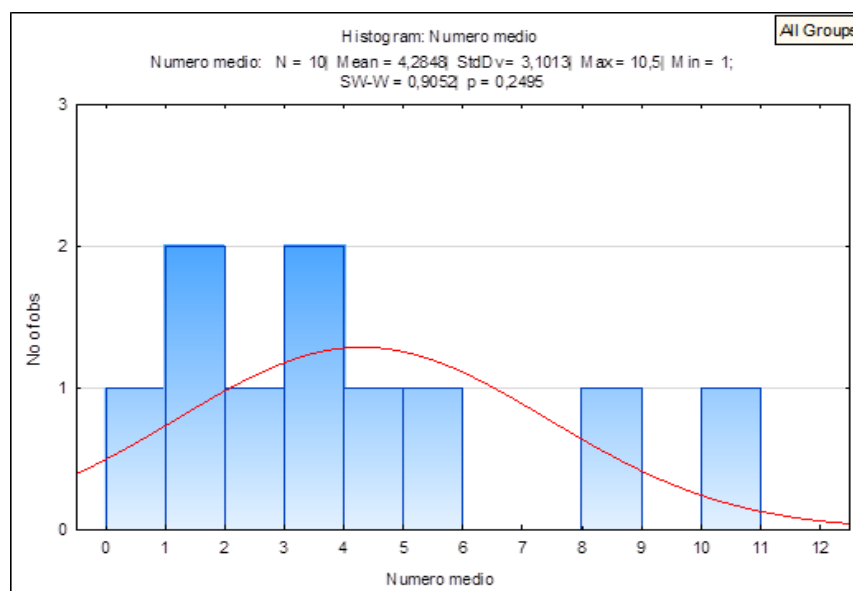
## Anexo

### 1. Análisis estadístico

A) Número medio de velígeras de *L. fortunei* por estómago para la familia Pimelodidae, comparando con datos previos

Período (sitio)	Nº medio de velígeras/estómago (por muestra)	Taxón	LS (mm)	Estadio
2020 (Arroyo Seco)	1.33	Pimelodidae	3.5	protolarva
2020 (Arroyo Seco)	1.50	Pimelodidae	4.0	protolarva
2020 (Arroyo Seco)	1.00	Pimelodidae	3.8	protolarva
2000-2001 (Paraná)	3.50	Pimelodidae	7.1	protolarva
2000-2001 (Paraná)	10.50	Pimelodidae	6.9	protolarva
2000-2001 (Paraná)	8.18	Pimelodidae	7.2	protolarva
2000-2001 (Paraná)	5.33	Pimelodidae	9.5	proto y metalarva
2000-2001 (Paraná)	2.50	Pimelodidae	5.6	protolarva
2000-2001 (Paraná)	5.00	Pimelodidae	7.9	protolarva
2000-2001 (Paraná)	4.00	Pimelodidae	9.2	mesolarva

Ai: Número medio de velígeras de *L. fortunei* por estómago en los periodos 2020 y 2000-2001 para la familia Pimelodidae, donde se observaron diferencias significativas entre dichos periodos (ANOVA;  $p = 0,03436$ ). LS: longitud estándar.



Aii: Distribución de los datos de número medio de velígeras de *L. fortunei* por estómago en los periodos 2020 y 2000-2001. Se ajusta a distribución normal (Shapiro Wilk Test;  $p = 0,2495$ )

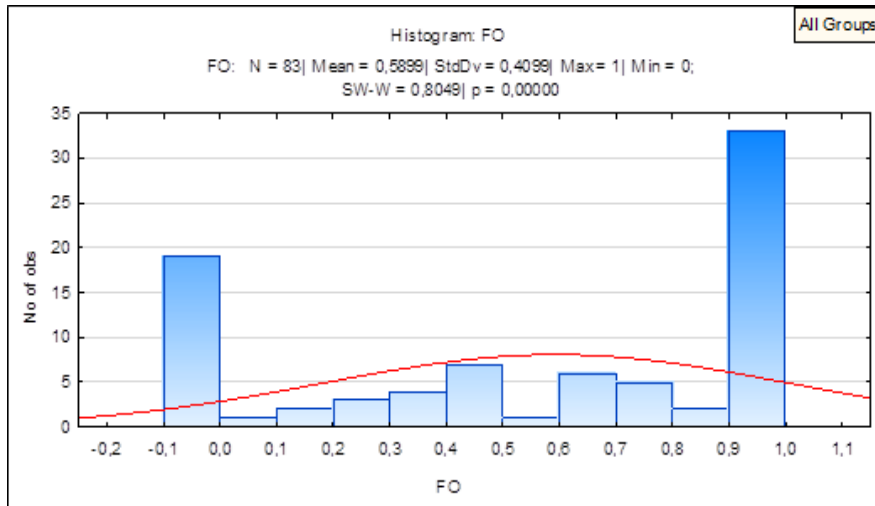
Los datos para el número medio de velígeras ajustaron a una homogeneidad de varianzas (Levene's Test;  $p = 0,0729$ ).

**B) Frecuencia de ocurrencia de velígeras de *L. fortunei* para la familia Pimelodidae, comparando con datos previos.**

<b>Año (sitio)</b>	<b>Frecuencia de ocurrencia</b>	<b>Estadio</b>	<b>Taxón</b>
2020 (Arroyo Seco)	0.8	metalarva	Pimelodidae
2020 (Arroyo Seco)	0.09	protolarva	Pimelodidae
2020 (Arroyo Seco)	1.0	metalarva	Pimelodidae
2020 (Arroyo Seco)	1.0	metalarva	Pimelodidae
2020 (Arroyo Seco)	0.83	metalarva	Pimelodidae
2020 (Arroyo Seco)	0.43	metalarva	Pimelodidae
2020 (Arroyo Seco)	0.36	metalarva	Pimelodidae
2000 (La Paz)	0.71	mesolarva	Pimelodidae
2000 (La Paz)	1.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (La Paz)	1.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (La Paz)	0.67	metalarva	Pimelodidae
2000 (La Paz)	1.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (La Paz)	0.00	metalarva	Pimelodidae
2000 (La Paz)	0.00	metalarva	Pimelodidae
2000 (La Paz)	0.50	mesolarva	Pimelodidae
2000 (La Paz)	1.00	protolarva	Pimelodidae
2000 (La Paz)	0.50	protolarva	Pimelodidae
2000 (La Paz)	0.00	protolarva	Pimelodidae
2000 (La Paz)	1.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (La Paz)	0.29	mesolarva	Pimelodidae
2000 (La Paz)	0.67	metalarva	Pimelodidae
2000 (La Paz)	1.00	metalarva	Pimelodidae
2000 (La Paz)	0.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (La Paz)	0.00	metalarva	Pimelodidae
2000 (La Paz)	0.11	protolarva	Pimelodidae
2000 (La Paz)	0.00	protolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	1.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	0.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	0.67	protolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	1.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	0.36	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	1.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	0.40	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	0.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	1.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	0.75	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	1.00	protolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	0.86	protolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	1.00	protolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	0.00	protolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	1.00	protolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	1.00	protolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	0.33	protolarva	Pimelodidae

2000 (Paraná)	0.00	protolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	1.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	0.25	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	0.50	metalarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	0.53	metalarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	0.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	1.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	1.00	protolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	0.00	protolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	0.75	protolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	1.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	1.00	protolarva	Pimelodidae
2000 (Paraná)	0.75	protolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	0.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	1.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	0.50	metalarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	1.00	metalarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	0.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	0.67	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	0.50	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	1.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	1.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	1.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	0.50	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	1.00	protolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	0.67	protolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	0.00	protolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	0.00	protolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	0.00	protolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	0.00	protolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	0.22	metalarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	0.67	metalarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	1.00	metalarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	0.13	metalarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	1.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	0.00	mesolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	1.00	protolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	1.00	protolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	1.00	protolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	0.00	protolarva	Pimelodidae
2000 (Zárate)	1.00	protolarva	Pimelodidae

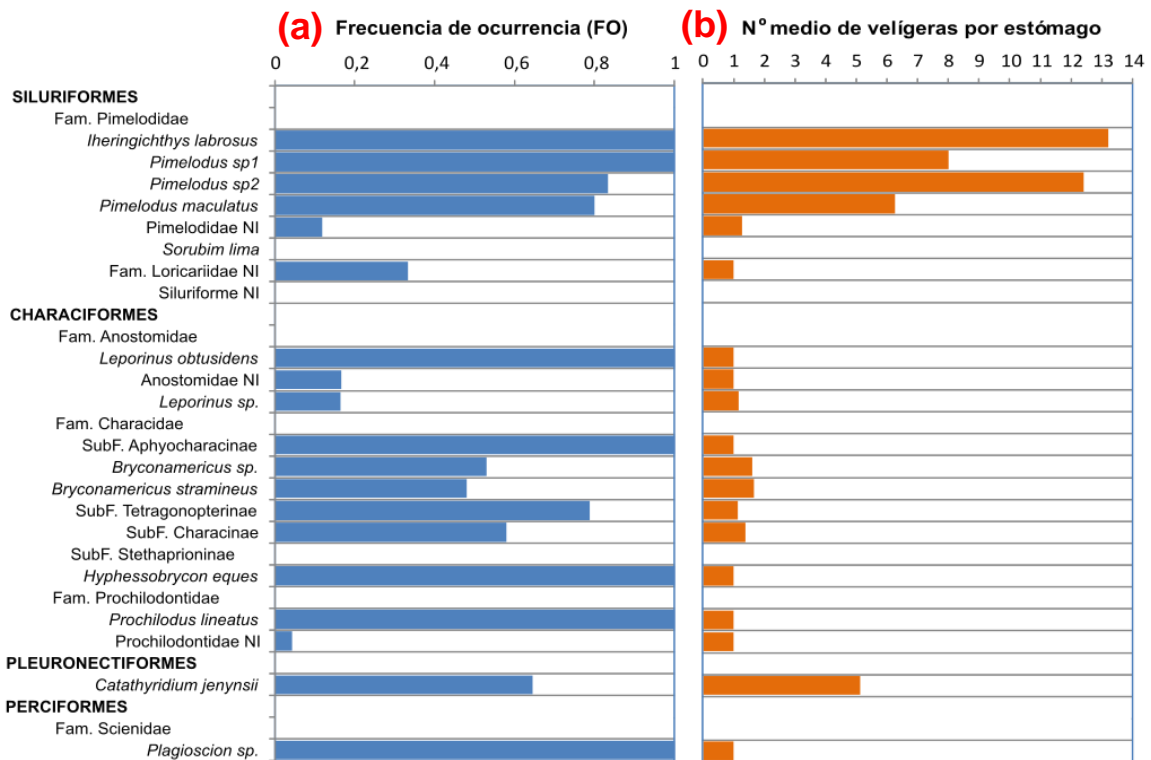
B<sub>i</sub>: Frecuencia de ocurrencia de veligeras de *L. fortunei* por estómago promedio para la familia Pimelodidae en los períodos 2000 y 2020, extraídos para test no paramétrico donde no hubo diferencias significativas entre localidades (Kruskal-Wallis;  $p = 0.7141$ ).



**Bii:** Distribución de los datos de frecuencia de ocurrencia de velíferas de *L. fortunei* en los periodos 2000 y 2020. No ajusta a distribución normal (Shapiro Wilk Test; p = 0,0000)

Los datos para FO de velíferas ajustaron a una homogeneidad de varianzas (Levene's Test; p = 0,6785).

**2. Frecuencia de ocurrencia y número medio de velíferas por orden taxonómico**



**A:** (a) Frecuencia de ocurrencia de larvas con *L. fortunei* dentro del grupo “con contenido” en orden taxonómico y decreciente, en el total de muestras. (b) Número medio de velíferas en larvas con *L. fortunei* en orden taxonómico, en el total de muestras.